

ISTITUTO DI RICERCHE FARMACOLOGICHE

“MARIO NEGRI”

Milano - Bergamo



RAPPORTO ATTIVITA'
2002

PREFAZIONE

RAPPORTI ATTIVITA'

ISTITUTO MARIO NEGRI, MILANO

DIPARTIMENTI

Dipartimento di Oncologia	7
Dipartimento Ambiente e Salute	31
Dipartimento di Neuroscienze	47
Dipartimento di Ricerca Cardiovascolare	79
Dipartimento di Immunologia e Biologia Cellulare	95
Dipartimento di Biochimica e Farmacologia Molecolare	111

LABORATORI e CENTRI

Laboratorio Politiche Regolatorie del Farmaco	127
Laboratorio per la Salute Materno Infantile	133
Laboratorio Epidemiologia Generale	143
Laboratorio di Informatica Medica	171
Centro Cochrane Italiano	177
Animal Care Unit	183
Biblioteca	185

LABORATORI NEGRI BERGAMO

DIPARTIMENTI

Dipartimento di Medicina Molecolare	191
Dipartimento di Bioingegneria	205

CENTRO ALDO e CELE DACCO'

DIPARTIMENTI

Dipartimento di Medicina Renale	219
---------------------------------------	-----

LABORATORI e CENTRI

Laboratorio di Epidemiologia Clinica	243
Coordinamento, Informazione e Diagnosi della Malattie Rare	249
Centro di Economia Sanitaria A. e A. Valenti, CESAV	259

L' ATTIVITA' DIDATTICA

ORGANIGRAMMA

a cura di **Raffaella Bertazzi**

in collaborazione con il **Laboratorio di Informatica Medica**

finito di stampare nel giugno 2003

PREFAZIONE

Questo volume rappresenta un tentativo di riassumere le attività di ricerca e di formazione svolte dall'Istituto Mario Negri di Milano e Bergamo. L'attività viene presentata su base dipartimentale ed in qualche caso anche da singoli laboratori.

Mentre si rimanda al testo per i dettagli dei risultati scientifici ottenuti è pertinente fare alcune osservazioni di carattere generale.

Rispetto agli anni passati si accentuano programmi di ricerca che implicano vari laboratori all'interno dei singoli dipartimenti ed in qualche caso fra dipartimenti. I temi di ricerca si sono ridotti di numero e si osserva una tendenza a focalizzare la sperimentazione per ottenere "masse critiche" di uomini e risorse su di uno stesso tema.

Predomina, in armonia con le tendenze odierne, un orientamento dettato dalle metodologie della biologia molecolare soprattutto per quanto riguarda lo studio del meccanismo d'azione dei farmaci.

L'impiego degli studi con colture in vitro è fondamentale per approfondire l'indagine, tuttavia è ancora presente un numero significativo di ricerche in vivo, l'unico modo - ancora oggi - per poter validare le ricerche in vitro e per poter realizzare modelli sempre più vicini alle malattie umane. In questo senso è aumentato considerevolmente l'impiego di animali transgenici.

I temi fondamentali di ricerca sono quelli tradizionali dell'Istituto: oncologia, neuroscienze, cardiovascolare, malattie renali, trapianti d'organo con forti componenti di immunologia, biologia cellulare, biochimica molecolare. Di significato anche gli studi che riguardano ambiente e salute. Si è accentuato lo studio delle malattie rare e dei farmaci orfani sia a livello sperimentale che clinico ed epidemiologico.

In tutta la ricerca del "Mario Negri" l'ipotesi è quella di sviluppare intorno ad ognuno dei grandi temi citati una complessità di approcci che vada dalla ricerca di base, agli studi clinici controllati, all'analisi epidemiologica e, quando possibile, alla epidemiologia dei servizi.

L'attività di ricerca necessita, come componente fondamentale, della formazione di giovani ricercatori che trovano nel lavoro di laboratorio, non solo la possibilità di esprimere le loro idee, ma anche l'opportunità di ottenere un diploma attraverso la scuola di qualificazione professionale riconosciuta dalla Regione Lombardia o il titolo di Ph.D. in collaborazione con la Open University di Londra. Di particolare interesse sono altri tipi di formazione indirizzati alla statistica biomedica, ai medici di medicina generale, ai pediatri di famiglia ed agli infermieri per la ricerca clinica.

Infine fa parte integrante delle attività del "Mario Negri" un interesse per l'informazione a tutti i livelli, formalizzato nel Centro di Informazione per le Malattie Rare e nel Centro Regionale di Informazione sui Farmaci.

In tempi così difficili per la ricerca italiana la gratitudine dell'Istituto va a tutti gli enti pubblici e privati, nonché a Fondazioni ed a privati cittadini che hanno reso possibile, con i loro contributi, piccoli e grandi, la realizzazione delle attività riportate in questo volume. Grazie a tutti .

Silvio Garattini
Direttore

Istituto di Ricerche Farmacologiche
“Mario Negri” Milano

RAPPORTI
ATTIVITA' 2002
dipartimenti e laboratori

DIPARTIMENTO DI ONCOLOGIA

PERSONALE

Capo Dipartimento Maurizio D'INCALCI, Dr.Med.Chir.

Ufficio Studi Oncologici e Documentazione

Documentalista Scientifico Stefania FILIPPESCHI, Per.Chim.
Consulente Maria Grazia DONELLI, Dr.Sci.Biol.

Laboratorio di Farmacologia Antitumorale

Capo Laboratorio Maurizio D'INCALCI, Dr.Med.Chir.

Unità di Biofisica
Capo Unità Paolo UBEZIO, Dr.Fis.

Unità di Citometria
Capo Unità Eugenio ERBA, Per.Chim.

Unità di Farmacologia Clinica Antitumorale
Capo Unità Massimo ZUCCHETTI, Dr.CTF

Laboratorio di Farmacologia Molecolare

Capo Laboratorio Massimo BROGGINI, Per.Chim.

Laboratorio di Biologia e Terapia delle Metastasi Tumorali

Capo Laboratorio Raffaella GIAVAZZI, Dr.Sci.Biol.

Unità di Angiogenesi Tumorale
Capo Unità Giulia TARABOLETTI, Dr.Sci.Biol.

Laboratorio di Ricerca Clinica Oncologica

Capo Laboratorio Valter TORRI, Dr.Med.Chir.

Unità di Biometria e Data Management

Capo Unità Irene FLORIANI, Dr.Sci.Biol.

Unità di Clinical Trials

Capo Unità Roldano FOSSATI, Dr.Med.Chir.

Laboratorio per la Ricerca Traslazionale e di Outcome in Oncologia

Capo Laboratorio Giovanni APOLONE, Dr.Med.Chir.

Unità di Informatica per la Ricerca Clinica

Capo Unità Luca CLIVIO, Dr.Ing.

Unità di Outcome Research

Capo Unità Paola MOSCONI, Dr.Sci.Biol.

INTRODUZIONE ALLE ATTIVITA' DEL DIPARTIMENTO

Il Dipartimento di Oncologia è formato da tre laboratori sperimentali preclinici (Laboratorio di Farmacologia Antitumorale, Farmacologia Molecolare e Biologia e Terapia delle Metastasi) e da due laboratori indirizzati a studi di tipo clinico (Laboratorio di Ricerca Clinica Oncologica, Laboratorio di Ricerca Translazionale e di Outcome in Oncologia).

In alcuni casi i progetti di ricerca sono stati attuati unicamente da singoli laboratori o unità di ricerca, in altri casi sono attuati attraverso la collaborazione tra diversi laboratori dello stesso dipartimento, di altri dipartimenti o di gruppi esterni all'Istituto (vedi collaborazioni nazionali e internazionali).

Le aree di ricerca dei laboratori preclinici riguardano la scoperta, lo studio e lo sviluppo di nuovi farmaci antitumorali e antimetastatici e nuove combinazioni, lo studio della biologia dei tumori indirizzato non soltanto ad acquisire nuove conoscenze scientifiche, ma soprattutto come base per approcci terapeutici più selettivi e per identificare e validare modelli sperimentali adatti per scoprire e studiare farmaci o modalità terapeutiche innovative.

Lo sviluppo di nuovi farmaci in clinica è basato su un'intensa partecipazione alle attività del SENDO (Ufficio del Sud Europa per lo sviluppo di nuovi farmaci antitumorali) e attraverso studi guidati dal Laboratorio di Ricerca Clinica Oncologica e dal Laboratorio di Ricerca Translazionale e di Outcome in Oncologia che sono indirizzati alla valutazione dell'efficacia terapeutica di nuovi regimi terapeutici. Sia a livello preclinico che a livello clinico vi sono studi che riguardano diverse neoplasie umane, ma vi è un'attività di ricerca più intensa che riguarda i tumori dell'ovaio.

SCOPERTE/RISULTATI PRINCIPALI

Aplidina è un potente antileucemico, attivo anche in cellule leucemiche resistenti ad altri farmaci antitumorali. Questo farmaco blocca la secrezione di VEGF interferendo con il loop autocrino VEGF-recettore per VEGF.

ET-743 a concentrazioni farmacologicamente ragionevoli (nanomolari) altera i meccanismi di regolazione della trascrizione di geni inducibili. Inoltre cellule deficienti nel "Nucleotide Excision Repair" sono meno suscettibili a ET-743 mentre sono ipersuscettibili ai raggi UV e ad altri farmaci antitumorali che danneggiano il DNA.

Il legame di Glivec ad $\alpha 1$ -glicoproteina acida (AGP) influenza la distribuzione del farmaco. Pertanto i livelli plasmatici di AGP sono un fattore potenzialmente rilevante nel determinare resistenza al farmaco.

Il gene p73 viene regolato a livello trascrizionale dopo danno al DNA.

I farmaci antitumorali doxorubicina e cisplatino inducono l'espressione di p73 eliminando l'azione repressiva di C-EBP alfa sul fattore trascrizionale E2F1.

Le combinazioni ET-743-cisplatino ed ET-743-doxorubicina si sono rivelate promettenti a livello preclinico senza apparenti interazioni farmacocinetiche.

Identificazione di un nuovo gene mediatore dell'attività soppressiva di p53.

L'espressione della fosfatasi PRL-3 è maggiore in tumori dell'ovaio avanzati.

L'angiogenesi tumorale modulata dall'espressione di VEGF e FGF-2 influenza la crescita tumorale.

Nuovo meccanismo di regolazione dell'attività proteolitica di cellule endoteliali: rilascio di MMP come componente di vescicole di membrana.

E' stato identificato un nuovo taxano, IDN 5390, con potente attività antiangiogenica.

MMP9 induce il rilascio di VEGF dalle cellule di tumore ovarico stimolando la formazione di ascite.

I livelli plasmatici di VEGF, MMP9, TIMP1 e TIMP2 sono elevati in pazienti con carcinoma ovarico. Alti livelli di TIMP-1 sono associati ad una minor sopravvivenza.

L'efficacia terapeutica del paclitaxel è associata alla modulazione di geni specifici.

SU6668 inibitore tirosin chinasi di VEGFR, PDGFR, e FGFR in combinazione con paclitaxel migliora la risposta terapeutica in modelli sperimentali di carcinoma ovarico.

Studio ICON4: lo studio dimostra un miglioramento della sopravvivenza nel carcinoma dell'ovaio in stadio avanzato con l'utilizzo di terapia di seconda linea a base di platino derivati e taxolo.

La risposta al trattamento chemioterapico è un buon indicatore surrogato della sopravvivenza in pazienti con carcinoma della cervice localmente avanzato.

La chemioterapia adiuvante con lo schema di Vindesina, Mitomicina C e Cisplatino (MVP) nel carcinoma polmonare non a piccole cellule (NSCLC) non ha prodotto un miglioramento della sopravvivenza rispetto alla sola chirurgia.

COLLABORAZIONI NAZIONALI

Cell Factory Laboratory, Policlinico di Milano
 CNR IGBE, Pavia
 EUROPA DONNA
 Fondazione Nerina e Mario Mattioli Onlus, Milano
 Fondo Edo Tempia, Laboratorio di Farmacogenomica, Biella
 I.A.S.I., Roma
 Istituti Ortopedici Rizzoli, Bologna
 Istituto dei Tumori di Milano
 Istituto Europeo di Oncologia (IEO), Milano
 Istituto Nazionale per la Ricerca sul Cancro (IST), Genova
 Istituto Regina Elena, Roma
 Ospedale San Gerardo, Monza, Milano
 Ospedale San Matteo, Pavia
 Università Cattolica del Sacro Cuore, Roma
 Università di Bari
 Università di Brescia
 Università di L'Aquila

Università di Milano
 Università di Modena e Reggio Emilia

COLLABORAZIONI INTERNAZIONALI

Cancer Research UK, Londra, Gran Bretagna
 EORTC, Bruxelles, Belgio
 EUROPA DONNA
 Genome Institute of Singapore (GIS), Singapore
 Johns Hopkins University, USA
 Metastasis Research Lab, University of Liegi, Belgio
 MRC, Leicester, Gran Bretagna
 MRC, Londra, Gran Bretagna
 National Cancer Institute (NCI), Bethesda and Frederick, MD, USA
 Ospedale San Giovanni, Bellinzona, Svizzera
 Southern Europe New Drug Organization (SENDO), Milano, Italia
 Swiss Federal Institute of Technology, Zurigo, Svizzera
 Tumor Biology and Metastasis Institute of Cancer Research, Sutton, Gran Bretagna
 University of Cincinnati, USA
 University of Newcastle, Gran Bretagna
 University of Pau, Francia
 University of Wisconsin, Madison, WI, USA
 Weizmann Institute of Science, Israele

PRESENZA IN COMITATI EDITORIALI

Annals of Oncology (Maurizio D'Incalci)
 Anti-cancer Drug Design (Maurizio D'Incalci)
 Attualità in Senologia (Paola Mosconi)
 British Journal of Cancer (Maurizio D'Incalci)
 Cancer Chemotherapy and Pharmacology (Maurizio D'Incalci)
 Chemotherapy (Maurizio D'Incalci)
 Clinical Experimental Metastasis (Raffaella Giavazzi)
 Current Opinion in Oncologic, Endocrine and Metabolic Drugs (Maurizio D'Incalci)
 European Journal of Cancer (Maurizio D'Incalci, Raffaella Giavazzi)
 Health and Quality of Life Outcomes (Giovanni Apolone, Paola Mosconi)
 International Journal of Biological Markers (Raffaella Giavazzi)
 International Journal for Quality in Health Care (Giovanni Apolone)
 Journal of Ambulatory Care and Management (Giovanni Apolone)
 Journal of B.U.ON. (Maurizio D'Incalci)
 Journal of Experimental Therapeutics and Oncology (Raffaella Giavazzi)
 Journal of Medicine and the Person (Giovanni Apolone)
 Molecular Cancer Therapeutics (Maurizio D'Incalci)
 Oncology Research (Maurizio D'Incalci)
 Tumori (Maurizio D'Incalci)

ATTIVITA' DI REVISIONE

American Journal of Pathology, Annals of Oncology, Anticancer Drug Design, Anti-cancer Drugs, Biochemical Pharmacology, British Journal of Cancer, British Journal of Pharmacology, British Medical Journal, Cancer Chemotherapy and Pharmacology, Cancer Letters, Cancer Research, Carcinogenesis, Chemico-Biological Interactions, Clinical & Experimental Metastasis, Clinical Cancer Research, Cytometry, European Journal of Cancer, Health and Quality of Life Outcomes, Intensive Care Medicine, International Journal of Biological Markers, International Journal of Cancer, International Journal for Quality in Health Care, Journal of Ambulatory Care and Management, Journal of Biological Chemistry, Journal of Biological Markers, Journal of Cell Biochemistry, Journal of Clinical Oncology, Journal of Experimental Therapeutics and Oncology, Journal of Medicine and the Person, Journal of the National Cancer Institute, Leukemia, Molecular Cancer Therapeutics, Nature Reviews, PharmacoEconomics, Quality of Life Research, Science, Tumori

PRESENZA IN COMMISSIONI NAZIONALI E INTERNAZIONALI

Comitato Etico Centro di Riferimento Oncologico, Aviano, PN
 Comitato Etico Ente Ospedaliero San Paolo, Milano
 Comitato Etico Istituto Europeo di Oncologia, Milano
 Comitato Etico Istituto Neurologico Carlo Besta, Milano
 Comitato Etico Istituto Scientifico Eugenio Medea, Bosisio Parini, LC
 Comitato Etico Ospedale San Gerardo, Monza, MI
 Comitato Scientifico, Associazione Italiana Ematologia e Oncologia Pediatrica, Monza, MI
 Consiglio Direttivo, Associazione Italiana di Colture Cellulari (AICC)
 Consiglio Direttivo, Associazione Italiana per le Scienze degli Animali da Laboratorio (AISAL)
 Decision Network and Executive Committee, South Europe New Drug Organization (SENDO)
 Direttivo Metastasis Research Society (MRS)
 Direttivo Società Italiana di Cancerologia (SIC)
 Executive Board, Europa Donna
 EORTC Board
 National Cancer Institute (NCI) (scoperta e sviluppo nuovi farmaci)
 NHS R&D National Coordinating Centre for Health Technology Assessment, UK
 Scientific Committee, Swiss Cancer League
 University Medical School of Siena

ORGANIZZAZIONE DI EVENTI

Convegno: AICC-AISAL "Sperimentazione in vitro e in vivo: percorsi complementari nella ricerca biomedica", 30-31 maggio 2002, Milano, Italia.

Congresso: International Scientific Organizing Committee - IXth International Congress of the Metastasis Research Society, 20-22 Settembre 2002, Chicago, IL, USA.

PARTECIPAZIONE AD EVENTI CON CONTRIBUTI

DEL DIPARTIMENTO

Simposio: US-Italy Joint Symposium on Pathophysiology and Therapeutic Approaches for Vascular Remodeling, Titolo: "Inhibitors of angiogenesis and combination therapy in cancer intervention", 14-16 marzo 2002, Atlanta, GA, USA.

Simposio: Second International "North Adriatic Sea" Symposium on Novel Targets for Cancer Therapy, Titolo: "Anti-invasion and anti-metastatic strategies", aprile 2002, Ravenna, Italia.

Convegno: 93rd Annual Meeting AACR, Titolo: "Antineoplastic and antiangiogenic activity of Aplidine, a new agent of marine origin", 6-10 aprile 2002, San Francisco, CA, USA.

Convegno: 93rd Annual Meeting AACR, Titolo: "Gene expression profiling of ovarian carcinoma xenografts treated with paclitaxel", 6-10 aprile 2002, San Francisco, CA, USA.

Convegno: 93rd Annual Meeting AACR, Titolo: "The combination of ET-743 and cisplatin (DDP): from a molecular pharmacology study to a phase I clinical trial", 6-10 aprile 2002, San Francisco, CA, USA.

Convegno: 93rd Annual Meeting AACR, Titolo: "Preclinical pharmacokinetic evaluation and bioavailability study of the novel C-seco-Taxane derivative IDN5390", 6-10 aprile 2002, San Francisco, CA, USA.

Convegno: ONCOGENOMICS 2002 "Dissecting Cancer through Genome Research", Titolo: "cDNA microarray analysis of gene expression changes induced by paclitaxel in sensitive/resistant ovarian carcinoma xenografts", 1-5 maggio 2002 Dublino, Irlanda.

Workshop: "Mathematical Models in Cancer", Titolo: "Unraveling the complexity of cell cycle effects of anticancer drugs", 3-5 maggio 2002, Vanderbilt University, Nashville, TN, USA.

Convegno: 38th Annual Meeting of the American Society of Clinical Oncology (ASCO), Titolo: "Clinical pharmacokinetic profile of gimatecan (ST 1481), a new oral camptothecin derivative", 18-21 maggio 2002, Orlando, FL, USA.

Workshop: International Workshop P-53, Titolo: "Overexpression of p73 in a human ovarian cancer cell line increases VEGF and reduces thrombospondin-1 production. Implications for tumor angiogenesis", 15-18 maggio 2002, Barcellona, Spagna.

Workshop: International Workshop P-53, Titolo: "Regulation of p73 promoter in SH-SY5Y neuroblastoma cells by anticancer drugs treatment", 15-18 maggio 2002, Barcellona, Spagna.

Convegno: AICC-AISAL "Sperimentazione in vitro e in vivo: percorsi complementari nella ricerca biomedica", Titolo: "Farmacologia antitumorale: modelli sperimentali per lo studio di nuovi farmaci", 30-31 maggio 2002, Milano, Italia.

Convegno: AICC-AISAL "Sperimentazione in vitro e in vivo: percorsi complementari nella ricerca biomedica", Titolo: "Modelli preclinici per lo studio dell'angiogenesi", 30-31 maggio 2002, Milano, Italia.

Convegno: 17th meeting of the European Association for Cancer Research, Titolo: "Angiogenesis Inhibitors: Preclinical Studies", 8-11 giugno 2002, Granada, Spagna.

Workshop: The p73/p63 Workshop 2002, Titolo: "p73 expression and cellular response to anticancer agents", 10-11 giugno 2002, Roma, Italia.

Congresso: IX International Congress of the Metastasis Research Society, Titolo: "Inhibitors of angiogenesis in combination studies", 20-22 settembre 2002, Chicago, IL, USA.

Congresso: IX International Congress of the Metastasis Research Society, Titolo: "Tumor and endothelial shed membrane vesicles act as mediators of angiogenesis", 20-22 settembre 2002, Chicago, IL, USA.

Congresso: IX International Congress of the Metastasis Research Society, Titolo: "Cytotoxic and anti-angiogenic therapy in combination on human ovarian carcinoma models", 20-22 settembre 2002, Chicago, IL, USA.

Corso: "DNA e sue applicazioni in oncologia clinica", Titolo: "Valutazione critica dei metodi di analisi del DNA e determinazione della fase S", 23-27 settembre, 2002, Urbino, Italia.

Convegno: ESMO 2002, Titolo: "Increasing options for chemotherapy: novel modes of action", 17-22 ottobre 2002, Nizza, Francia.

Simposio: 14th EORTC-NCI-AACR Symposium on "Molecular Targets and Cancer Therapeutics", Titolo: "Bristollicin potentiates the antitumor activity of other cytotoxic antineoplastic agents in experimental tumor models", 19-22 novembre 2002, Francoforte, Germania.

Simposio: 14th EORTC-NCI-AACR Symposium on "Molecular Targets and Cancer Therapeutics", Titolo: "Release of GST-pi promoter hypermethylation and activity of bristollicin in human prostate cancer cells", 19-22 novembre 2002, Francoforte, Germania.

Simposio: 14th EORTC-NCI-AACR Symposium on "Molecular Targets and Cancer Therapeutics", Titolo: "High-dose dexamethasone (Dex) protects against the hepatotoxicity of ET-743 in the female rat", 19-22 novembre 2002, Francoforte, Germania.

Simposio: 14th EORTC-NCI-AACR Symposium on "Molecular Targets and Cancer Therapeutics", Titolo: "Cell cycle perturbations and apoptosis induced by the novel marine compound variolin B", 19-22 novembre 2002, Francoforte, Germania.

Simposio: 14th EORTC-NCI-AACR Symposium on "Molecular Targets and Cancer

Therapeutics”, Titolo: “In human tumor xenografts the resistance to ET-743 or to cisplatin can be overcome by giving the two drugs in combination”, 19-22 novembre 2002, Francoforte, Germania.

Simposio: 14th EORTC-NCI-AACR Symposium on “Molecular Targets and Cancer Therapeutics”, Titolo: “Inhibition of VEGF binding to HUVEC receptors and of heparanase by the nonanticoagulant and antiangiogenic heparin derivatives ST1514 and ST2184”, 19-22 novembre 2002, Francoforte, Germania.

Convegno: Royal Society of Chemistry Open Meeting, Titolo: “Antitumour molecules from the depths of the blue planet”, 15 novembre 2002, Londra, Gran Bretagna.

Convegno: Understanding the Genome: Scientific Progress and Microarray Technology. Titolo: “cDNA microarray analysis to study changes of gene expression associated with paclitaxel responsiveness”, 29 novembre – 1 dicembre 2002, Genova, Italia.

Convegno: “Combinazione tra farmaci: basi farmacologiche, modelli e valutazioni in vitro e in vivo”, Titolo: “Parametri di valutazione del sinergismo in vitro”, 2-3 Dicembre 2002, Milano, Italia.

Convegno: “Combinazione tra farmaci: basi farmacologiche, modelli e valutazioni in vitro e in vivo”, Titolo: “Meccanismi di interazione tra farmaci”, 2-3 Dicembre 2002, Milano, Italia.

CONTRIBUTI E CONTRATTI

Associazione Italiana per la Ricerca sul Cancro (AIRC)
 ASL Provincia di Lodi
 Astra Zeneca SpA
 Astra Zeneca UK
 Bracco Imaging SpA
 Centro Cochrane Italiano
 Chiesi Farmaceutici SpA
 Consiglio Nazionale delle Ricerche (CNR)
 CNR-MIUR
 Compagnia San Paolo
 Cyclacel Ltd.
 Eli Lilly Italia SpA
 Elsevier Science Ltd.
 European Organization for Research and Treatment of Cancer (EORTC)
 Fondazione Italiana per la Ricerca sul Cancro (FIRC)
 Fondazione Nerina e Mario Mattioli Onlus
 Fondo Edo Tempia
 Glaxo Wellcome, Inc.
 Indena SpA
 InnoPept Inc.
 Institut de Recherche Pierre Fabre
 Istituto Superiore di Sanità
 Komen Italia Onlus
 Medac

Merck Sharp & Dome
 Ministero della Sanità
 NCI –SAIC Frederick
 Novartis Farma SpA
 Novuspharma SpA
 Peptichemio AG
 Pfizer Global Research and Development
 Pharma Mar, SA
 Pharma Mar USA, Inc.
 Pharmacia Italia SpA
 Policlinico di Padova / C.O.R.
 PTC Pharma AG
 Regione Veneto
 SENDO-Tech Srl
 Sigma-Tau SpA
 Università degli Studi di Padova

SELEZIONE PUBBLICAZIONI SCIENTIFICHE APPARSE NELL'ANNO 2002

Erba E., Bassano L., Di Liberti G., Muradore I., Chiorino G., Ubezio P., Vignati S., Codegoni A., Desiderio M.A., Faircloth G.T., Jimeno J., D'Incalci M. Cell cycle phase perturbations and apoptosis in tumor cells induced by Aplidine. *Br. J. Cancer*, 86: 1510-1517 (2002).

Geroni C., Marchini S., Cozzi P., Galliera E., Ragg E., Colombo T., Battaglia R., Howard M., D'Incalci M., Broggin M. Brostallicin, a novel anticancer agent whose activity is enhanced upon binding to glutathione. *Cancer Res.*, 62: 2332-2336 (2002).

D'Incalci M., Erba E., Galliera E., Carrassa L., Marchini S., Mantovani R., Tognon G., Tiozzo G., Jimeno J., Faircloth G.T. Unique features of the mode of action of ET-743. *The Oncologist*, 7: 210-216 (2002).

D'Incalci M. TRAIL: TNF-related apoptosis-inducing ligand. Editorial comment. *Eur. J. Cancer*, 38: 17 (2002).

Rizzi M., Caccia S., Guiso G., Richici C., Aliprandi M., Bagnati R., Fanelli R., D'Incalci M., Samanin R., Vezzani A. Limbic seizures transiently induce p-glycoprotein in mouse brain: functional implications for pharmacoresistance. *J. Neurosci.*, 22: 5833-5839 (2002).

Zaffaroni M., Frapolli R., Colombo T., Fruscio R., Bombardelli E., Morazzoni P., Riva A., D'Incalci M., Zucchetti M. High-performance liquid chromatographic assay for the determination of the novel C-Seco-taxane derivative (IDN5390) in mouse plasma. *J. Chromatogr. B*, 780: 93-98 (2002).

Gambacorti-Passerini C., Rossi F., Verga M., Ruchatz H., Frapolli R., Zucchetti M., Scapozza L., Bungaro S., Tornaghi L., Rossi F., Pioltelli P., Pogliani E., D'Incalci M., Corneo G. Differences between in vivo and in vitro sensitivity to Imatinib of Bcr/Abl+ cells obtained from leukemic patients. *Blood Cells, Molecules, and Diseases*, 28(3): 361-372 (2002).

Chiorino G., Lupi M. Variability in the timing of G1/S transition. *Mathematical Biosciences*, 177&178: 85-101 (2002).

Gambacorti C., leCoutre P., Zucchetti M., D'Incalci M. Binding of imatinib by α 1-acid glycoprotein. *Blood*, 100(1): 367-368 (2002).

D'Incalci M. Editorial comment on "In vitro toxicity of ET-743 and Aplidine, two marine-derived anti-neoplastics, on human bone marrow haematopoietic progenitors: comparison with the clinical results" by Albella and colleagues. *Eur. J. Cancer*, 38: 1297 (2002).

Marchini S., Chiorino G., Faircloth G.T., D'Incalci M. Changes in gene expression profile induced by the anticancer agent Aplidine in MOLT-4 leukemic cell lines. *J. Biol. Regulators*, 16(3): 241-248 (2002).

Bianchi C., Muradore I., Corizzato M., Cornacchini G., Beretta L., Erba E., Del Monte U., Perego R.A. The expression of the non-receptor tyrosine kinases Arg and c-abl is differently modulated in B lymphoid cells at different stages of differentiation. *FEBS letters* 26459, 1-7 (2002).

Vignati S., Codegoni A., Polato F., Broggin M. Trail activity in human ovarian cancer cells: potentiation of the action of cytotoxic drugs. *Eur. J. Cancer*, 38: 177-183 (2002).

Vikhanskaya F., Broggin M. Genetic alterations in ovarian cancer cells that might account for sensitivity to chemotherapy in patients. *International Review of Cytology*, 219: 157-198 (2002).

Taraboletti G, D'Ascenzo S, Borsotti P, Giavazzi R, Pavan A, Dolo V. Shedding of the Matrix Metalloproteinases MMP-2, MMP-9 and MT1-MMP as membrane vesicle-associated components by endothelial cells. *Am J Pathol*, 160: 673-680 (2002).

Taraboletti G, Micheletti G, Rieppi M, Poli M, Turatto M, Rossi C, Borsotti P, Roccabianca P, Scanziani E, Nicoletti MI, Bombardelli E, Morazzoni P, Riva A, Giavazzi R. Antiangiogenic and antitumor activity of IDN5390, a new taxan derivative. *Clin Cancer Res*, 8:1182-1188 (2002).

Giavazzi R., and Nicoletti MI. Small molecules in antiangiogenic therapy. *Curr Opin Invest Drugs* 3: 482-491 (2002).

Fossati R, Confalonieri C, Apolone G, Cavuto S, Garattini S. Does a drug do better when it is new? *Ann Oncol*, 13: 470-473 (2002).

Avanzini F, Corsetti A, Maglione T, Alli C, Colombo Fabio, Torri V, Floriani I, Tognoni G, STAR. Simple, shared guidelines raise the quality of antihypertensive treatment in routine care. *Am Heart J*, 144: 726-732 (2002).

Mosconi P, Apolone G, Barni S, Secondino S, Sbanotto A, Filiberti A. Quality of life in breast and colon cancer long-term survivors: An assessment with the EORTC QLQ-C30 and SF-36 questionnaires. *Tumori*, 88: 110-116 (2002).

Cantu M G, Buda A, Parma G, Rossi R, Floriani I, Bonazzi C, Dell'Anna T, Torri V, Colombo N. Randomized controlled trial of single-agent paclitaxel versus cyclophosphamide, doxorubicin, and cisplatin in patients with recurrent ovarian cancer who responded to first-line platinum-based regimens. *J Clin Oncol*, 20: 1232-1237 (2002).

Apolone G, Cattaneo A, Colombo P, La Vecchia C, Cavazzuti L, Bamfi F. Knowledge and opinion on prostate and prevalence of self-reported BPH and prostate-related events: A cross-sectional survey in Italy. *Eur J Cancer Prev*, 11: 473-479 (2002).

Apolone G, Mosconi P, Cattaneo G, Pomodoro L, Garattini S. Oncologists' opinion of ethics committees functioning in Italy. *Ann Oncol*, 13: 1157-1160 (2002).

Vercellini P, De Giorgi O, Mosconi P, Stellato G, Vicentini S, Crosignani P G. Cyproterone acetate versus a continuous monophasic oral contraceptive in the treatment of recurrent pelvic pain after conservative surgery for symptomatic endometriosis. *Fertil Steril*, 77: 52-61 (2002).

Colombo P, Scarpino V, Zuccaro P, Apolone G, Gallus S, La Vecchia C. Smoking in Italian women and men, 2001. *Tumori*, 88: 10-12 (2002).

Ghislandi S, Apolone G, Garattini L, Ghislandi I. Is EQ-5D a valid measure of HRQoL in patients with movement disorders? A comparison with SF-36 and FIM questionnaires. *European Journal Health Economics*, 3: 125-130 (2002).

Mosconi P, Italian Forum Europa Donna. Consumer health information: The role of breast cancer associations. *Breast Cancer Res Treat*, 76: 89-94 (2002).

European Glaucoma Prevention Study Group (EGPS), Torri V, Poli D, Nerviani C, Tinazzi A. The European Glaucoma Prevention Study design and baseline description of the participants. *Ophthalmology*, 109: 1612-1621 (2002).

Apolone G, Mosconi P, La Vecchia C. Post-traumatic stress disorder. *N Engl J Med*, 346: 1495-1496 (2002).

Gallus S, Colombo P, Scarpino V, Zuccaro P, Apolone G, La Vecchia C. Smoking in Italy, 2002. *Tumori*, 88: 453-456 (2002).

Torri V, ICON3. Paclitaxel plus carboplatin versus standard chemotherapy with either single-agent carboplatin or cyclophosphamide, doxorubicin, and cisplatin in women with ovarian cancer. The ICON3 randomised trial. *Lancet*, 360: 505-515 (2002).

M. Parmar, P. Harper, N. Colombo, V. Torri, D. Guthrie, on behalf of the ICON3 collaborators. ICON3 and chemotherapy for ovarian cancer. *Lancet Vol 360*, December 21/28, (2002) (letter).

Selvaggi G, Scagliotti G V, Torri V, Novello S, Leonardo E, Cappia S, Mossetti C, Ardisson F, Lausi P, Borasio P. HER-2/neu over expression in patients with radically resected nonsmall cell lung carcinoma. Impact on long-term survival. *Cancer*, 94: 2669-2674 (2002).

Sandercock J, Parmar M K B, Torri V, Qian W. First-line treatment for advanced ovarian cancer: Paclitaxel, platinum and the evidence. *Br J Cancer*, 87: 815-824 (2002).

Vercellini P, De Giorgi O, Stellato G, Vicentini S, Crosignani P G, Mosconi P. Important effects of cyproterone acetate on endometriosis? (reply to). *Fertil Steril*, 78: 886-887 (2002).

Mandala M, Balduini W, Lissoni P, Mazzoni E, Ferretti G, Carloni S, De Simoni M G, Rocca A, Torri V, Perego C, Moro C, Sironi L, Curigliano G, Cimino M, Barni S. Postoperative hyperprolactinemia could predict longer disease-free and overall survival in node-negative breast cancer patients. *Oncology*, 63: 370-377 (2002).

Leone M, Bottacchi E, Beghi E, Morgando E, Mutani R, Cremonesi R, Ravagli Ceroni L, Floriani I. Risk factors for a first generalized tonic-clonic seizure in adult life. *Neurol Sci.*, Sep;23(3):99-106 (2002).

Bettega D., Calzolari P., Belloni F., Di Lena F., Genchi S., Lupi M., Massariello P., Orsini S., Tallone L., Tomasoni D., Ubezio P., Redpath J.L. Solar UV radiation: differential effectiveness of UVB subcomponents in causing cell death, micronucleus induction and delayed expression of heritable damage in human hybrid cells. *Int. J. Radiat. Biol.*, in press.

Scotlandi K., Perdichizzi S., Manara M.C., Serra M., Benini S., Cerisano V., Strammiello R., Mercuri M., Reverter-Branchat G., Faircloth G.T., D'Incalci M., Picci P. Effectiveness of Ecteinascidin-743 against drug-sensitive and -resistant bone tumor cells. *Clin. Cancer Res.*, in press.

Pratesi G., Laccabue D., Lanzi C., Cassinelli G., Supino R., Zucchetti M., Frapolli R., D'Incalci M., Bombardelli E., Morazzoni P., Riva A., Zunino F. IDN 5390: an oral taxane candidate for protracted treatment schedules. *Br. J. Cancer*, in press.

Fratelli M., Minto M., Crespi A., Erba E., Vandenberghe P., Del Soldato P., Ghezzi P. Inhibition of Nuclear Factor Kappa B by a nitroderivative of flurbiprofen. A possible mechanism for anti-inflammatory and antiproliferative effect. *Antioxidants and Redox Signaling*, in press.

Meco D., Colombo T., Ubezio P., Zucchetti M., Zaffaroni M., Riccardi A., Faircloth G.T., D'Incalci M., Riccardi R. Effective combination of ET-743 and Doxorubicin in sarcoma. preclinical studies. *Cancer Chemother. Pharmacol.*, in press.

Manenti L., Paganoni P., Floriani I., Torri V., Buda A., Taraboletti G., Landoni F., Labianca R., Belotti D., Giavazzi R.. Vascular endothelial growth factor, matrix metalloproteinases 2 & 9 and tissue inhibitor of metalloproteinases 1 & 2 in plasma of patients with ovarian carcinoma. *E. Journal Cancer*. In press.

Giavazzi R., Sennino B., Coltrini D., Garofalo A., Dossi R., Ronca R., Molinari Tosatti M.P., Presta M.. Distinct role of fibroblast growth factor-2 and vascular endothelial growth factor on tumor growth and angiogenesis. *Am J Pathol*. In press.

Micheletti G., Poli M., Borsotti P., Martinelli M., Imberti B., Taraboletti G., Giavazzi R. Vascular targeting activity of ZD6126 a novel tubulin binding agent. *Cancer Res.* In press.

Taraboletti G., Micheletti M., Giavazzi R., and Riva A. IDN 5390, a new concept in taxane development. *Anti-Cancer Drugs.* In press.

ALTRE PRODUZIONI EDITORIALI PUBBLICATE NEL CORSO DEL 2002

D'Incalci M. Vinca alkaloids, Taxanes and Podophyllotoxins. In: *Oxford Textbook of Oncology*, 2nd Edition, Oxford University Press, London, U.K., 729-737 (2002).

Giavazzi R. and Taraboletti G. Targeting the extracellular matrix. In: *Cancer Handbook*, Alison MR (ed.), MacMillan Press, London, UK, 2: 1475-1483 (2002).

Torri V. Clinical trials and data management. In: *Oxford textbook of oncology*, 2nd. ed. Vol. 1. Oxford Univ. Press, Oxford; 1123-1134 (2002).

Bani MR and Giavazzi R. Cancer metastasis. In: *Principles of Molecular Oncology*. Bronchud-Foote-Giaccone-Olopade-Workman (ed.) Human Press NJ, in press.

ATTIVITA' DI RICERCA

Laboratorio di Farmacologia Antitumorale

UNITA' DI CITOFLUORIMETRIA – MECCANISMO D'AZIONE DELLE ECTEINASCIDINE

Un progetto che sta andando avanti da diversi anni riguarda la caratterizzazione dei prodotti naturali di origine marina che posseggono attività antitumorale. In particolare nel 2002 si sono continuati gli studi sulla Ecteinascidina-743 (ET-743) e sono iniziati gli studi di alcuni suoi derivati che sono strutturalmente analoghi. Questi studi ci hanno fornito informazioni sulla natura delle relazioni struttura-attività di queste molecole e dall'altra parte ci hanno consentito di valutare alcune proprietà farmacologiche di potenziale interesse clinico che riguardano differenze di meccanismo d'azione e di attività di alcuni analoghi rispetto al composto parentale.

L'unità ha ottenuto diverse linee cellulari resistenti a questi farmaci di cui si stanno caratterizzando meccanismi molecolari e cellulari.

UNITA' DI CITOFLUORIMETRIA – MECCANISMO D'AZIONE DELLE DIDEMNINE

Un'altra classe di composti naturali di origine marina studiati di recente sono le didemnine, in particolare la diidrodidemnina B (Aplidina). Questo composto ha mostrato avere una forte attività inibitoria della crescita e una rapida attivazione di apoptosi in cellule di leucemie linfatiche umane. In collaborazione con il laboratorio di farmacologia molecolare e con il laboratorio di biologia e terapia delle metastasi si è scoperto come questo depsipeptide possa bloccare il "loop" autocrino VEGF/FLT1 presente in cellule leucemiche. L'induzione dell'apoptosi, almeno in alcune linee cellulari derivate da leucemie umane, sembrerebbe causato

dalla mancanza della attivazione del pathway di VEGF la cui secrezione verrebbe bloccata dal farmaco. Mentre si stanno chiarendo i meccanismi di azione di Aplidina a livello cellulare e molecolare si è condotto uno studio su cellule di leucemia linfoblastica acuta pediatrica, coltivate su un supporto stromale. In queste condizioni Aplidina ha mostrato di essere un composto attivo a concentrazioni tra 0.5 e 5 nM, anche in casi resistenti alle terapie convenzionali. Questi studi hanno fornito il razionale per studi clinici di Aplidina nelle leucemie linfatiche, che si stanno pianificando.

UNITA' DI CITOFUORIMETRIA – MECCANISMO D'AZIONE DELLE VARIOLINE

Un'altra classe di farmaci marini che sono stati in parte studiati nel 2002 sono le varioline. Questi composti inducono rapidamente apoptosi in diversi tipi cellulari con un meccanismo ancora da chiarire. Inoltre causano perturbazioni del ciclo cellulare con un blocco delle cellule nelle fasi G1 e G2. E' di interesse la scoperta che questi farmaci sono attivi anche su cellule resistenti ad altri prodotti naturali, ad esempio per la iperespressione della proteina Pgp responsabile della "Multidrug resistance".

UNITA' DI CITOFUORIMETRIA – COMBINAZIONE TRA FARMACI NATURALI DI ORIGINE MARINA E ALTRI FARMACI ANTITUMORALI

Le sostanze naturali che si stanno studiando sono state combinate con farmaci noti quali cisplatino e doxorubicina e si sta valutando se vi siano potenziali effetti sinergici, attraverso un'analisi che viene condotta in collaborazione con l'Unità di Biofisica. E' in programma di valutare combinazioni con inibitori della riparazione del DNA e con nuove sostanze che agiscono al livello della trasduzione del segnale.

UNITA' DI BIOFISICA – ELABORAZIONE DI DATI DEL CICLO CELLULARE E DI COMBINAZIONE DI FARMACI

Il gruppo è impegnato in studi teorici e metodologici mirati alla valutazione critica delle attuali tecniche di analisi degli effetti farmacologici su popolazioni cellulari eterogenee. Sono stati costruiti diversi algoritmi di calcolo atti a simulare la proliferazione cellulare a differenti livelli di indagine (dalle interazioni molecolari alla crescita dei tumori solidi in vivo) insieme ai processi di misura.

Il metodo che consente una misura quantitativa degli effetti citostatici e citotossici, separatamente, nelle fasi G1, S e G2M del ciclo cellulare ha ormai raggiunto un maturo stadio di sviluppo, e può essere applicato fornendo una nuova prospettiva sulle dinamiche della risposta cellulare ai trattamenti farmacologici.

Sono in corso collaborazioni con altri gruppi di ricerca, in cui l'unità si occupa del disegno sperimentale e dell'analisi dei dati in studi in vitro di combinazione di farmaci. In questo settore, sono stati sviluppati diversi programmi di calcolo che consentono un'analisi comparativa dei risultati con i più comuni modelli di interazione farmacologica.

UNITA' DI BIOFISICA – ANALISI DELLA COMPLESSITÀ DELLA RISPOSTA DI POPOLAZIONI CELLULARI AL TRATTAMENTO CON FARMACI ANTITUMORALI.

Il progetto si propone di stabilire una connessione tra i meccanismi intracellulari di risposta al trattamento farmacologico e le risultanti alterazioni del ciclo cellulare. A partire dagli effetti dei farmaci sulle singole cellule, si perviene e ricostruire la risposta di una popolazione di cellule, così come misurata dalla citometria a flusso o dai test di inibizione della proliferazione e di sopravvivenza. Il modello adottato per l'analisi e interpretazione dei risultati sperimentali è ottenuto dalla combinazione di due modelli matematici. Il primo descrive il ciclo cellulare, utilizzando la teoria matematica della dinamica delle popolazioni strutturate per età. Il secondo

modello descrive la risposta al trattamento usando parametri distinti (“descrittori di effetto”), direttamente associati all’arresto, riparo del danno e mortalità in ogni fase del ciclo (G1, S e G2M). Tale approccio consente di ottenere un’interpretazione quantitativa dei risultati sperimentali, superando i limiti degli attuali approcci al problema, inadatti a risolvere la sovrapposizione tra effetti citostatici e citotossici e a stabilire una connessione con i sottostanti eventi collegati alle diverse fasi del ciclo.

Applicando la procedura abbiamo dimostrato l’esistenza di una complessa ma biologicamente coerente dipendenza dal tempo e dalla dose di farmaco per ogni descrittore di effetto, in una linea di carcinoma ovarico dopo trattamento con topotecan. Questi risultati si aggiungono a quelli precedentemente pubblicati su cisplatino e taxolo. Alla conclusione del progetto sarà quindi prodotto un database contenente informazioni sulla risposta al trattamento con un numero ristretto di farmaci, ma ricco di informazioni sulle dipendenze dal tempo e dalla dose degli effetti, che consentirà un’intercomparazione diretta tra i più comuni farmaci utilizzati nel trattamento del carcinoma ovarico.

UNITA’ DI BIOFISICA – MISURA DELLE VARIAZIONI DEL CONTENUTO CELLULARE DI SPECIFICHE PROTEINE, DURANTE LA PROGRESSIONE NELLA FASE G1, IN CELLULE IN CRESCITA ESPONENZIALE

E’ stato sviluppato un metodo per misurare il contenuto di particolari proteine in singole cellule durante l’attraversamento della fase G1. Nello studio sono stati misurati i livelli di ciclina E, ma la procedura è applicabile a qualsiasi proteina rilevabile in modo specifico con procedure di immunostochimica. La sequenza degli eventi in G1 è misurata in cellule in crescita esponenziale, evitando le problematiche e gli artefatti indotti dalle procedure di sincronizzazione.

Il metodo si basa su: i) esposizione delle cellule per pochi minuti a bassissime concentrazioni di bromodeossiridina (BrdUrd), seguita da raccolta e fissazione delle cellule a diversi tempi; ii) misura contemporanea del contenuto di DNA, BrdUrd e ciclina E mediante citometria a flusso multiparametrica; iii) analisi dei dati basata sulla teoria della proliferazione di popolazioni asincrone, con durata delle fasi variabile.

UNITA’ DI BIOFISICA –MODELLING MOLECOLARE: VARIABILITÀ DELLA POSIZIONE DELLA TRANSIZIONE G1/S

La durata del ciclo cellulare e delle singole fasi non è fissa, anche all’interno di popolazioni di cellule geneticamente omogenee in condizioni ambientali ottimali per la crescita. In questo progetto è stato elaborato un modello della transizione tra la fase G1 e la fase di sintesi del DNA. Il modello matematico può essere posto in relazione con alcuni dati sperimentali di citometria a flusso.

UNITA’ DI BIOFISICA – APPLICAZIONE DI MODELLI MATEMATICI NEI TUMORI IN VIVO: ETEROGENEITÀ DELLA CINETICA DI PROLIFERAZIONE IN UN TUMORE SPERIMENTALE

In questo progetto collaborativo, è stato sviluppato un metodo per l’analisi della cinetica di proliferazione cellulare in tumori sperimentali in vivo, basata su dati di citometria a flusso biparametrica DNA-BrdUrd, ricavati a diversi tempi successivamente ad una somministrazione i.p. di BrdUrd e interpretati con modelli matematici.

UNITA’ DI FARMACOLOGIA CLINICA – FARMACOCINETICA E LEGAME ALLE PROTEINE PLASMATICHE DEL GLIVEC

L’unità ha messo a punto diverse metodologie analitiche sensibili e specifiche mediante HPLC e HPLC accoppiata a spettrometria di massa per lo studio metabolico e farmacocinetico di nuovi

farmaci antitumorali. Questi metodi sono stati applicati per valutare in cellule tumorali l'uptake, la ritenzione e l'efflusso di farmaci, sia per valutare la distribuzione tissutale e i parametri farmacocinetici in animali portatori di tumore e sia in liquidi biologici ottenuti da pazienti che partecipano alle iniziali sperimentazioni cliniche di questi farmaci.

Fra i farmaci studiati vi è Glivec, l'inibitore tirosino chinasi con specificità per Abl e c-kit. Questo farmaco ha indubbiamente rappresentato un grande progresso terapeutico per la terapia della leucemia mieloide acuta e per il sarcoma gastrointestinale. Vi sono però evidenze sperimentali, più di recente anche cliniche, secondo le quali i livelli plasmatici della proteina di fase acuta alfa1 glicoproteina acida (AGP) siano rilevanti nell'influenzare l'uptake tissutale e la farmacocinetica del farmaco. In studi preclinici è stato possibile identificare dei potenziali metodi per aumentare la quota libera, non legata ad AGP, di Glivec (attraverso l'impiego di antibiotici che legano AGP con alta affinità), quindi potenzialmente aumentarne l'attività antitumorale.

Questi metodi potrebbero portare a delle applicazioni cliniche.

UNITA' DI FARMACOLOGIA CLINICA – FARMACOCINETICA DI ET-743 E APLIDINA

In stretta collaborazione con altri gruppi del laboratorio si sono condotti studi metabolici e farmacocinetici di due prodotti marini quali ET-743 e Aplidina. Per questi due composti si sono studiate l'uptake cellulare in linee sensibili resistenti e la distribuzione tissutale in xenografts. Inoltre in collaborazione con diversi gruppi clinici che in Europa e in Canada stanno sperimentando questi due farmaci si sta valutando la farmacocinetica clinica di questi due prodotti. Sia a livello preclinico che a livello clinico si stanno valutando le interazioni farmacocinetiche fra questi farmaci e farmaci correntemente utilizzati nella terapia dei tumori, quali antracicline e composti di coordinazione del platino.

UNITA' DI FARMACOLOGIA CLINICA – FARMACOCINETICA DI NUOVI DERIVATI TAXANICI

Si sono condotti diversi studi a livello preclinico che riguardano dei nuovi derivati taxanici che si differenziano da quelli convenzionali sia dal punto di vista chimico che per la loro attività biologica. Per due di questi composti si sono valutate le proprietà di biodisponibilità dopo somministrazione orale. Essi hanno mostrato attività biologica anche in tumori poco suscettibili ad altri taxani che suggeriscono un potenziale interesse clinico. La possibilità che questi farmaci agiscano attraverso un meccanismo d'azione antiangiogenetico, messo in luce dal Laboratorio di Biologia e Terapia delle Metastasi, richiede necessariamente la valutazione farmacocinetica e farmacodinamica di schemi di trattamento cronici dopo prolungata somministrazione.

UNITA' DI FARMACOLOGIA CLINICA – FARMACOCINETICA CLINICA DI GIMATECAN

Uno studio condotto in collaborazione con il SENDO ci ha portato a definire le proprietà di farmacocinetica clinica di un nuovo derivato della camptotecina (Gimatecan). Gli studi ancora in corso mostrano che questo composto è rapidamente assorbito dopo somministrazione orale con una lunga emivita che può garantire un'esposizione molto lunga al farmaco. Dati di farmacocinetica saranno correlati con i dati di tipo clinico (tossicità e attività antitumorale) per comprendere le proprietà di questo nuovo farmaco. Sono in corso studi relativi al metabolismo di Gimatecan con l'obiettivo di identificare e quantificare metaboliti del farmaco e caratterizzare la loro attività farmacologica.

Laboratorio di Farmacologia Molecolare

ONCOSOPPRESSORI p53 E p73

Nel corso del 2002 sono stati approfonditi i meccanismi di attivazione di p73. Il trattamento di cellule di neuroblastoma SH-SY5Y con i farmaci doxorubicina (DX) e cisplatino (DDP), induceva un aumento dei livelli di proteina p73. Questo aumento veniva osservato anche a livello di mRNA, indicando che, a differenza di p53, p73 può essere attivata a livello trascrizionale. Per verificare questa ipotesi, abbiamo usato diversi frammenti del promotore umano di p73, subclonati a monte di un gene reporter. In esperimenti di transfezione transiente, abbiamo evidenziato come sia DX che DDP fossero in grado di indurre l'attività del promotore di p73. Confrontando l'attività dei diversi frammenti, abbiamo confermato che il fattore trascrizionale E2F1 è uno dei principali fattori in grado di indurre trascrizione di p73. Tuttavia, la capacità di indurre il promotore di p73 era drasticamente ridotta quando un frammento del promotore, non contenente siti per E2F1 veniva rimossa. Nel frammento di DNA rimosso vi è un sito per il fattore C-EBP alfa e mutando questo sito di legame si perdeva la capacità di DX di indurre il promotore di p73. Inoltre, transfettando concentrazioni crescenti di un plasmide di espressione contenente C-EBP alfa, si aveva progressiva riduzione della capacità di E2F1 di indurre la trascrizione di p73, indicando un ruolo soppressivo di C-EBP sulla trascrizione di p73. In cellule trattate con DX si osservava inoltre un calo dei livelli di C-EBP nel nucleo. Pretrattando le cellule con un composto in grado di bloccare l'esporto nucleare (LMB), DX non era più in grado di diminuire i livelli di C-EBP alfa nucleari. Questo effetto era associato ad una mancanza di induzione di p73 sia a livello di mRNA che di proteina. I risultati quindi indicano che DX e DDP inducono p73 mediante la rimozione del fattore C-EBP alfa che ha una azione repressiva sulla trascrizione di mRNA per p73.

MECCANISMO DI AZIONE DI NUOVI FARMACI ANTITUMORALI

Abbiamo identificato un nuovo potenziale meccanismo di azione per un composto di origine marina, l'aplidina. Avevamo precedentemente osservato come apolidina fosse in grado di indurre rapida comparsa di apoptosi in cellule di leucemia umana MOLT-4. Usando una concentrazione in grado di inibire del 50% la crescita, abbiamo analizzato il profilo di espressione genica 1, 6 e 24 ore dopo il trattamento. Un significativo numero di geni modificava la propria espressione a questi tempi precoci e tra questi ci siamo focalizzati sul gene codificante per il recettore del VEGF, VEGF-RI, che mostrava una progressiva diminuzione di espressione dopo il trattamento. I dati ottenuti con i microarrays sono dapprima stati confermati a livello di RNA e proteina. Facendo questi esperimenti, ci siamo accorti che oltre a VEGF-RI, apolidina induceva un forte calo dei livelli di VEGF. Sono stati effettuati diversi esperimenti di misura dei livelli e di produzione di VEGF che ci hanno permesso di concludere che apolidina blocca la secrezione di VEGF, fenomeno che induce in seguito downregolazione della trascrizione sia di VEGF che del proprio recettore VEGF-RI. Dato che in questa linea VEGF agisce da fattore autocrino, abbiamo dimostrato che la rimozione di VEGF, mediante costrutti antisense, risultava in una forte induzione di apoptosi, paragonabile a quella indotta da apolidina. I dati ottenuti indicano che, almeno in questa linea cellulare, il farmaco agisce bloccando la secrezione di un fattore di crescita necessario per la sopravvivenza di queste cellule tumorali.

CARATTERIZZAZIONE DI NUOVI POTENZIALI GENI ONCOSOPPRESSORI

In laboratorio è attivo un progetto che ha lo scopo di identificare nuovi potenziali geni coinvolti nella risposta cellulare al trattamento con farmaci antitumorali. Usando la tecnica di differential display, abbiamo identificato un frammento di cDNA la cui espressione era aumentata in cellule trattate con un farmaco che induce danni al DNA. Poiché la sequenza di questo frammento combaciava con una sequenza depositata in banca dati ma mai caratterizzata, abbiamo iniziato la caratterizzazione della struttura e della funzione di questo gene che abbiamo chiamato DRAGO (DRUG Activated Gene Overexpressed). Questo cDNA è costituito da 5338 paia di basi di cui solo un quarto codificano per una proteina di 303 aminoacidi. Una caratteristica peculiare di questo gene è la presenza di una lunga regione 3' non tradotta di 4000 paia di basi che verosimilmente ha funzioni di regolazione sulla trascrizione del gene. E' stato clonato anche l'omologo murino che presenta una alta omologia di sequenza (89%) con il gene umano. L'induzione del gene DRAGO è stata dimostrata anche con altri farmaci agenti con diverso meccanismo di azione, ma solo in cellule che esprimono una p53 selvaggia e funzionale, suggerendo che DRAGO possa essere un nuovo gene p53 dipendente. Questo è stato confermato da esperimenti di transfezione in cui si è visto che un vettore di espressione per p53 è in grado di indurre la trascrizione di DRAGO. La transfezione del cDNA codificante per DRAGO in diverse linee cellulari ha evidenziato una attività soppressiva della crescita, indicando che il gene rappresenta un mediatore degli effetti soppressivi di p53 dopo induzione di danno.

ANALISI DI ESPRESSIONE GENICA

Utilizzando la tecnica dei microarrays, abbiamo analizzato l'espressione genica dopo trattamento con il nuovo farmaco antitumorale ET-743 in cellule di carcinoma ovarico umano IGROV-1 e in una sottolinea da esse derivata, resistente al trattamento con il farmaco. Trattando le cellule con le rispettive IC50, abbiamo valutato l'espressione a tempi precoci dal trattamento (1, 6 e 24 ore) per cercare di identificare geni potenzialmente implicati nel meccanismo di azione di ET-743. Inoltre abbiamo potuto valutare le differenze di espressione a livello basale tra cellule sensibili e resistenti. Analizzando l'espressione di circa 3000 geni, abbiamo evidenziato come il farmaco induca modificazioni di espressione in un numero relativamente modesto di geni. Per alcuni geni potenzialmente coinvolti nei meccanismi di resistenza, abbiamo confermato le differenze osservate utilizzando altre tecniche come PCR e western blotting. Sono anche stati identificati diversi clusters di geni che mostravano, dopo trattamento con il farmaco, un profilo di espressione simile. I dati generati con questa tecnica ci hanno aiutato a pianificare studi più mirati per chiarire il meccanismo di azione di questo nuovo promettente farmaco antitumorale.

CARATTERIZZAZIONE MOLECOLARE DEL CARCINOMA DELL'OVAIO

Abbiamo valutato l'espressione di un gene codificante per una fosfatase (PRL-3) in biopsie di carcinoma ovarico. Era stato evidenziato come in tumori del colon questo gene fosse espresso a livello delle metastasi ma non del tumore primario. Per questo motivo abbiamo inizialmente valutato l'espressione in tumori allo stadio III confrontando l'espressione della fosfatasi nel tumore primario con quella nelle metastasi della stessa paziente, senza tuttavia evidenziare significative differenze. Espandendo lo studio a casi più iniziali (stadi I), abbiamo osservato che questi ultimi presentavano una ridotta espressione di fosfatasi PRL-3 rispetto ai casi più avanzati (stadi III e IV). L'espressione di pRL-3, valutata mediante PCR quantitativa a livello di RNA, è stata studiata, in un numero limitato di casi, anche a livello proteico, dove sono state confermate le differenze.

In collaborazione con un gruppo della Johns Hopkins University diretto dal Dr B. Vogelstein, i dati ottenuti nel nostro laboratorio sono stati confermati mediante ibridazione in situ, dove è possibile distinguere tra l'espressione a carico delle tumorali e quella a carico delle cellule

infiltranti. I primi dati ottenuti confermano che gli stadi I hanno espressione di PRL-3 inferiore e questa bassa espressione è più a carico delle cellule infiltranti che delle cellule tumorali, mentre negli stadi avanzati la positività è a carico delle cellule tumorali. L'espressione di PRL-3 quindi aumenta nei casi più avanzati del tumore ovarico e, oltre a poter essere utilizzato come marker di progressione, potrebbe rappresentare un nuovo target per lo sviluppo di farmaci in grado di bloccare l'espressione di questa proteina. Sono in corso studi per valutare se esiste una correlazione tra espressione di fosfatasi e prognosi in pazienti con carcinoma ovarico.

Laboratorio di Biologia e Terapia delle Metastasi Tumorali

REGOLAZIONE FISIOLOGICA DELL' ANGIOGENESI

L'angiogenesi, la formazione di vasi sanguigni da vasi preesistenti, è fondamentale nella progressione tumorale. Questo processo è regolato da un delicato bilancio tra fattori pro- ed anti-angiogenici. Ci occupiamo da tempo dello studio dei fattori endogeni che regolano l'angiogenesi. Nel 2002 abbiamo proseguito nello studio della trombospondina-1 (TSP-1), un inibitore endogeno dell'angiogenesi, il cui legame diretto ai fattori angiogenici, in particolare FGF-2, ne inibisce l'interazione con la matrice extracellulare, alterandone la biodisponibilità e l'attività. Abbiamo anche dimostrato il ruolo di p73 nel regolare la produzione di TSP-1 e quindi il potenziale angiogenico di cellule di carcinoma ovarico. Inoltre abbiamo studiato le metalloproteinasi della matrice (MMPs), enzimi proteolitici che degradano la matrice extracellulare, coinvolti nell'angiogenesi e nella progressione tumorale. Le cellule endoteliali stimulate da fattori angiogenici rilasciano vescicole di membrana ricche di MMPs, che possono contribuire al processo di angiogenesi. Infine abbiamo rivolto la nostra attenzione a nuove funzioni delle MMPs. In particolare abbiamo dimostrato che MMP9 induce il rilascio di Vascular Endothelial Growth Factor, un fattore che stimola l'angiogenesi e la permeabilità dei vasi da parte delle cellule di tumore ovarico, e che questo fenomeno è legato alla formazione di ascite associata alla progressione del carcinoma ovarico.

ESPRESSIONE GENICA NELL' ENDOTELIO ASSOCIATO AI TUMORI: RUOLO SVOLTO DAL MICROAMBIENTE

Capire le differenze qualitative e funzionali tra le cellule endoteliali (EC) dei vasi tumorali e dei vasi normali, e comprendere i meccanismi molecolari che dirigono il processo dell'angiogenesi, è di fondamentale importanza. Potrebbe infatti consentire l'identificazione di marcatori selettivi dell'endotelio vascolare associato a stati patologici e/o di nuove molecole bersaglio per lo sviluppo di interventi farmacologici. A questo proposito abbiamo analizzato il profilo di espressione genica di cellule endoteliali isolate da carcinomi ovarici e da ghiandole surrenali esposte o no ad un ambiente "angiogenico/tumorale" ricostituito in vitro. Per fare ciò abbiamo utilizzato microarray che permettono di studiare l'espressione di circa 12000 geni contemporaneamente (Affymetrix Human Genome U95A Array). Stiamo ora valutando i risultati allo scopo di identificare quei geni il cui livello di espressione risulta differente nelle EC esposte all'ambiente "angiogenico/tumorale" quando confrontate alle non-esposte, oppure diverso nelle EC isolate da tumore rispetto alle EC isolate da tessuto normale.

MODELLI PRECLINICI: RUOLO DI FGF2 E VEGF NELLA CRESCITA E VASCULARIZZAZIONE DEL TUMORE

L'angiogenesi tumorale è controllata da molteplici fattori prodotti dal tumore stesso e dall'ospite. Per valutare il ruolo di FGF2 e VEGF nella crescita e vascularizzazione dei tumori sono state generate cellule di carcinoma dell'endometrio umano (HEC-1-B) che differiscono per espressione di VEGF e/o FGF2. Cellule in cui l'espressione di FGF2 è sotto il controllo del promotore tetraciclina-sensibile (tet-off) sono state ulteriormente transfettate con un DNA antisense per VEGF121. L'espressione simultanea di FGF2 e di VEGF da origine a tumori a

rapida crescita caratterizzati da alta densità vascolare. La ridotta espressione di FGF2, causata dalla somministrazione di tetraciclina, provoca un'inibizione significativa della crescita tumorale, associata a diminuzione nel numero e dimensioni dei vasi sanguigni. La mancata espressione di VEGF provoca non solo una simile riduzione di densità vascolare, ma questa è associata a diminuzione della maturazione e funzionalità vascolare con conseguente riduzione del carico tumorale, aumento d'ipossia e necrosi. Questi risultati dimostrano che FGF2 e VEGF stimolano la vascolarizzazione in modo sinergico ma con effetti distinti su funzionalità del vaso e sulla sopravvivenza del tumore. Questo modello ha implicazione per lo studio di terapie che si basano su strategie antiangiogeniche.

TERAPIA ANTIANGIOGENICA ED ANTIVASCOLARE

Terapie antineoplastiche dirette contro il sistema vascolare dei tumori possono essere disegnate seguendo due diverse strategie. La terapia antiangiogenica è volta a prevenire la formazione dei nuovi vasi, mentre la terapia antivascolare ha lo scopo di distruggere selettivamente i vasi già formati nei tumori. Nel 2002 abbiamo descritto le proprietà antiangiogeniche del taxano IDN 5390, un composto analogo al paclitaxel. In vitro, IDN 5390 è dotato di una forte capacità di inibire la motilità delle cellule endoteliali, ma di minore citotossicità rispetto al paclitaxel. In vivo, IDN 5390 inibisce l'angiogenesi e ha attività antitumorale e antimetastatica, anche su tumori resistenti al paclitaxel. Tra i composti anti-vascolari abbiamo studiato le proprietà di ZD6126, un agente simile alla colchicina che causa la depolimerizzazione dei microtubuli. ZD6126 in vitro causa il riarrangiamento del citoscheletro e la retrazione delle cellule endoteliali ed altera l'integrità di strutture tridimensionali simili a capillari. In vivo, ZD6126 distrugge la rete di capillari neoformati in un modello sperimentale. Il trattamento con ZD6126 induce la necrosi della massa tumorale in modelli sperimentali, a conferma della sua attività antivascolare e quindi potenzialmente antineoplastica.

TERAPIA ANTIANGIOGENICA IN COMBINAZIONE ALLA CHEMIOTERAPIA

Si ritiene che trattamenti basati su inibitori dell'angiogenesi possano dare il miglior risultato in combinazione con terapie convenzionali. Quest'aspetto è stato esplorato con SU6668, un inibitore tirosin chinasi dei recettori VEGFR2, FGFR1 e PDGFR in combinazione con paclitaxel, su modelli di carcinoma ovarico umano. Il trattamento con SU6668 inibiva la formazione d'ascite e la disseminazione del tumore nella cavità peritoneale del topo nudo. L'aggiunta di questo trattamento al paclitaxel ne migliorava in modo significativo l'indice terapeutico, anche con dosaggi bassi-non tossici del chemioterapico. SU6668 è in sviluppo in studi clinici. Questi risultati confermano il razionale per l'evoluzione clinica di terapie di combinazione rivolte a bersagli molteplici in questo tipo di neoplasia.

MARCATORI TUMORALI CIRCOLANTI IN PAZIENTI CON CARCINOMA OVARICO

Una delle applicazioni cliniche emergenti è la misura di proteine circolanti associate all'angiogenesi ed il loro utilizzo come marcatori di prognosi o come end-points nelle terapie con farmaci anti-angiogenici. Abbiamo misurato i livelli di VEGF, MMP2, MMP9, TIMP1 e TIMP2 nell'ascite e nel plasma di pazienti affette da carcinoma ovarico, patologie ginecologiche benigne e volontari sani. Tali parametri sono stati correlati con diversi parametri clinici. I risultati ottenuti mostrano che i livelli plasmatici di VEGF, MMP9, TIMP1 e TIMP2 nelle pazienti con carcinoma ovarico sono significativamente più alti che negli individui sani o nelle pazienti con patologie ginecologiche benigne. Inoltre alti livelli di TIMP1 sono associati ad una minor sopravvivenza.

ALTERAZIONI MOLECOLARI IN RISPOSTA ALLA TERAPIA

Capire le basi molecolari della risposta terapeutica riveste un'importanza fondamentale per lo sviluppo di nuovi interventi farmacologici. A questo proposito sono stati utilizzati modelli sperimentali di carcinoma ovarico sensibili/resistenti al paclitaxel per studiare alterazioni dell'espressione genica causate dal trattamento. Utilizzando la tecnologia di cDNA microarray (metodica che offre il vantaggio di valutare l'espressione di migliaia di geni contemporaneamente e quindi permette di studiare nel suo insieme la complessa situazione funzionale delle cellule in un determinato stato fisiologico) abbiamo potuto osservare che, nei tessuti tumorali sensibili, la somministrazione del farmaco modificava il livello di espressione di geni coinvolti in varie funzioni biologiche, quali regolazione del ciclo cellulare, proliferazione, apoptosi, trascrizione genica, trasduzione del segnale e metabolismo cellulare. La modulazione di due geni rappresentativi è stata valutata, tramite analisi di Northern blot, in una serie di tumori sperimentali con differente grado di sensibilità al paclitaxel. I risultati ottenuti hanno confermato che la loro modulazione correlava con la sensibilità al paclitaxel.

Laboratorio di Ricerca Clinica Oncologica

TUMORE POLMONARE NON MICROCITOMA (NSCLC)

Conduzione dello studio CHEST, che confronta una schema di polichemioterapia neoadiuvante contenente gemcitabina e cisplatino vs. controllo in pazienti poi sottoposti ad un intervento chirurgico con intento radicale. Lo studio è in fase di reclutamento.

Studio sul ruolo prognostico di VEGF e p53: non si sono dimostrate associazioni importanti con la sopravvivenza.

CARCINOMA DEL COLON-RETTO

Continua la conduzione dello studio di confronto tra follow-up intensivo e follow-up minimalista nel carcinoma coloretale (stadio B2-C di Dukes mod. sec. Aster e Collier) dopo trattamento con intenti curativi.

CARCINOMA GASTRICO

È stata eseguita l'analisi finale dello studio GOIRC, studio di terapia adiuvante nel trattamento del carcinoma gastrico, che ha confrontato un regime postchirurgico polichemioterapico contenente cisplatino adriamicina e 5 fluorouracile contro controllo: si sono dimostrati vantaggi per il regime chemioterapico in termini di controllo delle recidive.

È stata eseguita l'analisi finale dello studio GISCAD, studio di terapia adiuvante nel trattamento del carcinoma gastrico, che ha confrontato un regime polichemioterapico contenente cisplatino adriamicina e 5 fluorouracile contro 5 fluorouracile: non si sono dimostrati vantaggi in termini di controllo della progressione e di sopravvivenza per la polichemioterapia.

CARCINOMA OVARICO

Si è eseguita l'analisi finale dello studio ICON4, studio di chemioterapia teso a valutare se l'aggiunta del Taxolo ad una chemioterapia di II linea a base di platino o analogo, migliora l'efficacia in termini di risposte obiettive e di sopravvivenza, nelle pazienti con carcinoma ovarico recidivo dopo 12 mesi da un precedente trattamento di I° linea con analoghi del platino. L'analisi, svolta su 600 pazienti, ha prodotto risultati favorevoli, in termini di miglioramento di controllo della progressione della malattia e di sopravvivenza. I risultati verranno presentati al congresso dell'American Association of Clinical Oncology nel 2003.

STUDIO CLINICO SULL'IMPORTANZA DELLA LINFOANEDECTOMIA

Per quanto concerne lo studio sul ruolo terapeutico della linfonectomia nel trattamento delle pazienti con carcinoma ovario, si è concluso il reclutamento dello studio.

CARCINOMA DELLA CERVICE UTERINA

È stata eseguita l'analisi finale dello studio SNAP01, studio di terapia neoadiuvante nel trattamento del carcinoma della cervice localmente avanzato, che ha mostrato un vantaggio, in termini di percentuale di risposte al trattamento e di sopravvivenza, per il gruppo di pazienti utilizzando una polichemioterapia prechirurgica contenente taxolo.

È proseguito lo studio SNAP02 avente l'obiettivo di confermare l'atteso miglior profilo di tossicità della doppietta Paclitaxel-Cisplatino (TP), nei confronti del braccio di riferimento Paclitaxel-Ifosfamide-Cisplatino (TIP) e di confermarne l'attività. Obiettivo primario di questo studio è la valutazione dell'attività dei trattamenti proposti (TIP vs TP), nelle pazienti affette da cervicocarcinoma epidermoide localmente avanzato, in termini di risposte patologiche complete (CR) o parziali ottimali (PR1).

CARCINOMA DELL'ENDOMETRIO

È continuato il reclutamento dello studio SNAE, studio multicentrico randomizzato di chemioterapia nell'adenocarcinoma dell'endometrio avanzato o recidivo che confronta l'attività tumorale di due diversi protocolli chemioterapici (EP vs. TEP).

Continua lo studio ILIADE: uno studio multicentrico a più protocolli sulla modulazione dell'isterectomia, sul ruolo della linfonectomia e la terapia adiuvante nel trattamento del carcinoma dell'endometrio.

Laboratorio di Ricerca Translazionale e di Outcome in Oncologia

ATTIVITA' OUTCOME RESEARCH

Il progetto ha l'obiettivo di aumentare le conoscenze sul tema dell'outcome research; le azioni attivate per raggiungere l'obiettivo di interesse sono state di tipo formativo (lezioni formali, lavoro in piccoli gruppi, workshop dedicati, ecc), empiriche (coordinamento di studi ed analisi di dati) e di divulgazione.

Nell'ambito di queste iniziative: - sono stati elaborati e sottoposti per la pubblicazione i dati relativi al progetto Montalto di Castro coordinato e svolto in collaborazione con il laboratorio di Epidemiologia (Dr. La Vecchia); - sono stati elaborati e discussi i dati relativi allo studio per la messa a punto di un questionario di valutazione della soddisfazione dei pazienti ricoverati nella ASL di Lodi (in corso di pubblicazione); - è stata completata una revisione degli studi relativi alla valutazione della qualità della vita nei pazienti con tumore della mammella in fase avanzata; - è stata portata a termine una revisione degli strumenti di qualità della vita disponibili per i pazienti con epilessia in collaborazione con il laboratorio di Malattie Neurologiche (Dr. Beghi); - divulgazione del manuale e messa a punto di una versione elettronica ad accesso facilitato del questionario PGWBI in collaborazione con l'unità di informatica per la ricerca clinica (Ing. Clivio).

Nel corso dell'anno è iniziata inoltre in collaborazione con la Unità Operativa Ostetricia e Ginecologia degli Istituti Clinici di Perfezionamento per la valutazione dell'impatto sullo stato di salute delle coppie sterili afferenti al centro.

PROGETTO ANEMIA-ANZIANI

Nel corso del 2002 è stato discusso e messo a punto un protocollo di indagine sulla condizione

anemica nel soggetto anziano, più o meno affetto da una patologia oncologica. L'indagine si prefigge di capire l'entità epidemiologica dell'anemia, capire l'impatto sugli aspetti cognitivi, funzionali e di qualità della vita dei soggetti ed il loro trattamento farmacologico. L'indagine, che coinvolgerà più di 9.000 soggetti, durerà circa due anni e prevede una prima fase per valutare la frequenza questa condizione nei soggetti anziani ed una seconda fase che si svolgerà attraverso delle interviste vis-à-vis ad un campione di popolazione caratterizzato dall'aver o meno l'anemia e/o una patologia tumorale. Queste fasi verranno seguite da una fase longitudinale sull'efficacia dei trattamenti farmacologici. L'indagine riguarderà la popolazione sopra i 65 anni residente nella città di Biella e sarà condotto in collaborazione con il laboratorio di Neuropsichiatria Geriatria (Dr. Ugo Lucca).

PROGETTO EUROPA DONNA

Movimento di opinione europeo contro i tumori del seno ha lo scopo principale di richiamare l'attenzione sulla necessità di affrontare il tumore del seno con mezzi adeguati e in maniera incisiva. EUROPA DONNA raccoglie le esperienze e le conoscenze di 29 paesi europei impegnati nella lotta al tumore del seno, ridistribuendo le informazioni e proponendosi come punto di interscambio culturale e scientifico.

Nel corso del 2002 è proseguita l'attività di Paola Mosconi come membro dell'Executive Board del movimento, in particolare: - è stata completata una ricerca sulle attività dei Fora europei i cui risultati sono stati discussi e saranno oggetto di pubblicazione; - è stata coordinata e completata una indagine sulle associazioni appartenenti al Forum Italiano di ED sui bisogni informativi; - è stato organizzato un corso di aggiornamento sui temi del tumore al seno e di metodologia della ricerca clinica per attivisti delle associazioni.

GRUPPO ITALIANO DI LAVORO PER LA DIAGNOSI ANTICIPATA (GILDA)

All'interno dello studio randomizzato multicentrico GILDA è proseguita l'attività di monitoraggio della valutazione di qualità della vita sui pazienti liberi da malattia ed in progressione. Come di consueto è stato elaborato ed inviato ai centri partecipanti un feed-back relativo all'andamento dello studio relativo alla qualità della vita.

ALTRE ATTIVITA'

Nel corso del 2002 sono state inoltre attivate alcune collaborazioni con altri Laboratori del Mario Negri e con gruppi esterni all'Istituto al fine di gettare le basi per future attività di ricerca translazionale clinica (patient-oriented clinical translational research) in oncologia, con particolare attenzione sia alla accelerazione del processo di trasferimento delle nuove evidenze dalla ricerca pre-clinica alla ricerca clinica, sia alla successiva implementazione dei risultati a livello di salute pubblica. Nel contesto quindi di collaborazioni con il Laboratorio di Epidemiologia (Mario Negri, Milano), Laboratorio di FarmacoGenomica dei Tumori (Fondo Edo Tempia, Biella), Divisione di Chirurgia Toracica dell'Università Cattolica (Roma), COR di Padova (Centro Oncologico Regionale) e SENDO (Southern Europe New Drug Organization) è stato possibile creare nuovi network collaborativi e partecipare attivamente a diversi progetti del VI Programma Quadro.

Unità di Informatica per la Ricerca Clinica

PROGETTO M.A.I.A. (Multiple Access Input Assistent)

Il progetto MAIA ha l'obiettivo di sviluppare un software gratuito nonché la creazione di un centro virtuale di documentazione per persone con disabilità motoria, allo scopo di superare le difficoltà di accesso al computer quindi agevolare:

- interazione uomo-macchina mediante interfacce semplificate.
- interazione uomo-uomo mediante la macchina.

Nel 2002 si è proceduto alla finalizzazione del progetto e alla strutturazione dello staff che attualmente vede coinvolti: informatici che si occuperanno dello sviluppo del software; psicologa e pedagoga che hanno la funzione di guidare lo sviluppo del software valutandone i possibili utilizzi come strumento di supporto per la disabilità cognitiva; fisiatra e neuropsicologo per la valutazione dell'efficacia come strumento per la disabilità motoria.

DIPARTIMENTO AMBIENTE E SALUTE

PERSONALE

Capo Dipartimento Roberto FANELLI, Dr.Sci.Biol.

Laboratorio di Biochimica Analitica

Capo Laboratorio Chiara CHIABRANDO, Dr.Sci.Biol.

Laboratorio di Chimica e Tossicologia dell'Ambiente

Capo Laboratorio Emilio BENFENATI, Dr.Chim.

Laboratorio di Spettrometria di Massa

Capo Laboratorio Enrico DAVOLI, Dr.Sci.Prod.Anim.

Laboratorio di Tossicologia Molecolare

Capo Laboratorio Luisa AIROLDI, Dr.Farm.

Unità di Tossicologia degli Alimenti

Capo Unità Ettore ZUCCATO, Dr.Med.Chir.

Centro di Salute Ambientale "Gennaro Paone" (Consorzio Mario Negri Sud)

Capo Laboratorio Domenico ROTILIO, Dr.Chim.

INTRODUZIONE ALLE ATTIVITA' DEL DIPARTIMENTO

Il Dipartimento Ambiente e Salute è stato creato per coordinare l'attività e le interazioni tra cinque laboratori e una unità, le cui attività riguardano vari aspetti della ricerca ambientale all'interno dell'Istituto Mario Negri e del Consorzio Mario Negri Sud. Le attività del Dipartimento hanno come scopo comune lo studio di fattori ambientali rilevanti per la salute umana. Ciò si realizza utilizzando approcci e metodologie molto diversificate in quattro aree principali: 1) valutazione dell'esposizione umana a composti tossici attraverso lo sviluppo e l'uso di metodi di epidemiologia molecolare, e l'individuazione di nuovi biomarkers; 2) studi di proteomica e caratterizzazione strutturale e funzionale di proteine, come mezzo per meglio comprendere i processi biologici che stanno alla base di fenomeni di tossicità o patologia; 3) valutazione del rischio da fattori ambientali attraverso l'applicazione delle procedure esistenti a situazioni reali, e lo sviluppo di nuovi modelli predittivi; 4) caratterizzazione della presenza ambientale di composti tossici attraverso lo sviluppo e l'uso di tecniche innovative di chimica-analitica, strumentazione, software e modellistica.

L'epidemiologia molecolare è un'integrazione dell'epidemiologia classica e prevede l'impiego di una serie di indicatori biologici che permettono di definire la relazione tra esposizione umana a composti tossici e malattia. Questa disciplina ha lo scopo di identificare, a livello individuale, fattori genetici e/o ambientali capaci di influenzare il rischio per la salute ed individuare strategie di prevenzione. Gli strumenti dell'epidemiologia molecolare includono: indicatori di esposizione (livelli urinari o plasmatici di composti esogeni e/o dei loro metaboliti); indicatori di dose biologicamente attiva (addotti al DNA o alle proteine del sangue di composti esogeni); indicatori di effetti biologici (aberrazioni cromosomiche, scambio di cromatidi fratelli, micronuclei); indicatori di suscettibilità (studio dei genotipi che caratterizzano il polimorfismo di enzimi coinvolti nel metabolismo dei composti tossici e/o cancerogeni). L'attività del Dipartimento in questo settore è rivolta principalmente alla misura degli indicatori di esposizione, di dose biologicamente attiva e di suscettibilità individuale alle malattie.

La proteomica, attualmente in espansione esplosiva, è un campo che riguarda l'identificazione, la descrizione e la quantificazione delle proteine in tessuti o cellule intere. Le proteine sono i prodotti funzionali principali della cellula e l'analisi di espressione a livello della proteina (analisi del proteoma) è un mezzo potente per capire i meccanismi che regolano i processi cellulari normali e patologici. L'analisi differenziale del proteoma permette di studiare quali proteine siano espresse in modo diverso e/o modificate nella loro struttura in seguito a determinati stimoli. Oltre a definire le reti cellulari di geni/proteine che rispondono a stimoli, queste informazioni possono contribuire ad identificare i bersagli molecolari di agenti tossici o nuovi bersagli terapeutici, e nuovi indicatori di tossicità o di patologia.

Accanto all'approccio di proteomica, nel Dipartimento sta emergendo un'area di ricerca che riguarda l'analisi e la caratterizzazione di proteine di particolare interesse biomedico mediante spettrometria di massa. Il principale scopo di questa attività è la verifica –in particolari condizioni sperimentali o cliniche– del livello di espressione di determinate proteine e delle loro eventuali modificazioni post-translazionali funzionalmente rilevanti. Questi studi spesso richiedono la messa a punto di nuovi metodi analitici per isolare in modo specifico le proteine di interesse dai campioni biologici, allo scopo di permetterne la successiva caratterizzazione strutturale e, possibilmente, la determinazione quantitativa mediante spettrometria di massa.

Le procedure di Analisi di Rischio tossicologico ed ecotossicologico hanno assunto sempre maggiore importanza in Europa e negli U.S.A. come strumento di supporto alla gestione ambientale. Nell' "Environment and Climate RTD Programme" della UE (1996) è stato stabilito

di indagare aspetti tecnici e scientifici del problema dei siti contaminati. In questo ambito i vari networks hanno rappresentato un supporto scientifico fondamentale alla politica comunitaria in campo ambientale. Questi networks hanno promosso lo sviluppo e l'applicazione del concetto del Risk Assessment e della sostenibilità ambientale come pilastri di una corretta gestione dell'ambiente e del territorio. Per tali motivi, e per dare una risposta efficace alla crescente richiesta di chiarimenti da parte dei soggetti interessati a conoscere il rischio correlato a determinate situazioni reali, l'attività di valutazione del rischio sanitario ed ecotossicologico si sta espandendo all'interno del Dipartimento.

Alla luce del sempre più largo impiego che i composti chimici trovano in ogni ambito produttivo, è intuibile come sia fondamentale conoscere meglio il loro impatto ecotossicologico sulla fauna, la flora e l'ambiente in generale. La determinazione sperimentale della ecotossicità e tossicità condotta su tutti i composti chimici richiederebbe risorse economiche immani e tempi lunghissimi. Il Dipartimento da anni studia metodi basati su approcci computazionali, che offrono un'interessante soluzione, dato che analizzano enormi quantità di informazioni, derivandone nuove conoscenze. Le molecole vengono descritte tramite frammenti o descrittori globali, e si impiegano quindi sistemi di data mining e ingegneria della conoscenza, quali reti neurali, sistemi esperti, algoritmi genetici, e vari algoritmi di classificazione e analisi multivariata.

La valutazione dell'esposizione umana a composti tossici viene effettuata mediante la caratterizzazione della loro presenza non solo nell'ambiente (aria, acqua, suolo) ma anche negli alimenti, poichè questi rappresentano la principale fonte di esposizione per inquinanti ambientali di interesse prioritario, come PCB e diossine.

Lo studio di inquinanti ambientali emergenti include la valutazione della presenza di farmaci, che possono accumularsi nell'ambiente (dopo l'utilizzo umano o veterinario, o come residui della produzione industriale), e inquinanti "non convenzionali" quali sostanze chimiche con effetti sul sistema endocrino, o derivanti dall'introduzione in agricoltura di organismi geneticamente modificati (OGM), o dall'impiego dell'agricoltura biologica.

Un'altra area di ricerca del Dipartimento riguarda il biorisanamento di aree inquinate da fitofarmaci con impiego di batteri capaci di degradare sostanze tossiche presenti nel suolo e nelle acque. Inoltre, si stanno studiando i meccanismi di detossificazione in modelli batterici mediante tecniche di genetica dei batteri.

Tutte le attività del Dipartimento in campo ambientale sono supportate da un'attività di sviluppo di a) metodologie analitiche avanzate, b) strumentazione, e c) nuovi software per l'acquisizione ed il trattamento dei dati in campo ambientale.

SCOPERTE/RISULTATI PRINCIPALI

Il polimorfismo di enzimi coinvolti nella riparazione del DNA modifica la presenza di addotti del benzo(a)pirene nel DNA linfocitario umano.

La formazione di addotti del 4-aminobifenile nel DNA di tumori della vescica aumenta con il grado di invasività del tumore ed è più elevata nei fumatori.

Valori di riferimento delle frequenze alleliche e genotipiche di diversi geni metabolici in una popolazione di 15000 soggetti controllo.

Il polimorfismo del CYP1A1 modifica il rischio di tumore del polmone.

Gli addotti al DNA linfocitario sono modificati in piccola misura dai polimorfismi dei geni coinvolti nel metabolismo della 2-amino-1-metil-6-fenilimidazo[4,5-b]-piridina.

Identificazione del polimorfismo del gene CYP2C9 come causa di grave risposta avversa alla fenitoina.

Caratterizzazione del profilo di proteine epatiche in ratti esposti a TCDD.

Un trattamento prolungato con vitamina E non ha azione antiossidante in vivo in soggetti a rischio cardiovascolare.

Valutazione di un biomarker periferico di stress ossidativo (isoprostano 8-epi-PGF2alfa) nella malattie di Alzheimer.

Sviluppo di nuovi metodi in spettrometria di massa per la misura selettiva di chemochine; desamethasone plasmatico; inquinanti ad attività endocrina, compresi i loro coniugati.

Le policlorodibenzo-p-diossine e i policloro dibenzofurani nei sedimenti del fiume Po aumentano a valle dell'immissione del fiume Lambro.

I livelli di TCDD nel suolo a Seveso non influenzano le concentrazioni atmosferiche di tale inquinante.

Cancerogenicità, mutagenicità e tossicità acuta nel mammifero, e tossicità negli organismi acquatici possono essere predetti da modelli con utilizzo di reti neurali, algoritmi genetici, data mining, fuzzy logic.

Una nuova metodologia per la caratterizzazione degli odori ambientali, che permette di identificare, in situazioni complesse, la fonte delle emissioni odorigene o il processo responsabile.

Il consumo alimentare di quantitativi medio-elevati di pesce può causare il superamento dei limiti di sicurezza per l'assunzione giornaliera di PCB e sostanze diossino-simili.

Uno stesso alimento può contenere concentrazioni di PCB e sostanze diossino-simili diverse in differenti paesi dell'UE.

Dimostrazione dei rischi associati all'inquinamento ambientale da farmaci.

Identificazione di specifiche leggi che regolano l'inquinamento ambientale da farmaci (carico ambientale, bilancio di massa).

COLLABORAZIONI NAZIONALI

ARPA Veneto

ASL di Brescia

CNR – IRSA

Fondazione 'S. Maugeri'

Istituto Neurologico 'C. Besta'

Istituto Superiore di Sanità

Ministero dell'Ambiente

Politecnico di Milano

Politecnico di Torino

Provincia di Vercelli

Provincia Pordenone

Università degli Studi di Cagliari

Università degli Studi di Genova

Università degli Studi di Napoli "Federico II"

Università degli Studi di Palermo

Università degli Studi di Roma "La Sapienza"

Università degli Studi di Torino

Università dell'Insubria, Varese

COLLABORAZIONI INTERNAZIONALI

BASF Agricultural Centre, Limburgerhorf, Germany
 Central Science Laboratory, York, UK
 Danish Institute of Agricultural Sciences, Research Centre Foulum, Tjele, Denmark
 Department of Analytical and Pharmaceutical Chemistry, The Royal Danish School of Pharmacy, Denmark
 Department of Chemistry, University of Florida, Gainesville, FL
 Department of Computer Science and Engineering, University of Galati, Romania
 Department of Electrical and Computer Engineering, University of Patras, Greece
 Department of Inland Fisheries, Institute of Freshwater Ecology and Inland Fisheries, Berlin, Germany
 Department of Microbiology, Università di Münster, Germany
 Department of Molecular Biology, University of Bergen, Bergen, Norway
 Department of Organic Chemistry, Universidad de Cadiz, Spain
 Environmental Chemistry, IIQAB-CSIC, Barcelona, Spain
 Environmental Hygiene and Chemistry Department, Institute of Environmental Medicine and Hospital Epidemiology, University of Freiburg, Germany
 Faculté de Médecine et de Pharmacie, Université de Mons-Hainaut, Mons, Belgium
 Faculty of Veterinary Medicine, Utrecht University, Utrecht, The Netherlands
 Forschungszentrum Jülich GmbH, Jülich, Germany
 Gruppo Collaborativo sulla Suscettibilità Genetica ai Cancerogeni Ambientali (GSEC)
 Institute of Phytomedicine, Biological Control, Horticulture and Nematology, Wien, Austria
 Institute of Soil Science and Plant Cultivation, Pulawy, Poland
 Interuniversitaeres Forchungsinstitut fuer Agrarbiotechnologie, Tulln, Austria
 Istituto di Chimica di São Carlos, Università di São Paulo, Brasile
 KnowledgeMiner Software, Berlin, Germany
 Laboratory of Chemometrics & Bioinformatics, University of Orléans, Orléans, France
 Lithuanian Institute of Agriculture, Vilnius, Lithuania
 Liverpool John Moores University, Liverpool, United Kingdom
 National Institute of Chemistry, Kemijski Institut Ljubljana, Ljubljana, Slovenia
 Natural Resources Research Institute, University of Minnesota, Duluth, MN
 Pesticide Safety Directorate, York, UK
 Plant Protection Institute, Hungarian Academy of Sciences, Budapest, Hungary
 School of Biomedical Sciences, University of Ulster, Coleraine, Northern Ireland
 Syngenta Crop Protection AG, Basel, Switzerland
 UFZ Leipzig, Germany
 University of Tartu, Tartu, Estonia

PRESENZA IN COMITATI EDITORIALI

Journal of Environmental Science and Health, Part B (Emilio Benfenati), Journal of Environmental Science and Health, Part C (Emilio Benfenati).

ATTIVITA' DI REVISIONE

Chemosphere, Analytical Bioanalytical Chemistry, Internet Electronic Journal Molecular Design, Quantitative Structure Activity Relationship, Water Research

PRESENZA IN COMMISSIONI NAZIONALI E INTERNAZIONALI

CCPF – Commissione Consultiva Prodotti Fitosanitari (Ministero della Salute, Ministero dell'Ambiente)

CCTN – Commissione Consultiva Tossicologica Nazionale (Ministero della Salute)

ECCO – European Commission Coordination

EMA – European Agency for the Evaluation of Medicinal products.

IGQ Commissione Ambiente e Sicurezza

PARTECIPAZIONE AD EVENTI CON CONTRIBUTI DEL DIPARTIMENTO

International Workshop on Pattern Recognition in Information Systems, Alicante, Spagna, Aprile, 2002

American Chemical Society, 223 Meeting, Orlando, Florida, Aprile, 2002

QSAR2002, Ottawa, Canada, Maggio, 2002.

American Society for Mass Spectrometry, Convegno, Giugno 2002, Orlando, FL. USA.

MCS2002, Third International Workshop on Multiple Classifier Systems, Cagliari, Italia, Giugno, 2002.

International Conference on Information Technology Based Higher Education and Training, Luglio, 2002, Budapest, Hungary

European Conference on Artificial Intelligence, Luglio, 2002, Lyon, France

International Symposium on Halogenated Environmental Organic Pollutants and POPs, Dioxin2002, Agosto, 2002, Barcelona, Spain

European Symposium on Quantitative Structure-Activity Relationships, Settembre, 2002, Bournemouth, UK.

International Conference on Knowledge-based intelligent information engineering systems, KES 2002, Crema, Italia, Settembre 2002.

Euroconference on Environmental Analytical Chemistry. Ottobre 2002, Erperheide, Belgium
Workshop on: Chemical analysis and risk assessment of emerging contaminants in sediments and dredged material, Novembre 2002, Barcelona, Spain

CONTRIBUTI E CONTRATTI

ACEGAS SpA, Trieste
 ARPAV
 Associazione Italiana Ricerca sul Cancro
 Centro di Informazione sul PVC
 Comune di Calcinato
 Comune di Ternate
 Consorzio Quadrifoglio S.p.A.
 ECODECO, Pavia
 European Commission (GEN-AIR; COMET; IMAGETOX; MEBFOOD; FATEALLCHEM;
 DEMETRA; EUFRAM; OpenMolGRID; COST 282; EASYRING; HERBICBIOREM)
 FIAT Auto S.p.A.
 Ministero della Salute – Ricerca Finalizzata 2002
 Ministero della Salute, Italia
 Ministero dell'Ambiente, Italia
 Provincia di Pordenone
 Provincia di Vercelli
 SO.GE.NU.S. S.p.A.

SELEZIONE PUBBLICAZIONI SCIENTIFICHE APPARSE NELL'ANNO 2002

- Pastorelli R, Cerri A, Mezzetti M, Consonni E, Airoidi L
 Effect of DNA repair gene polymorphisms on BPDE-DNA adducts in human lymphocytes
 Int J Cancer 2002; 100: 9-13
- Airoidi L, Orsi F, Magagnotti C, Coda R, Randone D, Casetta G, Peluso M, Hautefeuille A, Malaveille C, Vineis P
 Determinants of 4-aminobiphenyl-DNA adducts in bladder cancer biopsies
 Carcinogenesis 2002; 23: 861-866
- Vineis P, Veglia F, Benhamou S, Butkiewicz D, Cascorbi I, Clapper M L, Dolzan V, Haugen A, Hirvonen A,
 Ingelman-Sundberg M, Kihara M, Kiyohara C, Kremers P, Le Marchand L, Ohshima S, Pastorelli R, Rannug A,
 Romkes M, Schoket B, Shields P, Strange R C, Stucker I, Sugimura H, Garte S, Gaspari L.
 CYP1A1 T3801 C polymorphism and lung cancer: A pooled analysis of 2,451 cases and 3,358 controls.
 Int J Cancer 2003; 104:650-657
- Citerio G, Nobili A, Airoidi L, Pastorelli R, Patrono A.
 Severe intoxication after phenytoin infusion: a pharmacogenetic preventable adverse reaction.
 Neurology 2003; 60: 1395-96.
- Chiabrando C, Avanzini F, Rivalta C, Colombo Fabio, Fanelli R, Palumbo G, Roncaglioni M C, PPP Collaborative
 Group Antioxidant Effect Vitamin E
 Long-term vitamin E supplementation fails to reduce lipid peroxidation in people at cardiovascular risk: Analysis of
 underlying factors.
 Current Controlled Trials Cardiovascular Medicine 2002; 3: 5
- Chiabrando C, Rivalta C, Bagnati R, Valagussa A, Durand T, Guy A, Villa P, Rossi J C, Fanelli R
 Identification of metabolites from type III F2-isoprostane diastereoisomers by mass spectrometry.
 J Lipid Res 2002; 43: 495-509

- Chiabrando C, Fanelli R, Lucca U
Peripheral biomarkers of oxidative damage in Alzheimer's disease.
Ann Neurol 2003; 53: 419-420
- Rizzi M, Caccia S, Guiso G, Richichi C, Gorter J A, Aronica A, Aliprandi M, Bagnati R, Fanelli R, D'Incalci M, Samanin R, Vezzani A
Limbic seizures induce P-glycoprotein in rodent brain: Functional implications for pharmacoresistance.
J Neurosci 2002; 22: 5833-5839
- Benedetti S, Pirola B, Poliani PL, Cajola L., Pollo B, Bagnati R, Magrassi L, Tunici P, Finocchiaro G
Dexamethasone inhibits the anti-tumor effect of interleukine 4 on rat experimental gliomas.
Gene Therapy 2003; 10: 188-192
- Natangelo M, Tavazzi S, Benfenati E
Evaluation of solid-phase microextraction–gas chromatography in the analysis of some pesticides with different mass spectrometric techniques: application to environmental waters and food samples.
Analytical Letters 2002; 35: 327-338
- Mazzatorta P, Benfenati E, Neagu D, Gini G
The importance of scaling in data mining for toxicity prediction.
Journal of Chemical Information and Computer Sciences 2002; 42: 1250-1255
- Benfenati E, Genah D, Verro R, Mazzatorta P
Chemical analysis, distributed modeling and risk indices. Three fundamental pillars in Risk Assessment.
TheScientificWorldJournal 2002; 2: 1617-1625
- Fattore E., Viganò L, Mariani G, Guzzi A, Benfenati E, Fanelli R
Polychlorinated dibenzo-p-dioxins and dibenzo furans in river Po sediments.
Chemosphere 2002; 49: 749-754
- Benfenati E, Porazzi E, Bagnati R, Forner F, Pardo Martinez M, Mariani G, Fanelli R.
Organic tracers identification as a convenient strategy in industrial landfills monitoring.
Chemosphere 2003; 51: 677-683
- Mazzatorta P, Benfenati E, Neagu C-D, Gini G.
Tuning neural and fuzzy-neural networks for toxicity modeling.
Journal of Chemical Information and Computer Sciences 2003; 43: 513-518
- Mazzatorta P, Vracko M, Jezierska A, Benfenati E
Modeling toxicity by using supervised Kohonen neural network.
Journal of Chemical Information and Computer Sciences 2003; 43: 485-492
- Fanelli R, Zuccato E.
Risks and benefits of PVC in medical applications.
Boll. Chim. Farmac. 2002; 141: 282-289
- Calamari D, Zuccato E, Castiglioni S, Bagnati R, Fanelli R.
Strategic survey of therapeutic drugs in rivers Po and Lambro in Northern Italy.
Environ Sci Technol. In Press.
- Espósito E, Rotilio D, Di Matteo V, Di Giulio C, Cacchio M, Algeri S.
A review of specific dietary antioxidants and the effects on biochemical mechanisms related to neurodegenerative processes.
Neurobiol. of Aging 2002; 23: 719-735
- Bucciarelli T, Sacchetta P, Amicarelli F, Petruzzelli R, Melino S, Rotilio D, Celli N and Di Ilio C
Amino acid sequence and organ distribution of the major form of toad liver glutathione transferase.
Int. J. Biochem. Cell Biol. 2002; 34: 1286-1290
- Berrie CP, Dragani KL, van der Kaay J, Iurisci C, Brancaccio A, Rotilio D and Corda D.
Maintenance of PtdIns45P2 pools under limiting inositol conditions, as assessed by LC-tandem mass spectrometry and PtdIns45P2 mass evaluation in Ras-transformed cells. Eur. J Cancer 2002; 38:2463-2475

D'Alessandro N., Tonucci L., Bressan M., Dragani L.K., Morvillo A.
 Rapid and selective oxidation of metallo-sulfophtalocyanines prior to their usefulness as precatalysts in oxidation reactions.
 Eur. J. Inorg. Chem. 2002; in press.

SELEZIONE PUBBLICAZIONI DIVULGATIVE APPARSE NELL'ANNO 2002

Benfenati E, Furnari C, Forner F, Fanelli R. Un protocollo per la caratterizzazione degli inquinanti organici in discariche di rifiuti industriali. *Acqua Aria*, 2002, 97-104.

Zuccato E, Fanelli R. Alimenti da organismi geneticamente modificati (OGM): analisi dei rischi per la salute umana. *Le Scienze*. In press.

ALTRE PRODUZIONI EDITORIALI PUBBLICATE NEL CORSO DEL 2002

Davoli E, Giavini M, Somaschini S, Gangai L, Tonelli D, Morselli P L
 A mass spectrometric approach in odour impact assessment (cd-rom version)
 In: Integrated Resources Management, 6th World Congress, EMPA Congress Proceedings, Geneva, Switzerland, February 12-15. 2002

ATTIVITA' DI RICERCA

Laboratorio di Tossicologia Molecolare

Epidemiologia Molecolare

L'attività del laboratorio è da tempo focalizzata sulla misura degli indicatori di dose biologicamente attiva e di suscettibilità ai tumori. In particolare viene studiata la formazione di addotti al DNA linfocitario o alle proteine del sangue di alcuni cancerogeni ambientali appartenenti alla classe degli idrocarburi policiclici aromatici (benzo(a)pirene), delle ammine aromatiche (4-aminobifenile), o delle ammine aromatiche eterocicliche (2-amino-1-metil-6-fenilimidazo[4,5-b]-piridina) in soggetti esposti a tali composti attraverso l'inquinamento atmosferico, il fumo passivo o la dieta. L'analisi quantitativa degli addotti è eseguita utilizzando tecniche analitiche altamente sensibili e specifiche quali la gas cromatografia o la cromatografia liquida accoppiate alla spettrometria di massa. I livelli di addotti sono messi in relazione alla presenza di polimorfismi di geni che codificano per enzimi coinvolti nel metabolismo dei cancerogeni in esame, inclusi gli enzimi di fase I (citocromi P450), gli enzimi di fase II (epossidasi, N-acetiltrasferasi, glutatione trasferasi, sulfotrasferasi) ed enzimi di riparazione del DNA. I polimorfismi genetici più frequenti nel genoma umano sono variazioni a livello di un singolo nucleotide (single nucleotide polymorphisms, SNPs) che sono usati sempre più spesso come indicatori molecolari capaci di predire le variazioni individuali nella risposta a composti esogeni tossici o cancerogeni. I genotipi vengono misurati mediante l'analisi dei

polimorfismi dei frammenti di restrizione (RFLP) dopo amplificazione di specifiche sequenze nucleotidiche dei geni in esame mediante la reazione a catena della polimerasi (PCR). L'importanza dei fattori genetici nel determinare la suscettibilità umana agli agenti cancerogeni ambientali, ha promosso una cooperazione a livello internazionale avente come scopo di reperire dati di riferimento sulla frequenza dei polimorfismi genetici più comuni per gli enzimi metabolici in popolazioni di controllo.

Proteomica in tossicologia

Sono iniziati e sono tuttora in corso studi mirati alla caratterizzazione di modificazioni del profilo proteico indotte da composti tossici ambientali. I cambiamenti del proteoma nei tessuti e organi bersaglio di animali trattati con TCDD (ad esempio il fegato di ratto) sono messi in relazione con eventuali cambiamenti funzionali che determinano l'effetto tossico. Modificazioni qualitative e quantitative del proteoma in risposta a composti tossici sono analizzate anche in altri sistemi biologici, incluse le urine, allo scopo di identificare una relazione tra effetto tossico ed eventuali markers proteici. Un'accurata analisi del proteoma ha richiesto la messa a punto di condizioni sperimentali ottimali comprendenti la preparazione del campione biologico, specifica per ogni tipo di tessuto o fluido biologico, la solubilizzazione delle proteine e la loro separazione mediante elettroforesi bidimensionale su gel di poliacrilamide. L'identificazione della proteina o la determinazione della sequenza aminoacidica dei peptidi è stata ottenuta mediante spettrometria di massa (MALDI-TOF-MS, MALDI-TOF-PSD-MS, nanoESI-MS/MS) dei prodotti di digestione con proteasi specifiche delle proteine separate.

Farmacogenetica

I singoli individui rispondono alle terapie farmacologiche in modo eterogeneo. Lo studio del genoma umano ha permesso di stabilire che buona parte di questa variabilità è determinata geneticamente. La conoscenza delle basi genetiche del metabolismo, trasporto, eliminazione e meccanismo d'azione di un farmaco dovrebbe renderne possibile la scelta e la determinazione del dosaggio in relazione alle capacità individuali di metabolizzare, rispondere ed eliminare il composto. Le variazioni individuali nella risposta ai farmaci sono determinate mediante l'analisi degli SNPs. Lo studio di questi indicatori è di grande utilità non solo per determinare la corretta dose di farmaco, ma anche e soprattutto per prevenire risposte avverse gravi.

Laboratorio di Biochimica Analitica

Proteomica

Il principale scopo della proteomica è quello identificare proteine o insiemi di proteine espresse in modo differenziale in varie condizioni fisiopatologiche, oppure a seguito di esposizione a composti tossici, ad agenti biologici, o a farmaci. La tecnica più diffusa per lo studio del proteoma è l'identificazione mediante spettrometria di massa di proteine separate mediante gel elettroforesi bidimensionale (2-DE). L'uso di banche dati è un supporto essenziale a questa attività. Il Laboratorio è attivo nella ottimizzazione delle tecniche correlate, sia quelle che riguardano la spettrometria di massa (varie tecniche complementari quali MALDI-TOF-MS, nanoESI-MS/MS and LC-MS/MS), che quelle che riguardano la preparazione del campione (es. purificazione e l'arricchimento di proteine poco abbondanti), e la caratterizzazione di modificazioni post-translazionali. Ad esempio, per le proteine glicosilate si stanno mettendo a punto tecniche complementari, sia analitiche che biochimiche, per caratterizzare i polisaccaridi legati (analisi MS dei glicani rilasciati dalla glicoproteina dopo deglicosilazione enzimatica) e i loro relativi siti di attacco alla proteina (analisi MS dei glicopeptidi rilasciati dopo digestione enzimatica della glicoproteina).

Identificazione e caratterizzazione di proteine mediante spettrometria di massa

Uno studio in corso riguarda la caratterizzazione strutturale del pattern di glicosilazione dell'alfa-1-glicoproteina acida (AGP) in pazienti tumorali. AGP è una proteina sierica abbondante che presenta una notevole microeterogeneità dovuta alle sue diverse 'glicoforme', che cambiano in diverse condizioni fisiopatologiche. Queste possono legare diversamente i farmaci, al punto da alterarne la biodisponibilità e quindi l'efficacia terapeutica in alcuni pazienti. Questo studio implica la messa a punto di tecniche analitiche estremamente complesse per ottenere possibilmente a) un profilo quali/quantitativo della complessa miscela degli N-glicani ramificati legati ad AGP, e b) l'identificazione delle posizioni che questi N-glicani occupano sui 5 siti di N-glicosilazione di AGP. Per questo studio si stanno utilizzando sia MALDI-TOF-MS che ESI-MS. Un altro studio, in collaborazione con l'Istituto Neurologico "C. Besta" riguarda l'isolamento e l'identificazione di diverse isoforme della proteina SMN (Survival of Motor Neurons), che potrebbero essere importanti nella degenerazione selettiva dei motoneuroni che si verifica nella atrofia muscolare spinale.

Analisi quantitativa di proteine mediante spettrometria di massa

L'uso della spettrometria di massa per la misura quantitativa di proteine intatte con alta specificità e sensibilità in matrici biologiche complesse rappresenta ancora oggi un difficile problema analitico. Nel Laboratorio si stanno sviluppando metodi per l'analisi quantitativa di chemochine umane [MDC1-69 (macrophage derived chemokine) e la sua isoforma troncata MDC3-69, MCP-1 (monocyte chemotactic protein 1), e IP-10 (Interferon gamma induced protein)] mediante spettrometria di massa con tecniche di 'soft ionization' (MALDI ed ESI). Con entrambe le tecniche sono già state studiate le condizioni strumentali che permettono la misura delle quattro chemochine, utilizzando le corrispondenti chemochine murine come standard interni. In particolare, è stata ottimizzata la tecnica HPLC-ESI-MS/MS con Selected Reaction Monitoring che permette di ottenere, contemporaneamente, una misura accurata e sensibile, ed informazioni strutturali.

Biomarkers di stress ossidativo

Il Laboratorio ha contribuito allo sviluppo di nuovi metodi basati sulla spettrometria di massa per la misura e lo studio strutturale di F2-isoprostani (F2-iP), biomarkers di stress ossidativo in vivo. La misura dei livelli urinari di 8-epi-PGF2alfa ha permesso di verificare la mancata azione antiossidante in vivo di un trattamento antiossidante prolungato con vitamina E, in soggetti a rischio cardiovascolare. Recentemente è stato dimostrato (con metodi post-mortem o invasivi) che in pazienti affetti da malattia di Alzheimer esiste un danno ossidativo a livello del sistema nervoso centrale. E' stato quindi valutato se questo danno ossidativo a livello centrale fosse monitorabile in modo non invasivo a livello periferico mediante la misura di 8-epi-PGF2alfa urinario in questi pazienti.

Sebbene i livelli di 8-epi-PGF2alfa urinario siano elevati in alcuni soggetti e tendano ad essere correlati alla durata malattia ed alla sua gravità, questo biomarker urinario non sembra utilizzabile in generale per monitorare il danno ossidativo a livello del sistema nervoso centrale in questi pazienti.

Sviluppo di metodi analitici in spettrometria di massa

Sono stati sviluppati nuovi metodi di analisi per la misura di farmaci e di loro metaboliti in campioni biologici, utilizzando la tecnica della spettrometria di massa accoppiata alla cromatografia liquida (HPLC-MS). Questa tecnica permette la determinazione di molecole polari e ad alto peso molecolare con alta sensibilità e, attraverso la frammentazione degli ioni pseudo-molecolari, lo studio della struttura di eventuali metaboliti e prodotti di degradazione. I farmaci maggiormente studiati sono stati: ectenaiscicina (ET743), una sostanza estratta da un

organismo marino e attiva contro alcuni tumori del fegato; L-prolil-m-L-sarcosilil-L-p-fluorofenilalanina etilestere (PSF), un antitumorale derivato dalla L-m-Sarcosina; desametasone e altri corticosteroidi; testosterone, diidrotestosterone e altri steroidi collegati da vie metaboliche.

Questi studi si sono avvalsi dell'uso di spettrometri di massa a triplo quadrupolo e a trappola ionica, equipaggiati con sorgenti di ionizzazione electrospray (ESI) e a ionizzazione chimica a pressione atmosferica (APCI).

Laboratorio di Chimica e Tossicologia dell'Ambiente

Sviluppo e utilizzo di metodologie analitiche per indagini di contaminazioni di acque, suolo, biota, campioni umani di popolazione esposta

Le ricerche sono rivolte allo sviluppo e applicazione di metodi analitici per lo studio di inquinanti ambientali in situazioni quali: ecosistemi acquatici, suoli, discariche, siti contaminati. Le analisi di inquinanti organici vengono svolte in spettrometria di massa, utilizzando la tecnica GC-MS, LC-MS, LC-MS/MS. Si effettuano sia ricerche identificative, che analisi quantitative. Gli analiti includono: diossine, PCB, PAH, analoghi polibromobifeniliteri, pesticidi, composti ad attività endocrina, inquinanti industriali, etc.

Studio di emissioni di inquinanti in atmosfera

Le ricerche sono rivolte allo studio delle emissioni di inquinanti in atmosfera. Lo studio riguarda sia il campionamento in aree circostanti la fonte di emissione, sia le analisi chimiche, sia la modellazione del trasporto in considerazione delle condizioni meteorologiche e dell'orografia, sia l'analisi del rischio sulla popolazione e l'ambiente. Le analisi di inquinanti organici vengono svolte in spettrometria di massa, utilizzando la tecnica GC-MS, con tecniche in alta risoluzione (ad esempio per diossine) che in ionizzazione negativa (ad esempio per PCB). Si effettuano sia ricerche identificative, che analisi quantitative.

Studio delle proprietà ambientali, tossiche ed ecotossiche degli inquinanti

Le ricerche sono rivolte allo studio delle proprietà degli inquinanti, reperendo le informazioni da letteratura, confrontando e valutando le diverse fonti, e, soprattutto, sviluppando modelli predittivi per sopperire alla mancanza di dati sperimentali. Infatti, per la maggior parte degli inquinanti ambientali, si assiste a una mancanza di dati. I modelli che vengono sviluppati, quindi, partono dalla sola formula chimica. La ricerca calcola e valuta i diversi tipi di descrittori e frammenti chimici relativi ai composti, ottenuti con diversi software specifici. Quindi, si sviluppano modelli utilizzando algoritmi quali reti neurali, fuzzy logic, algoritmi genetici, classificatori, analisi multivariata, etc. I vari metodi sono comparati e integrati in una struttura organica.

Analisi del rischio associato ad inquinanti

Le ricerche sono rivolte allo studio dell'analisi del rischio associato all'esposizione a contaminanti per la popolazione e l'ambiente. A tal fine si eseguono studi di modellazione del trasporto e diffusione degli inquinanti, per giungere a una concentrazione prevista nel contesto spazio-temporale. Tale attività si combina con quelle sopra esposte relative alle analisi chimiche di inquinanti e caratterizzazione della tossicità ed ecotossicità, giungendo a un costrutto organico e articolato.

Laboratorio di Spettrometria di Massa

Sviluppo di metodologie e strumentazione in campo ambientale

Vengono sviluppate metodologie analitiche e strumentazione dedicate a specifiche problematiche ambientali. Generalmente la strumentazione sviluppata, sempre basata sulla spettrometria di massa, mira ad avere sensibilità elevate per la misura di inquinanti in tracce ed ultratracce, o ad essere trasportabile per effettuare analisi in campo, o ad essere automatizzata per effettuare monitoraggi.

Caratterizzazione dell'inquinamento olfattivo

Le problematiche legate all'inquinamento olfattivo, problema sempre più sentito dalla popolazione generale, sono legate alla complessità sia della percezione degli odori, che alla formazione degli odori ambientali. Questi sono spesso il risultato della interazione di diverse sostanze odorogene che, tutte insieme, e a bassissime concentrazioni, partecipano alla formazione dell'odore. La base per lo studio dell'inquinamento olfattivo è la conoscenza delle diverse sostanze presenti in ambienti "inquinati". Sono quindi necessarie sia metodologie analitiche che permettano di identificare e misurare gli "odoranti" presenti, che metodologie chemiometriche necessarie per ricostruire informazioni utili per l'identificazione della causa principale della molestia olfattiva.

Unità di Tossicologia degli Alimenti

PCB e diossine negli alimenti

PCB e diossine sono inquinanti ambientali prioritari. Differenti nell'origine, le due classi di sostanze hanno molte caratteristiche comuni, compreso l'accumulo lungo la catena alimentare. L'alimentazione rappresenta quindi un fattore importante nell'esposizione dell'uomo a questi composti. L'Unità ha studiato l'esposizione del consumatore a PCB (e in particolare ai PCB diossino-simili) tramite gli alimenti, per stimare il rischio correlato. E' stato valutato il contenuto di PCB in alcune classi di alimenti rappresentativi in quattro differenti nazioni, per stimare le differenze nell'esposizione ai PCB nel consumatore europeo. Importante conclusione di questo studio è che l'esposizione tramite lo stesso tipo di alimento può essere differente, talora in misura sostanziale, nei diversi paesi, e che il consumo di pesce in quantitativi medio-elevati approssima e supera i limiti di sicurezza stabiliti dalla Commissione Europea. Questi risultati possono servire sia a definire il rischio effettivo per il consumatore sia a identificare misure per ridurlo, analizzando i motivi alla base delle così grandi differenze nei contenuti di PCB degli alimenti nei differenti paesi studiati.

Farmaci nell'ambiente

I farmaci rappresentano uno dei più recenti inquinanti ambientali identificati. Spesso i farmaci, escreti in parte come tali dopo l'utilizzo umano o veterinario, superano inalterati i processi depurativi dei reflui civili e si riversano quindi nell'ambiente. A ciò si aggiunge lo smaltimento improprio di farmaci inutilizzati o scaduti, e di quelli derivanti dalle produzioni industriali. I farmaci tendono così ad accumularsi nell'ambiente e possono poi ritornare all'uomo, attraverso le acque potabili o le vie alimentari. Nel 2002 è stata organizzata una campagna di misurazione di farmaci nelle acque di alcuni fiumi italiani, allo scopo di meglio definire il problema e studiare i rischi correlati. Lo studio ha avuto numerose utili ricadute. E' stato infatti utile per 1) definire le metodologie per l'organizzazione di successive campagne di monitoraggio, identificando il principio della "lista degli inquinanti prioritari" da monitorare (farmaci con elevato carico di vendita e bassa percentuale di metabolizzazione); 2) stabilire che l'inquinamento da farmaci non è un evento "casuale" o puntiforme, ma un fenomeno continuo,

governato da leggi studiabili con metodi scientifici (carichi ambientali, bilanci di massa); 3) stabilire che le concentrazioni ambientali di numerosi farmaci superano stabilmente i valori considerati di sicurezza, indicando così la necessità di studiare adatti processi avanzati per il trattamento delle acque. Tali processi di trattamento vengono attualmente studiati in collaborazione con alcune Università Italiane.

Metodi agronomici e inquinanti emergenti

I metodi di coltivazione recentemente introdotti in agricoltura hanno ampliato il già vasto orizzonte degli inquinanti ambientali, introducendo possibili inquinanti “non convenzionali”. L'introduzione degli OGM in agricoltura pone infatti sia potenziali rischi per l'ambiente sia, mediati dall'alimentazione, per l'uomo. Lo stesso vale per l'agricoltura biologica dove inquinanti non convenzionali, quali i pesticidi naturali e altri prodotti originati dalle piante (i fitochimici) e le micotossine, la cui formazione è stimolata dal mancato impiego di fungicidi, possono essere fonte di potenziali rischi sia per l'uomo sia per l'ambiente. Rischi tuttora ignoti e che quindi necessitano di studi approfonditi. L'attività portata avanti nel 2002 in questo settore è quindi consistita in un approccio “esplorativo” sui rischi degli OGM e dell'agricoltura biologica. Per quanto riguarda gli OGM è stata condotta una vasta revisione della letteratura sui possibili rischi per la salute umana. Le conclusioni della ricerca sono state che attualmente non sono identificabili rischi connessi al consumo alimentare di piante da OGM, ma che esistono dei dubbi sull'affidabilità delle attuali metodiche, sperimentali e epidemiologiche, a rilevare potenziali effetti a bassa incidenza e a lungo termine. Per contribuire a risolvere questo problema, nel 2002 sono state poste le basi teoriche di un progetto sullo sviluppo di nuove tecnologie per la valutazione della sicurezza d'uso delle piante da OGM in alimentazione. Il progetto prevede l'impiego di tecniche di genomica funzionale e di proteomica per rilevare potenziali modificazioni indotte in sistemi viventi dagli alimenti OGM. A tal fine verranno utilizzati 2 tipi di pomodori ingegnerizzati (un pomodoro ad alto contenuto di beta-carotene e un pomodoro resistente al virus CVM) e in futuro alcuni tipi di frumento. Per quanto riguarda i rischi dell'agricoltura biologica, sono state poste le basi per un progetto per la valutazione della formazione e della tossicità di alcune tossine naturali delle piante (gli allelochemicals), in relazione ai diversi metodi di produzione agricola impiegati.

Contributo alle attività regolatorie

Nel 2002 è proseguita la valutazione di monografie di prodotti fitosanitari per incarico del Ministero della Sanità a fini della registrazione Europea (inclusione nell'Annex I). La valutazione ha riguardato l'analisi dei residui negli alimenti e del “risk assessment” per l'uomo del fungicida Metiram. L'analisi è stata condotta in collaborazione con altri gruppi che hanno analizzato due altre molecole della stessa famiglia: Maneb e Mancozeb. I risultati sono successivamente stati discussi nell'ambito di un Peer review meeting (ECCO meeting 120) organizzato dalla Commissione Europea, e verranno utilizzati per le decisioni riguardanti l'inclusione nell'Annex I di questi prodotti fitosanitari. In un successivo meeting organizzato dalla Commissione Europea (ECCO meeting 128) sono state aggiornate le linee guida per fissare gli MRL (maximum residue limits) per i residui dei prodotti fitosanitari negli alimenti entro l'unione Europea (Appendix K delle linee guida della Commissione Europea).

Centro di Salute Ambientale "Gennaro Paone"

Inquinamento ambientale e alimentare da fitofarmaci

Viene studiata in particolare la contaminazione da fitofarmaci utilizzando come indicatori i livelli nelle falde acquifere, nel suolo e in diversi prodotti agroalimentari (vino, olive ed olio d'oliva, carni e latte). I monitoraggi ambientali delle acque interne, di falda e marine sono eseguiti mediante l'utilizzo di bioindicatori, oltre che con metodi chimici e microbiologici.

Biorisanamento

Viene studiato il biorisanamento di aree inquinate da fitofarmaci, con impiego di batteri capaci di degradare sostanze tossiche presenti nel suolo e nelle acque. Vengono isolati ed identificati ceppi batterici prelevati da campioni di suolo contaminati da pesticidi. Si studiano i meccanismi di detossificazione in modelli batterici mediante tecniche di genetica dei batteri.

Controllo ambientale del territorio

Da alcuni anni il Centro ha attivato un Programma pilota per il controllo della qualità dell'aria, dell'acqua e del suolo del territorio della provincia di Chieti. Tale programma rientra nell'ambito di una convenzione stipulata con l'Amministrazione Provinciale, in base alla quale il Centro gestisce la rete di monitoraggio dell'inquinamento atmosferico. Questa è costituita da tre centraline fisse, da un mezzo mobile e da una stazione di raccolta ed elaborazione dei dati. I risultati vengono riportati quotidianamente sul sito Internet del Centro. Nell'ambito delle collaborazioni con la Provincia di Chieti, sono stati avviati monitoraggi dei fiumi e delle acque costiere provinciali, ed uno studio sulle emissioni dei mezzi di trasporto pubblico alimentati con Biodiesel.

Ricerche in campo agroalimentare

E' stato condotto uno studio per l'identificazione e l'analisi quantitativa delle diverse classi di polifenoli presenti nei vini e negli oli abruzzesi e molisani, allo scopo sia di valutarne gli effetti, sia di caratterizzare determinati prodotti agricoli non solo da un punto di vista organolettico, ma anche da quello nutrizionale. Le analisi qualitative e quantitative sono state effettuate con metodiche che utilizzano la gas cromatografia, la cromatografia liquida, l'elettroforesi capillare, la spettroscopia di assorbimento atomico e la spettrometria di massa.

Ricerche in campo biomedico

Sono in corso ricerche in vivo ed in vitro sulla cinetica e sugli effetti di sostanze antitumorali di sintesi e/o naturali. Lo studio delle biomolecole (peptidi, proteine ed acidi nucleici) viene svolto sia per mezzo delle metodiche tradizionali che con l'ausilio della spettrometria di massa con ionizzazione a pressione atmosferica.

DIPARTIMENTO DI NEUROSCIENZE

PERSONALE

Capo Dipartimento Gianluigi FORLONI, Dr.Sci.Biol.

Laboratorio di Biologia delle Malattie Neurodegenerative

Capo Laboratorio Gianluigi FORLONI, Dr.Sci.Biol.

Laboratorio di Infiammazione e Malattie del Sistema Nervoso

Capo Laboratorio Maria Grazia DE SIMONI, Dr.Sci.Biol.

Laboratorio di Malattie Neurologiche

Capo Laboratorio Ettore BEGHI, Dr.Med.Chir.

Laboratorio del Metabolismo dei Farmaci

Capo Laboratorio Silvio CACCIA, Dr.Farm.

Laboratorio di Neurobiologia Molecolare

Capo Laboratorio Caterina BENDOTTI, Dr.Farm.

Laboratorio di Neurologia Sperimentale

Capo Laboratorio Annamaria VEZZANI, Dr.Sci.Biol.

Laboratorio di Neuropsichiatria Geriatrica

Capo Laboratorio Ugo LUCCA, MSc

Unità di Epidemiologia e Psichiatria Sociale

Capo Unità Barbara D'AVANZO, Dr.Filo.

Unità di Epidemiologia Geriatrica

Capo Unità Mauro TETTAMANTI, Dr.Sci.Biol.

Unità di Farmacologia Geriatrica

Capo Unità Emma RIVA, Dr.Med.Chir.

Unità di Valutazione della Qualità dei Servizi per l'Anziano

Capo Unità Alessandro NOBILI, Dr.Med.Chir.

Unità del Dipartimento

Unità di Farmacologia Comportamentale

Capo Unità

Luigi CERVO, Per.Chim.

Unità del Comportamento Cognitivo

Capo Unità

Mirjana CARLI, Per.Chim.

Unità di Microdialisi Intracerebrale

Capo Unità

Roberto William INVERNIZZI, Dr.Sci.Biol.

INTRODUZIONE ALLE ATTIVITA' DEL DIPARTIMENTO

Il Dipartimento di Neuroscienze è strutturato in sette Laboratori e tre Unità di Dipartimento, le attività di ricerca riguardano lo studio delle malattie neurologiche e psichiatriche affrontato dal punto di vista delle basi biologiche, di alcuni aspetti clinici e della valutazione dei servizi sanitari. Accanto a queste attività, nel Dipartimento sono presenti competenze più generali, non riconducibili esclusivamente all'ambito neurologico, che riguardano la farmacocinetica, l'informazione sull'uso dei farmaci e l'elaborazione di trials clinici e di studi epidemiologici. Tradizionalmente una parte del Dipartimento si è dedicata alla creazione di modelli sperimentali per lo studio dei meccanismi patogenetici e dei possibili interventi terapeutici che riguardino le malattie neurodegenerative come Alzheimer e malattie da prioni, neurologiche come l'epilessia o psichiatriche come la depressione. Più recentemente si sono sviluppati e consolidati progetti di ricerca per lo studio della sclerosi laterale amiotrofica (SLA), l'ictus cerebrale e le sostanze d'abuso. Per quanto riguarda gli aspetti clinici diverse di queste patologie sono oggetto di studi epidemiologici come epilessia, SLA e Alzheimer e di clinical trials per la valutazione dell'efficacia di trattamenti farmacologici. Le attività del Dipartimento mirano ad una integrazione delle diverse competenze per lo sviluppo di progetti multidisciplinari. L'obiettivo è di dare risposte integrate sul piano della conoscenza, della terapia e della pratica clinica alle complesse tematiche, in gran parte irrisolte, proposte dalle malattie del sistema nervoso.

SCOPERTE/RISULTATI PRINCIPALI

Sono state identificate una mutazione sul gene che codifica per presenilina 1 e una mutazione sul gene che codifica per la proteina precursore dell'amiloide associate a forme familiari di Alzheimer.

Alcune tetracicline sono in grado di ridurre l'infettività da prioni e di rendere la proteina prion patologica meno resistente alla digestione con proteinasi K.

a-sinucleina a concentrazioni nanomolari svolge un ruolo protettivo nei confronti della cellula nervosa che non viene alterato nelle forme mutate associate a Morbo di Parkinson.

E' stata identificata una rara mutazione del gene che codifica per nicastrina una nuova proteina coinvolta nella fisiopatologia dell'Alzheimer, la mutazione non sembra però avere carattere patogenetico.

Le mutazioni del gene che codifica per parkina, che in omozigosi sono associate con un ruolo causale al Morbo di Parkinson, in forma eterozigote sembrano essere un fattore di rischio per la malattia.

Il complemento e i sistemi infiammatori associati sono importanti nel danno cerebrale da ischemia/riperfusion.

Le eparine prevengono gli effetti infiammatori e citotossici della beta-amiloide.

Alti livelli di omocisteina nel plasma e relativamente bassi livelli di folati nel siero sono associati a un elevato rischio di malattia di Alzheimer e di demenza vascolare. Basse concentrazioni di folati sono inoltre associate anche a mild cognitive impairment.

E' stata dimostrata una migliore efficienza organizzativa e gestionale delle strutture con Nucleo Alzheimer rispetto alle strutture che ne sono prive.

Miglioramento dello stress e del carico assistenziale del caregiver del malato di demenza in seguito a un intervento di counseling.

L'uscita dall'ospedale psichiatrico di un gruppo di pazienti con livelli di gravità elevata e il loro inserimento in strutture psichiatriche del territorio, molte delle quali con presenza solo diurna del personale, ha prodotto esiti nel complesso positivi caratterizzati dalla diminuzione della mortalità, dall'assenza di peggioramenti della sintomatologia e dal miglioramento nel comportamento sociale generale.

I pazienti inviati in struttura residenziale hanno, rispetto a pazienti non inviati, un livello di funzionamento globale inferiore, esprimono più bisogni di assistenza nelle attività quotidiane, hanno rapporti più difficili con la famiglia. Le strutture residenziali non sembravano venire utilizzate per pazienti non serviti, ma per pazienti con necessità di trattamento prolungato.

I pazienti con epilessia hanno un rischio di incorrere in malattie e/o incidenti in misura significativamente superiore a quello di soggetti senza epilessia. Malattie ed incidenti sono spesso correlate alla ricorrenza di crisi.

L'alcool non rappresenta un fattore di rischio per l'insorgenza di una prima crisi epilettica in soggetti con trauma cranico, ictus cerebri o neoplasia cerebrale.

Pazienti con epilessia in monoterapia liberi da crisi da almeno due anni presentano all'interruzione del trattamento un maggior rischio di ricorrenza di crisi rispetto ai pazienti che decidono di continuare la terapia. La gravità della malattia e la durata del periodo di remissione sono predittori significativi del rischio di ricorrenza.

I costi sanitari dell'epilessia sono diversi da caso a caso, variano nel tempo e sono influenzati significativamente dalla gravità della malattia e dalla sua risposta al trattamento.

La correttezza della diagnosi di sclerosi laterale amiotrofica tende a variare significativamente a seconda dei dati anamnestici e clinici disponibili, del grado di conoscenza della malattia da parte del medico, e della dimestichezza che questi ha con i criteri diagnostici attualmente in uso.

La cefalea cronica è un sintomo frequente tra gli assistiti dei medici di famiglia. In tali pazienti il consumo di risorse sanitarie per la diagnosi e per la terapia della cefalea dipende dalla gravità del sintomo e dalla sua interferenza con le attività della vita di relazione.

Specifici recettori del neuropeptide Y e della somatostatina mediano l'attività anticonvulsivante di questi peptidi endogeni. Questa evidenza è importante per lo sviluppo di farmaci anticonvulsivanti completamente diversi da quelli attualmente disponibili.

Alcune citochine proinfiammatorie sono coinvolte nella modulazione dell'attività epilettica nei modelli sperimentali evidenziando un meccanismo coinvolto nell'eziopatogenesi delle convulsioni fino ad ora sconosciuto.

Alcune proteine di trasporto dei farmaci sono funzionalmente attivate dalle convulsioni ed hanno un ruolo significativo nel diminuire le concentrazioni cerebrali dei farmaci antiepilettici nei modelli sperimentali.

L'attivazione di P-38 MAPK può essere un fattore patogenetico della SLA.

Un farmaco inibitore dei recettori AMPA del glutammato migliora il decorso della patologia e la sopravvivenza nei topi modello di SLA.

I bloccanti dei recettori 5-HT1A della serotonina, sono in grado di migliorare le funzioni cognitive ed i disturbi di attenzione.

I recettori 5-HT2A modulano l'attenzione e le funzioni esecutive della corteccia prefrontale.

Il trattamento cronico con farmaci antidepressivi desensibilizza l'autorecettore serotoninergico 5-HT1A e/o α_2 -adrenergico.

I recettori 5-HT2c inibiscono in modo tonico e fasico il rilascio di dopamina corticale.

Farmaci con attività agonista parziale sui recettori dopaminergici D3 sono in grado di modulare, negli animali da esperimento, il comportamento di ricerca della sostanza d'abuso alla comparsa di stimoli ambientali associati all'assunzione di cocaina.

L'iperforina contribuisce all'azione dell'estratto idrometanolico di *Hypericum perforatum* L. in un modello animale predittivo dell'attività antidepressiva.

COLLABORAZIONI NAZIONALI

Assessorato alla Sanità della Regione Lombardia
 Associazione per la Ricerca Neurogenetica, Lamezia Terme (CS) e ASL 6, Regione Calabria
 Azienda Ospedaliera "Santa Maria della Misericordia", Udine.
 Clinica IRCSS S. Maria Nascente, Milano
 Clinica S. Maria, Castellanza (VA).
 DIBIT, San Raffaele Scientific Institute, Milano.
 Dipartimento di Chimica Biologica, Università di Padova
 Dip. Endocrinologia, Università di Milano
 Dipartimento Farmaco Chimico Tecnologico, Università di Siena.
 Dipartimento di Neurologia Università di Milano, Ospedale Luigi Sacco,
 Dipartimento di Patologia, Università di Udine, Udine
 Dipartimento di Salute Mentale di Trieste
 Dipartimento di Salute Mentale dell'Azienda Ospedaliera Salvini di Garbagnate
 Dipartimento di Salute Mentale dell'Azienda Ospedaliera San Gerardo di Monza
 Dipartimento di Salute Mentale dell'Azienda Ospedaliera di Milano Niguarda
 Dipartimento di Salute Mentale dell'Azienda Ospedaliera di Milano San Carlo
 Federazione Alzheimer Italia, Milano.
 Fondazione Floriani, Milano.
 Hospice "Domus Salutis", Brescia.
 Hospice "via di natale", Aviano (PN).
 IRCSS "Casa Sollievo della Sofferenza", San Giovanni Rotondo

IRCSS "San Raffaele", Milano
 Istituto Europeo di Oncologia, IRCCS, Milano.
 Istituto di Farmacologia e Farmacognosia, Università di Urbino.
 Istituto di Farmacologia, Università di Milano.
 Istituto di Economia Sanitaria
 Istituto Nazionale Neurologico "Carlo Besta", Milano
 Istituto Neurologico "Casimiro Mondino", Pavia
 Istituto "Stella Maris", IRCCS, Calambrone (PI)
 Istituto Superiore di Sanità, Roma
 Istituto Zooprofilattico Piemonte Liguria Val D'Aosta, Torino
 Neuromed, IRCCS, Pozzilli, Isernia.
 Ospedale "Casa Sollievo della Sofferenza", S. Giovanni Rotondo (FG).
 Ospedale di Niguarda, Milano.
 Ospedale "Molinette", Torino
 Pio Albergo Trivulzio, Milano.
 Polo Oncologico, ASL 12, Biella.
 Regione Lombardia, Milano.
 Società Italiana di Psichiatria
 Unione Nazionale delle Associazioni per la Salute Mentale
 Università degli Studi di Foggia
 Università Cattolica del Sacro Cuore di Roma
 Università del Piemonte Orientale, Novara
 Università di Genova, Genova
 Università di Milano, IRCCS Ospedale Maggiore, Milano
 Università degli Studi di Milano, Azienda Ospedaliera S. Paolo, Milano
 Università Milano-Bicocca, Monza
 Università di Torino

COLLABORAZIONI INTERNAZIONALI

Albert Einstein College of Medicine, Bronx, NY, USA
 Beaumont Hospital, Dublin, Ireland
 CCDAN Group (Cochrane Collaboration Depression, Anxiety and Neurosis Group)
 Center Molecular Medicine (ZMMK) and Institute for Genetics, University of Cologne, Germany.
 Centre for Neuroscience Research and Division of Biomolecular Sciences, GKT School, King's College, London, UK
 Centro per lo Studio delle Malattie Dismetaboliche e delle Iperlipidemie, Ospedale della Beata Vergine, Mendrisio, Switzerland
 Chorley & South Ribble General Hospital, Chorley, UK
 Columbia Univ, Haverstraw, NY, USA
 Departement de Recherche Medicale, Centre de Recherches du Service de Sante Fontenay-aux-Roses, France
 Department of Cell Biology, Washington University, St Louis, USA
 Department of Chemistry, The Australian National University, Canberra City, Australia
 Department of Experimental Psychology, University of Cambridge, UK
 Department. of Physiology, The Johns Hopkins University School of Medicine, Baltimore, MD, USA
 Department of Psychiatry, Medical Center University of Mississippi, Jackson, USA

Department of Veterinary Pathology, Glasgow University Veterinary School, Glasgow (UK)
 Duke University, Durham, NC, USA
 Governo della Repubblica Greca
 Imperial College School of Medicine, Rheumatology Section, London, UK
 Inserm Unite' 549, Paris, France
 Institut de Pharmacologie Moléculaire et Cellulaire UMR6097 Valbonne, France
 Jefferson Med Coll, Philadelphia, USA
 Karolinska Institutet, Stockholm, Sweden
 Northern Illinois University, DeKalb, IL, USA
 Novartis Pharma, Basel, Switzerland
 Royal Manchester Children's Hospital, Manchester, UK
 Sergievsky Center, Columbia University, New York, NY, USA
 Servizio di Geriatria, Ospedale della Beata Vergine, Mendrisio, Switzerland
 The Scripps Research Institute, La Jolla, California, USA
 Univ of California at Irvine, Irvine, CA, USA
 University of Cardiff, United Kingdom
 Univ of Colorado, Denver, USA
 University Hospital, London, ON, Canada
 Univ of Innsbruck, Innsbruck, Austria
 Univ of Maryland, Baltimore, USA
 University of Maastricht, the Netherland
 University of Melbourne, Austin and Repatriation Medical Centre Heidelberg, Melbourne, Australia
 University of Rijeka Medical School, Rijeka, Croatia
 Université Victor Segalen, Bordeaux, France
 Walton Hospital, Liverpool, UK
 WAPR (World Association for Psychosocial Rehabilitation)
 World Health Organization
 Virtanen Institute for Molecular Sciences, University of Kuopio, Finland
 Vrije Universiteit Medical Center, Amsterdam, The Netherland

PRESENZA IN COMITATI EDITORIALI

Biochemical Journal (Forloni)
 Brain Aging (Forloni)
 Clinical Drug Investigation (Beghi)
 Cochrane Collaboration, Epilepsy (Beghi)
 Drugs in R & D (Beghi)
 Inpharma (Beghi)
 Journal of Neurochemistry (Bendotti)
 Neuroepidemiology (Beghi)
 Psichiatria di Comunità (D'Avanzo)

ATTIVITA' DI REVISIONE

Biochemical Journal
 Brain Research
 Brain Res Bulletin
 British Journal of Pharmacology
 Clinical Drug Investigation
 Clin Pharm Ther
 CNS Drugs
 Drugs
 Epilepsia
 Epilepsy & Behavior
 Eur. J. Neuroscience
 Eur J Pharmacology
 European J. Public Health
 FASEB Journal
 Fundamental Clinical Psychopharmacology
 Giornale di Neuropsichiatria dell'Età Evolutiva
 J. Cell. Biology
 J. Neurochemistry
 J. Neuroimmunology
 J. Neurology, Neurosurgery and Psychiatry
 J. Neuroscience
 J. Psychosomatic Research
 Neurology
 Neurological Sciences
 Neurobiology of Aging
 Neuroscience
 Neuroscience Letters
 Pharmacological Research
 Proc Natl Acad Sci, USA
 Psychopharmacology
 The Annals of Pharmacotherapy
 Trend Molecular Medicine

PRESENZA IN COMMISSIONI NAZIONALI E INTERNAZIONALI

Agenzia Europea di Valutazione dei Medicinali (EMA)
 Commissione sulla Health Care Policy della Lega Internazionale contro l'Epilessia (ILAE)
 International Committee su "Epilepsy and the Law"
 Gruppo di Studio sull'Epilessia della Società Italiana di Neurologia (SIN)
 Esperto Commissione Unica del farmaco – Ministero della Salute
 Neuroepidemiology Section della American Academy of Neurology (Chair)
 Commissioni per la valutazione di progetti del WP5 della EC

ORGANIZZAZIONE DI EVENTI

XI Convegno Nazionale della Associazione Italiana di Neuroepidemiologia, Baveno (NO) 14-16 marzo 2002

European Conference of World Association for Psychosocial Rehabilitation (WAPR), Roma, 6-8 giugno 2002, "Psychiatric Rehabilitation: challenges and controversies"

Sezione Annuale della Associazione Italiana di Neuroepidemiologia, XXXIII Convegno Nazionale della Società Italiana di Neurologia, Napoli 14-18 settembre 2002

PARTECIPAZIONE AD EVENTI CON CONTRIBUTI DEL DIPARTIMENTO

Convegno Regionale S.I.N. – S.N.O. Corso d'aggiornamento su malattia di Parkinson e registro stroke. Ragusa, 1-2 febbraio 2002.

Università degli Studi di Foggia – Facoltà di Medicina e Chirurgia: Corso di perfezionamento "L'Epilessia" 16-22 febbraio 2002.

Ministry of Health and Welfare, Hellenic Republic, Conference on "Transformation processes of psychiatric hospitals: decentralization and resource management, Atene, 22-23 febbraio 2002: The case of the Antonini Psychiatric Hospital of Milan.

XI Convegno Nazionale di Neuroepidemiologia 14-16 marzo 2002, Baveno (Verbania). La demenza e la malattia di Alzheimer negli studi italiani di prevalenza. Revisione della letteratura e pooling dei dati.

Italian-Australian Technological Innovations Conference & Exhibition 2002 (IATICE). March 25-28, 2002, Melbourne, Australia.

Animal Models for the Pharmaceutical Research, "The inflammatory response in brain ischemia: studies on a murine model".

The New Prion Biology, basic science diagnostic and therapy. Venezia 10-11 Aprile 2002. Biological effects and chemicophysical features of synthetic prion protein peptides.

54th Annual Meeting of the American Academy of Neurology. Denver April 13-20, 2002.

Regional North American Annual Meeting of the World Federation of Neurology – Research Group on Neuroepidemiology. Denver April 17, 2002.

70e Assemblée Annuelle de la Société Suisse de Médecine Interne 25-27 aprile 2002, Ginevra. Taux de 25(OH) vitamine D (Calcidiol) et fonction musculaire chez des sujets ages hospitalises dans un service de geriatric aigue. Plasma total homocysteine, dementia and mild cognitive impairment.

Università degli Studi di Siena – Dipartimento di Neuroscienze Sezione di Neurologia: "Siena Workshop on Epilepsy". Siena, 10-11 maggio 2002.

XXXVIII Congresso Associazione Italiana Neuropatologia – Napoli, 29/5-1/6,2002.
Erythropoietin preserves motor function in a transgenic mouse model of familial ALS.

FENS- Luglio 2002, Parigi. Effect of human SOD1G93A on glutamate uptake in cultured mouse primari astrocytes.

European Conference of World Association for Psychosocial Rehabilitation (WAPR), Roma, 6-8 giugno 2002, “Psychiatric Rehabilitation: challenges and controversies”, symposium on “Schizophrenia: is this definition still useful?”

Centro Congressi e Didattica dell’IRCCS Fondazione Santa Lucia – Roma, 10 giugno 2002:
“Sclerosi Laterale amiotrofica: la ricerca italiana”.
Meccanismi di neurodegenerazione nella SLA: alterazioni mitocondriali e aggregati proteici.

12° Corso di Genetica Medica – 12th Course of Medical Genetics. Ospedale “Casa Sollievo della Sofferenza”, San Giovanni Rotondo. 13-15 giugno 2002.

VI Riunione Convegno Annuale ITINAD Sorrento 18-20 giugno 2002
Basi genetiche della demenza di Alzheimer.

8th International Conference on Alzheimer’s Disease and Related Disorders 20-25 luglio 2002, Stoccolma.

First results from a long-term observational study on donepezil efficacy.

Cognitive profile of questionable dementia lies between normal aging and mild dementia. First results from a long-term observational study on donepezil efficacy.

The effect of structured intervention on caregivers of patients with dementia – Results of a randomized study.

Anti-amyloidogenic effect of tetracyclines in alzheimer disease models

Novel pathogenic mutation in an italian patient with familial alzheimer’s disease detected in 4pp gene.

Neurotoxic and gliotrophic properties of synthetic prion protein (PrP) peptide prp82-146

Contribution of different regions of PrP amyloid protein to b-sheet conformation and fibrillogenesis

Development and characterization of PC12 cell lines allowing inducible expression of prion proteins carrying pathogenic mutations

Synthetic miniprion PrP106

Nicastrin gene in familial disease

Pure spastic paraparesis associated with a novel presenilin 1 R278K mutation

Tetracyclic compounds as possible therapeutic strategy for variant Crutzfeldt-Jakob disease

Meeting- Modelli transgenici per lo studio delle malattie neurodegenerative sistemi d’indagine “in vivo” ed “ex vivo, 11 Settembre 2002, Napoli.

Topi transgenici che sovraesprimono il gene umano della superossido dismutasi Cu/Zn dipendente con mutazione in G93A (SOD1G93A) come modello di Sclerosi Laterale Amiotrofica.

XXXIII Congresso della Società Italiana di Neurologia (SIN). Napoli, 14-18 Settembre 2002.

Biology of TSE, Edimburgh 17-21 Settembre 2002

Tetracyclines affect abnormal properties of PrPsc and reduce prion infectivity.

Unravelling the pathogenesis of TSE using PrP peptides

“Epilessia Lombardia 2002”. Riunione Annuale, Lega Italiana Contro l’Epilessia – ONLUS Sezione Lombardia. 20-21 Settembre 2002, Centro Congressi Villa Alba Gardone Riviera (Brescia).

XIX International Complement Workshop, September 22-26, 2002, Palermo

"C1-Inhibitor Prevents Brain Ischemia-Reperfusion Injury in a C1q Independent Manner".

IV Congresso nazionale, Consensus conference Coordinamento nazionale Centri Diurni in Psichiatria, “Il filo e la trama”, Padova 3-4 ottobre 2002:

Stato dell’arte della semiresidenzialità nella prospettiva internazionale

15° Congress of the European College of Neuropsychopharmacology. Barcellona 5-9 ottobre, 2002. Anti-amyloidogenic effect of tetracyclines in Prion and Alzheimer disease models.

5th European Congress on Epileptology, Palacio de Congressos de Madrid – October 6th-10th Madrid 2002.

Centre Hospitalier Spécialisé de la Savoie, Réunion scientifique “Psychiatrie publique: entre proximité et spécialisation, Chambéry, 11 ottobre 2002: Organisation des prises en charge en santé mentale en Italie.

ALS 2002 – MILANO Emerging perspectives from clinical and basic science, 18-19 Oct.2002, Milano. Mitochondrial alterations and excitotoxicity in a mouse model of familial ALS.

Programma nazionale per la formazione continua degli operatori della Sanità: “L’epilessia nell’anziano”, Vizzolo Predabissi – 19.10.2002.

LIMPE Congresso Nazionale XXIX Riunione Lecce 23-35 ottobre 2002

Basi biologiche delle sinucleinopatie.

Society for Psychotherapy Research, sezione italiana, convegno “La ricerca in ambito psicoterapico e la ricerca in ambito biologico per il trattamento della schizofrenia, Roma 8-9 novembre 2002: Il problema degli indicatori di esito negli studi sugli interventi psicosociali nella schizofrenia: un’analisi critica.

Congresso nazionale SIEP, Campobasso, 17-18 ottobre 2002: Studio sui costi delle strutture residenziali psichiatriche in Lombardia: dati del progetto RESPIL; Studio longitudinale sui pazienti ammessi in strutture residenziali psichiatriche dopo la chiusura degli ospedali psichiatrici di Milano e Limbiate; Appropriatezza e costi dei trattamenti nelle residenze psichiatriche della Lombardia.

VII Congresso nazionale Società italiana di riabilitazione psicosociale “La sfida della riabilitazione psicosociale in una società che cambia ed evolve”, Fiuggi 4-9 novembre 2002: Il ruolo delle società scientifiche in una sanità che cambia ed evolve;

2° Congresso Nazionale della Società Italiana per lo Studio dello Stroke (SISS).
Cerebrovascular Diseases. November 8-10, 2002, Genova.
Molecular Mechanisms of Inflammation and their Relevance in ischemia.

L.I.C.E. Lega Italiana contro l'Epilessia – Abbazia di Sesto al Reghena (Pordenone). 9
Novembre 2002.

13th International symposium on ALS /MND, 16-19 November 2002, Melbourne, Australia.
Studies in vivo on susceptibility of motor neurons to blockade of glutamate transporters by slow
infusion of PDC in mice.

Beneficial effects of acetyl-L-carnitine, on motor performance in a transgenic mouse model of
familial ALS.

Late therapy with ampa receptor antagonist ZK187638 improves the neuromuscular impairment
and the survival in experimental mouse models of motor neuron disorders.

Proteomic analysis of differential protein expression and postranslational modifications in a
G93A SOD1 transgenic mouse model of familial ALS.

Human SOD1(G93A) decreases 3H-D-aspartate uptake in cultured mouse primary astrocytes.
Conclusive remarks.

World Association for Psychosocial Rehabilitation (WAPR), 3d Philippines National
Convention, Manila 28-29 novembre 2002: The transition from hospital to community-based
care.

Colloque GraphPsy “Droit et Psychiatrie”, Avignone 28 novembre 2002: L’utilisation du
‘Traitement psychiatrique sanitaire obligatoire’, concept original du droit italien, et
conséquences pour les patients.

Seminario “Strutture residenziali e salute mentale”, Perugia 13-14 dicembre 2002: I predittori di
dimissione in una coorte di 1792 pazienti delle strutture psichiatriche residenziali della
Lombardia: lo studio prospettico del Progetto RESPIL.

Società Italiana di Psichiatria, Sezione Ligure, convegno “Salute mentale e psichiatria di
comunità: la prospettiva italiana e internazionale”, Genova 14 dicembre 2002: Epidemiologia
delle malattie mentali e caratteristiche dei sistemi di cura nella prospettiva internazionale.

CONTRIBUTI E CONTRATTI

Amgen, Milano

Associazione per la Ricerca Neurogenetica, Lamezia terme (CS)

Azienda Ospedaliera Niguarda, Milano

Azienda Ospedaliera S. Paolo, Milano

Azienda “Santa Maria della Misericordia”, Udine

Azienda Ospedaliera San Carlo, Milano

Azienda Ospedaliera San Gerardo, Monza

Biomed, European Community

Boehringer Ingelheim, Germany

FIRB, Ministero della Ricerca Scientifica

Federazione Alzheimer, Milano

Fondazione Cariplo

Fondazione Mariani
 Fondazione Monzino
 Glaxo-SmithKline, Italia
 Hospice "via di Natale", Aviano (PN)
 Human Frontiers Science Programme
 Indena SpA
 Lundbeck, Denmark
 Ministero della Salute
 Ministero della Ricerca Scientifica
 Motoneuron Diseases Association
 Newron
 Ospedale "Casa Sollievo" di San Giovanni Rotondo
 Progetti Strategici IRCCS - Ministero della Salute
 Pharmacia Italia
 Pio Albergo Trivulzio, Milano
 Pfizer Italia, Roma
 Regione Lombardia, Assessorato alla famiglia e Solidarietà Sociale, Milano
 Rimoldi e Bergamini
 Sigma-Tau SpA
 STAKES (National Research and Development Centre for Welfare and Health, Finland)
 Telethon
 UCB-Pharma

SELEZIONE PUBBLICAZIONI SCIENTIFICHE APPARSE NELL'ANNO 2002

Arabia AM, Catapano L, Storini C, Perego C, De Luigi A, Head GA and De Simoni M G. Impaired central stress-induced release of noradrenaline in rats with heart failure: A microdialysis study. *Neuroscience*, 114: 591-599 (2002)

Bogliun, G., E. Beghi for the Italian GBS Registry Study Group. Validity of hospital discharge diagnoses for public health surveillance of the Guillain-Barré syndrome. *Neurol Sci* 23: 113-117 (2002)

Balducci C, Nurra M, Pietropoli A, Samanin R, Carli M
 Reversal of visual attentional dysfunction after AMPA lesions of the nucleus basalis magnocellularis (NBM) by cholinesterase inhibitors donepezil and by a 5-HT_{1A} receptor antagonist WAY 100635. *Psychopharmacology* In Press

Beghi, E., P. Spagnoli, L. Airoidi, E. Fiordelli, I. Apollonio, G. Bogliun, A. Zardi, F. Paleari, P. Gamba, L. Frattola, L. Da Prada. Emotional and affective disturbances in patients with epilepsy. *Epilepsy & Behavior* 3: 255-261 (2002)

Beghi, E., C. Cornaggia, and the RESt-1 Group. Morbidity and accidents in patients with epilepsy: results of a European cohort study. *Epilepsia*; 43: 1076-1083 (2002)

Beghi, E., C. Balzarini, G. Bogliun, G. Logroscino, L. Manfredi, L. Mazzini, A. Micheli, A. Millul, M. Poloni, R. Riva, F. Salmoiraghi, C. Tonini, E. Vitelli and The Italian ALS Study Group. Reliability of the El Escorial diagnostic criteria for amyotrophic lateral sclerosis. *Neuroepidemiology* 21: 266-270 (2002)

Begley, CE., E. Beghi. The economic cost of epilepsy: a review of the literature. *Epilepsia*; 43 (Suppl. 4): 3-9 (2002)

Bendotti C., Cole S.E., Gobbi M., Hohmann C., Reeves R.H. Overexpression of S100B In Transgenic Mice Does Not Protect From Serotonergic Denervation Induced by 5,7-Dihydroxytryptamine (5,7-DHT)" *J. Neurosci. Res.*, 67:501-510, (2002)

Bonetto V, Massignan T, Chiesa R, Morbin M, Mazzoleni G, Diomede L, Angeretti N, Colombo L, Forloni G, Tagliavini F, Salmona M.

Synthetic miniprion PrP106.

J Biol Chem.277:31327-34. (2002)

Bergamaschini L., Donarini C., Rossi E., De Luigi A., Vergani C. and De Simoni M.G. Heparin attenuates cytotoxic and inflammatory activity of Alzheimer amyloid-beta in vitro. *Neurobiol Aging*, 23: 531-536 (2002)

Caccia S. New antipsychotic agents for schizophrenia: Pharmacokinetics and metabolism update. *Current Opinion Investigational Drugs* 3: 1073-1080 (2002)

Cervo L, Rozio M, Ekalle Soppo C B, Guiso G, Morazzoni P, Caccia S

Role of hyperforin in the antidepressant-like activity of *Hypericum perforatum* extracts *Psychopharmacology (Berl)* 164: 423-428 (2002)

Cervo L, Rozio M, Ekalle Soppo C B, Carnovali F, Santangelo E, Samanin R. Stimulation of serotonin1B receptors induces conditioned place aversion and facilitates cocaine place conditioning in rats *Psychopharmacology (Berl)* 163: 142-150 (2002)

D'Avanzo B, Barbato A, Barbui C, Battino N, Civenti G, Frattura L: Discharges of patients from public psychiatric hospitals in Italy between 1994 and 2000. *Int J Soc Psychiatry*, In Press

D'Avanzo B, La Vecchia C, Negri E: Mortality in long-stay patients from psychiatric hospitals in Italy. Results from the Qalyop Project. *Soc Psychiatry Psychiatr Epidemiol*, In Press

Guaiana G, D'Avanzo B, Barbui C: Update of suicide trends in Italy from 1986 to 1996. *Soc Psychiatry Psychiatr Epidemiol* 37: 267-270 (2002)

De Deurwaerdere P, Cervo L, Stinus L, Spampinato U

Central 5-HT4 receptors and dopamine-dependent motor behaviors: Searching for a functional role *Pharmacol Biochem Behav* 71: 627-633 (2002)

De Luigi A, Pizzimenti S, Quadri P, Lucca U, Tettamanti M, Fragiaco and De Simoni MG Peripheral inflammatory response in Alzheimer's disease and multi-infarct dementia. *Neurobiol Disease*, 11: 308-314, (2002).

De Simoni M.G., Milia P., Barba M., De Luigi A, Parnetti L. and Gallai V. The inflammatory response in cerebral ischemia: focus on cytokines in stroke patients. *Clin Exp Hypertension*, 24: 535-542, (2002).

Fernando S.F., Conforti L., Tosi S., Smith A.D. and Coleman M.P. Human homologue of a gene mutated in the slow Wallerian degeneration (C57BL/Wlds) mouse. *Gene*, 284:23-29 (2002)

Forloni G, Terreni L., Bertani I, Fogliarino S., Invernizzi R., Assini A., Ribizzi G., Negro A., Calabrese E., Volonté M.A., Mariani C., Franceschi M. Tabaton M. and Bertoli A. Protein misfolding in Alzheimer's and Parkinson's disease: genetics and molecular mechanisms. *Neurobiology of Aging*, 23: 957-976 (2002)

Forloni G, Iussich S, Awan T, Colombo L, Angeretti N, Girola L, Bertani I, Poli G, Caramelli M, Grazia Bruzzone M, Farina L, Limido L, Rossi G, Giaccone G, Ironside JW, Bugiani O, Salmona M, Tagliavini F Tetracyclines affect prion infectivity.

Proc Natl Acad Sci U S A 99:10849-54 (2002)

Gobbi, M., Moia, M., Pirona, Ceglia, I., L., Reyes-Parada, M., Scorza, C., and Mennini, T. p-Methylthio-amphetamine and 1-(m-chlorophenyl)-piperazine, two non-neurotoxic 5-HT releasers in vivo, differ from neurotoxic amphetamine derivatives in their mode of action at 5-HT nerve endings in vitro. *J.Neurochem*, 82: 1435-1443 (2002),.

Iemolo, E., E. Beghi, C. Cavestro, A. Micheli, A. Giordano, E. Caggia. Incidence, risk factors and short-term mortality of stroke in Vittoria, southern Italy. *Neurol Sci* 23: 15-21 (2002)

Leone, M., C. Tonini, G. Bogliun, F. Monaco, R. Mutani, E. Bottacchi, P. Gambaro, E. Rocci, T. Tassinari, C. Cavestro, E. Beghi, for the ARES Study Group. Chronic alcohol use and first symptomatic epileptic seizures. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 73: 495-499 (2002)

Leone, M., E. Bottacchi, E. Beghi, E. Morgando, R. Mutani, R. Cremonesi, L. Ravagli Ceroni, I. Floriani for the Alcohol and Epilepsy Study Group. Risk factors for a first generalized tonic-clonic seizure in adult life. *Neurol Sci*; 23: 99-106 (2002)

Lindskog M, Svenningsson P, Pozzi L, Kim Y, Fienberg AA, Bibb JA, Fredholm BB, Nairn AC, Greengard P, Fisiolo G. Involvement of DARPP-32 phosphorylation in the stimulant action of caffeine. *Nature*; 418: 774-778 (2002)

Mennini T., Bigini P., Ravizza T., Vezzani A., Calvaresi N., Tortarolo M. and Bendotti C. Expression of glutamate receptor subtypes in the spinal cord of control and mnd mice, a model of motor neuron disorder. *J. Neur. Res.* 70:553-560 (2002)

Mi.W., Conforti L., Coleman M.P. Genotyping methods to detect a unique neuroprotective factor (Wlds) for axons. *Neurosci. Methods*, 113:215-218, (2002)

Moneta D, Richichi C, Aliprandi M, Dournaud P, Dutar P, Billard JM, Carlo AS, Viollet C, Hannon JP, Fehlmann D, Nunn C, Hoyer D, Epelbaum J, Vezzani A. Somatostatin receptor subtypes 2 and 4 affect seizure susceptibility and hippocampal excitatory neurotransmission in mice. *Eur J Neurosci.*, 16, 843-849.(2002)

Pozzi L, Aconcia S, Ceglia I, Invernizzi R, Samanin R. Stimulation of 5-HT_{2C} receptors in the ventrotectal area inhibits stress-induced but not basal dopamine release in the rat prefrontal cortex. *J Neurochem*, 82: 93-100 (2002)

Rizzi M, Caccia S, Guiso G, Richichi C, Gorter JA, Aronica E, Aliprandi M, Bagnati R, Fanelli R, D'Incalci M, Samanin R, Vezzani A. "Limbic seizures induce P-glycoprotein in rodent brain: functional implications for pharmacoresistance" *J Neurosci.* 22, 5833-5839. (2002)

Specchio, LM., L. Tramacere, A. La Neve, E. Beghi. Discontinuing antiepileptic drugs in patients who are seizure free on monotherapy. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 72: 22-25 (2002)

Tetto, A., P. Manzoni, A. Millul, E. Beghi, L. Garattini, A. Tartara, G. Avanzini and The Osservatorio Regionale per l'Epilessia (OREp). The costs of epilepsy in Italy. A prospective cost-of-illness study in referral patients with disease of different severity. *Epilepsy Research* 48: 207-216 (2002)

Vezzani AM, Moneta D, Richichi C, Aliprandi M, Burrows SJ, Ravizza T, Perego C and De Simoni MG Functional role of inflammatory cytokines and antiinflammatory molecules in seizures and epileptogenesis. *Epilepsia*, 43 (5): 30-35, (2002)

Vezzani A, Michalkiewicz M, Michalkiewicz T, Moneta D, Ravizza T, Richichi C, Aliprandi M, Mule F, Pirone L, Gobbi M, Schwarzer C, Sperk G. Seizure susceptibility and epileptogenesis are decreased in transgenic rats overexpressing neuropeptide Y. *Neuroscience*, 110:237-243 (2002)

SELEZIONE PUBBLICAZIONI DIVULGATIVE APPARSE NELL'ANNO 2002

Beghi, E, S.A. Gromov, L.V. Lipatova, V.A. Mikhailov. Medico-social aspects of risk factors impairing quality of life in patients with epilepsy. *Zh Nevrol Psikhiatr Im S S Korsakova* 2002; 102: 45-49. Russian.

Bendotti C., The scientist's view. In: MND, 12th International Symposium. Thumb Print, the Magazine of MND Association. pag. 14, Winter 2001/2002

Carnovali F, Campiani G, Butini S, Aiello F, Trotta F, Stark J, Cagnotto A, Mennini T, Cervo L. Controllo dei comportamenti di ricerca della cocaina dovuti agli stimoli precedentemente associati nei ratti: C'è coinvolgimento dei recettori D3? In: XIII Congresso della Società Italiana di Neuropsicofarmacologia. Nuove frontiere in neuropsicofarmacologia: dal genoma alla terapia. Milano 9-12 luglio. Società Italiana di Neuropsicofarmacologia, Milano; 2002: 402-404

Celani L, Nobili A, Tettamanti M, et al. Esposizione a calcioantagonisti e rischio di iperplasia gengivale: risultati di uno studio di farmacovigilanza attiva in medicina generale. *Ricerca & Pratica* 2002; 18: 48-55.

Forloni G. Le basi biologiche delle Sinucleinopatie. In Congresso Nazionale LIMPE XXIX Riunione Parkinson, Parkinsonismi demenze: dalla biotecnologia alla clinica, Syllabus, 2002, 96-107

Nobili A, Garattini S. Interazioni tra farmaci: problemi e concetti generali. *Aggiornamento Medico* 2002; 26: 25-31.

Nobili A, Garattini S. Interazioni tra farmaci: quali rischi per il paziente anziano. *Aggiornamento Medico* 2002; 26: 132-136.

Nobili A, Garattini S. Interazioni tra farmaci: anticoagulanti orali. *Aggiornamento Medico* 2002; 26: 203-206.

Nobili A, Garattini S. Interazioni tra farmaci: vaccino e farmaci antinfluenzali. *Aggiornamento Medico* 2002; 26: 248-252.

Nobili A, Garattini S. Interazioni tra farmaci: farmaci antinfiammatori non steroidei. *Aggiornamento Medico* 2002; 26: 334-338.

Nobili A. Performance sportiva a tutti i costi?. *Etica e Sport per le Professioni* 2002; 2: 31-36.

Pirona L, Funicello M, Ekalle Soppo C B, Cervo L, Bombardelli E, Morazzoni P, Mennini T, Gobbi M. Studi sul possibile meccanismo d'azione dell'iperico, una pianta medicinale con proprietà antidepressive. In: XIII Congresso della Società Italiana di Neuropsicofarmacologia. Nuove frontiere in neuropsicofarmacologia: dal genoma alla terapia. Milano 9-12 luglio. Società Italiana di Neuropsicofarmacologia, Milano; 2002: 347-349

Rozio M, Cervo L, Guiso G, Ekalle Soppo C B, Fracasso C, Colovic M, Riva A, Morazzoni P, Caccia S Ruolo dell'iperforina nell'attività di tipo antidepressivo di estratti di *Hypericum Perforatum* L. In: Nuove frontiere in neuropsicofarmacologia: dal genoma alla terapia, XIII Congresso Società Italiana Neuropsicofarmacologia, Milano, 9-12 luglio. 2002: 350-352

Zennaro E, Grignaschi G, Ekalle Soppo C B, Bendotti C, Cervo L. Livelli di mRNA per GLUR1 e GAP43 nel sistema nervoso di ratto dopo esposizione alla cocaina: Effetti acuti e cronici. In: XIII Congresso della Società Italiana di Neuropsicofarmacologia. Nuove frontiere in neuropsicofarmacologia: dal genoma alla terapia. Milano 9-12 luglio. Società Italiana di Neuropsicofarmacologia, Milano; 2002: 405-407

ALTRE PRODUZIONI EDITORIALI PUBBLICATE NEL CORSO DEL 2002

Beghi, E. Carbamazepime. Clinical Efficacy and Use in Other Neurological Disorders. In: *Antiepileptic Drugs, Fifth Edition* by Levy et al., 2002.

Beghi, E. Phenobarbital and Other barbiturates. Clinical Efficacy and Use in Nonpileptic Disorders. In: *Antiepileptic Drugs, Fifth Edition* by Levy et al., 2002.

Beghi, E. Phenytoin and Other Idantoins. Clinical Efficacy and Use in Other Neurological Disorders. In: *Antiepileptic Drugs, Fifth Edition* by Levy et al., 2002.

Beghi, E. Prognosis of first seizure. Editions John Libbey Eurotext, 2002.

Garattini S, Nobili A. Interazioni tra farmaci: una valutazione della loro rilevanza clinica. *Aggiornamento*. Pavia: SELECTA MEDICA Ed., Marzo 2002.

ATTIVITA' DI RICERCA

Laboratorio di Biologia delle Malattie Neurodegenerative

Malattia di Alzheimer: studi genetici

In collaborazione con diversi centri neurologici e il laboratorio di Neuropsichiatria Geriatrica è stata creata una banca di campioni di sangue, da cui si estrae il DNA, di pazienti Alzheimer (AD) in forma sporadica o familiare (FAD) o con demenza di tipo vascolare, diagnosticati secondo criteri riconosciuti a livello internazionale. Alla fine del 2002 il numero di campioni AD sporadici ha superato le 350 unità mentre quelli FAD sono circa 140. Gli studi genetici sono finalizzati all'identificazione di fattori causali nelle forme familiari o fattori di rischio nelle forme sporadiche. In entrambe le popolazioni sono stati effettuati studi sul gene che codifica per nicastrina, una proteina di recente identificazione coinvolta nella fisiopatologia di AD. Sono stati identificati alcuni polimorfismi e una mutazione che induce la sostituzione dell'aminoacido asparagina con tirosina a livello del codone 417. Le evidenze fino ad ora raccolte sembrano escludere un ruolo patogenetico in AD di questa mutazione. E inoltre proseguito lo screening dei campioni FAD per i geni che codificano per presenilina 1 e 2 (PS-1 e PS-2) e proteina precursore dell'amiloide (APP), i tre geni identificati fino ad ora con mutazioni missenso associate ad AD. Lo screening ha permesso l'individuazione di una nuova mutazione PS-1 e una APP in soggetti FAD.

Malattia di Alzheimer: studi preclinici

L'accumulo di beta proteina (Ab) nel parenchima cerebrale e sulle pareti vascolari è il fenomeno patologico più precoce in AD, ad esso numerosi studi hanno attribuito un ruolo causale nello sviluppo della malattia. L'eliminazione di Ab è diventato quindi un obiettivo terapeutico fortemente perseguito attraverso molteplici approcci: gli interventi a livello degli enzimi di sintesi e di degradazione del peptide, quelli in grado di regolare l'espressione del precursore o il suo metabolismo ecc. Nel laboratorio da diversi anni si persegue l'idea di poter aggredire i depositi di Ab attraverso un intervento diretto di tipo anti-amiloidogenico sugli aggregati capace impedirne la formazione o di eliminarli una volta formati. Per analogia chimica con le antracicline che hanno dimostrato attività anti-amiloidogenica ma il cui quadro tossicologico impediva qualsiasi sviluppo terapeutico in AD, abbiamo studiato le tetracicline. Dopo aver dimostrato in vitro la capacità di anti-aggregazione di queste molecole abbiamo verificato in vivo l'effetto delle tetracicline sui depositi di Ab. Sono stati utilizzati topi transgenici che sovraesprimevano APP e che accumulano a livello corticale e ippocampale grosse quantità di Ab (APP 23). Il trattamento per alcuni mesi con doxiciclina e minociclina, due tetracicline che passano facilmente la barriera ematoencefalica, ha prodotto solo effetti modesti sull'accumulo cerebrale di Ab. Nuovi protocolli di trattamento sono attualmente allo studio con altre tetracicline che in vitro hanno dimostrato maggior efficacia nell'azione anti-amiloidogenica.

Malattie da prioni: studi in vitro

Le encefalopatie spongiformi (TSE) sono malattie neurodegenerative di origine sporadica o genetica ma anche trasmissibili hanno manifestazioni cliniche e neuropatologiche differenti ma invariabilmente caratterizzate dall'accumulo cerebrale di una forma alterata della proteina prion (PrPsc). TSE sono malattie rare ma la possibile trasmissione di una forma bovina della malattia (BSE) all'uomo ha creato grande allarme sanitario prima in Inghilterra e poi in tutta Europa. Come è noto PrPsc oltre ad essere coinvolta nella patogenesi della malattia è anche componente

essenziale dell'agente infettivo. Nel laboratorio si sono sviluppati diversi progetti per comprendere il meccanismo molecolare che associa la presenza della PrPsc allo sviluppo del processo neurodegenerativo. Sono stati studiati gli effetti biologici di peptidi omologhi a larghe porzioni della proteina prion ed in particolare del peptide PrP106 sintetizzato originariamente nel laboratorio di Biochimica. Questo peptide rappresenta una sequenza chimerica capace di replicare in topi transgenici l'infettività di PrPsc, si struttura in foglietti beta e ha attività neurotossica. È stato completato lo sviluppo di un modello cellulare in cui la sintesi di proteina prion in forma nativa o mutata avvenga in maniera condizionata sotto il controllo dell'esposizione delle cellule alla doxiciclina. In questo modello sarà possibile studiare il ruolo fisiologico della proteina prion e soprattutto il ruolo patologico della forma mutata che favorisce la formazione di PrPsc.

Malattie da prioni: studi in vivo

In collaborazione con la divisione di Neuropatologia dell'Istituto Besta di Milano (Dr. Tagliavini e Prof Bugiani) il laboratorio di Biochimica e Chimica delle Proteine è stato sviluppato uno studio sull'attività anti-prionica delle tetracicline. Come indicato nel paragrafo precedente le tetracicline sono antibiotici da tempo usati in clinica di cui abbiamo dimostrato la capacità anti-amiloidogenica. Sulla base di questo meccanismo abbiamo verificato l'influenza di tetraciclina e doxiciclina sull'infettività nello scrapie sperimentale in criceti. L'omogenato infetto con cui vengono inoculati gli animali per indurre la malattia è stato trattato a diverse concentrazioni con le due tetracicline. Oltre all'effetto sulla sopravvivenza degli animali, è stato valutato il diverso accumulo di PrPsc cerebrale con tecniche istologiche e le alterazioni tipiche di ES con un'analisi NMR in vivo. L'effetto delle tetracicline è stato determinato anche nel ridurre la resistenza alla proteasi K che caratterizza PrPsc estratta da encefali di pazienti affetti da Creutzfeld-Jakob nella sua forma tradizionale (CJD) o dalla nuova variante (vCJD). Oltre allo scrapie sperimentale nel laboratorio sono disponibili topi transgenici che esprimono una proteina prion mutata con un'inserzione di nove octapeptidi (PG14). Questi topi sviluppano alterazioni neuropatologiche simili a quelle riscontrate nei pazienti affetti Gerstmann Sträussler Schenken (GSS) portatori della stessa mutazione inserzionale. In questi topi e negli altri modelli sperimentali sono in corso studi farmacologici e, sulla base delle ultime evidenze, si indaga la possibilità di controllare la malattia immunizzando con peptidi PrP.

Morbo di Parkinson: studi genetici

Il Morbo di Parkinson (PD) è un'altra malattia neurodegenerativa molto diffusa la cui patogenesi è ancora ignota, tuttavia le terapie a disposizione, pur rimanendo in un contesto sintomatologico, sono diversamente articolate e con un buon livello di efficacia. La valutazione dell'influenza genetica è sempre stata tenuta ai margini degli studi sull'eziologia di PD che hanno tradizionalmente privilegiato la componente ambientale per la presenza di tossine la cui esposizione era in grado di indurre un quadro clinico simile a PD. Gli studi di genetica molecolare svolti negli ultimi anni hanno invece aperto una nuova prospettiva identificando mutazioni di due geni che codificano per alfa sinucleina e parkina associate a forme giovanili di PD. Sempre in collaborazione con diversi centri neurologici, è stata attivata la raccolta di campioni di sangue provenienti da soggetti PD di origine sporadica o familiare. Nel 2002 in particolare abbiamo attivato un rapporto di collaborazione con il Centro Parkinson degli Istituti Clinici di Perfezionamento di Milano (Prof. Pezzoli, dr. Goldwurm) che ha una casistica estesa e accuratamente valutata. Lo screening genetico di questi soggetti ha riguardato sostanzialmente i geni che codificano per parkina e per alfa sinucleina. Mentre le mutazioni associate a PD di alfa-sinucleina sono un evento estremamente raro, solo due fino ad ora identificate in tutto il mondo, le mutazioni di parkina sono molto numerose sia in forma puntiforme che di delezione. Tuttavia in alcuni soggetti PD giunti alla nostra attenzione è stata riscontrata la presenza di mutazioni di parkina in forma eterozigote. È quindi allo studio l'ipotesi che in forma

eterozigote, le mutazioni di parkina, siano un fattore di rischio per PD, mentre acquisiscono un ruolo causale in omozigosi.

Morbo di Parkinson: studi preclinici

L'identificazione di mutazioni di a-sinucleina e parkina associate a PD oltre ad aprire un nuovo settore negli studi eziologici ha anche rivoluzionato l'approccio alla patogenesi della malattia. La presenza di aggregati intracellulari, corpi di Lewy, nella substantia nigra è una caratteristica neuropatologica di PD nota da oltre mezzo secolo. Tuttavia solo l'indicazione proveniente dalla genetica molecolare ha permesso di identificare a-sinucleina come componente essenziale di queste formazioni. Il ruolo patogenico di a-sinucleina è stato oggetto di diversi studi nel laboratorio. Dopo aver messo in luce un possibile ruolo tossico di a sinucleina utilizzando peptidi omologhi a diverse frammenti della proteina, nel 2002 sono state utilizzate cellule transfettate e colture primarie per studiare i meccanismi patogenetici intracellulari associati ad a-sinucleina. E' emerso che a-sinucleina svolge un ruolo neuroprotettivo a basse concentrazioni, mentre un accumulo intracellulare della proteina risulta dannoso per la cellula nervosa ed in particolare quella dopaaminergica. L'effetto neuroprotettivo non è alterato nelle forme mutate, quindi sembra che le mutazioni facilitino l'accumulo producendo il danno neuronale (gain of function) e non riducano la capacità neuroprotettiva (loss of function). Per meglio valutare questi aspetti è in corso la messa a punto di un modello cellulare ad espressione inducibile di a-sinucleina.

Laboratorio di Malattie Neurologiche

Studi epidemiologici sulla sclerosi laterale amiotrofica (SLA)

Vi sono inclusi studi su incidenza, fattori di rischio e mortalità della SLA. Le informazioni sono derivate da un registro regionale di malattia istituito nel 1998 e comprendente tutti i pazienti con nuova diagnosi di SLA identificati in 8 province lombarde. Utilizzando simili protocolli di indagine, informazioni analoghe sono raccolte in due altri registri regionali (piemontese e pugliese) ai quali il registro lombardo è in associato. I dati provenienti dal registro lombardo e da pazienti esaminati nel contesto di collaborazioni con il Gruppo Italiano della SLA sono stati anche utilizzati per una verifica della validità e della riproducibilità dei criteri diagnostici della SLA e di alcune scale funzionali. Sulla base dei dati acquisiti, l'incidenza annua della SLA è risultata sovrapponibile a quanto documentato in altri paesi occidentali in cui sono stati attivati registri di malattia, attestandosi intorno ai valori più elevati della letteratura (1,7 casi per 100.000). Anche la mortalità è risultata comparabile ai risultati degli studi di popolazioni analoghe condotti con metodi più rigorosi. La validazione dei criteri diagnostici per la SLA attualmente in uso (classificazione di El Escorial) ha permesso di affermare che tali criteri sono validi e riproducibili solo dopo opportuno addestramento degli esaminatori. Con la collaborazione di gruppi Inglesi ed Irlandesi (titolari di registri di popolazione), è stato elaborato un protocollo comune per l'esecuzione di uno studio caso-controllo per la valutazione dei fattori di rischio professionale ed alimentare nella SLA.

Studi sui marcatori biologici della SLA

Campioni ematici di pazienti con SLA arruolati nel registro regionale lombardo o provenienti da altre casistiche appartenenti a membri del Gruppo Italiano della SLA sono utilizzati allo scopo di dosare il Tumor Necrosis Factor (TNF), il Vasoendotelial Growth Factor (VEGF), e l'Insulin Growth Factor (IGF). Tali studi sono condotti in collaborazione con il Laboratorio di Farmacologia Recettoriale ed il Laboratorio di Neurobiologia Molecolare. Il materiale ematico è anche utilizzato per lo studio del metabolismo e del trasporto del glutammato nel contesto di una collaborazione con la Clinica Neurologica dell'Università di Milano-Bicocca.

Studi sui costi e sulla qualità della vita nella SLA

E' in corso uno studio osservazionale volto a verificare la qualità della cura ai pazienti con SLA comparando due diversi modelli assistenziali, il primo realizzato da centri dedicati ed il secondo da strutture neurologiche generali. I parametri esaminati comprendono la rilevazione della disabilità, dei costi assistenziali, della qualità di vita e dell'indice di gradimento espresso dal paziente. L'indagine è coordinata dall'Istituto Neurologico di Milano.

Studi sulle complicanze dell'epilessia

Alcune complicanze dell'epilessia sono state esplorate utilizzando disegni di studio diversi. Il primo è costituito da uno studio di coorte condotto su pazienti con epilessia e su controlli appaiati reclutati in 8 paesi europei allo scopo di esaminare la morbilità ed il rischio di incidenti attribuibili all'epilessia. Pubblicati i risultati generali dello studio, sono stati esaminati alcuni dettagli riguardanti la tipologia delle malattie e degli incidenti e le relative complicanze. Per ogni malattia o incidente sono state esaminate le conseguenze, gli interventi medici (inclusi i ricoveri) e le assenze dal lavoro o da scuola. E' in esame la mortalità di una coorte di soggetti reclutati alla prima crisi epilettica tonico-clonica generalizzata in diversi centri italiani per essere ammessi ad un trial terapeutico e sottoposti a follow-up a decorrere dal 1988. Uno studio caso-controllo è stato completato per la valutazione della depressione in un campione di donne con epilessia ed in un gruppo di controllo designato all'interno di una casistica arruolata da neurologi attivi sul territorio nazionale. Sulla base degli studi di cui sopra, è stato dimostrato che i pazienti con epilessia presentano un rischio solo lievemente superiore a quello della popolazione generale di ammalare od avere incidenti e che la tipologia e la gravità di malattie ed incidenti sono lievemente diverse nei pazienti rispetto alla popolazione generale. La mortalità di pazienti con una prima crisi epilettica non provocata è superiore a quella della popolazione generale, ma il rischio è significativamente superiore solo per le fasce di età più giovani. Le donne con epilessia presentano un elevato rischio di depressione. La depressione appare correlata alla tipologia e alla gravità della malattia.

Costi dell'epilessia

Una coorte di pazienti con epilessia, reclutati sul territorio nazionale da 14 istituzioni di secondo e di terzo livello, ed osservati prospetticamente per un anno è stata esaminata per la valutazione dei costi diretti (costi sanitari relativi alla malattia). I soggetti ammessi sono stati suddivisi in sottogruppi (prime diagnosi o epilessie croniche, le ultime stratificate in base alla gravità di malattia) per verificare l'impatto della tipologia del caso sui costi dell'epilessia. Dal confronto dei diversi sottogruppi è emerso che i costi dell'epilessia variano sulla base della durata di malattia e dalla risposta al trattamento antiepilettico (variando da un minimo di 412 € per le epilessie in remissione ad un massimo di 2198 € per le epilessie croniche farmacoresistenti).

Strategie terapeutiche innovative in pazienti con epilessia

Nel contesto di uno studio multicentrico nazionale, una coorte di pazienti con una prima crisi epilettica non provocata, randomizzati a decorrere dal 1988 a trattamento immediato o ad attesa della ricorrenza di crisi per l'inizio del trattamento, è stata riesaminata dopo prolungamento del follow-up per verificare l'impatto delle due strategie terapeutiche sulla prognosi a lungo termine dell'epilessia (definita dalla probabilità di remissione delle crisi per almeno 5 anni). Allo scopo di verificare se il primo trattamento antiepilettico possa essere effettuato con basse dosi di farmaco, pazienti con epilessia di nuova diagnosi non trattati sono stati randomizzati ad trattamento con dosi standard dei farmaci in uso o con la metà delle stesse dosi in diversi centri italiani. Entrambi i gruppi terapeutici sono stati quindi sottoposti a follow-up fino a completamento di due anni di remissione o fino ad un massimo di 5 anni. Lo studio è tuttora in corso. Per stabilire se la mancata risposta a due farmaci antiepilettici sia sufficiente per indicare una condizione di farmacoresistenza nel bambino, soggetti in età pediatrica giudicati refrattari a

due farmaci antiepilettici sono stati randomizzati ad introdurre un terzo farmaco oppure ad ottimizzare il trattamento assegnato e seguiti per un massimo di 3 anni. Il beneficio terapeutico è definito dal raggiungimento di almeno sei mesi consecutivi di completo controllo delle crisi. Lo studio è stato condotto in collaborazione con l'IRCCS "Stella Maris" di Calabrone (PI). Nei pazienti con prima crisi non provocata hanno dimostrato che la prognosi a lungo termine delle crisi è sovrapponibile nei casi trattati immediatamente e nei casi trattati in occasione della ricorrenza, confermando che il trattamento dell'epilessia dovrebbe iniziare solo in occasione della ricorrenza di crisi. Anche i bambini trattati con un terzo farmaco non hanno presentato una diversa probabilità di remissione rispetto ai bambini che hanno continuato il trattamento con i farmaci già assegnati. Ciò suggerisce che una condizione di farmacoresistenza nell'epilessia può essere già definita dopo il fallimento di due farmaci.

Indicatori di successo e di insuccesso nella chirurgia dell'epilessia

Nel contesto della Cochrane Collaboration, è stata condotta una revisione sistematica della letteratura sulla prognosi di pazienti sottoposti a chirurgia dell'epilessia allo scopo di identificare i principali predittori di successo e di insuccesso terapeutico. L'indagine, realizzata con la collaborazione di ricercatori italiani e di 4 paesi stranieri (Stati Uniti, Regno Unito, Canada, Croazia), ha riguardato l'esame di 55 pubblicazioni soddisfacenti precisi criteri di selezione. Dallo studio è emerso che il successo della chirurgia è stato influenzato positivamente dalla presenza di convulsioni febbrili, neoplasia cerebrale e concordanza tra EEG e RMN encefalica.

Studi epidemiologici sulla prevalenza e sui fattori di rischio di cefalee croniche primarie

In collaborazione con la Neuropsichiatria Infantile dell'Università di Pavia, uno studio caso-controllo è stato condotto allo scopo di verificare se tra i soggetti con emicrania (con e senza aura) vi fosse una maggiore prevalenza di familiari (di primo e secondo grado) con malattie vascolari (ictus cerebri, ipertensione, infarto miocardico, diabete) rispetto alla popolazione generale. I bambini con emicrania sono stati confrontati con una popolazione di controllo rappresentata da bambini con altre malattie neurologiche non correlate a cefalea e a malattie vascolari. In collaborazione con la Clinica Neurologica dell'Università di Parma è stato iniziato uno studio (tuttora in corso) sulla prevalenza della cefalea a grappolo. L'indagine è effettuata sottoponendo a screening (mediante compilazione di un questionario ad-hoc) gli assistiti di 5 medici di medicina generale (per un totale di circa 1000 individui). In parallelo, le domande inserite nel questionario sono state valutate sottoponendo ad intervista pazienti con cefalea a grappolo, con emicrania e con cefalea di tipo tensivo allo scopo di testarne validità e riproducibilità per la diagnosi di cefalea a grappolo, con riferimento ai criteri della International Headache Society.

Una familiarità per malattie vascolari è risultata più frequente tra i soggetti con emicrania rispetto al gruppo di controllo, suggerendo una predisposizione genetica per malattie vascolari tra i soggetti emicranici. Risultati preliminari dello studio di validazione dei criteri diagnostici della cefalea a grappolo hanno dimostrato che i sintomi che meglio separano la malattia dalle altre forme di cefalea cronica primaria comprendono la presenza di prolungati intervalli liberi da crisi, di movimenti compulsivi, e di attacchi di breve durata.

Strategie terapeutiche in bambini con cefalea cronica primaria

In collaborazione con la Neuropsichiatria Infantile dell'Università di Pavia è stato completato uno studio randomizzato pragmatico sulla utilità di un breve ricovero ospedaliero rispetto alla gestione ambulatoriale di bambini con cefalea cronica primaria. Il successo delle due modalità di gestione è stato misurato verificandone l'impatto sulle crisi cefalalgiche nel follow-up e su altri misuratori indiretti di beneficio assistenziale (consumo di farmaci, soddisfazione della

famiglia e del curante). Un altro studio randomizzato, promosso dalla Neuropsichiatria Infantile dell'Università di Pavia e condotto in collaborazione con altri gruppi nazionali, è stato iniziato allo scopo di verificare l'impatto della presa in carico psicologica rispetto ad un trattamento convenzionale di bambini con cefalea cronica primaria. Lo studio è tuttora in corso.

Il ricovero ospedaliero è risultato significativamente superiore alla gestione ambulatoriale della cefalea, come dimostrato dalla riduzione del numero, dell'intensità e della durata degli attacchi, dal minor consumo di analgesici, e dal maggior gradimento dei medici e dei familiari. L'utilità del ricovero può essere giustificata da una più approfondita gestione dei problemi alla base della patologia in esame.

Prevalenza e fattori di rischio vascolare e genetici della malattia di Alzheimer

Uno screening della malattia di Alzheimer è stata intrapresa in due aree geografiche della provincia di Foggia (nel comprensorio della città di Foggia e a San Giovanni Rotondo) per definirne la prevalenza ed i fattori di rischio vascolare e per stabilire il genotipo ApoE in un campione casuale di soggetti residenti. L'indagine prevede l'esame di circa 5000 soggetti in età superiore a 64 anni identificati nelle liste anagrafiche delle due aree in esame. Lo screening comprende due fasi, la prima condotta al domicilio del soggetto e consistente in un'intervista strutturata volta a definire la presenza di demenza, a ricercare i fattori di rischio vascolare, ed il profilo neuropsicologico del soggetto, e la seconda per la definizione dell'eziologia e per l'inquadramento nosografico della demenza. Lo studio è in corso.

Fattori di rischio neoplastico e comorbidità nella miastenia grave

Uno studio caso controllo è stato eseguito in collaborazione con la clinica neurologica dell'università di Pavia per la ricerca di fattori di rischio neoplastico in pazienti con miastenia grave. La popolazione in esame è rappresentata da 2479 soggetti assistiti da centri di terzo livello disseminati sul territorio nazionale e seguiti per un periodo medio di 9 anni. Una o più neoplasie erano presenti in 221 casi (9%). Se confrontati con i pazienti senza neoplasie (controlli), i casi di neoplasia presentavano più frequentemente un timoma o un trattamento pregresso o attuale con immunoglobuline, e meno frequentemente un'esposizione alla cicloforfamida.

Il materiale raccolto per l'esecuzione dello studio è stato utilizzato per la elaborazione di progetti volti al confronto con altre banche-dati per verificare se la mortalità nei pazienti con miastenia grave associata a neoplasie sia superiore a quella della popolazione generale e se l'incidenza delle neoplasie nella coorte in esame sia superiore a quella della popolazione generale, con ricerca dei predittori principali di mortalità all'interno della coorte.

Diagnosi e prevalenza della distonia

Nel contesto di una collaborazione con l'istituto "San Raffaele" di Milano è in corso uno studio sulla prevalenza della distonia focale nell'adulto nella provincia di Foggia. I casi sono reperiti da fonti molteplici (ricoveri ospedalieri, visite presso gli ambulatori di neurologia, ORL, oculistica, ortopedia) presso i due principali ospedali della provincia. Per la verifica della qualità della diagnosi di distonia, è stato effettuato nel 2002 uno studio di validazione che ha coinvolto 4 neurologi e 14 specializzandi in neurologia i quali hanno esaminato 29 videoregistrazioni di casi con distonia o con malattie considerate nella diagnosi differenziale. L'accordo tra esaminatori è stato giudicato insoddisfacente nel 26% delle coppie, era migliore tra i neurologi che tra gli specializzandi, e predominava per il blefarospasmo, la distonia cervicale e dell'arto superiore, e la disfonia spasmodica. Dai risultati dello studio è emerso che la qualità degli studi epidemiologici sulla distonia dipende dal background e dall'esperienza degli esaminatori e può variare a seconda delle diverse forme cliniche.

Laboratorio di Metabolismo dei Farmaci

Nuovi derivati di origine vegetale per il trattamento della depressione

Questo progetto è svolto in collaborazione con Indena S.p.A, l'Unità di Farmacologia Comportamentale (L. Cervo) e il Laboratorio di Farmacologia Recettoriale (Tiziana Mennini) del Dipartimento Biochimica e Farmacologia Molecolare.

Un sottoprogetto ha riguardato lo studio del potenziale ruolo dell'iperforina nell'attività antidepressivo-simile degli estratti di *Hipericum perforatum* (Unità di Farmacologia Comportamentale).

Sono in corso studi sul possibile contributo dell'iperforina nell'induzione da parte degli estratti di *Hipericum perforatum* dell'isoenzima CYP3A (Laboratorio di Patologia Molecolare, L. Cantoni).

Composti a potenziale attività neuroprotettiva in modelli animali di malattie neurodegenerative

Sono in corso studi farmacocinetici atti a documentare il passaggio della barriera ematoencefalica e diffusione nel sistema nervoso centrale di nuovi potenziali farmaci per il trattamento della malattia di Alzheimer (Laboratorio di Biologia delle Malattie Neurodegenerative; G. Forloni) e della Sclerosi Laterale Amiotrofica (Laboratorio di Neurobiologia Molecolare; C. Bendotti). Gli studi sulle tetracicline, farmaci in grado di interferire con la formazione di fibrille della Proteina Prione in vitro, possono anche fornire indicazioni sulla loro potenziale per il trattamento delle malattie da prione (Laboratory of Biochemistry and Protein Chemistry; Mario Salmona).

Resistenza ai farmaci antidepressivi: studi sperimentali e clinici

Il progetto è svolto in collaborazione con l'Unità di Microdialisi Intracerebrale (R.W. Invernizzi) - al quali si rimanda per una breve descrizione dei risultati ottenuti - l'Unità di Farmacologia Comportamentale (L. Cervo) e il Laboratorio di Biologia delle Malattie Neurodegenerative (G. Forloni).

Nuovi agonisti ed antagonisti selettivi dei recettori 5-HT₃: studi sintetici e biologici

Nuove strutture selettive per i recettori 5-HT₃ sono state sintetizzate dal Dipartimento Farmaco Chimico Tecnologico, Università di Siena (G. Campiani,) e caratterizzate dal Laboratorio di Farmacologia Recettoriale (Tiziana Mennini). Particolare interesse hanno destato alcuni antagonisti selettivi di tali recettori che, non oltrepassando in misura significativa la barriera ematoencefalica, potrebbero trovare potenziali utilizzi in patologie cardiovascolari.

Laboratorio di Neurologia Sperimentale

Meccanismi biochimico-molecolari coinvolti nelle genesi e propagazione delle convulsioni e del danno neuronale ad esse associato: Ruolo dei neuropeptidi

In particolare, stiamo indagando il ruolo della somatostatina e del neuropeptide Y e dei loro sottotipi recettoriali nel controllo dell'attività epilettica. I nostri precedenti risultati in collaborazione con il Dr Gobbi hanno infatti dimostrato che questi due neuropeptidi endogeni controllano in maniera inibitoria l'attività epilettica. Stiamo utilizzando farmaci che agiscono specificamente sui diversi sottotipi recettoriali con attività agonista od antagonista per valutare la loro capacità di inibire o modulare le convulsioni in modelli sperimentali in vivo. Utilizziamo anche topi geneticamente modificati che mancano dei diversi sottotipi recettoriali per valutare la

loro suscettibilità alle convulsioni e all'epilettogenesi. Una volta identificato inequivocabilmente il ruolo dei sottotipi recettoriali nell'inibire l'attività epilettica, indagheremo la possibilità di utilizzare dei farmaci non peptidici che possano essere somministrati per via sistemica al fine di controllare le convulsioni.

Ruolo delle molecole dell'infiammazione.

Stiamo studiando in collaborazione con i laboratori della Dr De Simoni (Dip Neuroscienze) e del Dr Mantovani (Dip Immunologia), il ruolo di alcune citochine proinfiammatorie quali IL-1beta, TNF-alfa ed IL-6, e molecole di fase acuta quali la pentraxina 3 nella genesi e propagazione delle convulsioni e nei fenomeni neurodegenerativi ad esse associati. I nostri risultati sperimentali hanno fino ad ora dimostrato che l'attività epilettica induce la sintesi di varie molecole coinvolte nei processi infiammatori. IL-1 ha proprietà proconvulsivanti mentre l'antagonista recettoriale di IL-1 e TNF-alfa hanno proprietà anticonvulsivanti. Siamo studiando quali di queste molecole oltre a modulare l'attività epilettica contribuiscono all'insorgenza del danno neuronale oppure hanno effetti neuroprotettivi.

Convulsioni e sviluppo postnatale

E' noto che la suscettibilità alle convulsioni è maggiore nel bambino rispetto all'adulto e lo stesso fenomeno si manifesta nel roditore durante lo sviluppo postnatale. Ci prefiggiamo quindi di studiare quali siano i meccanismi coinvolti in maniera significativa nei cambiamenti di suscettibilità alle convulsioni ed in particolare alla insorgenza del danno neuronale che si manifesta nel ratto solo dopo i primi 15 giorni di vita postnatale. I nostri studi si stanno focalizzando principalmente sui neuropeptidi e le citochine sopracitati.

Nuovi approcci terapeutici di gene transfer in vivo

Questo studio riguarda l'utilizzo di vettori virali che introducano nuovi geni oppure determinino un' aumentata produzione di alcune proteine in aree cerebrali specifiche al fine di antagonizzare l'attività epilettica. Siamo al momento utilizzando vettori adenovirali ed abbiamo dimostrato che una aumentata trasduzione del neuropeptide Y nell'ippocampo del ratto è in grado di inibire significativamente l'attività epilettica. E' interessante notare che questa inibizione si mantiene per almeno 3 mesi dopo una singola iniezione del vettore virale nel cervello. Lo sviluppo di questa linea di ricerca riguarda la possibilità di utilizzare vettori virali che possano inibire la comparsa e la ricorrenza delle convulsioni spontanee che insorgono dopo l'induzione di un danno acuto cerebrale (Traumatico, eccitotossico, ischemico).

Meccanismi di resistenza ai farmaci antiepilettici

Lo studio è svolto in collaborazione con il laboratorio di Metabolismo dei Farmaci (Dr Caccia) e si prefigge di indagare se il fenomeno della resistenza a vari farmaci antiepilettici dipende dall'attività di una famiglia di glicoproteine di membrana chiamate P-gp che estrudono i farmaci dal tessuto cerebrale verso il sangue. Queste proteine (ad es la proteina prodotta dal gene MDR oppure MRP) sembrano avere un ruolo significativo nel determinare la resistenza ad alcuni farmaci antitumorali ed hanno la capacità di estrudere dalle cellule con un meccanismo un'ampia gamma di farmaci anfifilici idrofobici. Abbiamo dimostrato che la proteina prodotta dal gene MDR viene sintetizzata in maggiori quantità in specifiche aree cerebrali durante l'attività epilettica ed influenza significativamente la concentrazione cerebrale di alcuni farmaci anticonvulsivanti. Una aumentata espressione della p-glicoproteina è stata dimostrata anche nel tessuto cerebrale di pazienti affetti da epilessia farmacoresistente e potrebbe quindi contribuire alla refrattarietà alla terapia farmacologica impedendo il raggiungimento di concentrazioni clinicamente rilevanti nel tessuto epilettico. Studi futuri si prefiggeranno di inibire l'attività della (e) P-gp in modelli sperimentali di epilessia utilizzando bloccanti della funzione della

pompa e quindi valutare se l'efficacia dei trattamenti anticonvulsivanti migliora significativamente.

Laboratorio di Neuropsichiatria Geriatrica

Prevenzione dei disturbi psichiatrici

In termini di prevenzione, all'interno di un progetto dell'Unione Europea, sono stati identificati e valutati i programmi pilota per la prevenzione dei disturbi d'ansia e della depressione nella popolazione anziana in Italia.

Valutazione dell'efficacia degli interventi psicosociali

E' stato prodotto e sottoposto alla Cochrane Collaboration il protocollo di una meta-analisi sull'efficacia della terapia di coppia nel trattamento della depressione.

Impatto clinico del donepezil su pazienti Alzheimeriani nella popolazione generale

E' proseguito lo studio osservazionale sull'impatto clinico del donepezil (5 o 10 mg/die per os), un farmaco anticolinesterasico approvato per il trattamento della malattia di Alzheimer di grado lieve e moderato. Nello studio, 800 pazienti vengono seguiti per una durata di tre anni (anche in caso di sospensione, per qualsiasi motivo, dell'assunzione del farmaco) e vengono valutati in maniera prospettica i parametri concernenti i diversi aspetti della malattia, compresi gli eventuali disturbi del caregiver e i costi legati alla malattia, oltre agli aspetti legati alla sicurezza del farmaco.

Studio di popolazione sulla prevalenza delle demenze nei grandi anziani

In parallelo al progressivo aumento degli individui di 85 e più anni all'interno della popolazione anziana (65+), il numero dei malati di demenza nella fascia di età 85+ rappresenta una frazione in continua crescita sul totale degli affetti. L'esclusione dagli studi, come quasi sempre avviene, dei soggetti nelle classi di età più avanzate tende inevitabilmente a sottostimare il numero complessivo di affetti da demenza presenti nella popolazione. Per ovviare a questa lacuna è stato dunque avviato uno studio di popolazione (door-to-door) sulla prevalenza, i fattori di rischio e la storia naturale delle demenze e dei deficit cognitivi associati all'invecchiamento in una popolazione di anziani con età maggiore di 80 anni residente in sette comuni della bassa Valle Olona, in provincia di Varese. Lo studio beneficia di un grant della Fondazione Monzino.

Prevalenza dell'anemia in una popolazione anziana

In collaborazione con il Laboratorio di Ricerca Translazionale e di Outcome in Oncologia è stato avviato uno studio epidemiologico sulla prevalenza dell'anemia in una popolazione di anziani di età tra i 65 e gli 84 anni di età che risiedono nella città di Biella (circa 9500 soggetti). Scopo dello studio in oltre è di stabilire se una anemia di grado lieve (definita da bassi livelli di emoglobina) presenti un'associazione significativa con variabili cliniche, cognitive e funzionali e di qualità della vita. La durata dello studio porta-a-porta è di un anno.

Epidemiologia della malattia di Alzheimer: prevalenza e fattori di rischio

Nell'ambito del "Progetto strategico di ricerca finalizzata sulla malattia di Alzheimer" del Ministero della Sanità, in collaborazione con il Dipartimento di Neurologia dell'Ospedale "Casa Sollievo della Sofferenza" di S. Giovanni Rotondo (FG) e con il Laboratorio di Neurologia dell'Istituto "Mario Negri" abbiamo intrapreso uno studio triennale sull'incidenza, prevalenza e fattori di rischio vascolari e genetici della malattia di Alzheimer in provincia di Foggia. Sempre nell'ambito del "Progetto strategico di ricerca finalizzata sulla malattia di Alzheimer"

del Ministero della Sanità, abbiamo iniziato a collaborare con il Dipartimento di Neuroscienze dell'Azienda "Santa Maria della Misericordia" di Udine allo svolgimento del progetto "Studio [triennale] di prevalenza e incidenza e valutazione di markers bioumorali della malattia di Alzheimer" gestito dalla Regione Friuli Venezia Giulia.

Iperomocisteinemia come fattore di rischio per le demenze

Le evidenze che indicano nell'iperomocisteinemia un fattore di rischio vascolare unitamente alla recente rivalutazione del ruolo del danno vascolare nella patogenesi della malattia di Alzheimer ci hanno indotto a intraprendere un studio collaborativo con il Servizio di Geriatria dell'Ospedale della Beata Vergine di Mendrisio (Svizzera) sull'associazione di omocisteina, vitamina B12 e acido folico con malattia di Alzheimer, Demenze Vascolari e mild cognitive impairment.

Vitamina D e capacità motorie degli arti inferiori

Nell'anziano la capacità muscolare tende frequentemente a diminuire. Uno dei possibili fattori implicati potrebbe essere l'ipovitaminosi D (ID). Per descrivere la prevalenza dell'ID, studiare la relazione fra capacità motorie e ID e identificare i fattori predittivi di ID si è studiata, in collaborazione con il Servizio di Geriatria dell'Ospedale della Beata Vergine di Mendrisio (Svizzera), una popolazione di pazienti geriatrici consecutivamente ammessi presso questo Ospedale.

Validità e attendibilità della batteria neuropsicologica del CERAD

E' stato avviato, in collaborazione con la Clinica della Memoria del Servizio di Geriatria dell'Ospedale della Beata Vergine di Mendrisio (Svizzera), uno studio trasversale e longitudinale sulla validità e attendibilità della batteria neuropsicologica del CERAD (Consortium to Establish a Registry of Alzheimer's Disease, uno degli strumenti più diffusi internazionalmente per lo studio delle demenze e dei deficit cognitivi dell'anziano) nella diagnosi delle forme iniziali di demenza e nell'individuazione degli anziani con mild cognitive impairment.

Studio longitudinale in pazienti affetti da MCI

Partecipazione, in collaborazione con la Clinica Neurologica III (Azienda Ospedaliera S. Paolo) dell'Università degli Studi di Milano, allo studio longitudinale sulla capacità di variabili psicometriche (oltre che demografiche, cliniche e biologiche) di predire la "conversione" in demenza di soggetti con mild cognitive impairment. Questo studio fa parte del progetto della Regione Lombardia finanziato dal Ministero della Sanità nell'ambito del "Progetto strategico di ricerca finalizzata sulla malattia di Alzheimer".

Ruolo della nicastrina nell'etiopatogenesi della malattia di Alzheimer

A seguito della scoperta della Nicastrina, una proteina implicata nel processamento della β amiloide, è in corso un progetto finanziato in parte con fondi del Ministero della Salute, che tende a meglio definire il ruolo della Nicastrina nell'etiopatogenesi della malattia di Alzheimer. Tale progetto, che vede la nostra collaborazione in campo statistico-epidemiologico, è guidato dall'Istituto Superiore di Sanità e dall'Associazione per la Ricerca Neurogenetica di Lametia Terme (CS).

La valutazione del paziente demente istituzionalizzato

E' proseguita nel corso del 2002 la convenzione tra il Pio Albergo Trivulzio e il Laboratorio di Neuropsichiatria Geriatrica dell'Istituto "Mario Negri" su tre obiettivi:

1. definizione dei protocolli di diagnosi e valutazione delle demenze e training al loro impiego;
2. definizione dei protocolli di valutazione dei comportamenti che creano problemi, di utilizzo

degli psicofarmaci e di monitoraggio delle reazioni avverse;
 3. definizione e utilizzo di protocolli di verifica e valutazione della qualità dell'assistenza (VRQ).

Valutazione della qualità dei servizi per il malato di demenza

Nel campo della valutazione della qualità dei servizi per le demenze e degli interventi a sostegno della famiglia e del caregiver è stata avviata una collaborazione con la Direzione Generale dell'Assessorato alla Famiglia e Solidarietà Sociale della Regione Lombardia per la realizzazione di due progetti specifici finanziati da fondi del Ministero della Salute.

Il primo progetto ha l'obiettivo di valutare comparativamente in un campione di 70 RSA e IDR con e senza Nucleo Alzheimer (a) la qualità di queste strutture sulla base di indicatori di struttura e di processo, (b) l'appropriatezza dei ricoveri e (c) l'impatto delle caratteristiche strutturali, organizzative ed assistenziali sullo stato cognitivo, funzionale e comportamentale del paziente con demenza.

Il secondo progetto (Progetto CARER), in collaborazione con la Federazione Alzheimer Italia (AI), ha l'obiettivo di valutare l'effetto di un intervento di sostegno e di counselling alla famiglia che ha in carico e assiste a domicilio un malato di demenza. Misure d'outcome sono: il grado di stress, il carico assistenziale del caregiver, l'uso di servizi e l'istituzionalizzazione/permanenza in famiglia del paziente.

Progetto educativo/didattico "Cara Nonna"

"Cara Nonna" è un progetto educativo/didattico con gli alunni delle classi V elementare per presentare e discutere le problematiche connesse con l'avere un nonno o una nonna con la malattia di Alzheimer.

Servizio di informazione sui farmaci nell'anziano

Ogni giorno è disponibile gratuitamente, per gli anziani e per i medici, un servizio telefonico o via e-mail di informazione sui farmaci. Questo servizio risponde ogni anno a oltre 600 quesiti.

Qualità dell'assistenza ai soggetti oncologici terminali

ONel 1999 è stato avviato, in collaborazione con l'hospice "via di Natale" di Aviano (PN), un progetto di ricerca che ha come obiettivo quello di valutare la qualità dell'assistenza durante l'ultimo periodo di vita dei malati accolti in hospice. Sono stati avviati uno studio retrospettivo e uno prospettico. Dal 2001 è in corso uno studio prospettico multicentrico con tre hospice (Pio Albergo Trivulzio di Milano, Domus Salutis di Brescia, "Via di Natale" di Aviano) al fine di rilevare le richieste implicite o esplicite da parte dei malati e/o dei familiari finalizzate a modificare la storia naturale della malattia.

Valutazione di qualità dei servizi psichiatrici

L'aumento delle strutture psichiatriche residenziali del territorio avvenuta in Italia dopo il 1997 ne ha resa necessaria la valutazione sotto diversi profili. Nell'ultimo anno ci si è concentrati sulla identificazione dei fattori predittivi dell'utilizzo di tali strutture, cercando di individuarli a livello delle caratteristiche del paziente, della famiglia, della storia di trattamento erogato e delle caratteristiche del servizio inviante. A tale scopo è stato condotto uno studio caso-controllo nei Dipartimenti di Salute Mentale della Lombardia.

Attraverso uno studio prospettico in tre Dipartimenti di Salute Mentale della Lombardia si sono messe a confronto e seguite per sei mesi le popolazioni in trattamento residenziale e semiresidenziale, allo scopo di individuare aree di sovrapposizione nelle caratteristiche dei pazienti e nelle prestazioni in grado di supportare la opportunità di offrire trattamenti "più leggeri" in alcuni gruppi di pazienti. Infine, uno studio prospettico sui pazienti provenienti dall'ospedale psichiatrico di Limbiate e dimessi in strutture residenziali del territorio ne ha

studiato l'esito sintomatologico e di funzionamento sociale dopo 2-4 anni. Allo scopo di studiare le caratteristiche di funzionamento e utilizzo dei Servizi Psichiatrici di Diagnosi e Cura, è stata avviata in Lombardia la prima fase del progetto nazionale PROGRES Acuti.

Laboratorio di Infiammazione e Malattie del Sistema Nervoso

Il complemento e i sistemi infiammatori associati, nel danno cerebrale da ischemia/riperfusion

Il ruolo del complemento nel danno da ischemia/riperfusion non è noto. Abbiamo dimostrato che il C1-INH, l'inibitore endogeno del primo componente (C1q) della via classica del complemento, migliora significativamente i deficit neurologici e il volume d'infarto in topi con ischemia cerebrale focale indotta da occlusione transitoria dell'arteria cerebrale media. Abbiamo approfondito ulteriormente questo dato verificando la sua efficacia in diversi ceppi di topi (che hanno un diverso livello di espressione del complemento) e definendo la dose-risposta e la finestra temporale della sua efficacia. Dato che C1-INH può agire anche su altri substrati, stiamo anche valutando il coinvolgimento di altre vie di attivazione del complemento e quello di altri sistemi quali il sistema delle chinine e quello della coagulazione. Per esplorare i meccanismi di neuroprotezione attivati dal C1-INH stiamo inoltre studiando l'espressione (mRNA e proteine) di molecole infiammatorie tra cui citochine, molecole di adesione, isoforme di NO sintasi e markers di apoptosi. I risultati ottenuti mostrano che il C1-INH esercita un marcato effetto neuroprotettivo e che la sua azione coinvolge, oltre al complemento, anche altri sistemi infiammatori associati, quale quello delle chinine.

Studi sul ruolo di Rai (N-Shc) nel danno cerebrale da ischemia/riperfusion

Questa linea di ricerca è focalizzata su Rai, un membro della famiglia delle proteine di tipo Shc, trasduttori citoplasmatici che condividono una struttura modulare simile. Rai è espressa selettivamente nel tessuto nervoso. È in grado di attivare il pathway PI3K/Akt, di agire come fattore anti-apoptotico e di aumentare la sopravvivenza di neuroni esposti a deprivazione di siero. In collaborazione con G. Pelicci (IEO, Milano) abbiamo iniziato a studiare il ruolo di Rai in vivo. Stiamo analizzando l'espressione di Rai e nel suo signalling pathway in aree cerebrali di topi sottoposti a stimoli neurotossici, infiammatori o di topi ischemici. A tale scopo stiamo utilizzando un modello di ischemia cerebrale focale con riperfusion, disponibile nel laboratorio. Inoltre, al fine di determinare se Rai possiede un effetto neuroprotettivo in vivo, stiamo studiando la risposta all'ischemia in topi Rai +/-.

Precursori midollari ematopoietici e cellule staminali neurali nel trattamento dell' ischemia cerebrale

Scopo di questo progetto è quello di valutare l'efficacia dell'infusione e della mobilizzazione di precursori ematopoietici (HSC) e dell'infusione di cellule neurali (NSC) nel trattamento dell'ischemia cerebrale e di esplorarne i meccanismi riparativi. Si utilizza un modello murino di ischemia cerebrale focale con riperfusion. Abbiamo attualmente determinato i protocolli ottimali per la somministrazione di cellule, tra cui la concentrazione e la via di somministrazione. Abbiamo inoltre studiato alcuni marcatori cellulari che consentissero di ottenere un segnale chiaro e duraturo. È stata valutata anche la diffusione e la penetrazione di cellule staminali nel tessuto normale e ischemico. Stiamo attualmente studiando l'effetto di popolazioni midollari selezionate sulla lesione ischemica, la neurodegenerazione e il recupero funzionale.

Antiinflammatory and neuroprotective effects of glycoaminoglycans: effects on b-amyloid

Sostanze in grado di interagire con la regione N-terminale della b-amiloide (Ab), quali i glicosaminoglicani (GAG), ne possono ridurre l'attività biologica. In collaborazione con L. Bergamaschini (Università di Milano), abbiamo valutato l'effetto di alcuni GAG, tra cui le eparine, sulla neurotossicità indotta da Ab e sulla sua capacità di attivare il complemento e il sistema delle chinine. Le eparine hanno ridotto significativamente la citotossicità di Ab su cellule PC12 differenziate con NGF. Abbiamo quindi indagato l'effetto dei GAG sull'attivazione dei sistemi del complemento e delle chinine da parte della Ab. I risultati ottenuti misurando la scissione di C4 e del kininogeno ad alto peso molecolare hanno mostrato che le eparine riducono in modo dose-dipendente l'attivazione del complemento e delle chinine indotto da Ab. Il trattamento cronico di topi transgenici che overesprimono il precursore della Ab (APP751 umano), con alcune eparine non ha mostrato né comparsa di tossicità, né alcuna evidenza di emorragie addominali o cerebrali. L'effetto del trattamento farmacologico sui depositi di Ab e sulla risposta infiammatoria è attualmente in corso.

Laboratorio di Neurobiologia Molecolare

Studio dei meccanismi patogenetici della Sclerosi Laterale Amiotrofica

Ruolo dei meccanismi intracellulari e della via di degradazione proteica ubiquitina/proteasoma nella progressiva degenerazione dei motoneuroni spinali nei topi con SOD1 mutata, un modello di SLA familiare. Abbiamo messo in evidenza che già in una fase iniziale della malattia, la proteina p38MAPK viene fortemente attivata nei motoneuroni determinando, presumibilmente, la fosforilazione dei neurofilamenti fosforilati che si accumulano nel corpo cellulare e negli assoni formando inclusioni intracellulari. Con l'avanzare della patologia l'attivazione di p38MAPK avviene anche a livello della glia e microglia reattiva favorendo l'attivazione di processi infiammatori forse responsabili della rapida progressione della malattia. Questi risultati sono in via di pubblicazione sulla rivista *Molecular and Cellular Neuroscience*. Dati preliminari evidenziano una tendenza alla riduzione dell'attività del proteasoma nel midollo spinale dei topi con SOD1 mutata nella fase iniziale della malattia mentre nella fase avanzata si osserva un'attivazione generalizzata del sistema probabilmente in conseguenza dell'accumulo di aggregati proteici intracellulari. Attualmente è in corso una collaborazione con la Dr.ssa Bonetto del dipartimento di Molecular Biochemistry and Pharmacology per l'analisi proteomica della composizione degli aggregati proteici nel midollo spinale dei topi con SOD1 mutata.

Terapie farmacologiche nel modello murino di SLA

Sulla base di risultati ottenuti nel nostro laboratorio in collaborazione con la Dr.ssa Mennini del dipartimento di Molecular Biochemistry and Pharmacology, che dimostrano un coinvolgimento dell'eccitotossicità nella degenerazione selettiva dei motoneuroni, abbiamo indagato l'effetto di un nuovo farmaco inibitore dei recettori AMPA del glutammato nei topi modelli di SLA. Abbiamo visto che esso è in grado di migliorare il decorso della malattia e di aumentare la sopravvivenza nei topi mostrando un'azione quando la malattia è già in corso, un aspetto importante per il suo potenziale uso nei pazienti.

Sviluppo di un modello condizionale di topi transgenici per SOD1 mutata con il metodo tTA

Lo scopo di questo progetto è quello di sviluppare un modello murino condizionale dove l'espressione della SOD1 umana (hSOD1) mutata possa essere controllata temporalmente con il sistema tTA. Durante questo anno di ricerca abbiamo generato 9 linee di topi transgenici nei quali il gene codificante per hSOD1 con mutazione G93A è sotto il controllo di un promotore

bidirezionale, che controlla anche l'espressione del gene reporter EGFP. Una di queste linee è stata incrociata con topi transgenici per tTA, dove l'espressione di tTA è guidata da un promotore per la proteina ubiquitaria Prp. Abbiamo valutato il pattern di espressione di hSOD1 G93A e del gene reporter EGFP negli animali doppi transgenici. I due geni sono co-espressi ad alti livelli nei neuroni recettori olfattivi posti nell'epitelio olfattivo e nelle proiezioni che dai recettori raggiungono lo strato glomerulare del bulbo olfattivo. Al momento stiamo continuando ad incrociare le altre linee di animali responsivi da noi prodotte con i topi attivatori, per cercare di ottenere animali doppi transgenici con un pattern di espressione più ubiquitario. Inoltre, stiamo generando animali attivatori dove il transattivatore tTA sia sotto il controllo del promotore di hSOD1, per riprodurre in maniera più accurata il profilo di espressione della SOD1 mutata.

Inattivazione condizionale con il sistema Cre-loxP di geni coinvolti nel processo di rallentamento della degenerazione Walleriana.

A seguito dell'identificazione del gene chimerico che nei topi con mutazione spontanea Wld, è in grado di proteggere gli assoni dalla degenerazione Walleriana in seguito ad assotomia, è in corso uno studio, in collaborazione con il Dr. Coleman dell'Università di Colonia, mirato a produrre topi condizionali knockouts per i geni componenti del gene chimerico Wld (ubiquitination factor Ube4b and NAD sytnthesising enzyme Nmnat-1) al fine di identificare quello più rilevante per il meccanismo di protezione assonale ed il coinvolgimento di ciascuno dei due geni componenti nei processi di degenerazione neuronale.

Altre attività di ricerca

UNITÀ DI FARMACOLOGIA COMPORIMENTALE: Basi neuronali del "drug craving" e del "relapse" nell'assunzione di sostanze d'abuso

Scopo di questo progetto è quello di produrre indicazioni utili allo sviluppo di approcci terapeutici efficaci per prevenire la ricaduta nel consumo di sostanze d'abuso in seguito all'insorgenza di "craving".

Nel corso del 2002 è stato messo a punto e caratterizzato un modello sperimentale di "relapse" (ricaduta) indotto dalla presentazione di stimoli ambientali associati all'autosomministrazione della cocaina dopo un periodo di astinenza. Si è dimostrato che agonisti parziali al recettore dopaminergico del tipo D3 e antagonisti al recettore dopaminergico del tipo D2 sono in grado di modulare i comportamenti di ricerca della sostanza d'abuso scatenati, in ratti disintossicati, dalla presentazione degli stimoli ambientali che sono stati associati all'assunzione della cocaina. Inoltre, si stanno svolgendo diversi studi nel tentativo di ottenere un modello sperimentale di "relapse" nel consumo di nicotina.

UNITÀ DI FARMACOLOGIA COMPORIMENTALE: Caratterizzazione di nuovi parziali agonisti ai recettori dopaminergici D3 in grado di modulare il 'craving' da cocaina

Nell'ambito della collaborazione tra l'Unità di Farmacologia Comportamentale e il Laboratorio di Farmacologia Recettoriale e il Dipartimento Farmaco Chimico Tecnologico dell'Università di Siena sono state sintetizzate diverse "nuove" molecole in grado di agire selettivamente come agonisti parziali o come antagonisti ai recettori dopaminergici di tipo 3. L'obiettivo di questo progetto è la caratterizzazione farmacologica "in vitro" e "in vivo" di queste molecole di nuova sintesi e di valutare la loro capacità di modulare il "craving" da cocaina. I risultati in vivo hanno dimostrato la capacità di alcune molecole, che non selettivamente agirebbero come parziali agonisti ai recettori di tipo 3 della dopamina, di modulare i comportamenti di ricerca della

sostanza d'abuso scatenati, in ratti disintossicati, dalla presentazione degli stimoli ambientali che sono stati associati all'assunzione della cocaina.

UNITÀ DI FARMACOLOGIA COMPORTAMENTALE: Nuovi prodotti di origine vegetale per il trattamento della depressione

Il progetto, svolto in collaborazione con Indena S.p.A., il Laboratorio Metabolismo dei Farmaci (Silvio Caccia) e il Laboratorio di Farmacologia Recettoriale (Tiziana Mennini), si propone l'identificazione dei costituenti attivi responsabili della attività antidepressiva degli estratti di *Hypericum perforatum* L. e loro possibile meccanismo d'azione, nell'intento di sviluppare un farmaco con caratteristiche farmacodinamiche e farmacocinetiche superiori all'estratto totale attualmente utilizzato.

Gli studi farmacologici e farmacodinamici condotti finora hanno dimostrato che l'iperforina è un elemento che sicuramente contribuisce all'attività dell'estratto idrometanolico di *Hypericum perforatum* L. in un modello predittivo dell'attività antidepressiva. Questa evidenza ha portato alla sintesi e alla valutazione farmacologica di alcuni suoi derivati tra cui l'iperforina trimetossibenzoato.

UNITÀ DI FARMACOLOGIA COMPORTAMENTALE Resistenza ai farmaci antidepressivi: studi sperimentali e clinici

Il progetto svolto in collaborazione con l'Unità di Microdialisi Intracerebrale (R.W. Invernizzi), il Laboratorio Metabolismo dei Farmaci (Silvio Caccia) e il Laboratorio di Biologia delle Malattie Neurodegenerative (GianLuigi Forloni) ha come obiettivo la caratterizzazione comportamentale e biochimica di un modello di resistenza ai farmaci antidepressivi. A tale scopo, abbiamo documentato che i ratti Wistar Kyoto, rispondono in modo diverso rispetto ad un ceppo di controllo, lo Sprague Dawley, quando sottoposti ad uno stress inevitabile. Abbiamo anche effettuato i primi esperimenti con farmaci antidepressivi triciclici e bloccanti selettivi dell'uptake della serotonina per determinare la risposta dei due ceppi nel test del nuoto forzato, modello sperimentale predittivo dell'attività antidepressiva.

UNITÀ DEL COMPORTAMENTO COGNITIVO: Sviluppo di modelli di deficit cognitivo per individuazione di nuove strategie farmacologiche per il trattamento dei disturbi cognitivi.

L'interesse principale di questi studi è lo sviluppo di nuove strategie farmacologiche per il trattamento sintomatico dei disturbi cognitivi associati a malattie neurologiche come la demenza d'Alzheimer o psichiatriche come depressione e schizofrenia. A questo scopo sono stati sviluppati modelli animali che presentano caratteristiche tipiche dei disturbi cognitivi che si osservano nei pazienti. Questi studi includono: a) l'uso delle eccitotossine, immunotossine o agenti farmacologici specifici per distruggere o manipolare in modo selettivo diverse popolazioni neuronali nel cervello di ratto e topo; b) l'utilizzo di diversi test comportamentali che permettono di esaminare vari aspetti di apprendimento, memoria e di attenzione sia nei ratti che nei topi; c) l'utilizzo dei topi transgenici che presentano aspetti neuropatologici della malattia di Alzheimer o di altre malattie neurologiche o psichiatriche.

UNITA' DEL COMPORTAMENTO COGNITIVO: Sviluppo di modelli di deficit cognitivo per individuazione di nuove strategie farmacologiche per il trattamento dei disturbi cognitivi.

I deficit di attenzione e delle funzioni esecutive sono una componente importante della schizofrenia per i quali il trattamento con antipsicotici classici risulta inefficace. Un'ipotesi recente suggerisce che i deficit cognitivi dei pazienti schizofrenici possono dipendere da un'alterata trasmissione glutammatergica nella corteccia prefrontale. Utilizzando un test di

attenzione selettiva abbiamo mostrato che gli antagonisti dei recettori glutammatergici di tipo NMDA, somministrati direttamente nella corteccia prefrontale, causano disturbi di attenzione e delle funzioni esecutive nel ratto. Abbiamo anche stabilito che i recettori 5-HT_{2A} regolano l'attenzione e le funzioni esecutive della corteccia prefrontale.

UNITA' DI MICRODIALISI CEREBRALE: Studi sul meccanismo d'azione dei farmaci antidepressivi

L'interesse principale del nostro gruppo di ricerca è rivolto allo studio dei meccanismi adattativi che determinano la comparsa degli effetti antidepressivi degli inibitori selettivi del "reuptake" della serotonina (SSRI) e della noradrenalina (NRI).

E' noto che il ritardo con cui insorge l'effetto antidepressivo costituisce uno dei limiti principali dell'azione dei farmaci antidepressivi. Studi del nostro gruppo hanno mostrato che l'effetto degli SSRI sulla disponibilità sinaptica della serotonina in varie aree del cervello di ratto è modulata dall'attività degli autorecettori somatodendritici di tipo 5-HT_{1A}. Inoltre, un aumento dei livelli sinaptici di serotonina causato dal trattamento cronico con SSRI è associato alla desensibilizzazione degli autorecettori 5-HT_{1A} che controllano il rilascio del neurotrasmettitore. Meccanismi analoghi modulano la capacità della reboxetina, un farmaco antidepressivo che inibisce selettivamente il "reuptake" della noradrenalina, di aumentare la disponibilità sinaptica di noradrenalina nel cervello di ratto.

Questi risultati dimostrano che l'attività degli autorecettori serotoninergico di tipo 5-HT_{1A} e α_2 -adrenergico determina l'efficacia con cui gli SSRI e NRI aumentano la disponibilità di serotonina e noradrenalina nelle sinapsi centrali e suggeriscono che l'effetto antidepressivo degli SSRI e NRI può essere favorito dagli antagonisti dei rispettivi autorecettori.

UNITA' DI MICRODIALISI CEREBRALE: Interazione tra i sistemi serotoninergico e dopaminergico cerebrali

La trasmissione dopaminergica cerebrale è controllata dal sistema serotoninergico attraverso diversi recettori. Dato il coinvolgimento dei neuroni dopaminergici nei processi motori, cognitivi ed emotivi, il controllo esercitato dai neuroni serotoninergici sulla trasmissione dopaminergica ha importanti implicazioni funzionali. Gli studi condotti dal nostro gruppo hanno avuto l'obiettivo di chiarire il ruolo dei recettori serotoninergici di tipo 5-HT_{2C} nel controllare la trasmissione dopaminergica in condizioni basali e in risposta ad uno stress acuto. Abbiamo stabilito che i recettori 5-HT_{2C} esercitano un controllo tonico sul rilascio di dopamina corticale e la stimolazione di questi recettori inibisce il rilascio di dopamina corticale indotto dallo stress, senza modificare il rilascio basale. Vista l'importanza della dopamina corticale nel controllo dei processi cognitivi, i nostri risultati suggeriscono che la stimolazione dei recettori 5-HT_{2C} potrebbe contrastare i deficit cognitivi associati ad un'iperfunzione dopaminergica corticale.

DIPARTIMENTO RICERCA CARDIOVASCOLARE

PERSONALE

Capo Dipartimento Maria Grazia FRANZOSI, Dr.Sci.Biol.

Laboratorio di Farmacologia Clinica Cardiovascolare

Capo Laboratorio Roberto LATINI, Dr.Med.Chir.

Laboratorio di Valutazione Clinica dei Farmaci

Capo Laboratorio Maria Grazia FRANZOSI, Dr.Sci.Biol.

Unità di Bioinformatica
CapoUnità

Enrico NICOLIS, Stud.Sci.Informaz.

Unità di Statistica Medica
Capo Unità

Simona BARLERA, Dr.Sci.Pol.

Laboratorio di Ricerca in Medicina Generale

Capo Laboratorio M.Carla RONCAGLIONI, Dr.Sci.Biol.

Laboratorio di Farmacologia Clinica

Capo Laboratorio Gianni TOGNONI, Dr.Med.Chir.

Unità di Ricerca Infermieristica
Capo Unità

Paola DI GIULIO, Dipl.Inf.Prof.

INTRODUZIONE ALLE ATTIVITA' DEL DIPARTIMENTO

Il Dipartimento di Ricerca Cardiovascolare (DRC) sviluppa attività di ricerca che coprono sia l'area sperimentale e di ricerca di base, sia quella della valutazione clinica ed epidemiologica di farmaci, strategie diagnostico-terapeutiche, fattori di rischio, predittori di esito. Caratteristica comune alla logica di sviluppo dei progetti del Dipartimento (nato sostanzialmente dalla lunga esperienza degli studi GISSI) è quella di privilegiare una organizzazione di ricerca a forte impronta collaborativa e multicentrica (anche per quanto riguarda la componente della parte sperimentale che si interfaccia con la clinica). In questo senso lo staff del Dipartimento è concepibile come un "nucleo di riferimento" per un gruppo di ricerca reale che abbraccia, a livello nazionale ed internazionale, in modo permanente, centinaia di ricercatori clinici e moltissime strutture assistenziali.

Alle più tradizionali collaborazioni centrate sulla componente medica ed ospedaliera della ricerca, si sono aggiunte negli ultimi anni linee di ricerca specificamente originali nel panorama italiano, che riguardano la medicina generale e la funzione-attività infermieristica.

SCOPERTE/RISULTATI PRINCIPALI

L'effetto protettivo di eritropoietina umana ricombinante, già dimostrato in un modello di danno ischemico cerebrale, è stato osservato in un modello di infarto miocardico, nell'uomo.

La proteina di fase acuta, pentraxina 3 identificata e caratterizzata in Istituto, è risultata essere il più significativo predittore indipendente di mortalità dopo infarto in 724 pazienti studiati.

L'antagonista recettoriale dell'angiotensina II, valsartan, riduce marcatamente l'attivazione neuro-ormonale (BNP, aldosterone, norepinefrina) in una popolazione di più di 4000 pazienti con insufficienza cardiaca arruolati nello studio Val-HeFT.

COLLABORAZIONI NAZIONALI

ANMCO (Associazione Nazionale Medici Cardiologi Ospedalieri)
 CINECA (Centro di Calcolo Interuniversitario dell'Italia Nord-Orientale)
 CSeRMEG (Centro Studi e Ricerche in Medicina Generale)
 Gruppi organizzati di MMG (FIMMG; CoS, Ass.Cu.M.I.)
 Regione Lombardia
 SIBIOC (Società Italiana di Biochimica Clinica)
 SIFO (Società Italiana di Farmacia Ospedaliera)

COLLABORAZIONI INTERNAZIONALI

CCC (Canadian Cardiovascular Collaboration), Università McMaster, Hamilton, Ontario, Canada
 Cecomet (Centro de Epidemiologia comunitaria y Medicina tropical, Esmeraldas, Ecuador)
 Cochrane Collaboration, Oxford, UK

Clinical Trial Research Unit, Università di Auckland, New Zealand
 CTSU (Clinical Trial Service Unit)/ISIS (International Studies on Infarct Survival), Oxford, UK
 Cardiovascular Research Institute, New York Medical College, Valhalla, NY, US
 ECLA (Estudios Cardiológicos de Latino-America)
 Karolinska Institutet, Stockholm, Svezia
 Veterans Affairs, Minneapolis, Minnesota, USA
 Westfälische Wilhelms - Universität, Münster, Germania
 Wellcome Trust Centre for Human Genetics, University of Oxford, UK
 WONCA (World Organization of Family Doctors) Europe

PRESENZA IN COMITATI EDITORIALI

Gianni Tognoni: Circulation, European Heart Journal, Journal of Clinical Epidemiology, International Journal of Health Services.
 Roberto Latini: Italian Heart Journal.

ATTIVITA' DI REVISIONE

American Journal of Managed Care, Cardiovascular Research, Clinical Pharmacology and Therapeutics, European Heart Journal, Journal of Cardiac Failure, PharmacoEconomics.

PRESENZA IN COMMISSIONI NAZIONALI E INTERNAZIONALI

European Science Foundation
 CUF (Commissione Unica per il Farmaco)
 Commissione Regionale della Lombardia per la Sperimentazione
 Comitato Etico per la Sperimentazione Clinica dei Farmaci Azienda U.L.S.S. 21 di Legnago - Regione Veneto
 Comitato Etico Azienda U.L.S.S. 20 di Verona - Regione Veneto

ORGANIZZAZIONE DI EVENTI

I Corso di Aggiornamento del Centro Studi ANMCO "Scompenso Cardiaco", Firenze, 25-26 giugno 2001
 II Corso di Aggiornamento del Centro Studi ANMCO "Prevenzione/Iperensione", Firenze, 8-9 ottobre 2001
 III Corso di Aggiornamento del Centro Studi ANMCO "Sindromi Coronariche acute", Firenze, 8-9 maggio 2002

CONTRIBUTI E CONTRATTI

AstraZeneca, Bayer, Chiesi Farmaceutici, Diagnostica Senese, Ely Lilly, MSD, Novartis Pharma, Pharmacia Upjohn, Sigma Tau, SPA Società Prodotti Antibiotici S.p.A., Warren Institute, Zambon Farmaceutici

SELEZIONE PUBBLICAZIONI SCIENTIFICHE APPARSE NELL'ANNO 2002

Latini R, Masson S, Anand I, Judd D, Maggioni AP, Chiang Y, Bevilacqua M, Salio M, Cardano P, Dunselman PHJM, Holwerda NJ, Tognoni G, Cohn JN, for the Val-HeFT Investigators
Effects of valsartan on circulating brain natriuretic peptide and norepinephrine in symptomatic chronic heart failure. The Val-HeFT trial
Circulation 2002. 106: 2454 – 2458

Mauri F, Franzosi M G, Maggioni A P, Santoro E, Santoro L
Clinical value of 12-lead electrocardiography to predict long-term prognosis of GISSI-1 patients
J Am Coll Cardiol 2002; 39: 1594-1600

Wong M, Staszewsky L, Latini R, Barlera S, Volpi A, Chiang Y, Benza RL, Gottlieb SO, Kleemann TD, Rusconi F, P.M. V, Cohn JN, for the Val-HeFT Heart Failure Trial Investigators
Valsartan benefits left ventricular structure and function in heart failure: Val-HeFT Echocardiographic Study
J Am Coll Cardiol 2002. 40(5): 970 - 975

Budaj A, Yusuf S, Mehta SR, Fox KAA, Tognoni G, Zhao F, Chrolavicius S, Hunt D, Keltai M, Franzosi MG, for the Cure trial Investigators
The benefit of clopidogrel in patients with acute coronary syndromes without ST-segment elevation in various risk groups
Circulation 2002. 106 (13): 1622 – 1626

Marchioli R, Barzi F, Bomba E, Chieffo C, Di Gregorio D, Di Mascio R, Franzosi MG, Geraci E, Levantesi G, Maggioni AP, Mantini L, Marfisi RM, Mastrogiuseppe G, Mininni N, Nicolosi GL, Santini M, Schweiger C, Tavazzi G, Tognoni G, Tucci C, Valagussa F, on behalf of GISSI-Prevenzione investigators
Early protection against sudden coronary death by n-3 polyunsaturated fatty acids after myocardial infarction: Time-course analysis of the results of Gruppo Italiano per lo Studio della Sopravvivenza nell'Infarto Miocardico (GISSI)-Prevenzione
Circulation 2002. 105: 1897 - 1903

Avanzini F, Ferrario G, Santoro L, Peci P, Giani P, Santoro E, Franzosi M G, Tognoni G, GISSI-3
Risks and benefits of the early treatment of acute myocardial infarction with an angiotensin converting enzyme inhibitor in patients with a history of arterial hypertension. Analysis of the GISSI-3 database
Am Heart J 2002; 144: 1018-1025

Avanzini F, Corsetti A, Maglione T, Alli C, Colombo Fabio, Torri V, Floriani I, Tognoni G, STAR
Simple, shared guidelines raise the quality of antihypertensive treatment in routine care
Am Heart J 2002; 144: 726-732

Wong M, Staszewsky L, Volpi A, Latini R, Barlera S, Höglund C
Quality assessment and quality control of echocardiographic performance in a large multi-center international study: Valsartan in Heart Failure Trial (Val-HeFT)
J Am Soc Echocardiogr 2002. 15: 293 - 307

- Camisasca P, Avanzini F, Alli C, Colombo Fabio, Tognoni G, STAP
Overall cardiovascular risk still ignored in general practice care of hypertension
J Cardiovasc Risk 2002; 9: 147-152
- De Berardis G, Franciosi M, Belfiglio M, Cavaliere D, Di Nardo B, Greenfield S, Kaplan S H, Pellegrini F, Sacco M, Tognoni G, Valentini M, Nicolucci A, QuED Study Group
Erectile dysfunction and quality of life in type 2 diabetic patients. A serious problem too often overlooked
Diabetes Care 2002; 25: 284-291
- De Angelis N, Fiordaliso F, Latini R, Calvillo L, Funicello M, Gobbi M, Mennini T, Masson S
Appraisal of the role of angiotensin II and aldosterone in ventricular myocyte apoptosis in adult normotensive rat
J Mol Cell Cardiol 2002; 34: 1655-1665
- Masson S, Vago T, Baldi G, Salio M, De Angelis N, Nicolis E, Maggioni A P, Latini R, Norbiato G, Bevilacqua M
Comparative measurement of N-terminal pro-brain natriuretic peptide and brain natriuretic peptide in ambulatory patients with heart failure
Clin Chem Lab Med 2002; 40: 761-763
- Latini R, Masson S, De Angelis N, Anand I
Role of brain natriuretic peptide in the diagnosis and management of heart failure: Current concepts
J Card Fail 2002; 8: 288-299
- de Kam P J, Nicolosi G L, Voors A A, Van den Berg M P, Brouwer J, Van Veldhuisen D J, Barlera S, Maggioni A P, Giannuzzi P, Temporelli P L, Latini R, Van Gilst W H
Prediction of 6 months left ventricular dilatation after myocardial infarction in relation to cardiac morbidity and mortality. Application of a new dilatation model to GISSI-3 data
Eur Heart J 2002; 23: 536-542
- Teo K K, Yusuf S, Pfeffer M, Kober L, Hall A, Pogue J, Latini R, Collins R, ACE Inhibitor Myocardial Infarction Collaborative Group
Effects of long-term treatment with angiotensin-converting-enzyme inhibitors in the presence or absence of aspirin: A systematic review
Lancet 2002; 360: 1037-1043
- Gagliano N, Arosio B, Grizzi F, Masson S, Tagliabue J, Dioguardi N, Vergani C, Annoni G
Reduced collagenolytic activity of matrix metalloproteinases and development of liver fibrosis in the aging rat
Mech Ageing Dev 2002; 123: 413-425
- Chiabrando C, Avanzini F, Rivalta C, Colombo F, Fanelli R, Palumbo G, Roncaglioni M C, PPP Collaborative Group
Antioxidant Effect Vitamin E
Long-term vitamin E supplementation fails to reduce lipid peroxidation in people at cardiovascular risk: Analysis of underlying factors
Current Controlled Trials Cardiovascular Medicine 2002; 3: 5

SELEZIONE PUBBLICAZIONI DIVULGATIVE APPARSE NELL'ANNO 2002

- Di Giulio P, Adamini I, Brambilla D, Pontano I
Lo Studio Prono Supino: un modello di studio per gli infermieri?
Assistenza Infermieristica e Ricerca 2002; 21: 81-83
- Lepore V, D'Ettorre A, Valerio M, Corrado D, De Camillis P, Romero M, Scurti V, Monesi G, Ferrarese A, Monesi L, Mollo F, Tognoni G
Dalla farmacoepidemiologia all'epidemiologia dell'assistenza
Giornale Italiano Farmacia Clinica 2002; 16/2: 102-107
- Maggioni A P, Latini R
Studio randomizzato con Valsartan nello scompenso cardiaco cronico
Ital Heart J 2002; 3 Suppl: 463-465

Monesi L, Rosso Fernandez C, D'Ettoire A, Romero M, Sasso E, Lepore V, Tognoni G, Monesi G, Ferrarese A.
I database amministrativi come fonti di ricerca epidemiologica: il percorso clinico-assistenziale del diabete mellito.
Giornale Italiano Farmacia Clinica 2002; 16/3: 158-164.

Tognoni G
Eventi sentinella
Informazioni sui Farmaci 2002; 26: 1-3

Tognoni G
Linee-guida
Assistenza Infermieristica e Ricerca 2002; 21: 58-60

Tognoni G
Conflitti di interessi in MG/PLS
Ricerca & Pratica 2002; n. 106: 149-151

Tognoni G
L'opportunità di una serie di auguri
Salute e Territorio 2002; 23 n.133: 229-230

Tognoni G
Una bibliografia di auguri per i prossimi 50 anni
Giornale Italiano Farmacia Clinica 2002; 16/2: 71-72

Tognoni G
"Note CUF" di cronaca
Ricerca & Pratica 2002; n. 104: 72-75

Tognoni G
Costi, consumi, popolazioni, bisogni
Informazioni sui Farmaci 2002; 26: 57-58

Tognoni G
Guida all'uso del PTN
Informazioni sui Farmaci 2002; 26: 109

Roncaglioni M C, Roccatagliata D
Rischio e prevenzione: una questione di misure
Occhio Clinico 2002; n. 2: 5-6

Valgimigli M, Ferrari R, Masson S, Latini R
Scompenso cardiaco refrattario. Antagonismo del fattore di necrosi tumorale-alfa e dell'endotelina nell'uomo: due promesse da mantenere
Ital Heart J 2002; 3 Suppl: 793-803

ATTIVITA' DI RICERCA

Laboratorio di Farmacologia Clinica Cardiovascolare

Rimodellamento cardiaco in un modello sperimentale di infarto miocardico in ratti anziani. Effetto di un antagonista specifico recettoriale dell'aldosterone, eplerenone

Lo scopo del presente studio è quello di valutare gli effetti dell'eplerenone, un antagonista specifico dei recettori dell'aldosterone, sul rimodellamento ventricolare in un modello di infarto miocardico dopo occlusione permanente della coronaria in ratti adulti. Più specificatamente, sono stati valutati l'anatomia, l'emodinamica, la funzione cardiaca da una parte, e la biologia di

alcuni componenti della matrice extracellulare dall'altra in ratti di 19 mesi (vecchi). Prima del sacrificio, circa 3 mesi dopo la chirurgia, gli animali sono stati sottoposti a un esame ecocardiografico completo.

I ratti anziani con infarto mostravano una disfunzione diastolica e una modesta disfunzione sistolica. Il trattamento con eplerenone non ha migliorato la disfunzione sistolica, ma ha normalizzato i parametri diastolici del ventricolo sinistro. L'anatomia del ventricolo sinistro (diametro ventricolare sinistro, volume della camera e spessore del setto) non dimostrava significativi effetti di infarto. Non c'erano evidenze di attivazione ormonale, ma l'attività reninica plasmatica e l'aldosterone erano significativamente elevati in ratti che ricevevano eplerenone, come atteso dalle sue proprietà farmacologiche. La fibrosi interstiziale era elevata nella parte infartuata del ventricolo sinistro nei gruppi con infarto, ma veniva normalizzata dall'eplerenone. In conclusione, l'eplerenone normalizza il rilasciamento ventricolare come risulta dalle valutazioni ecocardiografiche ed emodinamiche, possibilmente attraverso una riduzione della fibrosi interstiziale. Ciò conferma gli effetti benefici di questo farmaco nell'infarto miocardico estendendo tali osservazioni ad un modello di disfunzione cardiaca in animali anziani.

Utilità del peptide N-terminale pro-BNP per la diagnosi di nuovi casi di insufficienza cardiaca nella Medicina Generale in Sicilia.

Lo scopo di questo studio prospettico era di valutare la specificità e sensibilità di un ormone cardiaco (NT-proBNP) per identificare o escludere nuovi casi di insufficienza cardiaca in una popolazione di pazienti seguiti dai propri Medici Generici e che presentano segni e sintomi legati ad una possibile diagnosi di insufficienza cardiaca. In questo studio 128 pazienti sono stati indirizzati dai propri medici di base a 4 centri cardiologici clinici (Caltanissetta, Cefalù, Palermo, Trapani) per confermare la diagnosi di insufficienza cardiaca, in accordo con i criteri della Società Europea di Cardiologia, e per determinare la concentrazione plasmatica di NT-proBNP. La diagnosi di insufficienza cardiaca è stata confermata nel 34% dei soggetti i quali avevano una concentrazione plasmatica di NT-proBNP significativamente elevata (media: 545 pg/mL) rispetto ai soggetti senza diagnosi di insufficienza cardiaca (106 pg/mL). Inoltre è stato misurato il BNP in un sottogruppo di individui per convalidare il dosaggio di NT-proBNP plasmatico ed è stato trovato un buon accordo analitico tra i due marker neurormonali. Per le analisi è stata usata una curva di tipo ROC ed è stato dimostrato che una concentrazione di NT-proBNP di 305 pg/mL ha una sensibilità del 69%, una specificità dell'80%, un valore predittivo positivo del 61% e un valore predittivo negativo dell'86% per identificare i soggetti con insufficienza cardiaca.

Questi risultati confermano l'elevato potere predittivo negativo di NT-proBNP in una popolazione di pazienti di Medicina Generale e suggeriscono che questo marker relativamente semplice ed economico potrebbe essere usato per escludere la diagnosi di insufficienza cardiaca in pazienti che presentano segni e sintomi della malattia.

La proteina C-reattiva nello studio Val-HeFT

Lo studio Val-HeFT (Valsartan Heart Failure Study) è uno studio clinico internazionale, randomizzato, il cui scopo era di valutare l'efficacia del valsartan, un antagonista recettoriale di tipo I dell'angiotensina II in 5010 pazienti con insufficienza cardiaca. Lo studio ha dimostrato una significativa riduzione del 13% dell'end-point combinato di mortalità e morbilità (Cohn and Tognoni, New England J Med 2001; 345: 1667-75). Alla randomizzazione e al follow-up (mediana di 23 mesi) sono stati raccolti ed analizzati i campioni plasmatici nella maggior parte dei pazienti. L'obiettivo di questo studio era di determinare i livelli plasmatici della proteina C-reattiva (PCR), una proteina della risposta infiammatoria acuta, nei pazienti Val-HeFT. PCR è emersa come un nuovo indicatore di stratificazione del rischio cardiovascolare in pazienti con sindromi coronariche, ed ha dimostrato di essere ridotta da vari farmaci, tra cui gli inibitori delle

riduttasi del CoA (statine). PCR plasmatica è stata determinata in circa 8000 campioni di 2550 pazienti mediante un metodo immunonefelometrico (Dade Behring) nel Laboratorio di Chimica Clinica dell'Ospedale di Desio (Prof. Mocarelli, Dr. Signorini). Da questo studio, primo nel suo genere, emergeranno nuove conoscenze sull'effetto di un antagonista AT1 su PCR in pazienti con insufficienza cardiaca sintomatica e sul ruolo di PCR nella stratificazione del rischio cardiovascolare in questi pazienti.

Gli effetti anti-rimodellamento del blocco dei recettori dell'aldosterone con canrenone nell'insufficienza cardiaca lieve-moderata: lo studio AREA IN-CHF

Lo studio RALES ha dimostrato che lo spironolattone, un antagonista recettoriale dell'Aldosterone, riduce il rischio di morbilità e mortalità sia nello scompenso cardiaco progressivo, sia nella morte improvvisa in pazienti con scompenso cardiaco moderato o severo. Gli antagonisti dell'aldosterone potrebbero essere efficaci in quanto contrastano gli effetti dell'aldosterone sulla ritenzione di sodio, sulla perdita di potassio e magnesio, sull'attivazione simpatica, la compliance vascolare e la fibrosi cardiaca. Nell'AREA IN-CHF, uno studio multicentrico, randomizzato e controllato con placebo, è stato valutato l'effetto del canrenone, un metabolita dello spironolattone, in pazienti con scompenso cardiaco moderato (n=400 per gruppo) in termini di rimodellamento del ventricolo sinistro e di end-point combinato di mortalità e morbilità. Il disegno dello studio prevede un prelievo di sangue a tutti i pazienti alla randomizzazione e dopo 6 mesi per determinare la concentrazione plasmatica di aldosterone (solo all'ingresso), del peptide natriuretico cerebrale e di un marker circolante del turnover del collagene (peptide N-terminale del collagene III). Questi fattori bioumorali saranno dosati centralmente del Dipartimento di Ricerca Cardiovascolare e produrranno informazioni sull'effetto del canrenone su questi indicatori e sulle loro relazioni con l'outcome dello studio. L'arruolamento è in atto.

Indagine epidemiologica dei fattori di rischio cardiovascolare in un comune rurale: il progetto BNP Ventimiglia di Sicilia.

Iniziato nel 1989, il progetto epidemiologico "Ventimiglia di Sicilia", cerca di identificare i fattori di rischio cardiovascolare in un comune rurale, Ventimiglia, in provincia di Palermo, caratterizzato da omogeneità etnica e da uno stile di vita mediterraneo, allo scopo di individuare una strategia efficace di prevenzione primaria attraverso il controllo dei fattori di rischio messi in luce dalla ricerca. Il sottoprogetto BNP, iniziato nel 2002, è articolato in due fasi. In una prima fase, è stata studiata la distribuzione della concentrazione plasmatica di BNP, un indicatore circolante prognostico della presenza e gravità di varie malattie cardiovascolari (scompenso cardiaco in particolare), nell'intera popolazione (1200 abitanti). Dati preliminari su 830 abitanti mostrano che la distribuzione di BNP in questa popolazione è sovrapponibile a quella presente in letteratura. E' in corso uno studio caso-controllo ecocardiografico per valutare la relazione tra BNP, funzione cardiaca e morfologia di questa popolazione. I casi sono stati selezionati come soggetti con una concentrazione di BNP maggiore di 70 pg/mL (dosaggio IRMA) con due controlli comparabili per età e sesso, con soggetti che hanno un BNP inferiore a 35 pg/mL, compresi tra 35-70 pg/mL. Le analisi ecocardiografiche sono in corso. Il monitoraggio longitudinale dei soggetti permetterà di valutare la predittività delle concentrazioni plasmatiche di BNP sul rischio cardiovascolare.

PTX-3, una nuova pentraxina lunga, è un indicatore di outcome dopo infarto miocardico, indipendente dalla proteina C-reattiva

PTX-3 è una nuova pentraxina lunga la cui espressione è indotta da citochine in cellule mononucleate ed endoteliali, generalmente nel muscolo striato e cardiaco, mentre la proteina C-reattiva è per lo più prodotta nel fegato.

PTX-3 ha mostrato un picco plasmatico circa 7 ore dopo l'inizio dei sintomi dell'infarto miocardico; non è noto se le concentrazioni plasmatiche di PTX-3 abbiano un valore prognostico indipendente dopo l'infarto. In 724 pazienti con infarto miocardico arruolati nello studio LATIN (≤ 12 h dall'inizio dei sintomi) sia PTX3 che proteina C-reattiva sono risultati predittori indipendenti di mortalità a 3 mesi.

Le concentrazioni di PTX3 e CRP non erano correlate tra loro. In conclusione è stato dimostrato per la prima volta che PTX3 è un predittore di morte e insufficienza cardiaca dopo infarto miocardico, indipendente dai più comuni indicatori di rischio clinici e strumentali e da CRP.

PTX3, una nuova pentraxina lunga, la proteina C-reattiva, Nt-proBNP e la troponina T durante i primi 6 mesi dopo trapianto cardiaco

PTX3 è una nuova proteina espressa con particolare intensità dall'endotelio stimolato del letto coronarico. I suoi livelli circolanti aumentano dopo infarto miocardico, ma non è mai stata studiata nel trapianto cardiaco. PTX3 potrebbe essere coinvolta in una complessa risposta immunitaria al trapianto cardiaco e potenzialmente essere un indicatore di rigetto acuto, risposta cardiovascolare al rigetto e all'ischemia durante il trapianto cardiaco. PTX3 e indicatori circolanti di infiammazione (proteina C-reattiva, PCR) e danno cardiaco (pro-BNP N-terminale e troponina T, Tn-T) sono stati dosati in 33 pazienti in campioni seriatati di sangue iniziando da una media di 144 giorni dopo trapianto, al momento della biopsia endomiocardica programmata (BEM). CRP, NT-proBNP e Tn-T sono stati inoltre dosati in un sottogruppo di 13 pazienti con almeno 3 campioni. Le concentrazioni plasmatiche di PTX3 erano di 1.57 ng/ml (mediana) in 68 casi in assenza di rigetto (BEM negativa), 1.43 ng/ml in 16 casi di rigetto di classe 1/A e 2.87 ng/ml in 7 casi di rigetto di classe 1/B, trattati con steroidi endovena. CRP, Nt-proBNP e Tn-T hanno mostrato un andamento simile a PTX3. In conclusione PTX3 è più elevata nel rigetto di classe 1/B, come pure gli altri indicatori, riflettendo così la complessità del fenomeno.

Mesangioblasti, cellule staminali di origine midollare, fibroblasti e cellule staminali di origine endoteliale nel topo dopo occlusione dell'arteria coronarica. Efficacia comparativa a lungo termine della funzione ventricolare sinistra, perfusione collaterale del miocardio ischemico, rigenerazione del miocardio

Numerosi studi hanno dimostrato che cellule autologhe e omologhe di differente origine possono riparare il miocardio danneggiato in seguito ad un insulto ischemico acuto. La resa in termini di colonizzazione dell'area danneggiata e di sostituzione delle cellule irreversibilmente danneggiate varia molto da studio a studio, oscillando dal 63% a meno dell'1%.

Non esistono studi pubblicati che abbiano paragonato l'effetto di differenti tipi cellulari nello stesso modello d'infarto. Tale studio aiuterà ad identificare le ragioni delle discrepanze osservate. 4-6 ore dopo legatura dell'arteria coronaria, a topi C57 sono stati somministrati mesoangioblasti attraverso iniezione intracardiaca. I mesoangioblasti sono stati preventivamente infettati con un vettore lentivirale che esprime il gene LacZ. Nel miocardio sono state trovate poche cellule (c.a. 1%) che esprimevano LacZ. L'esame ecocardiografico a 6 settimane dopo legatura dell'arteria coronaria mostra una ridotta dilatazione e una miglior conservazione della funzione contrattile nei topi trattati con mesoangioblasti rispetto ai topi infartuati non trattati.

Eritropoietina umana ricombinante in un modello sperimentale di ischemia cardiaca e riperfusione

L'eritropoietina umana ricombinante (EPO) è un fattore di crescita essenziale che promuove la sopravvivenza, proliferazione e differenziazione di cellule progenitrici eritroidi. EPO e il suo recettore sono importanti mediatori di risposta all'ipossia. EPO somministrata ip prima o entro 6 ore dall'ischemia cerebrale focale ha ridotto il danno del 50-75 %. EPO ha inoltre dimostrato di ridurre considerevolmente l'infiltrato infiammatorio circostante l'area di danno e ridurre l'apoptosi neuronale. Non ci sono dati disponibili sugli effetti dell'EPO sul danno da ischemia e riperfusione cardiaca. In questo studio l'ischemia cardiaca era indotta dalla legatura dell'arteria coronaria del ratto per 30 minuti seguita da 4 ore e 7 giorni di riperfusione. EPO non ha ridotto il danno da ischemia e riperfusione a 4 ore ma ha migliorato significativamente la funzione ventricolare sinistra dopo 7 giorni di riperfusione. Il beneficio osservato potrebbe essere spiegato parzialmente da una minore perdita di miociti cardiaci e da una attenuazione ipertrofica. La protezione in vitro da apoptosi indotta da ipossia potrebbe spiegare i benefici osservati i quali suggeriscono un possibile ruolo terapeutico dell'EPO nell'infarto miocardico acuto.

Modulazione farmacologia con un trattamento anti-ossidante in un modello di cardiopatia diabetica

La cardiomiopatia diabetica è caratterizzata da alterazioni del miocardio indipendenti dalle complicanze legate alla coronopatia che si osserva più frequentemente nei diabetici. Tra i meccanismi proposti per spiegare il danno cardiaco da iperglicemia, la produzione di radicali liberi dell'ossigeno guadagna sempre più credito nella comunità scientifica. Sulla base di queste evidenze ci si è proposti di verificare se una terapia antiossidante a lungo termine con N-acetilcisteina (NAC) possa ridurre (a) la perdita dei cardiomiociti sia in vivo che in vitro e (b) il danno a carico della funzione del cuore in un modello di diabete ottenuto sperimentalmente con streptozotocina (STZ). Il diabete è stato indotto in ratti maschi Sprague-Dawley mediante iniezione intraperitoneale di STZ alla dose di 60 mg/kg di peso corporeo, e 0.5g/kg/die di NAC sono stati somministrati nell'acqua di abbeverazione. Il trattamento cronico con NAC per 3 mesi ha dimostrato di ridurre significativamente la perdita di circa il 30% dei cardiomiociti causata dal diabete, senza però dimostrare benefici significativi in termini di funzione cardiaca. Cardiomiociti isolati da ratto esposti ad un medium iperglicemico (glucosio 25mM) per 24 ore mostravano un aumento di 7 volte della percentuale di apoptosi rispetto ai controlli; il trattamento con NAC (0.01 mM) era in grado di abolire totalmente la morte cellulare dei cardiomiociti per apoptosi. Questi dati indicano che un trattamento antiossidante può prevenire la morte dei cardiomiociti causata da iperglicemia marcata.

Sindrome Coronarica Acuta: Validazione di una Diagnosi Invasiva Precoce/PTCA. Lo studio AVOID/PTCA.

Studio clinico combinato osservazionale e randomizzato, che ha in programma la valutazione degli effetti durante un periodo di 1 anno di follow-up, di una rivascolarizzazione coronarica percutanea precoce (PTCA) vs un trattamento medico raccomandato (TMR), in pazienti con sindrome coronarica acuta senza sopraslivellamento del segmento ST. Lo studio è stato prematuramente interrotto, dovuto a un reclutamento insoddisfacente di pazienti, principalmente per una perdita di interesse da parte degli ricercatori clinici (promotori dello studio), attribuibile a un rapido accumulo di evidenze cliniche su questo argomento che tendono a mostrare i vantaggi dell'angioplastica in molti casi. L'analisi formale dei dati è in corso.

GISSI-HF. Sottoprogetto Bioumorale (G105-S2)

Il sottoprogetto è suddiviso in 4 aree di ricerca specifiche, con lo scopo ultimo di ottenere risultati utili per meglio comprendere la fisiopatologia dello scompenso cardiaco e gli effetti dei

farmaci in studio, rosuvastatina e n-3 PUFA. Gli studi previsti ai punti 1, 2 e 3 verranno condotti su un minimo di 800 pazienti, quelli di cui al punto 4 saranno condotti in centri selezionati su circa 50 pazienti, viste le peculiarità del protocollo e le competenze tecniche necessarie.

1. Acidi grassi plasmatici: verranno valutati gli effetti degli n-3 PUFA sul profilo lipidico plasmatico
 2. Neurormoni: verranno misurati il BNP ed eventualmente altri indicatori di prognosi e di efficacia dei trattamenti.
 3. Infiammazione: verranno misurati la proteina C reattiva ed altri indicatori circolanti di infiammazione cardiovascolare.
 4. Progenitori endoteliali circolanti: verranno valutati analizzando le cellule isolate in tempo reale dal sangue di pazienti del GISSI-HF; il numero di progenitori endoteliali circolanti verrà posto in relazione con l'eziologia dello scompenso e con il trattamento con rosuvastatina. Verranno prelevati 2 campioni di sangue di circa 20 ml da ogni paziente arruolato dai Centri partecipanti al sottoprogetto G105-S2, all'ingresso (randomizzazione) e alla visita di follow-up a 3 mesi. Il sangue prelevato verrà centrifugato in breve tempo e trasferito in provette predisposte per la conservazione presso il Centro a -70°C. Il ritiro e la successiva analisi dei campioni avverrà a carico del Laboratorio Centrale di Analisi.
- Dimensione del campione: 800 pazienti.

Laboratorio di Valutazione Clinica dei Farmaci

PROCARDIS: A genome-wide strategy to identify susceptibility loci in precocious coronary artery disease

Lo studio PROCARDIS esplora le cause potenziali di ereditarietà del rischio di malattia coronarica, valutando i profili complessi di questa trasmissione che potrebbero esprimersi attraverso diversi geni attivi di per sé o tramite interazioni più o meno complesse con i fattori ambientali e le abitudini di vita.

Il PROCARDIS si propone di individuare nuovi geni coinvolti nella malattia, con un disegno "fenome wide screening" che prevede l'analisi genotipica dei "fratelli affetti da eventi" (affected sibling-pairs, ASPs), che consente di valutare se qualcuno dell'ampio numero di marker misurati su tutti i cromosomi venga trasmesso tra congiunti affetti all'interno delle famiglie con una frequenza maggiore di quella attesa in base al calcolo delle probabilità. Questi marker potrebbero essere "linked" ai geni di suscettibilità alla malattia in determinate regioni cromosomiali, che vanno quindi isolate. Oggi i progressi tecnologici consentono di effettuare studi di screening su tutto il genoma in un numero di famiglie sufficientemente grande da poter garantire una buona probabilità di identificazione dei geni correlati a una malattia coronarica precoce.

Una stima "conservativa" della probabilità di produrre risultati innovativi ed affidabili per quanto riguarda geni capaci di contribuire individualmente per una frazione del 10-15% al profilo complessivo del rischio di malattia coronarica, porta ad una dimensione del campione intorno alle 2000 coppie di ASPs portatrici di un evento cardiovascolare coronarico prima dei 65 anni. La possibilità di includere nella popolazione anche i genitori (è evidente che il limite principale è la probabilità della loro sopravvivenza) permetterà di combinare l'approccio degli ASPs con altre modalità di analisi della trasmissione familiare di rischio genico, specificamente con la tecnica TDT (transmission disequilibrium test), o altre strategie di verifica di associazione già disponibili, o che diverranno tecnicamente praticabili.

Il PROCARDIS è condotto da un Consorzio di ricerca, il cui programma è stato supportato dal 5th Framework Programme della Comunità Europea e da un grant di AstraZeneca. Il Consorzio di ricerca è così costituito: Gruppo Italiano per lo Studio della Sopravvivenza nell'Infarto (gruppo GISSI, sostenuto dalla collaborazione tra l'Istituto Mario Negri e l'ANMCO); Clinical

Trial Service Unit, Università di Oxford (gruppo ISIS); Institute of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine and Institute for Arteriosclerosis Research, Università di Münster; Institute for Atherosclerosis Research, Karolinska Hospital, Stoccolma; Wellcome Trust of Human Genetics, Cardiovascular Medicine Department, Università di Oxford.

Il progetto ha concluso la fase di fattibilità. La prima fase di arruolamento delle famiglie da parte dei 4 centri di ricerca europei afferenti al consorzio PROCARDIS ha reclutato nello studio un totale di più di 2000 coppie di ASPs (di cui 350 in Italia) e più di 1200 famiglie analizzabili per il TDT (di cui 450 in Italia). Le 2000 coppie di ASPs sono state genotipizzate.

GISSI-HF. Studio clinico di grandi dimensioni che valuta gli effetti di n-3 PUFA e di Rosuvastatina sulla mortalità e morbilità dei pazienti con scompenso cardiaco sintomatico

Il GISSI (Gruppo Italiano per lo Studio della Sopravvivenza nell'Insufficienza cardiaca) è una collaborazione tra l'Istituto "Mario Negri" e l'ANMCO (Associazione Nazionale Medici Cardiologi Ospedalieri) che opera da oltre 15 anni nel campo della ricerca cardiovascolare. Lo studio GISSI-HF è una sperimentazione clinica (la quinta condotta dal GISSI) che si propone di verificare gli effetti di due trattamenti, il primo con n-3 PUFA (acidi grassi polinsaturi) e il secondo con rosuvastatina (una nuova statina) in pazienti affetti da scompenso cardiaco che già ricevono che ricevono i trattamenti raccomandati per questa malattia.

Il GISSI-HF è uno studio prospettico, multicentrico, in doppio cieco, controllato con placebo, in cui pazienti con evidenza clinica di scompenso cardiaco di qualsiasi eziologia e senza limiti di età verranno randomizzati a

R1 n-3 PUFA o placebo (Randomizzazione 1);

R2 rosuvastatina o placebo (Randomizzazione 2).

L'obiettivo principale dello studio è di dimostrare che una terapia a lungo termine con (a) n-3 PUFA, (b) rosuvastatina riduce la mortalità totale, e la mortalità totale o il ricovero in ospedale per qualsiasi ragione, rispetto ai corrispondenti gruppi placebo.

Verranno reclutati 7000 pazienti per verificare l'efficacia di n-3 PUFA. Di questi, 5250 entreranno anche nella parte R2 dello studio che valuta l'efficacia di rosuvastatina.

Secondo la caratteristica degli studi GISSI, anche il GISSI-HF sarà uno studio pragmatico, su pazienti quanto più possibile rappresentativi della realtà clinica quotidiana.

Lo studio è iniziato nel luglio 2002 e avrà un follow-up di almeno di 3 anni. Partecipano circa 300 Cardiologie.

Contestualmente al trial, verranno condotti vari sottoprogetti per cercare di comprendere il meccanismo d'azione dei trattamenti sperimentali:

rimodellamento ventricolare (ecocardiografia);

biomorale (neurormoni, marker dell'inflammation, progenitori endoteliali circolanti, acidi grassi liberi circolanti);

aritmie e attività simpatica (monitoraggio Holter);

funzione cognitiva;

tolleranza allo sforzo;

carico assistenziale;

marker genetici.

Il progetto è condotto in collaborazione con il Laboratorio di Farmacologia Clinica Cardiovascolare e con il Laboratorio di Farmacologia Clinica.

Studio GISSI-HF: Sottoprogetto genetico

Si conosce ancora poco circa il ruolo dei fattori genetici nell'eziologia, evoluzione, prognosi, e risposta al trattamento dello scompenso cardiaco, con l'eccezione di alcune forme originate da specifiche cardiomiopatie. Lo scompenso cardiaco presenta differenti eziologie, tra le quali l'ischemica rappresenta più del 50%. Tra i geni candidati nella cardiopatia ischemica, i più

coinvolti sembrano quelli implicati nel metabolismo dei lipidi. Recente interesse suscitano anche i geni coinvolti nei processi infiammatori.

Il sottoprogetto genetico dello studio GISSI-HF (vedi sezione ad esso relativa) offre l'opportunità di migliorare le conoscenze circa il ruolo di varianti genetiche nello scompenso cardiaco, grazie alla raccolta di campioni ematici di un ampio numero di soggetti affetti da scompenso di differente eziologia (es. non-ischemica e ischemica).

Gli obiettivi del sottoprogetto genetico sono 1) valutare le relazioni tra i polimorfismi di geni candidati implicati nel metabolismo dei lipidi e nella risposta infiammatoria e la prognosi di pazienti arruolati nello studio GISSI-HF, 2) valutare se e come tali relazioni vengono modificate dai trattamenti farmacologici in studio.

Data la rapidità con la quale continuamente nascono e si accumulano nuove informazioni e ipotesi in campo genetico, potranno venire valutati anche altri polimorfismi correlati allo scompenso che risultassero interessanti nel corso dello studio. Circa 100 centri dello studio GISSI-HF partecipano a questo sottoprogetto nel quale si prevede di includere circa 2000 pazienti.

Studio INTER-HEART

La mortalità per patologie cardiovascolari appare in diminuzione nella maggior parte dei paesi sviluppati ma è in aumento nei paesi emergenti e in via di sviluppo. Le attuali conoscenze derivano soprattutto da studi condotti nei paesi sviluppati e poco si conosce del ruolo dei fattori di rischio tradizionali e nuovi nei paesi emergenti.

Lo studio INTER-HEART è uno studio di tipo caso-controllo che si prefigge di raccogliere dati epidemiologici sui fattori di rischio ambientali, clinici e genetici per l'infarto miocardico in 55 diversi Paesi in Asia, Europa, Medio Oriente, Africa, Australia, Nord e Sud America, utilizzando un protocollo standardizzato, e con la logica di valutare se i diversi fattori di rischio hanno un impatto differente nelle diverse regioni del mondo.

I casi sono pazienti con infarto miocardico acuto ricoverati entro 24 ore dall'inizio dei sintomi nelle Unità di Cura Coronarica dei centri partecipanti; i controlli sono soggetti senza precedenti di malattie cardiovascolari e "matched" per sesso ed età ai casi. Per ciascun caso viene reclutato almeno un controllo.

Il questionario dello studio raccoglie dati su fattori demografici (paese di origine, lingua madre), aspetti socio-economici (istruzione, occupazione, reddito), abitudini di vita (fumo, attività fisica, dieta) e sulla storia personale e familiare di malattie e fattori di rischio cardiovascolari.

Lo studio INTER-HEART è sponsorizzato dall'Organizzazione Mondiale della Sanità, dalla World Heart Federation, e ha ricevuto finanziamenti da più di 40 enti pubblici e privati.

La fase pilota dell'INTER-HEART, durata da febbraio 1999 a fine 2000, aveva reclutato 4000 soggetti in 41 paesi. Lo studio a regime ha raccolto 26300 tra casi e controlli dall'aprile 2000 al dicembre 2002. La rete internazionale è coordinata dal Canadian Cardiovascular Collaboration Project Office dell'Università McMaster di Hamilton, Canada. Il Laboratorio di Valutazione Clinica dei Farmaci svolge il ruolo di coordinatore nazionale per l'Italia; allo studio hanno partecipato 15 centri che hanno arruolato 350 soggetti tra casi e controlli.

Laboratorio di Ricerca in Medicina Generale

Studio Rischio e Prevenzione: uno studio sulla percezione ed il controllo del rischio cardiovascolare in medicina generale

Studio epidemiologico sulla prevalenza dei soggetti a rischio (stratificazione del livello di rischio secondo stime soggettive e mediante l'utilizzo di "carte del rischio"), sui trattamenti preventivi attuati e il grado di controllo ottenuto nella popolazione afferente alla medicina generale.

Lo studio, condotto su 3120 pazienti arruolati da 166 Medici di Medicina Generale (MMG) ha

documentato che:

i MMG sulla base della loro percezione identificano adeguatamente i soggetti a rischio cardiovascolare

i trattamenti preventivi adottati non variano in funzione del rischio

Sulla base di tali risultati si è pianificato uno studio clinico di grandi dimensioni sull'ottimizzazione della prevenzione cardiovascolare dei soggetti ad alto rischio cardiovascolare. Lo studio che sarà avviato nell'arco del 2003 si propone di far coincidere una logica epidemiologica di creare e seguire nel tempo una coorte di pazienti percepiti e definiti come ad alto rischio cardiovascolare dai medici di medicina generale e una valutazione sperimentale che inserisce tra le variabili della coorte un trattamento randomizzato con acidi grassi poliinsaturi (n-3 PUFA).

Studi di farmacoepidemiologia a partire da banche dati di prescrizioni amministrative-istituzionali: il caso del diabete

La farmacoepidemiologia a partire dai dati di prescrizione in medicina generale ha portato nel corso degli anni a concentrare l'interesse sui problemi e le popolazioni che hanno nei dati prescrittivi uno degli indicatori più informativi. Il diabete si presta molto bene ad essere utilizzato come modello in quanto è una patologia cronica a forte complessità clinica e comporta un elevato tasso di ospedalizzazioni.

Lo studio aveva l'obiettivo di verificare se e quanto l'integrazione delle banche dati delle schede di dimissione ospedaliera (SDO) con quelle delle prescrizioni migliori la percezione-valutazione clinico-assistenziale dei pazienti diabetici.

Le fonti dei dati sono state la banca dati delle prescrizioni e quella delle ospedalizzazioni della ASL 18 di Rovigo relative al 2000.

L'integrazione delle due banche dati ha permesso di migliorare la comprensione della complessità della malattia diabetica rendendo più visibili alcuni problemi che hanno riflessi ben evidenti sulle strategie assistenziali.

L'ipertensione arteriosa nella foresta ecuadoregna: un progetto sulla prevalenza dell'ipertensione, sulle sue complicanze e sull'efficacia preventiva del trattamento antiipertensivo in una zona rurale dell'Ecuador.

Fa parte delle attività del Laboratorio un progetto di collaborazione con il Cecomet (Centro de Epidemiologia comunitaria y Medicina tropical) di Esmeralda, Ecuador sulla prevalenza e il trattamento dell'ipertensione arteriosa.

Negli anni 1995 – 2000 si è svolto uno screening della popolazione adulta residente in una zona rurale dell'Ecuador, il distretto sanitario di Borbon, localizzato al nord della provincia di Esmeraldas. Sono state esaminate 100 comunità sulle 129 esistenti e valutati 4284 soggetti adulti sugli 8876 residenti

Il controllo dell'ipertensione a Borbon risulta paragonabile a quella esistente 50 anni fa nel 'mondo occidentale', quando si affacciavano all'orizzonte i primi farmaci antiipertensivi, con la differenza che l'ipertensione in questa comunità nera sembra più grave e pur esistendo oggi numerose ed efficaci opzioni terapeutiche, non esistono le condizioni culturali ed economiche per poterle utilizzare.

Un monitoraggio stretto delle cause di morte nell'intera popolazione effettuato negli ultimi due anni indica che anche in questa regione le malattie cardiovascolari sono diventate la principale causa di morte in età adulta, rappresentando il 30% dei decessi.

Sulla base di questi risultati si è pianificato ed è attualmente in corso uno studio sul trattamento dell'ipertensione in questa popolazione.

Laboratorio di Farmacologia Clinica

EOLO Eventi e modi del morire nelle strutture sanitarie di degenza (End Of Life in Ospedale)

Lo studio EOLO ha coinvolto un campione rappresentativo di 32 ospedali delle Regioni Lombardia, 3 ospedali dell'Umbria e 5 della provincia di Firenze. Sono stati raccolti dati su 370 pazienti deceduti in ospedale durante il periodo di osservazione. Gli obiettivi dello studio erano;

- valutare come muoiono i pazienti negli ospedali italiani ed identificare il livello ed l'intensità dell'assistenza, prima ed in prossimità della morte,
- identificare gli eventi clinici, sanitari e sociali legati alla morte in ospedale.

I dati raccolti, già oggetto di un rapporto al Ministero della Salute, saranno utilizzati per identificare come migliorare la presa in carico globale del paziente per migliorare la qualità della morte.

Il progetto è stato coordinato dall'Istituto di Ricerca in Cure Palliative Lino Maestroni in collaborazione con l'Unità di ricerca infermieristica ed il CISPO di Firenze.

Studio PARI-ETLD. Epidemiologia e trattamento delle Lesioni da Decubito

Si tratta di una sperimentazione clinica, randomizzata controllata in doppio cieco, per valutare l'efficacia delle fitostimoline nella riepitelizzazione delle lesioni da decubito superficiali. Il centro proponente è l'Ospedale di Trento. Stanno attivamente randomizzando 39 unità operative e Residenze Sanitarie Assistenziali (RSA) di 11 diversi ospedali delle seguenti regioni: Trentino, Veneto, Emilia Romagna e Friuli Venezia Giulia. Attualmente sono stati randomizzati 120 pazienti e si prevede di concludere lo studio entro il 2003.

Sviluppo di un sistema per la misurazione del carico di lavoro nelle sperimentazioni cliniche in oncologia

L'obiettivo dello studio è quello di sviluppare un sistema affidabile per misurare il carico di lavoro dei centri coinvolti nelle sperimentazioni cliniche in oncologia. Il protocollo è stato messo a punto nel 2002 e lo studio sarà condotto nel 2003 in diversi centri europei che stanno conducendo sperimentazioni cliniche di fase II e III nell'ambito degli studi dell'EORTC.

DIPARTIMENTO DI IMMUNOLOGIA E BIOLOGIA CELLULARE

PERSONALE

Capo Dipartimento Alberto MANTOVANI, Dr. Med. Chir.

Laboratorio di Biologia Vascolare

Capo Laboratorio Elisabetta DEJANA, Dr. Sci. Biol. Ph.D.

Unità di Angiogenesi Molecolare*

Capo Unità Ferruccio BREVIARIO, Per. Chim.

Unità di Coltura di Tessuti

Capo Unità Giovanna BALCONI, Dipl. Univ.

Unità di Fisiologia Endoteliale*

Capo Unità Maria Grazia LAMPUGNANI, Dr. Sci. Biol.

**Unità distaccate presso l'Istituto FIRC di Oncologia Molecolare (IFOM, Milano)*

Laboratorio di Immunoematologia Molecolare

Capo Laboratorio Martino INTRONA, Dr. Med. Chir.

Unità di Differenziamento Linfoide

Capo Unità Josée GOLAY, Dr. Bioch. Ph.D.

Laboratorio di Immunofarmacologia

Capo Laboratorio Annunciata VECCHI, Dr. Sci. Biol.

Laboratorio di Immunologia Cellulare

Capo Laboratorio Paola ALLAVENA, Dr.Med.Chir.

Unità di Regolazione dell'Espressione Genica

Capo Unità Antonio SICA, Dr.Sci.Biol. Ph.D.

Unità di Tecniche Immunologiche

Capo Unità Giuseppe PERI, Dipl.Lab.Biol.

Laboratorio di Infiammazione e Trasduzione del Segnale

Capo Laboratorio Silvano SOZZANI, Dr.Farm.

INTRODUZIONE ALLE ATTIVITA' DEL DIPARTIMENTO

Il Dipartimento di Immunologia e Biologia Cellulare (DIBC) è focalizzato sulla immunobiologia dei mediatori dell'immunità innata, in particolare citochine e chemochine, e sull'endotelio vascolare. Inoltre, il Dipartimento è interessato allo sviluppo di nuove terapie mediate da cellule o anticorpi per le patologie di tipo onco-ematologico. Le aree di interesse del DIBC sono centrali alla comprensione della patofisiologia di diverse patologie umane che vanno dalle malattie vascolari, all'infiammazione, all'autoimmunità e alle malattie neoplastiche. Le citochine e le cellule endoteliali costituiscono un importante bersaglio per lo sviluppo di nuovi approcci terapeutici nei confronti di queste malattie come pure per l'identificazione di strumenti diagnostici innovativi. Inoltre, il DIBC ha un interesse particolare nello sviluppo e nella definizione del meccanismo di azione di nuove terapie basate su cellule o anticorpi nel settore dell'ematologia.

Gli approcci utilizzati al DIBC enfatizzano il livello molecolare, con uno sforzo in particolare nell'identificazione e caratterizzazione di nuove molecole e lo sviluppo di nuovi strumenti originali (es. animali geneticamente modificati, anticorpi monoclonali, saggi di misura). Gli studi a livello molecolare sono facilitati dalla attività di una parte del gruppo di Biologia Vascolare all'Istituto FIRC di Biologia Molecolare. Questa istituzione offre accesso a metodologie sperimentali avanzate nell'ambito delle nanotecnologie, della bioinformatica e della biologia strutturale. In parallelo, vengono condotti studi in vivo in modelli preclinici e uno sforzo continuo viene fatto per valutare gli strumenti molecolari e i paradigmi sviluppati nel contesto della patologia umana o direttamente nell'uomo. Da questo punto di vista, complessivamente l'attività del DIBC riflette la convergenza di ricerca fondamentale e clinica.

SCOPERTE/RISULTATI PRINCIPALI

Attività antitumorale di chemochine

Caratterizzazione del ruolo dell'enzima PI3Kg nella migrazione leucocitaria

Caratterizzazione del ruolo di PTX3 in diverse patologie umane: cardiovascolari, infettive, tumorali

Caratterizzazione del ruolo delle strutture giunzionali endoteliali nella regolazione della permeabilità vascolare e nell'angiogenesi.

Caratterizzazione di alcuni difetti molecolari nella trasmissione del segnale di leucociti tumore-associati

Caratterizzazione di un nuovo ruolo funzionale del recettore del mannosio su cellule dendritiche
Colture a lungo termine di cellule endoteliali linfatiche

Definizione del switch dei recettori per chemiochine in cellule dendritiche

Ideazione del sistema suicida CD20

Identificazione del primo recettore decoy per IL-1

Identificazione della prima pentraxina lunga umana, PTX3

Identificazione di nuovi inibitori di citochine e chemiochine

Identificazione di proteine che compongono le strutture giunzionali dell'endotelio (VE-caderina e JAM-1).

Identificazione di recettori decoy funzionali nel sistema delle chemiochine

Identificazione di TIR8, un nuovo componente della superfamiglia dei recettori TLR e IL-1

Identificazione di un nuovo recettore chemiotattico nella migrazione di DC allo stadio maturo

Regolazione della produzione di chemiochine in cellule dendritiche

Regolazione dell'espressione di TLR4 e trasmissione del segnale attraverso MyD88

Regolazione dell'espressione e della funzionalità di recettori per chemiochine

Ruolo del complemento per la risposta biologica a Rituximab

Sinergismo tra Fludarabina e Rituximab
 Studio della capacità dei precursori mesodermici circolanti di colonizzare vasi e altri tessuti in rigenerazione.
 Sviluppo di linee di precursori mesodermici circolanti.

COLLABORAZIONI NAZIONALI

DIBIT, Istituto Scientifico San Raffaele, Milano
 Dipartimento di Ematologia, Ospedali Riuniti di Bergamo
 Dipartimento di Genetica, Biologia e Biochimica, Università di Torino
 Dipartimento di Medicina Sperimentale e Biochimica, Università di Perugia.
 Dipartimento di Medicina Sperimentale e Patologia, Università di Roma
 Dipartimento di Medicina Sperimentale e Patologia, Università di Brescia
 Dipartimento di Pediatria, Ospedale S. Gerardo, Monza
 Dipartimento di Salute Pubblica e Biologia Cellulare, Università Tor Vergata, Roma
 Dipartimento di Scienze Biomediche e Biotecnologie, Università di Brescia
 Facoltà di Medicina e Chirurgia Ospedale di Desio, Milano
 I Clinica Medica, Università di Roma "La Sapienza", Policlinico Umberto I.
 Istituto di Clinica Medica Generale Ematologia ed Immunologia Clinica, Torrette di Ancona, Italy
 Istituto di Anatomia Patologica, Università di Milano, Ospedale Luigi Sacco, Milano
 Istituto di Patologia Generale, Università di Milano
 Istituto di Terapia Sperimentale per la Fibrosi Cistica, Ospedale S. Raffaele, Milano
 Laboratorio di Biologia Molecolare, Istituto Gaslini, Genova
 Laboratorio di Chirurgia Sperimentale, Ospedale San Raffaele, Milano
 Laboratorio di Immunopatologia Cattedra di Nefrologia, Dip. di Discipline Cliniche e Chirurgiche, Università di Torino
 Laboratorio di Microbiologia, Università di Perugia
 Ospedale Molinette, Università di Torino.

COLLABORAZIONI INTERNAZIONALI

Centro di Virologia Applicata ai Tumori, Deutsches Krebsforschungszentrum, Heidelberg, Germania
 Centro di Tecnologia Transgenica e Terapia Genica, Lovanio, Belgio
 Dipartimento di Chimica Biologica, Università di Buenos Aires, Argentina
 Dip. Farmacologia, Facoltà di Medicina di Hannover, Germania
 Dipartimento di Ematologia, Academisch Ziekenhuis Leiden, Olanda
 Dipartimento di Medicina Interna, Università di Basilea, Svizzera
 Dipartimento di Nefrologia, Università di Leiden, Olanda
 Duke University, Durham, North Carolina, USA
 Erasmus University, Rotterdam, Olanda
 INSERM U470, Centro di Biochimica, Università di Nizza, Francia
 Istituto Pasteur, Parigi, Francia
 Istituto di Ricerca sul Cuore, Camperdown, Australia
 Laboratorio di Immunoregolazione Molecolare, NCI-FCRDC, Frederick, MD, USA
 Laboratorio di Oncologia Trasduzionale, ICRF, Londra, UK

Istituto Max Planck, Friburgo, Germania
 MRC, Hammersmith Hospital, London, UK
 NCI, NIH, Bethesda, Maryland, USA
 Rega Institute, Lovanio, Belgio
 Scripps Research Institute, La Jolla, CA, USA
 Università di Friburgo, Svizzera
 Università of Lovanio, Belgio
 University College di Londra, UK

PRESENZA IN COMITATI EDITORIALI

American Journal of Physiology (E. Dejana)
 Annals of Oncology (A. Mantovani)
 Atherosclerosis, Thrombosis. A Journal of Vascular Biology (E. Dejana)
 Cell Adhesion and Communication (E. Dejana)
 Cell and Tissue Research (E. Dejana)
 Cytokine (A. Mantovani)
 Endothelium (A. Mantovani, E. Dejana)
 European Cytokine Network (A. Mantovani)
 European Journal of Immunology (A. Mantovani, Executive Committee Edition)
 Haematologica (A. Mantovani, E. Dejana)
 International Immunopharmacology (A. Mantovani)
 Journal of Cell Biology (E. Dejana)
 Journal of Clinical Investigation (A. Mantovani)
 Journal of Immunology (A. Mantovani, S. Sozzani, Associate Editors)
 Journal of Leukocyte Biology (A. Mantovani)
 Journal of Vascular Investigation (E. Dejana)
 Microvascular Research (E. Dejana)
 Trends in Immunology (A. Mantovani)

ATTIVITA' DI REVISIONE

Arteriosclerosis and Thrombosis, Blood, British Journal of Cancer, Cancer, Cancer Research, Cytokine, European Journal of Cancer, European Journal of Immunology, Haematologica, Human Gene Therapy, Immunity, International Journal of Cancer, Journal of Clinical Investigation, Journal of Experimental Medicine, Journal of Immunology, Journal of Leukocyte Biology, Journal of the National Cancer Institute, Leukemia, Nature, Nature Immunology, Nature Reviews in Immunology, Nature Medicine, PNAS, Trends in Immunology

PRESENZA IN COMMISSIONI NAZIONALI E INTERNAZIONALI

Associazione Italiana per la Ricerca sul Cancro
 Consiglio Nazionale delle Ricerche, Progetto Finalizzato Biotecnologie
 Commissione "Ricerca Finalizzata" del Ministero della Salute, Italy;
 Commissione "Cellule Staminali" dell'Istituto Superiore di Sanità, Italy
 CPMP (EMEA) Agenzia per la valutazione del dossier di registrazione di nuovi farmaci
 EMBO (European Molecular Biology Organization), Heidelberg, Germany;
 EC 5° Programma Quadro
 Fondazione Scientifica Mauriziana
 Istituto Superiore di Sanità, Programma Nazionale per l'AIDS
 UNESCO Commission for Natural Sciences

ORGANIZZAZIONE DI EVENTI

1a Conferenza Nazionale SIICA, Montecatini Terme, 2002
 Accademia Nazionale di Medicina. Corso Teorico-Pratico su "Le Cellule Dendritiche", Milano, 8-9 Aprile 2002
 Accademia Nazionale di Medicina. Corso Teorico su "Le Cellule Dendritiche", Milano, 14-18 Ottobre 2002
 Cytokines and Interferons 2002. Meeting congiunto della International Society for Interferon and Cytokine Research (ISICR); International Cytokine Society (ICS); Society for Leukocyte Biology (SLB); European Cytokine Society (ECS). Torino, 6-10 Ottobre, 2002.
 Simposio della Fondazione Novartis su "Infiammazione e Cancro", Londra, 12-14 Novembre, 2002

PARTECIPAZIONE AD EVENTI CON CONTRIBUTI DEL DIPARTIMENTO

Keystone Symposium "Angiogenesis", Banff, Canada, 3-13 Febbraio 2002
 The invasive growth program: signals and effectors, Torino, 21-24 Febbraio 2002
 Annual Meeting Société Suisse d'Allergologie et d'Immunologie (SSAI-SGAI), Lugano, March 14-16, 2002
 Cells Surface Receptors and Vascular Function, Nottingham, UK, 25-26 Marzo 2002
 Phagocyte Workshop 2002, Brussels, April 10-13, 2002.
 Molecular Mechanisms of Leukocyte Trafficking, Steamboat Spring, Colorado, USA, 9-14 Aprile 2002
 International Meeting on Cytokines as Natural Adjuvants: Perspectives for Vaccine Development, Rome, April 22-24, 2002.
 Chemokine Conference 2002, El Escorial, Madrid, Spain, May 5-9, 2002.
 14th Pezcoller Symposium, Trento, Italy, May 30-June 1, 2002
 Annual Meeting of the American Society of Gene Therapy (ASGT), Boston, June 1-5, 2002.
 EAACI Annual Meeting, Napoli, June 1-5, 2002
 Annual Meeting of the European Haematology Association (EHA), Firenze, June 6-9, 2002.
 Angiogenesis: Basic Mechanisms and Therapeutic Implications, Monte Verità, Svizzera, 2-7 Giugno 2002

Elso Symposium, Nizza, Francia, 29 Giugno-3 Luglio 2002
 Gordon Research Conference on Chemotactic Cytokines, South Hadley, MA, USA July 7-12, 2002
 Gordon Conference su "Signaling by Adhesion Receptors", New London, Connecticut, USA, 14-19 Luglio 2002
 17° European Cytoskeleton Forum Meeting, Nyon, Francia, 31 Agosto-4 Settembre 2002
 Annual Meeting of the Italian Society of Experimental Hematology (SIES), Modena, September 15-17, 2002
 Angiogenesis: Molecular Mechanisms and Functional Interactions, Seon, Germania, 21-24 Settembre 2002
 26th National Congress of the Italian Society of Pathology, Catania, September 29-October 2, 2002
 Cytokines and Interferons 2002, Joint Meeting of The International Society for Interferon and Cytokine Research (ISICR); The International Cytokine Society (ICS); The Society for Leukocyte Biology (SLB); The European Cytokine Society (ECS). Turin, October 6-10, 2002.
 William Harvey Day. Sir Anthony Dawson Lecture (A. Mantovani). Barts and the London School of Medicine and Dentistry, October 15, 2002.
 Brain Endothelium and Pathologies, Aix le Bains, Francia, 19-23 Ottobre 2002
 29th Symposium of the Italian Society of Cancerology, Genova, October 27-30, 2002.
 Novartis Foundation Symposium on "Cancer and Inflammation", London, November 12-14, 2002
 EMBO Sectorial Immunology Meeting, Lisbon, Portugal, November 22-23, 2002.
 Annual Meeting of the American Society of Hematology (ASH), Philadelphia, December 6-10, 2002
 ASI Meeting 2002. 32th Annual Meeting of the Australasian Society for Immunology, Brisbane, Australia, December 8-12, 2002.

CONTRIBUTI E CONTRATTI

ACRAF Angelini
 Alfa Wassermann
 Associazione Italiana per la Ricerca sul Cancro
 Astra Zeneca
 Comunità Europea
 Consiglio Nazionale delle Ricerche
 Fondazione CARIPLLO
 Fondazione Italiana per la Ricerca sul Cancro
 Fondazione Paolo Belli
 Fondazione Tettamanti
 Hycult
 IDI
 ImClone Inc.
 Indena
 Istituto Superiore di Sanità
 Ministero Istruzione, Università e Ricerca Scientifica
 Ministero Salute
 Molmed
 Roche Italia
 Sigma Tau

SELEZIONE PUBBLICAZIONI SCIENTIFICHE APPARSE NELL'ANNO 2002

Bazzoni, G. and Dejana, E. Keratinocyte junctions and the epidermal barrier: how to make a skin-tight dress. *J. Cell Biol.* 2002;156: 947-949.

Bazzoni, G., Lampugnani, M. G., Martinez Estrada, O. M., and Dejana, E. Analysis of intercellular adhesion molecules in endothelial cells. In: T. P. Fleming (ed.) *Cell-cell interactions: a practical approach*. Second edition, pp. 37-45. Oxford: Oxford University, 2002

Bosisio D, Polentarutti N, Sironi M, Bernasconi S, Miyake K, Webb G R, Martin M U, Mantovani A, Muzio M Stimulation of toll-like receptor 4 expression in human mononuclearphagocytes by interferon-alpha: A molecular basis for priming and synergism with bacterial lipopolysaccharide *Blood* 2002; 99: 3427-3431

Corada, M., Zanetta, L., Orsenigo, F., Breviario, F., Lampugnani, M. G., Bernasconi, S., Liao, F., Hicklin, D. J., Bohlen, P., and Dejana, E. A monoclonal antibody to vascular endothelial-cadherin inhibits tumor angiogenesis without side effects on endothelial permeability. *Blood.* 2002;100: 905-911.

Deslee G, Charbonnier A S, Hammad H, Angyalosi G, Tillie-Leblond I, Mantovani A, Tonnel A B, Pestel J Involvement of the mannose receptor in the uptake of Der p 1, a major mite allergen, by human dendritic cells. *J Allergy Clin Immunol* 2002; 110: 763-770

Dobrina A, Pausa M, Fischetti F, Bulla R, Vecile E, Ferrero E, Mantovani A, Tedesco F Cytolytically inactive terminal complement complex causes transendothelial migration of polymorphonuclear leukocytes in vitro and in vivo. *Blood* 2002; 99: 185-192

Garlanda C, Hirsch E, Bozza S, Salustri A, De Acetis M, Nota R, Maccagno A, Riva F, Bottazzi B, Peri G, Doni A, Vago L, Botto M, De Santis R, Carminati P, Siracusa G, Altruda F, Vecchi A, Romani L, Mantovani A Non-redundant role of the long pentraxin PTX3 in anti-fungal innate immune response. *Nature* 2002; 420: 182-186

Giese N, Raykov Z, DeMartino L, Vecchi A, Sozzani S, Dinsart C, Cornelis J J, Rommelaere J Suppression of metastatic hemangiosarcoma by a parvovirus MVMp vector transducing the IP-10 chemokine into immunocomponent mice *Cancer Gene Ther* 2002; 9: 432-442

Golay J, Gramigna R, Facchinetti V, Capello D, Gaidano G, Introna M. Acquired immunodeficiency syndrome-associated lymphomas are efficiently lysed through complement-dependent cytotoxicity and antibody-dependent cellular cytotoxicity by rituximab. *Br J Haematol* 2002; 119: 923-929

Lampugnani, M. G., Zanetti, A., Breviario, F., Balconi, G., Orsenigo, F., Corada, M., Spagnuolo, R., Betson, M., Braga, L. M. M., and Dejana, E. VE-cadherin regulates endothelial actin activating Rac and increasing membrane association of Tiam. *Mol. Biol. Cell.* 2002;13: 1175-1189.

Liao, F., Doody, J. F., Overholser, J., Finnerty, B., Bassi, R., Wu, Y., Dejana, E., Kussie, P., Bohlen, P., and Hicklin, D. J. Selective targeting of angiogenic tumor vasculature by vascular endothelial-cadherin antibody inhibits tumor growth without affecting vascular permeability. *Cancer Res.* 2002;62: 2567-2575.

Locati M, Deuschle U, Massardi M L, Martinez F O, Sironi M, Sozzani S, Bartfai T, Mantovani A Analysis of the gene expression profile activated by the CC chemokine ligand 5/RANTES and by lipopolysaccharide in human monocytes *J Immunol* 2002; 168: 3557-3562

Locati M, Otero K, Schioppa T, Signorelli P, Perrier P, Baviera S, Sozzani S, Mantovani A The chemokine system: tuning and shaping by regulation of receptor expression and coupling in polarized responses. *Allergy* 2002; 57: 972-982

Locati M, Otero K, Schioppa T, Signorelli P, Perrier P, Baviera S, Sozzani S, Mantovani A The chemokine system: tuning and shaping by regulation of receptor expression and coupling in polarized responses *Allergy* 2002; 57: 972-982

Longoni D, D'Amico G, Gaipa G, Bernasconi S, Vulcano M, Onnis P, Niemeyer C M, Allavena P, Biondi A Commitment of juvenile myelo-monocytic (JMML) leukemic cells to spontaneously differentiate into dendritic cells. *Hematol J* 2002; 3: 302-310

Manganini M, Serafini M, Bambacioni F, Casati C, Erba E, Follenzi A, Naldini L, Bernasconi S, Gaipa G, Rambaldi A, Biondi A, Golay J, Introna M. A human immunodeficiency virus type 1 pol gene-derived sequence (cPPT/CTS) increases the efficiency of transduction of human nondividing monocytes and T lymphocytes by lentiviral vectors. *Hum Gene Ther* 2002; 13: 1793-1807

Mantovani A Pentraxins. In: Wiley encyclopedia of molecular medicine. Wiley, New York; 2002: 2426-2428

Mantovani A, Sozzani S, Locati M, Allavena P, Sica A Macrophage polarization: Tumor-associated macrophages as a paradigm for polarized M2 mononuclear phagocytes. *Trends Immunol* 2002; 23: 549-555

Mantovani A, Sozzani S, Locati M, Allavena P, Sica A Macrophage polarization: Tumor-associated macrophages as a paradigm for polarized M2 mononuclear phagocytes. *Trends Immunol* 2002; 23: 549-555

Menten P, Saccani A, Dillen C, Wuyts A, Struyf S, Proost P, Mantovani A, Wang J M, Van Damme J Role of the autocrine chemokines MIP-1alpha and MIP-1beta in the metastatic behavior of murine T cell lymphoma. *J Leukoc Biol* 2002; 72: 780-789

Muller B, Peri G, Doni A, Perruchoud A P, Landmann R, Pasqualini F, Mantovani A High circulating levels of the IL-1 type II decoy receptor in critically ill patients with sepsis: Association of high decoy receptor levels with glucocorticoid administration *J Leukoc Biol* 2002; 72: 643-649

Napoleone E, Di Santo A, Bastone A, Peri G, Mantovani A, De Gaetano G, Donati M B, Lorenzet R Long pentraxin PTX3 upregulates tissue factor expression in human endothelial cells. A novel link between vascular inflammation and clotting activation. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2002; 22: 782-787

Nauta A J, Trouw L A, Daha M R, Tijmsa O, Nieuwland R, Schwaeble W J, Gringras A R, Mantovani A, Hack E C, Roos A Direct binding of C1q to apoptotic cells and cell blebs induces complement activation. *Eur J Immunol* 2002; 32: 1726-1736

Penna G, Vulcano M, Roncari A, Facchetti F, Sozzani S, Adorini L Differential chemokine production by myeloid and plasmacytoid dendritic cells. *J Immunol* 2002; 169: 6673-6676

Piemonti L, Leone B E, Nano R, Saccani A, Maffi P, Monti P, Bianchi G, Sica A, Peri G, Melzi R, Aldrighetti L, Secchi A, Di Carlo V, Allavena P, Bertuzzi F. Human pancreatic islets produce and secrete MCP-1/CCL2: Relevance in human islet transplantation. *Diabetes* 51: 55-65, 2002

Pruijt J F M, Verzaal P, Vam Os R, de Kruijff E J, Van Schie M L J, Mantovani A, Vecchi A, Lindley I, Willemze R, Starckx S, Opdenakker G, Fibbe W E. Neutrophils are indispensable for hematopoietic stem cell mobilization induced by interleukin-8 in mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002; 99:6228-6233

Rolph M S, Zimmer S, Bottazzi B, Garlanda C, Mantovani A, Hansson GK Production of the long pentraxin PTX3 in advanced atherosclerotic plaques. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2002; 22:e10-e14

Schutysse E, Struyf S, Proost P, Opdenakker G, Laureys G, Verhasselt B, Peperstraete L, Van de Putte I, Saccani A, Allavena P, Mantovani A, Van Damme J Identification of biologically active chemokine isoforms from ascitic fluid and elevated levels of CCL18/pulmonary and activation-regulated chemokine in ovarian carcinoma. *J Biol Chem* 2002; 277: 24584-24593

Shay-Salit, A., Shushy, M., Wolfvitz, E., Yahav, H., Breviario, F., Dejana, E., and Resnick, N. VEGF receptor 2 and the adherens junction as a mechanical transducer in vascular endothelial cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2002; 99: 9462-9467.

Sica A, Saccani A, Mantovani A Tumor-associated macrophages: A molecular perspective. *Int Immunopharmacol* 2002; 2: 1045-1054

Todisco E, Gaipa G, Biagi E, Bonamino M, Gramigna R, Introna M, Biondi A. CD40 ligand-stimulated B cell precursor leukemic cells elicit interferon-gamma production by autologous bone marrow T cells in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Leukemia* 2002; 16: 2046-2054

Zanetti, A., Lampugnani, M. G., Balconi, G., Breviario, F., Corada, M., Lanfrancione, L., and Dejana, E. Vascular endothelial growth factor induces Shc association with vascular endothelial cadherin: a potential feedback mechanism to control vascular endothelial growth factor receptor-2 signaling. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2002; 22: 617-622.

ATTIVITA' DI RICERCA

Laboratorio di Biologia Vascolare

Ruolo funzionale della molecola giunzionale VE-caderina

Nel nostro laboratorio, è stata identificata la VE-(Vascular Endothelial) caderina, una molecola adesiva, che è localizzata in modo specifico alle giunzioni di cellule endoteliali. La VE-caderina svolge un ruolo fondamentale nella crescita ed apoptosi delle cellule endoteliali. Infatti, l'inattivazione in vivo del gene della VE-caderina induce la morte dell'embrione durante le prime fasi di sviluppo in utero a causa di un difetto di organizzazione del sistema vascolare. Inoltre, anticorpi che bloccano la VE-caderina inibiscono l'angiogenesi e riducono la crescita tumorale in modo significativo. La ricerca futura caratterizzerà il meccanismo con il quale la VE-caderina organizza i vasi. In particolare, si studieranno i meccanismi mediante i quali questa proteina segnala all'interno delle cellule, regolandone la divisione e la morte.

Ruolo funzionale della molecola giunzionale JAM-1

Un'altra proteina caratterizzata nel nostro laboratorio, è JAM-1 (Junctional Adhesion Molecule-1), la quale è localizzata anch'essa alle giunzioni intercellulari, in corrispondenza delle giunzioni strette (tight junctions). JAM-1 si associa ad alcune proteine del citoscheletro e di segnalazione. Inoltre, JAM-1 svolge un ruolo importante nella transmigrazione dei leucociti attraverso le giunzioni endoteliali sia in vitro che in vivo. Stiamo definendo il ruolo di JAM-1 nell'organizzazione delle giunzioni strette e nella regolazione della permeabilità a proteine plasmatiche e a leucociti. Infine, utilizzando animali, nei quali il gene di JAM-1 è stato inattivato, analizzeremo gli effetti dell'assenza di JAM-1 in modelli in vivo d'infiammazione e di permeabilità.

Isolamento e caratterizzazione funzionale di precursori mesodermici con caratteristiche endoteliali

In condizioni di coltura specifiche, alcune cellule circolanti possono differenziarsi a cellule endoteliali. Queste cellule circolanti possono colonizzare vasi in formazione durante lo sviluppo tumorale. Tuttavia, queste cellule hanno una potenzialità differenziativa più ampia, potendo infatti contribuire alla rigenerazione del muscolo scheletrico o alla ripopolazione del midollo osseo. Esse potrebbero pertanto contribuire alla rigenerazione tissutale e la terapia genica fungendo da "carrier" di geni specifici per diversi tessuti. Il limite maggiore è il numero esiguo di cellule che si possono recuperare in circolo ed mantenere in coltura. Stiamo definendo nuove condizioni di isolamento e coltura per questi precursori. Studieremo la possibilità di utilizzare diverse sorgenti cellulari tenendo conto della loro possibile origine endoteliale. La capacità di queste cellule di ricolonizzare muscolo, midollo o vasi in formazione sarà valutata reiniettando le cellule in topi nudi e seguendone la localizzazione previa marcatura con trasfezione di vettori codificanti per beta-galattosidasi.

Caratterizzazione del fenotipo di cellule endoteliali isolate da topi geneticamente modificati

Questa attività viene svolta all'Istituto FIRC di Oncologia Molecolare. Per capire il meccanismo biologico attraverso cui VE-caderina o JAM funzionano e trasferiscono segnale intracellulare abbiamo isolato e messo in coltura cellule endoteliali isolate da topi geneticamente carenti in queste molecole di adesione. Il profilo genico di queste cellule viene analizzato attraverso diverse tecnologie che includono Gene Chips, analisi robotizzata con gridded cDNA,

ibridizzazione in situ di diversi tessuti per lo screening della espressione dei singoli geni e proteomics.

Laboratorio di Immunoematologia Molecolare

Studio del meccanismo di azione di anticorpi monoclonali terapeutici

Negli ultimi anni alcuni anticorpi monoclonali sono stati utilizzati nella pratica clinica per il trattamento di alcune forme tumorali. Ci stiamo in particolare occupando del meccanismo di azione in vitro e vivo del chimerico non coniugato anti CD20 (Rituximab) utilizzato per il trattamento dei linfomi B-non Hodgkin, dell'umanizzato non coniugato anti CD52 (Alemtuzumab) utilizzato per il trattamento delle leucemie linfatiche croniche e dell'umanizzato coniugato a tossina anti CD33 (Gemtuzumab Ozogamicin) utilizzato per il trattamento delle leucemie mieloidi acute.

In particolare abbiamo identificato la lisi complemento mediata come il principale meccanismo di azione di Rituximab e scoperto che ciò che determina la suscettibilità/resistenza delle cellule tumorali è il rapporto quantitativo in membrana tra CD20 e gli inibitori CD55 e CD59. Inoltre abbiamo messo a punto un modello murino che mostra la assoluta dipendenza dell'effetto antitumorale di Rituximab dalla presenza del complemento. Abbiamo quindi fornito la prima evidenza sperimentale di un effetto sinergico molecolare tra Rituximab e Fludarabina, fornendo un supporto logico per le sperimentazioni cliniche di combinazione. Infine abbiamo attivato il progetto di studio clinico multicentrico randomizzato di fase II/III PRISMA per la valutazione prospettica del ruolo dei marcatori biologici CD20, CD55 e CD59 e dei test di lisi in vitro sulla responsabilità clinica al farmaco in pazienti con linfoma follicolare recidivato in terza linea o dopo trapianto.

Più recentemente abbiamo identificato almeno tre diversi profili di risposta biomolecolare delle cellule mieloidi umane al Gemtuzumab (anti CD33), che possono mostrare o una resistenza assoluta, o morte per apoptosi o un blocco del ciclo cellulare in fase G1 non seguito dalla morte apoptotica. Queste risposte differenziate non sono per il momento riconducibili a diversità di marcatori fenotipici e saranno adesso studiate con analisi in gene chip.

Quindi abbiamo osservato una suscettibilità inattesa di leucemie linfoblastiche acute al trattamento con Gemtuzumab (anti CD33), disponendo di un nuovo modello animale e di osservazioni in vitro su casi freschi. Questi studi aprono teoricamente una nuova prospettiva terapeutica di utilizzo del farmaco.

Infine abbiamo mostrato che Alemtuzumab (anti CD52) è più forte di Rituximab (anti CD20) nell'attivare la lisi cellulo-mediata ma meno forte nell'indurre la lisi complemento-mediata, a parità di livelli di espressione degli antigeni di superficie. Queste differenze in vitro saranno ora studiate in modelli murini geneticamente privi di complemento o dei recettori per il frammento Fc delle immunoglobuline.

Terapia genica della malattia trapianto verso ospite (GVHD)

Il trapianto di midollo osseo allogenico è da anni una terapia consolidata per il trattamento delle leucemie e dei linfomi. L'ostacolo principale alla sua diffusione è dato dalla tossicità procedurale soprattutto legata allo svilupparsi della reazione trapianto verso ospite (GVHD). Questa situazione morbosa è innescata dall'attivazione funzionale dei linfociti T citotossici del donatore diretti contro normali alloantigeni del ricevente. Da tempo si è prefigurata la possibilità di ingegnerizzare i linfociti T del donatore con geni esogeni per renderli suscettibili al trattamento con agenti farmacologici. L'idea di questi "geni suicidi" è quella di attivare la funzione citotossica solo durante la attivazione della reazione GVH. Abbiamo sviluppato una idea originale in laboratorio per un nuovo sistema suicida, basato sul gene umano del CD20. Questo sistema si basa sul trasferimento mediante vettori retrovirali del cDNA completo del CD20 umano nei linfociti T. Queste cellule dopo la manipolazione genica vengono facilmente

selezionate su colonne di immunoaffinità grazie al CD20 in superficie e sono poi iniettabili nel paziente. Nel caso si manifesti una GVH le cellule T sono aggredibili con la somministrazione di Rituximab, un anticorpo monoclonale citotossico per le cellule CD20 positive già correntemente utilizzato in clinica con bassissima tossicità. Abbiamo documentato che la introduzione costitutiva del CD20 esogeno nei linfociti T non ne altera le principali funzioni immunologiche quali l'utilizzo del T cell receptor, la produzione di citochine, la chemiotassi, la risposta proliferativa allogenica e la risposta ad antigeni solubili. Stiamo percorrendo tutta la strada che va dalla osservazione originaria nel laboratorio alla documentazione completa per la autorizzazione alla sperimentazione clinica in fase I.

Laboratorio di Immunofarmacologia

Chemochine e traffico leucocitario in tumori sperimentali

I leucociti che infiltrano i tumori sono componenti importanti per il controllo della crescita del tumore e le chemochine sono fattori chiave per il reclutamento locale dei leucociti. Il rilascio locale di chemochine nel tumore può attirare popolazioni leucocitarie specifiche, con vantaggi (o svantaggi) per l'esito finale. La trasfezione di geni per chemochine con forte attività chemiotattica per le cellule dendritiche, cellule con un ruolo chiave nelle risposte immuni, in tumori sperimentali murini modifica l'infiltrato leucocitario e la crescita del tumore. Dal momento che il traffico leucocitario richiede interazioni con i vasi linfatici ed ematici anche all'interno del tumore si studia l'interazione delle cellule dendritiche con gli endoteli linfatico ed ematico, con sistemi in vitro appositamente sviluppati.

Topi geneticamente modificati

Gli animali geneticamente modificati rappresentano un sistema importante per lo studio del ruolo di nuove molecole in condizioni fisiologiche e patologiche in vivo. Il fenotipo di topi geneticamente modificati può suggerire la funzione in vivo di mediatori dell'infiammazione e dell'immunità.

La tecnica della modificazione genetica è stata sviluppata nel laboratorio con lo scopo di studiare il ruolo in vivo di nuove molecole identificate all'interno del dipartimento. Il laboratorio ha lunga esperienza di studi in vivo di modulazione delle risposte immuni e dell'infiammazione ed a questo scopo sono stati messi a punto e validati diversi modelli

Farmacologia

La comprensione dei circuiti delle citochine è necessaria per riconsiderare il modo di agire di agenti immunosoppressivi/antinfiammatori classici come ad esempio gli ormoni glucocorticoidi. Vengono studiati nuovi farmaci, con attività antiinfiammatoria e meccanismi d'azione ancora non noti, per i loro effetti sulla produzione di citochine e chemochine. In particolare composti con attività farmacologica diversa, come le statine, benzidamina e bindarit, sono in studio per la loro capacità di modulare circuiti di produzione di citochine pro- e anti-infiammatorie. Per benzidamina è stato messo in evidenza che inibisce in modo preferenziale citochine proinfiammatorie come TNF-alfa e IL-1 e questo ha dato le basi per un suo potenziale uso in patologie particolari, come le mucositi indotte da radiazioni, in cui l'uso topico dà risultati promettenti. Per composti come le statine si è osservato un loro effetto inibitorio della produzione di MCP-1 anche da parte delle cellule endoteliali, che può quindi essere un ulteriore livello di azione di questi farmaci nel controllo delle patologie vascolari.

Laboratorio di Immunologia Cellulare

Caratterizzazione di nuovi circuiti di regolazione dell' infiammazione e immunità innata

Da diversi anni è sorto un grande interesse nel nostro Dipartimento per la caratterizzazione di nuovi circuiti molecolari che regolano i processi infiammatori. I fattori dell'infiammazione e dell'immunità innata regolano in modo determinante l'avvio della risposta immunitaria, nonché la sua amplificazione e polarizzazione. I mediatori infiammatori sono anche fortemente coinvolti nei meccanismi patogenetici di numerose malattie ad elevato impatto sociale, quali infezioni, malattie auto-immuni, tumori. Vi è quindi un grande interesse nello sviluppare nuove strategie terapeutiche per modulare appropriatamente (stimolare/sopprimere) la risposta infiammatoria/immunitaria.

Nuovi geni indotti da IL-1: Pentraxin 3 (PTX3)

PTX3 è la prima pentraxina lunga identificata, ed è strutturalmente correlata ad altre pentraxine corte già note, come la proteina C-reattiva (CRP). PTX3 è prodotta da vari tipi cellulari, in particolare da cellule endoteliali, monociti-macrofagi, cellule dendritiche, in risposta a mediatori primari dell'infiammazione quali IL-1, TNF e LPS. PTX3 lega alcuni microrganismi patogeni e lega un componente importante della cascata complementare (C1q). Il ruolo patofisiologico di PTX3 di facilitare il riconoscimento dei patogeni da parte delle cellule del sistema immunitario è stato recentemente confermato in topi geneticamente modificati (PTX3 $-/-$) i quali sono maggiormente suscettibili ad alcune infezioni fungine e batteriche (Garlanda et al. Nature 2002). Il significato di alti livelli di PTX3 circolanti è attualmente in corso in pazienti affetti da varie patologie, incluso l'infarto miocardico acuto, patologie vascolari e altre.

Recettori decoy (trappola) per citochine e chemiochine infiammatorie.

I recettori decoy sono in grado di legare in modo specifico il loro ligando, ma non sono in grado di trasdurre a valle il segnale, essi fungono quindi da sequestratori del ligando. Il nostro laboratorio ha collaborato alla identificazione del primo recettore decoy: il recettore di tipo II di IL-1 (Colotta et al. Science, 1993). Il nostro gruppo ha recentemente dimostrato l'esistenza di decoy funzionali (cioè strutturalmente integri, ma lo stesso incapaci di segnalare) nel sistema delle citochine chemiotattiche/chemiochine. I recettori per chemiochine infiammatorie su cellule dendritiche e monociti vengono funzionalmente disaccoppiati dalle componenti che trasmettono il segnale, quando le cellule sono esposte ad una combinazione di segnali pro- ed anti-infiammatori, quali IL-10 e LPS e IFN gamma. Vengono così generati dei recettori decoy "funzionali" che hanno la funzione di eliminare le chemiochine infiammatorie dal tessuto e di attivare quindi un circuito di blocco dell'infiammazione. E' in corso di attuazione la caratterizzazione dei meccanismi molecolari che sottendono al disaccoppiamento di questi recettori decoy.

Biologia delle cellule che presentano gli antigeni: le cellule dendritiche.

Le cellule dendritiche (DC) sono leucociti professionisti nella presentazione degli antigeni e svolgono un ruolo indispensabile nell'avviare, amplificare e polarizzare la risposta immunitaria. Da alcuni anni lo studio della biologia delle DC è studiata da diversi gruppi del nostro Dipartimento. I principali progetti sono i seguenti:

- 1) Differenziazione in vitro di colture di DC umane a partire da precursori (monociti, cellule CD34+),
- 2) Isolamento di sottopopolazioni di DC umane circolanti (DC mieloidi, DC plasmacitoidi)

- 3) Modulazione del differenziamento/attivazione di DC con fattori pro/anti-infiammatori, nuovi modulatori della risposta immunitaria, farmaci.
- 4) Analisi delle funzioni biologiche delle DC: cattura e presentazione dell'Ag; produzione di fattori importanti nella risposta infiammatoria/immunitaria (citochine/chemiochine, PTX3) e polarizzazione delle risposte Th1/2 e T reg; risposta migratoria a fattori chemiotattici, incluse nuove chemiochine.
- 5) Analisi e caratterizzazione di recettori di membrana il cui ruolo è importante nella biologia di DC, in particolare nuovi recettori coinvolti nella risposta immunitaria innata (TLR, PTX3, C-type lectin R (recettore del mannosio); nuovi recettori chemiotattici).
- 6) Profilo di espressione genica di DC umane stimulate con fattori infiammatori/anti-infiammatori mediante tecniche Affimetrix.

Ruolo del sistema immunitario all' interfaccia col tumore

Oltre alla componente propriamente tumorale, il tumore è composto da cellule stromali: endoteliali, fibroblasti, leucociti. Questo laboratorio studia da molti anni il ruolo dei leucociti che infiltrano il tessuto neoplastico e ha descritto in passato come queste cellule possano essere di interesse per nuove strategie di immunoterapia. In particolare, il principale interesse del progetto è lo studio del fenotipo cellulare e molecolare dei Macrofagi Associati a Tumore (TAM), nella prospettiva di esplorare il potenziale uso di queste cellule per la terapia contro i tumori. Il nostro interesse si basa su nostri precedenti studi sulle alterazioni molecolari e funzionali dei TAM, che suggeriscono alcuni meccanismi molecolari responsabili delle loro attività protumorali. Alcuni nostri studi precedenti hanno dimostrato che in seguito a trattamento con Interferone- α (IFN- α) e lipolisaccaride (LPS) i TAM, umani e murini, mostrano una produzione difettiva di Interleuchina-12 (IL-12), una citochina centrale nell'attivazione di infiammazione e immunità e nella generazione delle risposte di tipo Th1. Questo difetto era associato ad una mancata attivazione di p50/p65 NF-kB e ad un'aumentata produzione di IL-10. Questo pathway molecolare sottolinea verosimilmente altre alterazioni nelle funzioni dei TAM, dipendenti da NF-kB, come il difetto di induzione dell'Ossido Nitrico Sintetasi, e può rappresentare un severo ostacolo per la risposta infiammatoria e immune. Il progetto si propone di investigare le basi molecolari dell'immunosoppressione nei TAM, attraverso l'analisi del profilo di espressione delle citochine e della cascata di segnali promossi da IFN- α e LPS. L'analisi del fenotipo molecolare dei TAM sarà completata utilizzando tecnologie di indagine genomica (cDNA microarray) e proteomica (2D/PAGE e spettrometria di massa).

Basi biologiche della disseminazione tumorale: ruolo dei recettori per chemiochine

Il processo di metastatizzazione tumorale mostra sorprendenti somiglianze con la migrazione dei leucociti nei tessuti, che è strettamente regolata dalle chemiochine. Studi recenti hanno rivelato che anche i tumori esprimono alcuni recettori per chemiochine e che questi possono essere coinvolti nella disseminazione del tumore. La caratterizzazione dell'espressione dei recettori per chemiochine su linee tumorali di origine epiteliale ha indicato che alcuni tumori esprimono il CXCR4 (recettore per CXCL12) e il CCR7. Quest'ultimo è particolarmente rilevante in quanto lega due chemiochine (CCL19 e CCL21), prevalentemente espresse nei linfonodi. L'espressione dei recettori per chemiochine sulle cellule tumorali può essere modulata da citochine che giocano un ruolo cruciale durante i processi infiammatori/immunitari, quali IL-1/TNF, IFN gamma, IL-10. La funzionalità dei recettori per chemiochine sulle cellule tumorali è confermata in esperimenti di chemiotassi in vitro.

Laboratorio di Infiammazione e Trasduzione del Segnale

Regolazione dei recettori per chemiochine

Le chemiochine sono segnali chemiotattici che regolano la migrazione dei leucociti durante le risposte infiammatorie/immunitarie e in condizioni omeostatiche. Le chemochine legano e attivano recettori a 7 domini transmembrana accoppiati a proteine G. Si conoscono 19 recettori per chemiochine che possiedono diverse specificità per i ligandi. La specificità di azione delle chemochine sulle diverse sottopopolazioni leucocitarie è determinata dalla regolata espressione dei recettori sulle cellule bersaglio. Mediatori pro-infiammatori (es. LPS e TNF) e anti-infiammatori (es. IL-10 e corticosteroidi) hanno effetti divergenti e opposti sull'espressione dei recettori e sulla produzione di chemiochine, in cellule dello stipe mieloide quali in macrofagi e cellule dendritiche. Una strategia biologica alternativa è quella di indurre l'espressione dei recettori per chemiochine in cellule che normalmente non li esprimono o di regolarne il loro stato funzionale. Per esempio IL-4 e IL-13 inducono nei monociti l'espressione di recettori funzionali per IL-8, una classica chemiochina per i neutrofilo.

Trasduzione del segnale di recettori per chemiochine

L'ingaggio dei recettori per chemiochine attiva diverse vie di trasduzione del segnale. In collaborazione con il Prof. Hirsch (Università di Torino) e il Dr. Wymann (Università di Fribourg, Svizzera) abbiamo dimostrato che l'ingaggio dei recettori per chemiochine attiva l'isoforma gamma della fosfoinositide 3 chinasi (PI3K γ). L'attivazione di questo enzima ha un ruolo cruciale nella chemiotassi di cellule infiammatorie, quali macrofagi e neutrofilo. Topi geneticamente modificati per questo enzima (PI3K $\gamma^{-/-}$) hanno un difetto grave della migrazione leucocitaria in vitro e in vivo. Questi animali mostrano anche difetti in risposte di ipersensibilità ritardata, indicando un ruolo di questo enzima nell'immunità specifica. Un altro enzima rilevante per l'azione biologica delle chemiochine è rappresentato dall'isoforma ad alto peso molecolare della fosfolipasi A2 (cPLA2). L'attivazione di cPLA2 si colloca verosimilmente sulla via di trasduzione che coinvolge l'attivazione delle MAP chinasi e della stessa PI3K γ .

Le cellule dendritiche come paradigma del 'sistema chemiochine'

Le cellule dendritiche (DC) hanno un ruolo chiave nell'induzione della risposta immunitaria. Per compiere questa funzione devono migrare in modo regolato nei tessuti e negli organi linfoidi secondari. In collaborazione con il laboratorio di Immunologia Cellulare, questo gruppo ha caratterizzato l'espressione dei recettori per chemiochine in DC. La regolazione dei recettori con mediatori infiammatori ha portato alla formulazione del paradigma dello "switch recettoriale" durante la maturazione di DC. Per meglio approfondire i meccanismi responsabili della migrazione di DC nei tessuti sono in fase di caratterizzazione due nuovi putativi recettori per chemiochine "orfani", in quanto il ligando è ancora sconosciuto. Al fine di definire il ruolo biologico di queste nuove proteine, per uno di questi recettori è stato generato un topo geneticamente modificati (ko).

Le cellule dendritiche come cellule effettrici dell'immunità innata

Le DC svolgono il ruolo di "interruttori" delle risposte immunitarie specifiche. Tuttavia studi recenti stanno delineando per queste cellule un importante ruolo regolatorio anche dell'immunità specifica. Infatti, le DC non solo rispondono ai fattori chemiotattici ma sono anche in grado di produrre elevati livelli di molte chemiochine. La chemiochina MDC/CCL2 è prodotta in grandi quantità da DC in vitro e in vivo, soprattutto in condizioni patologiche che sono caratterizzate da una polarizzazione dei linfociti Th2 (dermatiti allergiche). La produzione di PARC/CCL18 è invece selettivamente inibita durante la maturazione delle DC e rappresenta verosimilmente un meccanismo di inibizione della risposta infiammatoria in condizioni omeostatiche. Infine, le DC sono in grado di degradare batteri mediante la produzione di radicali dell'ossigeno tramite la

NADPH ossidasi. Questo meccanismo contribuisce ad evitare la disseminazione dei patogeni dai siti periferici, dove le DC risiedono e captano in microbi, agli organi linfoidi secondari.

DIPARTIMENTO DI BIOCHIMICA E FARMACOLOGIA MOLECOLARE

PERSONALE

Capo Dipartimento Mario SALMONA, Dr.Sci.Prep.Alim.

Laboratorio di Biochimica e Chimica delle Proteine

Capo Laboratorio Mario SALMONA, Dr.Sci.Prep.Alim.

Laboratorio di Biologia Molecolare

Capo Laboratorio Enrico GARATTINI, Dr.Med.Chir.

Unità di Struttura e Regolazione del Gene

Capo Unità Mineko TERAOKA, Ph.D.Bioch.

Laboratorio di Farmacologia Recettoriale

Capo Laboratorio Tiziana MENNINI, Dr.Farm.

Unità di Trasmissione Sinaptica

Capo Unità Marco GOBBI, Dr.Farm.

Laboratorio di Neuroimmunologia

Capo Laboratorio Pietro GHEZZI, Biol.

Unità di Farmacologia dello Shock Settico

Capo Unità Pia VILLA, Dr.Farm.

Unità dei Mediatori Biochimici dell'Infiammazione

Capo Unità Maddalena FRATELLI, Dr.Sci.Biol.

Unità delle Neuropatie Metaboliche

Capo Unità Roberto BIANCHI, Dr.Sci.Biol.

INTRODUZIONE ALLE ATTIVITA' DEL DIPARTIMENTO

Il Dipartimento di Biochimica e Farmacologia Molecolare è composto da cinque laboratori con interessi scientifici e scopi di ricerca apparentemente eterogenei fra loro, ma accomunati dallo studio strutturale e funzionale di prodotti genici specifici e farmacologicamente rilevanti. A questo proposito per l'identificazione di nuove proteine che potrebbero rappresentare dei bersagli per la terapia farmacologica vengono utilizzate le classiche tecniche di biochimica e biologia molecolare. Le potenziali interazioni tra farmaci e proteine sono studiate anche a livello molecolare, utilizzando un'ampia varietà di approcci che vanno dagli studi condotti sugli animali a simulazioni computazionali.

SCOPERTE/RISULTATI PRINCIPALI

- Identificazione delle tetracicline come potenziali agenti terapeutici per il trattamento delle malattie da prioni.
- Sintesi e caratterizzazione chimico-fisica e biologica di peptidi dedotti dalla sequenza della proteina prionica.
- Identificazione di una correlazione tra metabolismo del colesterolo e sintesi di citochine proinfiammatorie.
- Sviluppo di metodi di estrazione di proteine e di protocolli di purificazione di proteine attraverso elettroforesi bidimensionale su gel.
- Messa a punto di metodi per l'analisi e l'identificazione di modifiche ossidative delle proteine, tra cui la glutationilazione.
- Identificazione di proteine mediante analisi di spettrometria di massa e ricerca in banca dati.
- Induzione del citocromo P-450 3A nel fegato murino da parte dell'estratto di iperico in modo dose-dipendente.
- Induzione dell'aumento trascrizionale di eme ossigenasi-1 nel fegato da parte di diclofenac.
- Identificazione del mitocondrio del motoneurone come bersaglio di danni ossidativi.
- Identificazione dell'eritropoietina come agente neuroprotettivo ed individuazione di molecole con attività neuroprotettiva in modelli di ischemia cerebrale.
- Scoperta di proteine che sono reversibilmente regolate dallo stato di ossidoriduzione mediante un processo detto glutationilazione.
- L'uso di molecole antiossidanti in modelli di sepsi permette di diminuire la risposta infiammatoria potenziando quella di difesa immunitaria.
- L'eritropoietina protegge colture primarie di motoneuroni da processi di morte apoptotica ma non di morte necrotica.
- Il farmaco Riluzolo riduce la perdita di motoneuroni e la progressione clinica nel modello di motoneurodegenerazione costituito dal topo wobbler.
- Sinaptosomi cerebrali in perfusione permettono di distinguere derivati amfetamici neurotossici da quelli non neurotossici.
- L'estratto totale di iperico e l'iperforina non interagiscono con i recettori e i trasportatori dei neurotrasmettitori, agendo quindi con un meccanismo diverso da quello degli antidepressivi convenzionali.
- Agonisti parziali selettivi per i recettori D3 possono essere utili nel trattamento del craving indotto da cocaina.
- Identificazione e caratterizzazione di una nuova classe di retinoidi di sintesi a marcata attività apoptotica sulla cellula neoplastica. Sviluppo pre-clinico in ambito di terapia della leucemia acuta mieloide.
- Identificazione di nuove combinazioni farmacologiche a base di retinoidi per il trattamento

della leucemia acuta mieloide.

- Clonaggio molecolare dei cDNA e dei geni di quattro nuovi membri della famiglia delle molibdo-flavoproteine di mammifero. Definizione di un nuovo cluster genico sul cromosoma 1 umano e sul cromosoma 2 murino.
- Sviluppo di un animale knock-out per la molibdo-flavoproteina, AOH2

COLLABORAZIONI NAZIONALI

Advanced Biology Center, Genova
 Centro Anemie Congenite, Ospedale Maggiore Policlinico, IRCCS, Dip. Medicina Interna, Università di Milano
 CNR, Palermo
 Dip. Anatomia, Farmacologia, Medicina Legale, Università di Torino
 Dip. Biotecnologie, Università di Milano
 Dip. Farmaco-Chimico-Tecnologico, Università di Siena
 Dip. Farmacologia Medica, Università degli Studi di Milano
 Dip. Scienze Farmaceutiche, Università di Genova
 Dip. Scienze Farmacologiche, Università di Milano
 Dip. Scienze Molecolari, Università di Milano
 Dip. Studi pre-clinici, Università degli Studi di Milano
 Facoltà di Biologia, Università degli Studi di Milano
 Facoltà di Chimica, Università degli Studi di Milano
 Facoltà di Chimica, Università di Ferrara
 Indena, Milano
 Istituto di Biologia Molecolare Buzzati Traverso, Napoli
 Istituto di Clinica Neurologica, Ospedale Maggiore Policlinico, Milano
 Istituto Nazionale dei Tumori, Milano
 Istituto Nazionale Neurologico "C. Besta", Milano
 Istituto Oncologico Europeo, Milano
 Istituto Regina Elena, Roma
 Ospedale Pediatrico Bambino Gesù, Roma
 Ospedale S. Gerardo, Monza
 Primo Dipartimento di Ostetricia e Ginecologia, Clinica Mangiagalli, Università di Milano
 Sigma-Tau, Pomezia
 Università di Catania
 Università di Pavia
 Università di Siena

COLLABORAZIONI INTERNAZIONALI

Boston College, Boston, MA, USA
 Case Western Research University, Cleveland, OH, USA
 Dept. de Bioquímica, Fac. Medicina/Centro de Investigación, Hospital Universitario La Fe, Valencia, Spagna
 Dept. de Química-Física de Macromoléculas Biológicas, CSIC, Madrid, Spagna
 Dept. of Neurology, Weizmann Institute, Rehovot, Israele
 Giessen Polyclinic University, Giessen, Germania

Houston University, TX, USA
 IBSN CNRS, Marseille, Francia
 Indiana University, Indianapolis, IN, USA
 Institut de Genetique et Biologie Moleculaire et Cellulaire, Strasbourg, Francia
 Institute Pasteur, Paris, Francia
 John Innes Centre, Norwich, Gran Bretagna
 Kenneth S. Warren Institute, Ossining, NY, USA
 National Institute of Health, Bethesda, MD, USA
 Nippon University, Tokyo, Giappone
 North Shore University Hospital, Manhasset, NY, USA
 Pepsan System BV, Lelystad, Olanda
 Stanford University School of Medicine, Stanford, CA, USA
 Technical University Braunschweig, Germania
 Trinity College, Dublin, Irlanda
 Universidad de La Laguna, Tenerife, Spagna
 Universidad de Santiago de Chile, Cile
 Universidad de Valencia, Biologia Cellular, Fac de Ciences Biologiques, Spagna
 Universidaed Nova, Lisbon, Portogallo
 Universitat des Saarlandes, Homburg, Germania
 Universitat Freiburg, Germania
 Universite Paris.sud, Orsay, Francia
 Université Victor Segalen Bordeaux 2, Bordeaux, Francia
 University of Cardiff, Gran Bretagna
 University of Colorado, School of Medicine, Denver, CO, USA
 University of Glasgow, Gran Bretagna
 University of Gottingen, Germania
 University of Sussex, Gran Bretagna
 Waring-Webb Institute, University of Colorado, Denver CO, USA
 Weizmann Institut, Rehovot, Israele
 Westfaelische Wilhelms-Universitaet Muenster, Germania

PRESENZA IN COMITATI EDITORIALI

European Journal of Cancer (E.Garattini)
 Neurobiology of Lipids (L.Diomede)
 Neuroimmunomodulation (P.Ghezzi)
 Newsletters of the International Cytokine Society (P.Ghezzi)

ATTIVITA' DI REVISIONE

Biochemical Journal, Biochemical Pharmacology, Biochimica Biophysica Acta, Cancer Research, Cell Death and Differentiation, Drug Investigation, European Journal of Cancer, International Journal of Cancer, Journal of Lipid Mediators, Pharmacological Research

PRESENZA IN COMMISSIONI NAZIONALI E INTERNAZIONALI

Commission for MRC Career Development Award, Medical Research Council, 20 Park Crescent, Londra W1B1AL, Regno Unito

ORGANIZZAZIONE DI EVENTI

Joint Meeting of the International Cytokine Society - International Society for Interferon Research - Society for Leukocyte Biology, ottobre 2002, Torino

PARTECIPAZIONE AD EVENTI CON CONTRIBUTI DEL DIPARTIMENTO

- Simposio: "4th International symposium on experimental spinal cord repair and regeneration", "Acetyl-L-carnitine delays the clinical progression in a murine model of motoneuron disease (mnd mouse)", "Erythropoietin inhibits apoptotic but not necrotic motoneurons death induced by glutamate agonists in vitro", "Cultured rat embryo spinal cord motoneurons as in vitro model for studying motoneuron diseases", 24-26 marzo, Brescia
- Simposio: "The new prion biology: basic science, diagnosis and therapy", "Synthetic miniprion PrP106", 12-13 aprile, Venezia
- Meeting: "5th European meeting on glial cell function in health and disease (Euroglia 2002)", "Microglia and astrocytic activation without motor neurons loss in the spinal cord of mnd mice", 21-25 maggio, Roma
- Congresso: "XIII Congresso della Società Italiana di Neuropsicofarmacologia", "Espressione delle subunità recettoriali del glutammato nel midollo spinale di topi controllo e di topi mnd, un modello murino di patologia del motoneurone", "Quale trasportatore è responsabile per l'uptake di glutammato nel midollo spinale? Studi in topi normali e in differenti modelli di patologie del motoneurone", "Studi sul possibile meccanismo d'azione dell'iperico, una pianta medicinale con proprietà antidepressive", 9-12 luglio, Milano
- Meeting: "3rd FENS forum meeting", "New pharmacological strategies to protect cultured spinal cord motoneurons from excitotoxicity-induced death in vitro", 13-17 luglio, Parigi, Francia
- Congresso: "The 8th International Conference on Alzheimer's Disease and Related Disorders", "Synthetic miniprion PrP106: a model protein for the investigation of the onset and progression of prion-related encephalopathies", 20-25 luglio, Stoccolma, Svezia.
- Convegno: "XVI Convegno nazionale della divisione di chimica farmaceutica", "I sottotipi dei recettori per la serotonina: interpretazione delle interazioni farmaco-recettore ottenute dagli studi di binding in vitro e possibile attivazione in vivo", "Sintesi ed affinità per i sottotipi recettoriali alpha1-adrenergici di analoghi del WB 4101", "Sintesi di ligandi selettivi per i recettori alpha1- adrenergici", "Progettazione, sintesi e tests di binding di ligandi affini e selettivi per il recettore 5-HT3", "Sviluppo di nuovi antipsicotici atipici a struttura pirrolobenzotiazepinica", "Sintesi di molecole attive nel trattamento del cocaine-crawing", "Sintesi e valutazione farmacologica di potenti ligandi dei recettori periferici 5-HT3", 18-22 settembre, Sorrento
- Congresso: "15th Annual Congress of the European College of Neuropsychopharmacology", "Hyperforin does not inhibit brain serotonin uptake for inducing antidepressant-like activity in

rats", 5-9 ottobre, Barcellona, Spagna

- Meeting: "Cytokines and Interferons 2002", "Effect of hyperforin, the active principle of the herbal antidepressant *Hypericum Perforatum*, on IL-6 release in whole blood and human astrocytoma cells", 6-10 ottobre, Torino

- Meeting: "An update on ALS", 17 ottobre, Monza

- Meeting: "32th Meeting of the Society for Neuroscience", "Age and gender-associated differences in the retinal oxidative state of the mnd mouse, a model for neuronal ceroid lipofuscinosis", 2-7 novembre, Orlando, FL, USA

- Simposio: "13th International Symposium on ALS/MND", "Late therapy with AMPA receptor antagonist ZK187683 improves the neuromuscular impairment and the survival in experimental mouse models of motor neuron disorders", "Mitochondrial energy metabolism is preserved in the lumbar spinal cord of the wobbler mouse", 17-19 novembre, Melbourne, Australia

- Congresso: "XV Congresso dell'Associazione Italiana di Immunofarmacologia", "Tumor necrosis factor e degenerazione dei motoneuroni", "Attività neuroprotettive e anti-neuroinfiammatorie dell'eritropoietina", 28-30 novembre, Catania

CONTRIBUTI E CONTRATTI

Associazione Italiana Ricerca sul Cancro (AIRC)

Comunità Europea

Consiglio Nazionale delle Ricerche (CNR)

Dompè

Fondazione Monzino

Fondazione Weizmann-Pasteur-Negri

Indena

Isagro

Istituti di Ricovero e Cura a Carattere Scientifico (IRCCS)

Kenneth S. Warren Institute

Lundbeck

Ministero dell'Istruzione, Università e Ricerca Scientifica (MIUR)

North Shore University Hospital

Perfetti-Van Melle

Pharmacia-Zeneca

Progetto Finalizzato Biotecnologie

RBM

Remedia

Roche

Sigma Tau

Telethon

Università di Milano-Bicocca

Università di Siena

University of Colorado

Zambon Group

SELEZIONE PUBBLICAZIONI SCIENTIFICHE APPARSE NELL'ANNO 2002

- Agnello D, Bigini P, Villa P, Mennini T, Cerami A, Brines M, Ghezzi P. Erythropoietin exerts an anti-inflammatory effect on the CNS and protects from experimental autoimmune encephalomyelitis. *Brain Res.* 952: 128-134, 2002
- Agnello D, Scanziani E, Di Giancamillo M, Leoni F, Modena D, Mascagni P, Introna M, Ghezzi P, Villa P. Preventive administration of Mycobacterium tuberculosis 10-kDa heat shock protein (hsp10) suppresses adjuvant arthritis in Lewis rats. *International Immunopharmacology* 2: 463-474, 2002
- Agnello D, Wang H, Yang H, Tracey K J, Ghezzi P. HMG-1, a DNA-binding protein with cytokine activity, induces brain TNF and IL-6 production, and mediates anorexia and taste aversion. *Cytokine* 18: 231-236, 2002
- Bendotti C, Cole SE, Gobbi M, Hohmann C, Reeves RH. Overexpression of S100b in transgenic mice does not protect from serotonergic denervation induced by 5,7-dihydroxytryptamine (5,7-DHT). *J. Neurosci Res.* 67: 501-510, 2002
- Bertamini M, Marzani B, Guarneri R, Bigini P, Mennini T, Curti D. Mitochondrial oxidative metabolism in motor neuron degeneration (mnd) mouse central nervous system. *Eur. J. Neurosci.* 16: 2291-2296, 2002
- Bigini P, Larini S, Pasquali C, Muzio V, Mennini T. Acetyl-L-carnitine shows neuroprotective and neurotrophic activity in primary culture of rat embryo motoneurons. *Neuroscience Letters* 329: 334-338, 2002
- Bonetto V, Massignan T, Chiesa R, Morbin M, Mazzoleni G, Diomede L, Angeretti N, Colombo L, Forloni G, Tagliavini F, Salmona M. Synthetic miniprion PrP106. *J. Biol. Chem.* 277: 31327-31334, 2002
- Borsini F, Gobbi M, Mennini T. Does serotonin bind to its receptors in vivo? *Recent Res. Devel. Neurochem.* 5: 327-347, 2002
- Campiani G, Butini S, Gemma S, Nacci V, Fattorusso C, Catalanotti B, Giorgi G, Cagnotto A, Goegan M, Mennini T, Minetti P, Di Cesare MA, Mastroianni D, Scafetta N, Galletti B, Stasi MA, Castorina M, Pacifici L, Ghirardi O, Tinti O, Carminati P. Pyrrolo[1,3]benzothiazepine-based atypical antipsychotic agents. Synthesis, structure-activity relationship, molecular modeling, and biological studies. *J. Med. Chem.* 45: 344-59, 2002
- Campiani G, Ramunno A, Fiorini I, Nacci V, Morelli E, Novellino E, Goegan M, Mennini T, Sullivan S, Zisterer DM, Williams CD. Synthesis of new molecular probes for investigation of steroid biosynthesis induced by selective interaction with peripheral type benzodiazepine receptor (PBR). *J. Med. Chem.* 45: 4276-4281, 2002
- Carmo M, Colombo L, Bruno A, Corsi FRM, Roncoroni L, Cuttin MS, Radice F., Mussini E., Settembrini PG. Alteration of elastin, collagen and their cross-links in abdominal aortic aneurysms. *Eur. J. Vasc. Endovasc. Surg.* 23: 543-549, 2002
- Casagrande S, Bonetto V, Fratelli M, Gianazza E, Eberini I, Massignan T, Salmona M, Chang G, Holmgren A, Ghezzi P. Glutathionylation of human thioredoxin: A possible cross talk between the glutathione and thioredoxin systems. *PNAS USA* 99: 9745-9749, 2002
- Cerami A, Brines M, Ghezzi P, Cerami C, Itri LM. Neuroprotective properties of epoetin alfa. *Nephrology Dialysis Transplantation* 17: 8-12, 2002
- Chiabrando C, Rivalta C, Bagnati R, Valagussa A., Durant T, Guy A, Villa P, Rossi JC, Fanelli R. Identification of metabolites from type III F 2-isoprostane diastereoisomers by mass spectrometry. *J. Lipid. Res.* 43: 495-509, 2002
- De Angelis N, Fiordaliso F, Latini R, Calvillo L, Funicello M, Gobbi M, Mennini T, Masson S. Appraisal of the Role of Angiotensin II and Aldosterone in Ventricular Myocyte Apoptosis in Adult Normotensive Rat. *J Mol Cell Cardiol.* 34:1655-65, 2002
- Fratelli M, Demol H, Puype M, Casagrande S, Eberini I, Salmona M, Bonetto V, Mengozzi M, Duffieux F, Miclet E, Bachi A, Vandekerckhove J, Gianazza E, Ghezzi P. Identification by redox proteomics of glutathionylated proteins in oxidatively stressed human T lymphocytes. *PNAS USA* 99: 3505-10, 2002
- Forloni G, Iussich S, Awan T, Colombo L, Angeretti N, Girola L, Bertani I, Poli G, Caramelli M, Bruzzone M G, Farina L, Limido L, Rossi G, Giaccone G, Ironside J W, Bugiani O, Salmona M, Tagliavini F. Tetracyclines affect prion infectivity. *PNAS USA*, 99: 10849-10854, 2002
- Garattini E, Gianni' M, Terao M. Correspondence re: A. Kumar, D.R. Soprano and H.K. Parekh Cross-resistance to the synthetic retinoid CD437 in a Paclitaxel-resistant human ovarian carcinoma cell line is independent of the overexpression of retinoic acid receptor-gamma. *Cancer Res.* (2001) 61: 7552-7555. *Cancer Res.* 62: 2192-2194, 2002
- Ghezzi P, Romines B, Fratelli M, Eberini I, Gianazza E, Casagrande S, Laragione T, Mengozzi M, Herzenberg LA, Herzenberg LA. Protein glutathionylation: coupling and uncoupling of glutathione to protein thiol groups in lymphocytes under oxidative stress and HIV infection. *Mol Immunol.* 38:773-80, 2002
- Gianni' M, Bauer A, Garattini E, Chambon P, Rochette-Egly C. Phosphorylation by p38MAPK and recruitment of SUG-1 are required for RA-induced RAR_ degradation and transactivation. *EMBO J* 21: 3760-3769, 2002
- Gianni' M, Kopf E, Bastien J, Oulad-Abdelghani M., Garattini E, Chambon P, Rochette-Egly C. Down-regulation of phosphatidylinositol 3-kinase/akt pathway is involved in retinoic acid-induced phosphorylation, degradation and transcriptional activity of retinoic acid receptor _2. *J. Biol. Chem.* 277: 24859-24862, 2002
- Gobbi M, Moia M, Pirona L, Ceglia I, Reyes-Parada M, Scorza C, Mennini T. p-Methylthio-amphetamine and 1-(m-chlorophenyl)-piperazine, two non-neurotoxic 5-HT releasers in vivo, differ from neurotoxic amphetamine derivatives in their mode of action at 5-HT nerve endings in vitro. *J. Neurochem.* 82: 1434-1443, 2002

- Gorreta F, Bernasconi R, Galliani G, Salmona M, Tacconi M T, Bianchi R. Wax esters of n-3 polyunsaturated fatty acids: A new stable formulation for food supplement. 1. Digestion and absorption in rats. *Food Science Technology* 35: 458-465, 2002
 - Mazzeo D, Sacco S, Di Lucia P, Penna G F, Adorini L, Panina Bordignon P, Ghezzi P. Thiol antioxidants inhibit the formation of the interleukin-12 heterodimer: A novel mechanism for the inhibition of IL-12 production. *Cytokine* 17: 285-293, 2002
 - Mennini T. A scientific approach to herbal psychopharmacology. *Trends in Pharmacological Sciences* 23: 46-47, 2002
 - Mennini T, Bigini P, Ravizza T, Vezzani A, Calvaresi N, Tortarolo M, Bendotti C. Expression of glutamate receptor subtypes in the spinal cord of control and mnd mice, a model of motor neuron disorder. *J. Neurosci. Res.* 70: 553-560, 2002
 - Napoleone E, Di Santo A, Bastone A, Peri G, Mantovani A, de Gaetano G, Donati MB, Lorenzet R. Long pentraxin PTX3 upregulates tissue factor expression in human endothelial cells: a novel link between vascular inflammation and clotting activation. *Arterioscler.Thromb.Vasc.Biol.* 22: 782-7, 2002
 - Oliva A, Dorta M J, Santoveña A, Bonetto V, Salmona M, Fariña JB. Characterization of antimalarial SPf66 peptide using MALDI-TOF MS, CD and SEC. *Peptides* 23: 1527-1535, 2002
 - Pagliei S, Ghezzi P, Bizzarri C, Sabbatini V, Frascaroli G, Sozzani S, Caselli G, Bertini R. Thioredoxin specifically cross-desensitizes monocytes to MCP-1. *European Cytokine Network* 13: 261-271, 2002
 - Pisano C, Kollar P, Gianni M, Kalac Y, Giordano V, Ferrara FF, Tancredi R, Devoto A, Rinaldi A, Rambaldi A, Penco S, Marzi M, Moretti G, Vesci L, Tinti O, Carminati P, Terao M, Garattini E. Bis-indols: a novel class of molecules enhancing the cytodifferentiating properties of retinoids in myeloid leukemia cells. *Blood* 100:3719-30, 2002
 - Sarva MC, Romeo G, Guerrero F, Siracusa M, Salerno L, Russo F, Cagnotto A, Goegan M, Mennini T. [1,2,4] Triazole derivatives as 5-HT(1A) serotonin receptor ligands. *Bioorg.Med.Chem.* 10: 313-323, 2002
 - Vezzani A, Michalkiewicz M, Michalkiewicz T, Moneta D, Ravizza T, Richichi C, Aliprandi M, Mulé F, Pirona L, Gobbi M, Schwarzer C, Sperk G. Seizure susceptibility and epileptogenesis are decreased in transgenic rats overexpressing neuropeptide Y. *Neuroscience* 110: 237-243, 2002
 - Villa P, Sacconi A, Sica A, Ghezzi P. Glutathione protects mice from lethal sepsis by limiting inflammation and potentiating host defense. *Journal of Infectious Diseases* 185: 1115-1120, 2002
- IN PRESS
- Brandolini L, Allegretti M, Berdini V, Cervellera M N, Mascagni P, Rinaldi M, Melillo G, Ghezzi P, Mengozzi M, Bertini R. Carbocysteine lysine salt monohydrate (SCMC-LYS) is a selective scavenger of reactive oxygen intermediated (ROIs). Potential role in SCMS-LYS anti-inflammatory activity. *Eur. Cytokine Netw., In Press* 2002
 - Diomede L, Forloni G, Bugiani O, Tagliavini F, Salmona M. The prion protein and cellular cholesterol homeostasis. *Neurobiol. Lipids* 1: 8-14, 2002
 - Fratelli M, Demol H, Puype M, Casagrande S, Villa P, Eberini I, Vanderkerckhove J, Giannazza E, Ghezzi P. Identification of proteins undergoing glutathionylation in oxidatively stressed hepatocytes and hepatoma cells. *Proteomics, In Press* 2002
 - Ghezzi P, Bonetto V. Redox proteomics: identification of oxidatively modified proteins. *Proteomics, In Press* 2002
 - Gianazza E, Eberini I, Villa P, Fratelli M, Pinna C, Wait R, Gerneriner M, Miller I. Monitoring the effects of drug treatment in rat models of disease by serum protein analysis. *J Chromatogr B Biomed Appl, In Press* 2002
 - Launay S, Gianni M, Diomede L, Machesky L, Enouf J, Papp B. Enhancement of ATRA-induced cell differentiation by inhibition of endoplasmic reticulum calcium accumulation. Cross-talk between RARalpha and calcium-dependent signaling. *Blood, In Press* 2002
 - Poli G, Ponti W, Carcassola G, Ceciliani F, Colombo L, Dall'Ara P, Gervasoni M, Giannino ML, Martino PA, Pollera C, Villa S, Salmona M. In vitro evaluation of the anti-prionic activity of newly synthesized Congo Red derivatives. *Arzneimittel Forschung Drug Research, In Press* 2002
 - Rizzardini M, Lupi M, Bernasconi S, Mangolini A, Cantoni L. Mitochondrial dysfunction and death in motor neurons exposed to the glutathione-depleting agent ethacrynic acid. *J Neurol Sci, In Press* 2002
 - Villa P, Bigini P, Mennini T, Agnello D, Laragione T, Cagnotto A, Viviani B, Marinovich M, Cerami A, Brines M, Ghezzi P. Erythropoietic attenuates inflammation produced by cerebral ischemia and neurodegeneration. *J.Exp.Med, In Press* 2002

ATTIVITA' DI RICERCA

Laboratorio di Farmacologia Recettoriale

Studi sulla patologia del motoneurone: studi in vitro

Ci sono forti evidenze che complesse interazioni tra stress ossidativo, disfunzioni mitocondriali, alterazioni di citochine e della trasmissione glutammatergica giochino un importante ruolo nella patogenesi di malattie del motoneurone come la sclerosi laterale amiotrofica. Abbiamo in corso progetti specifici su queste tematiche, alcuni in collaborazione con il Dipartimento di Neuroscienze (Dr. Beghi, Dr. Bendotti). Colture primarie di motoneuroni di ratto, esposte per 48 ore a basse concentrazioni di agonisti glutammatergici, vanno incontro a morte di tipo apoptotico (dopo esposizione a kainato) o non-apoptotico (dopo esposizione ad AMPA o NMDA). Abbiamo studiato i principali eventi intracellulari che si verificano in questi diversi meccanismi di morte cellulare, e abbiamo testato nuovi potenziali trattamenti che interferiscano con i due meccanismi. Abbiamo evidenziato che l'eritropoietina protegge i motoneuroni esclusivamente da morte apoptotica mentre l'acetilcarnitina è efficace per entrambi i processi, aumentando l'espressione di TrkB nei motoneuroni.

Studi sulla patologia del motoneurone: studi in vivo su topi mnd

I topi mnd sono un buon modello di eccitotossicità, con aumentati livelli di glutammato plasmatico già in fase presintomatica. Valutazioni nel midollo spinale lombare hanno evidenziato: riduzione del trasportatore per il glutammato GLT-1 e della subunità GluR3 del recettore AMPA, e aumento della subunità GluR2. Il trattamento con un nuovo antagonista non competitivo per i recettori AMPA (ZK187638) migliora le prestazioni motorie nei topi, come riportato in precedenza per l'agonista competitivo NBQX. Il TNF e il suo recettore TNFR1 sono aumentati già in età presintomatica, quando un'intensa proliferazione astrogliale e microgliale è manifesta. Presentano riduzione delle funzioni mitocondriali e del consumo di ossigeno (Prof. D.Curti, Università di Pavia) e aumentati livelli di derivati dei perossilipidi che reagiscono con l'acido tiobarbiturico (TBARS) (Prof. P. Guarneri, CNR di Palermo). Il trattamento con L-carnitina ritarda la comparsa dei sintomi motori, aumenta le attività mitocondriali e il QO2 e diminuisce i livelli di TBARS.

Studi sulla patologia del motoneurone: studi in vivo su topi wobblers

I topi wobblers hanno una degenerazione selettiva dei motoneuroni del tratto cervicale del midollo spinale. L'eccitotossicità non sembra essere coinvolta nella patologia, dal momento che non ci sono differenze nell'espressione dei trasportatori e nei livelli plasmatici del glutammato. Tuttavia, il trattamento con riluzolo è efficace nel ridurre la progressione dei sintomi e la perdita di motoneuroni cervicali. Sono in corso studi sull'espressione dei recettori del glutammato e sugli effetti di un trattamento cronico con un AMPA antagonista al fine di comprendere i meccanismi di morte del motoneurone e, indirettamente, il meccanismo d'azione del riluzolo. Risultati preliminari indicano un processo di natura non-apoptotica, e, in accordo con queste evidenze, il trattamento con eritropoietina sembra inefficace. Il TNF e il suo recettore TNFR1 sono aumentati, ed è in corso un trattamento con una proteina legante h-TNF al fine di comprendere il ruolo di questa citochina nella degenerazione del motoneurone. Sono inoltre in corso ricerche legate all'uso di cellule staminali e alla valutazione del ruolo del deficit mitocondriale.

Studi sui trasportatori del glutammato

Un'eccessiva stimolazione dei recettori glutammatergici risulta dannosa per i neuroni e la concentrazione di glutammato viene mantenuta a livello fisiologico mediante un meccanismo

attivo di ricaptazione da parte di trasportatori (EAATs) localizzati sulle membrane cellulari di neuroni e glia. È stato suggerito che un meccanismo di trasporto inverso (rilascio di glutammato nel versante extracellulare) da parte degli EAATs rappresenti un evento precoce nell'ischemia acuta. Quindi composti che interagiscono con tale meccanismo bloccando gli EAATs potrebbero essere utili nel prevenire l'eccitotossicità indotta da ischemia. Abbiamo iniziato un progetto con l'Università di Siena (Prof. Campiani) per la caratterizzazione di nuove strutture sintetizzate attraverso la realizzazione di un modello 3D della struttura attiva dei trasportatori del glutammato, con lo scopo di trovare inibitori selettivi di rilevanti EAATs. Abbiamo caratterizzato differenti approcci biochimici per distinguere agenti "bloccanti" o "substrati". Per questo studio abbiamo usato preparazioni sinaptosomiali o gliali purificate da cervello e midollo spinale di ratto e cellule che esprimano stabilmente EAATs.

Studi su estratti di *Hypericum perforatum*

Gli estratti idroalcolici di *Hypericum perforatum* sono proposti per il trattamento delle forme lievi-moderate di depressione, con minori effetti collaterali rispetto agli antidepressivi classici. L'estratto e il suo costituente floroglucolinico, l'iperforina sono attivi anche in modelli animali di depressione, anche se il meccanismo d'azione, non ancora noto, sembra essere differente da quello degli antidepressivi convenzionali. Per chiarire questo punto abbiamo condotto studi in vivo ed ex vivo, in collaborazione con Indena S.p.A e con il Laboratorio di Metabolismo dei Farmaci e l'Unità di Farmacologia Comportamentale. I dati ottenuti indicano che l'iperforina non interagisce con i recettori dei neurotrasmettitori, ma suggeriscono altre due ipotesi: a) l'effetto centrale dell'iperforina potrebbe essere indirettamente mediato da un metabolita o da un neuromodulatore che interagisce con il recettore sigma; b) l'iperforina potrebbe agire a livello periferico modulando i livelli di interleuchina-6 circolante, in accordo con l'ipotesi secondo cui l'ipersecrezione di citochine potrebbe essere coinvolta nell'insorgenza e nel mantenimento dei disordini depressivi.

Studi sulla neurotossicità di derivati dell'amfetamina

Il meccanismo responsabile della neurotossicità serotoninergica indotta da alcuni derivati dell'amfetamina, tra cui l'ecstasy (metilenediossimetamfetamina), è ancora controverso. Il loro principale effetto acuto è il rilascio di serotonina dalle terminazioni nervose ed è conseguente alla loro interazione, come substrati, con i trasportatori serotoninergici. Questa interazione sembra necessaria per indurre gli effetti neurotossici, ma non sufficiente, in quanto sono stati descritti alcuni derivati dell'amfetamina che inducono un marcato rilascio di serotonina in vivo senza dare neurotossicità. Abbiamo studiato vari derivati dell'amfetamina (forniti dal Dr. Reyes-Parada, Universidad de Santiago de Chile), neurotossici o non, in differenti modelli sperimentali in vitro e in vivo. Un risultato particolarmente interessante è che nei sinaptosomi perfusi in vitro, solo le amfetamine neurotossiche aumentano il rilascio di serotonina. Attualmente stiamo approfondendo il significato di questa osservazione utilizzando nuove molecole.

Studi sui recettori cerebrali per NPY

Il neuropeptide Y (NPY) è coinvolto in numerose funzioni del sistema nervoso centrale, inclusa la regolazione dell'attività neuronale e in particolare dell'iper-attività associata a convulsioni. Nell'ambito di un progetto di ricerca sull'epilessia, coordinato dal Laboratorio di Neurologia Sperimentale, abbiamo inizialmente caratterizzato i saggi di binding, principalmente utilizzando l'autoradiografia recettoriale computerizzata, per misurare i differenti sottotipi del recettore dell'NPY. Poiché le convulsioni alterano l'espressione e il rilascio di NPY abbiamo misurato le modificazioni dei sottotipi recettoriali (che hanno effetti differenti sull'eccitabilità neuronale) in differenti modelli animali di epilessia, assimilabili all'epilessia umana del lobo temporale. Studi condotti in ratti transgenici che sovraesprimono NPY endogeno hanno confermato che i recettori dell'NPY rappresentano un target utile per lo sviluppo di nuovi trattamenti

antiepilettici. Attualmente, i nostri progetti di ricerca hanno lo scopo di valutare gli effetti indotti dal trattamento in vivo con composti che interagiscono con i recettori per NPY.

Impiego del Biacore per studiare composti antifibrillogenici

La possibilità di analizzare le interazioni biomolecolari si è recentemente ampliata con lo sviluppo di biosensori ottici, come il Biacore, che impiegano la tecnologia della risonanza plasmonica di superficie (SPR). Questa metodologia offre numerosi vantaggi, tra cui la possibilità di misurare l'interazione in tempo reale, utilizzando quantità molto ridotte di molecole interagenti, e senza nessun tipo di marcatura. Abbiamo valutato la possibilità di analizzare con il Biacore le reazioni di aggregazione della proteina prionica e della beta-amiloide, nell'ambito di progetti di ricerca coordinati dal nostro Dipartimento e dal Laboratorio di Biologia dei Disordini Neurodegenerativi. Risultati preliminari hanno indicato che questa tecnologia può effettivamente permettere di misurare e caratterizzare il legame di peptidi solubili agli aggregati fibrillari. Il passaggio successivo sarà quindi rappresentato dallo studio dei composti che interferiscono con il processo di aggregazione, potenzialmente utili nel trattamento delle patologie da prioni e della malattia di Alzheimer.

Studi di binding recettoriale

Abbiamo studiato composti di nuova sintesi sui recettori cerebrali in vitro, in collaborazione con il Prof. Campiani (Università di Siena) e il Prof. Russo (Università di Catania). I risultati ottenuti dagli esperimenti di binding (affinità e selettività) sono stati utilizzati per studi di molecular modeling (QSAR) e per ulteriori valutazioni farmacologiche. Esempi sono la caratterizzazione di nuove molecole con attività di antipsicotici atipici; di antagonisti selettivi al recettore 5HT3 che non passano la barriera ematoencefalica e possono essere utilizzati come tool per il sistema cardiovascolare; di leganti potenti e selettivi per i recettori del glutammato, o per i recettori 5HT1A. E' anche possibile valutare l'attività agonista/antagonista di composti che agiscono su recettori accoppiati alle G-proteins misurando il loro effetto sul binding del GTP- γ -S. Con questo approccio in collaborazione con l'Unità di Farmacologia Comportamentale, abbiamo caratterizzato agonisti parziali selettivi per il recettore D3, che sono risultati attivi nel ridurre il craving da cocaina nel ratto.

Laboratorio di Neuroimmunologia

Citochine e infiammazione

Le citochine sono importanti mediatori infiammatori. Il laboratorio studia il loro ruolo in modelli di infezione e infiammazione, con particolare attenzione al loro doppio ruolo di mediatori patogenetici da un lato e di molecole essenziali per l'immunità innata dall'altra e alla possibilità di modularne farmacologicamente la produzione e l'azione. In particolare abbiamo utilizzato modelli in vitro e in vivo per lo studio della produzione di citochine (IL-1, IL-6, IL-8, IL-10, IL-18, MCP-1, TNF) e l'attivazione di fattori trascrizionali (NF- κ B) e vie di trasduzione del segnale (p38, STAT) implicate nella loro azione e produzione. Inoltre abbiamo verificato i risultati di questi studi in modelli in vivo di artrite e infiammazione acuta. In questi modelli abbiamo studiato molecole antiossidanti tioliche, farmaci antiinfiammatori non steroidei e statine. Una parte di questi progetti è stata mirata all'area della neuroinfiammazione utilizzando modelli di patologie del sistema nervoso centrale e periferico con componente infiammatoria (vedi attività 3) e cellule nervose in vitro (neuroni, glia, astrociti). Inoltre abbiamo utilizzato la produzione di citochine in vitro come indicatore per testare composti potenzialmente pirogeni, irritanti o tossici che si propone come possibile alternativa ai test su animali.

Regolazione redox

Lo studio del cosiddetto stress ossidativo ha portato alla identificazione di fenomeni biochimici che vengono modificati da molecole antiossidanti anche in assenza di stress ossidativo inteso come produzione eccessiva di metaboliti tossici dell'ossigeno (radicali liberi). Si parla perciò di regolazione redox per definire l'insieme delle funzioni cellulari (espressione di geni, attività di enzimi e fattori trascrizionali etc.) che sono in qualche modo modificate dallo stato di redox della cellula, inteso come il rapporto tra specie ossidanti e riducenti (in genere: il rapporto tra glutazione ossidato e ridotto). Il nostro lavoro si è focalizzato sui meccanismi molecolari con cui piccole variazioni nello stato di redox possono influenzare proteine di vario genere, e in particolare su modificazioni transitorie di cisteine all'interno di proteine a formare ponti disolfuro con altre catene proteiche o con piccole molecole tioliche come il glutazione.

Neuroprotezione

Le patologie del sistema nervoso, centrale e periferico, studiate in laboratorio sono l'ischemia cerebrale, l'encefalomielite autoimmune e la neuropatia diabetica. Utilizzando modelli animali e culture in vitro abbiamo cercato di descrivere le interazioni tra morte neuronale ed infiammazione e di intervenire con strategie protettive. Tra queste ultime, abbiamo in particolare studiato molecole endogene che hanno mostrato inattese attività antiapoptotiche su cellule neuronali (in particolare l'eritropoietina) e farmaci antiinfiammatori.

Laboratorio di Biologia Molecolare

Nuovi retinoidi ad attività antileucemica

I derivati sia naturali che sintetici dell'acido retinoico (retinoidi) sono composti molto promettenti in ambito oncologico. Tali composti svolgono il loro effetto anti-leucemico ed anti-tumorale attraverso tre diversi meccanismi: cito-differenziazione, arresto della crescita cellulare ed apoptosi (morte cellulare programmata). Tali meccanismi sono parzialmente dissociabili. Esistono, infatti, retinoidi di sintesi a forte effetto anti-proliferativo e/o cito-differenziante. Recentemente, abbiamo identificato e caratterizzato una nuova serie di retinoidi dotati di forte e selettivo effetto apoptotico nei confronti della cellula neoplastica. Tali derivati (adamantil-retinoidi), originariamente sviluppati come agonisti specifici dei recettori nucleari per l'acido retinoico di tipo gamma (RAR γ) inducono apoptosi in diversi tipi di cellule leucemiche e carcinomatose attraverso un meccanismo ancora largamente sconosciuto, che peraltro non prevede la mediazione da parte di alcuno dei recettori nucleari per l'acido retinoico conosciuti. Gli adamantil-retinoidi agiscono attraverso l'attivazione di determinanti molecolari totalmente differenti da quelli di altri agenti chemioterapici e sono attivi non solo in vitro ma anche in vivo su diversi modelli sperimentali di leucemia acuta mieloide. Alcune di queste molecole innovative sono in fase avanzata di sviluppo pre-clinico.

Nuove combinazioni farmacologiche a base di retinoidi in ambito di terapia antileucemica

Uno degli effetti clinici più significativi dell'acido retinoico è rappresentato dalla capacità di questo composto di favorire la maturazione del blasto leucemico verso un fenotipo più simile a quello della cellula normale. L'utilizzo clinico dell'acido retinoico per il trattamento della leucemia acuta promielocitica, rappresenta, al momento, il primo ed unico esempio di terapia differenziante in ambito oncologico. Questo tipo di strategia terapeutica ha il vantaggio di essere più facilmente accettata dal paziente oncologico in quanto associata a minore tossicità rispetto ai classici trattamenti chemioterapici a base di farmaci cito-tossici. Nonostante gli eccellenti risultati ottenuti nel caso della leucemia acuta promielocitica, l'utilizzo clinico dell'acido retinoico è ancora limitato a causa di una serie di problemi, tra i quali, la resistenza naturale ed indotta e la tossicità sistemica e locale hanno particolare rilevanza. Una delle possibili strategie

perseguibili al fine di aumentare l'indice terapeutico dell'acido retinoico si basa sulla identificazione e l'utilizzo di farmaci in grado di potenziare significativamente l'attività citodifferenziante del retinoide. Abbiamo recentemente dimostrato che una serie di agenti quali il G-CSF, gli interferoni, i derivati del cAMP, gli inibitori della fosfo-diesterasi IV ed una serie di altre molecole a meccanismo d'azione ignoto sono in grado di sensibilizzare la cellula neoplastica all'effetto farmacologico dell'acido retinoico. Ci poniamo come obiettivo a lungo termine di valutare la possibilità di utilizzare in ambito clinico le combinazioni di cui sopra. Ci proponiamo, inoltre, di utilizzare tali combinazioni per meglio comprendere i meccanismi molecolari alla base del processo di differenziazione del blasto leucemico indotto dall'acido retinoico e dai suoi derivati.

La famiglia delle molibdo-flavoproteine

I molibdo-flavoenzimi sono proteine di interesse sia medico che industriale. Essi sono gli unici enzimi che richiedono molibdeno, sotto forma del cofattore molibdenico, per la loro attività catalitica. Da tempo il laboratorio di Biologia Molecolare si occupa delle biochimica e della biologia dei molibdo-flavoenzimi nell'uomo e nel mammifero più in generale. In passato, abbiamo contribuito alla identificazione ed alla caratterizzazione strutturale di due molibdo-flavoproteine, l'aldeide ossidasi (AOX1) e la xantina ossidoreduttasi (XOR). Negli ultimi due anni, abbiamo identificato e clonato i cDNA ed i geni di tre nuovi molibdo-flavoenzimi (AOH1, AOH2 ed AOH3) nel topo. A lungo termine, i nostri obiettivi principali sono la caratterizzazione strutturale, la definizione della specificità di substrato, la delucidazione del meccanismo di catalisi e della funzione fisiopatologica delle tre nuove proteine. Ci proponiamo inoltre di continuare gli studi di caratterizzazione biochimica e funzionale di AOX1 ed XOR sia di origine umana che murina. Allo scopo di perseguire questi obiettivi, abbiamo recentemente sviluppato linee cellulari in grado di esprimere XOR in maniera condizionale. Abbiamo, infine generato un topo knock-out per il gene codificante AOH2.

Laboratorio di Biochimica e Chimica delle Proteine

Metabolismo lipidico e produzione di citochine pro-infiammatorie

L'esistenza di una relazione tra iperlipidemia ed infiammazione è stato ampiamente dimostrato, sebbene il meccanismo cellulare e molecolare che ne è alla base non sia stato del tutto chiarito. Da un punto di vista biochimico l'infezione e l'infiammazione sono associate alla risposta di fase acuta che produce, fra gli altri fenomeni, anche un aumento della sintesi epatica di colesterolo e trigliceridi. L'inibizione della sintesi di colesterolo da parte delle statine, inibitori selettivi dell'enzima 3-idrossi-3-metilglutaril coenzima A (HMG-CoA) reduttasi, provoca la riduzione della produzione delle molecole derivate dal mevalonato con il conseguente aumento della produzione di citochine anti-infiammatorie in modelli in vitro e in vivo. La biosintesi e l'uptake del colesterolo è regolato da due fattori di trascrizione, noti come sterol regulatory element binding protein (SREBP-1 e SREBP-2), che promuovono l'attivazione dei geni che codificano per enzimi chiave, come per esempio l'HMG-CoA sintetasi, l'HMG-CoA reduttasi, il farnesil difosfato sintetasi e la squalene sintetasi. Negli studi condotti quest'anno abbiamo dimostrato che le citochine pro-infiammatorie aumentano la maturazione di SREBP inducendo l'espressione dei geni che codificano per gli enzimi deputati alla sintesi di colesterolo e acidi grassi.

Stress ossidativo e malattie neurodegenerative: un approccio proteomico

I meccanismi molecolari alla base di malattie neurodegenerative con origine genetica come la sclerosi laterale amiotrofica (SLA) familiare, sono ancora sconosciuti. Ci sono indicazioni che lo stress ossidativo abbia un ruolo importante nella patogenesi di queste malattie. L'Unità di Proteomica dell'Istituto Telethon Dulbecco si propone di affrontare il problema mediante

l'analisi proteomica di modelli animali e cellulari di patologia con particolare riguardo alle modifiche ossidative delle proteine. In particolare, il gruppo in collaborazione con Dr. Caterina Bendotti, si è concentrato sull'analisi dei cambiamenti di espressione proteica e di modifiche ossidative, come la nitratura della tirosina, in topi transgenici (Tg) che sovraesprimono la superossido dismutasi (SOD) mutata (G93A) umana, che costituiscono un modello di SLA familiare. Le proteine estratte dai midolli spinali di topi Tg SOD G93A a diversi stadi della malattia e i relativi controlli sani, topi Tg che overesprimono SOD umana wild-type, sono state separate con elettroforesi bidimensionale su gel. Le mappe proteiche ottenute nelle diverse condizioni sono state paragonate con software di analisi di immagini e caratterizzate con analisi Western blot e spettrometria di massa. Risultati preliminari semiquantitativi hanno già dimostrato interessanti alterazioni del proteoma nei topi Tg che contraggono la SLA. Sono in corso valutazioni quantitative e statistiche dei volumi degli spot ottenuti tramite densitometria. Questi dati potrebbero far luce su alcuni aspetti dei meccanismi patogenetici coinvolti nella SLA di tipo familiare.

Caratterizzazione di differenti isoforme della proteina SMN

L'atrofia muscolare spinale (SMA) è una malattia autosomica recessiva che, nell'ambito delle malattie ereditarie, rappresenta la maggior causa di mortalità infantile. La SMA è caratterizzata dalla degenerazione dei motoneuroni delle corna anteriori del midollo spinale con conseguente rigidità e paralisi amiotrofica della muscolatura scheletrica. La SMA è associata a delezioni o mutazioni del gene SMN e la copia telomerica del gene SMN (SMN1) presenta delezioni o mutazioni in più del 98% dei pazienti affetti da SMA. La proteina SMN è espressa in tutti i tessuti dei mammiferi, ma livelli particolarmente alti sono presenti solo nei motoneuroni. Recentemente, per mezzo di esperimenti di Western blot, sono state identificate differenti isoforme della proteina SMN e studi di ontogenesi hanno mostrato la presenza di un'espressione progressivamente maggiore di queste isoforme a partire dalla nascita. Queste osservazioni suggeriscono che le differenti isoforme di SMN possano svolgere un importante ruolo nell'omeostasi e nella funzione dei motoneuroni. Nel nostro laboratorio abbiamo sviluppato una strategia per la purificazione e la caratterizzazione delle isoforme di SMN attraverso l'uso della cromatografia multidimensionale associata dall'elettroforesi bidimensionale e dalla spettrometria di massa. Siamo riusciti ad identificare le isoforme di SMN per mezzo dell'elettroforesi bidimensionale e intendiamo caratterizzarne la sequenza primaria attraverso la spettrometria di massa.

Studi sulla conformazione della proteina prionica e dei peptidi dedotti dalla sua sequenza primaria

Nelle malattie da prioni esiste una relazione tra la formazione di fibrille della Proteina Prionica (PrP) e la citotossicità o le risposte reattive astrogliali. La formazione di fibrille è la conseguenza di un cambiamento conformazionale della proteina nativa che porta alla proteina patologica. Ciò è ritenuto essere di grande importanza nella comparsa e nella progressione delle malattie da prione. La comprensione dei determinanti strutturali alla base di questa trasformazione conformazionale sono molto importanti per la delucidazione del processo patogenetico. Sorge quindi la necessità di sviluppare dei modelli semplificati in grado di approssimare al meglio la dinamica di questa transizione. A questo proposito abbiamo sviluppato dei peptidi sintetici che rappresentano l'essenza dei domini fibrillogeni della PrP. Utilizzando diverse tecniche chimico-fisiche e biochimiche, conduciamo studi in vitro per determinare le proprietà conformazionali di questi peptidi, e ne valutiamo la struttura secondaria, lo scambio idrogeno-deuterio, la resistenza alla digestione con proteasi, la capacità di aggregazione e le proprietà amiloidogeniche. Questo lavoro fornisce indicazioni qualitative e quantitative sulla plasticità conformazionale dei frammenti di PrP.

Meccanismi biochimici e molecolari coinvolti nella tossicità della proteina prionica

Lo scopo di questa attività di ricerca è quello di comprendere i meccanismi biochimici e molecolari che determinano la citotossicità o la risposta reattiva astrogliale della Proteina Prionica (PrP). Questo studio prevede l'utilizzo di peptidi sintetici che le sequenze dei domini fibrillogenici della PrP e di alcuni modelli cellulari al fine di stabilire una relazione tra le proprietà chimico-fisiche dei vari peptidi ed i loro effetti biologici. Utilizzando tecniche di proteomica, abbiamo valutato il pannello di espressione proteica in diversi modelli cellulari dopo trattamento con i peptidi neurotossici. Il riconoscimento e la caratterizzazione delle proteine differenzialmente espresse sono potenzialmente in grado di fornire delle indicazioni sulle vie biochimiche coinvolte nei meccanismi di neurodegenerazione e determinare dei marker biochimici e dei possibili target farmacologici. L'attività, svolta in collaborazione con il Laboratorio di Biologia delle Malattie Neurodegenerative, è stata volta inoltre ad analizzare la distribuzione sub-cellulare dei peptidi e ad identificare i bersagli biologici molecolari intracellulari.

Sviluppo di strategie terapeutiche per la cura delle malattie da prione

Attualmente non esistono opzioni terapeutiche per il trattamento delle malattie da prione. Pertanto composti in grado di interferire con la formazione delle fibrille possono costituire degli utili candidati terapeutici. Questa attività di ricerca, condotta in collaborazione con il Laboratorio di Biologia delle Malattie Neurodegenerative, ha avuto lo scopo di identificare delle molecole che siano in grado di contrastare la capacità della PrP di formare fibrille. Studi di fibrillogenosi sono stati compiuti utilizzando i peptidi sintetici, PrP106-126 e PrP82-146 che sono stati da noi studiati in passato per la loro peculiarità di avere un alto contenuto di β -sheet e la capacità di formare delle fibrille amiloidi. Le molecole che sono risultate più promettenti sono state studiate in modelli in vivo della malattia da prioni nel criceto e nel topo.

Laboratorio di Patologia Molecolare

Emoproteine

All'interno di questa linea di ricerca, finalizzata allo studio del ruolo delle emoproteine - principalmente il citocromo P-450 e la NO-sintetasi - in patologie diverse, sono in corso di valutazione gli effetti sul sistema del citocromo P-450 di estratti vegetali utilizzati come farmaci, spesso in seguito ad automedicazione. Per queste preparazioni, che comprendono anche decine di componenti, sono state documentate numerose interazioni con farmaci. Queste interazioni rappresentano un rischio per i pazienti tanto più che mancano tuttora dati sperimentali per predire quali siano il ruolo dei singoli componenti e le dosi che danno interazioni e quali siano le isoforme di citocromo P-450 coinvolte (e, di conseguenza, i substrati esogeni ed endogeni che potenzialmente subiranno alterazioni nel metabolismo). I composti che sono attualmente oggetto di studio sono gli estratti di iperico (erba di San Giovanni), utilizzati nella cura di forme lievi e moderate di depressione.

Stress ossidativo

Il diclofenac, un antinfiammatorio non steroideo molto utilizzato, causa epatotossicità (transaminasi elevate), nel 15% dei pazienti, ma anche, raramente, una epatite fulminante con meccanismi non chiari. Dal diclofenac possono originare dei metaboliti reattivi, quindi la variabilità genetica dei sistemi enzimatici coinvolti nel metabolismo e/o nella difesa contro intermedi reattivi o speci reattive dell'ossigeno potrebbe determinare la diversa suscettibilità dei pazienti. Abbiamo studiato il ruolo dello stress ossidativo nella tossicità acuta del diclofenac e, in particolare, se il diclofenac modificasse l'attività e l'espressione dell'eme ossigenasi-1 (HO-1). L'induzione dell'HO-1 è un marker di stress ossidativo ed anche un meccanismo di difesa in

situazioni di stress per effetto delle attività fisiologiche di CO, bilirubina e biliverdina ottenuti dalla degradazione ossidativa dell'eme. L'HO-1 è indotta dal diclofenac a livello trascrizionale e in modo dose dipendente negli epatociti di ratto in coltura e di topo in vivo. L'induzione è parallela al danno epatico (aumento delle transaminasi) e può essere modulata modificando l'equilibrio redox della cellula o l'attività del citocromo P-450 e quindi il metabolismo del diclofenac; inoltre evidenzia che il farmaco induce nel fegato una situazione di stress che potrebbe favorire l'insorgere di un danno. Studi sono in corso per determinare se l'induzione dell'HO-1 abbia effetti protettivi.

Neurodegenerazione

Nel laboratorio, le patologie del motoneurone sono studiate utilizzando la linea cellulare motoneuronale ibrida NSC-34. In particolare le NSC-34 sono utilizzate per lo studio dei meccanismi patogenetici della sclerosi laterale amiotrofica (SLA). Nella SLA il mitocondrio è alterato precocemente. Le NSC-34 sono state utilizzate per determinare gli effetti sul mitocondrio di stimoli ossidativi come la deplezione di glutazione. Questo induce nel motoneurone un aumento nella produzione di specie reattive dell'ossigeno e nell'espressione dell'eme ossigenasi-1, ambedue indici di stress ossidativo. Inoltre sia il potenziale di membrana mitocondriale che la misura della conversione del colorante MTT ad opera delle deidrogenasi cellulari sono ridotti evidenziando un danno mitocondriale. Una riduzione nella permeabilità della membrana mitocondriale può innescare un processo che porta alla morte cellulare ed infatti dopo il trattamento vi è un incremento di nuclei frammentati nelle cellule trattate fino al 65% dopo 18 ore. Nel motoneurone, quindi, il mitocondrio è sensibile agli stimoli ossidativi e un danno ossidativo al mitocondrio può velocemente portare alla morte cellulare. Studi sono in corso per valutare se la superossido dismutasi 1 umana G93A mutata induca stress ossidativo e tossicità mitocondriale in NSC-34 stabilmente trasfettate, recentemente create nel nostro laboratorio per avere un modello cellulare di SLA familiare.

LABORATORIO POLITICHE REGOLATORIE DEL FARMACO

PERSONALE

Capo Laboratorio

Vittorio BERTELE', Dr. Med. Chir.

INTRODUZIONE ALLE ATTIVITA' DEL LABORATORIO

Valutazione di dossier regolativi di farmaci sottoposti all'autorità regolatoria centrale europea (EMA) per l'autorizzazione al commercio e successive variazioni dei termini dell'autorizzazione originale (estensione dell'indicazione, nuove informazioni sulla sicurezza dei farmaci, etc)

Attività di farmacovigilanza attraverso la valutazione di Periodic Safety Update Reports (PSUR) su farmaci approvati dall'EMA

Valutazione di dossier regolativi di farmaci sottoposti all'autorità regolatoria nazionale per l'ammissione al regime di rimborsabilità e per la contrattazione del prezzo

Valutazione dell'adeguatezza della legislazione, delle istituzioni e delle procedure regolatorie ai fini della salute pubblica

SCOPERTE/RISULTATI PRINCIPALI

Publicizzazione delle deficienze della legislazione europea sul farmaco e delle proposte per adeguarle alle esigenze di salute pubblica.

COLLABORAZIONI NAZIONALI

Istituto Superiore di Sanità
Ministero della Salute

COLLABORAZIONI INTERNAZIONALI

European Medicine Evaluation Agency (EMA)

PRESENZA IN COMITATI EDITORIALI

Servizio di Informazione e Documentazione Clinica DOCTORline - Medical Economics Italia di Milano (Alessandro Nobili)

Banca dati "Drugdex" di Micromedex ® Thompson Health Care, Greenwood Village – Colorado, USA (Alessandro Nobili)

The Annals of Pharmacotherapy, Harwey Whitney Books Company, Cincinnati, OH 45242 USA (Alessandro Nobili)

ATTIVITA' DI REVISIONE

The Annals of Pharmacotherapy (Alessandro Nobili)
European Journal of Clinical Pharmacology (Vittorio Bertele', Luca Li Bassi)

PRESENZA IN COMMISSIONI NAZIONALI E INTERNAZIONALI

Associazione per lo Sviluppo della ricerca in FarmacoEpidemiologia (ASFE)
Committee for Proprietary Medicinal Products (CPMP) presso l'EMA (in qualità di esperti)
Federazione Alzheimer Italia, Progetto CAREER
Gruppo di Lavoro per la negoziazione del prezzo dei farmaci e la loro adozione in regime di rimborsabilità presso il Ministero della Salute
Sottocommissione Procedure Comunitarie presso il Ministero della Salute

PARTECIPAZIONE AD EVENTI CON CONTRIBUTI DEL LABORATORIO

Corso Pharmaceutical Policy and Management, The role of the EU regulatory authorities, 18.03.2002, Università Bocconi, Milano
Convegno di Altroconsumo, Farmaci: una merce come tutte le altre?, Novità farmaceutica: quale rapporto costo/benefici per la società, 21.03.2002, Roma
66th Workshop of the International School of Pharmacology, Drug advertising and consumers, The European proposal, 09-13.05.2002, Erice
Conferenza, Etica e ricerca clinica, Finanziamento della ricerca clinica: dimensione etica, scientifica ed economica, 15.06.2002, Modena
Policy Conference of the European Society of Cardiology, The need for resources for budgetless clinical research, Need for an independent clinical research organisation at European level, 27-28.06.2002, Sophia Antipolis
Corso Master CRA e EFV, Università Firenze, Procedure regolatorie del farmaci in Europa, 06.11.2002, Firenze
Corso ECM, Aggiornamenti in farmacologia: aspetti scientifici e regolatori, Vantaggi e limiti delle procedure registrative centralizzate dei medicinali, 05.12.2002, Ministero della Salute, Roma

CONTRIBUTI E CONTRATTI

European Medicine Evaluation Agency (EMA)

SELEZIONE PUBBLICAZIONI SCIENTIFICHE APPARSE NELL'ANNO 2002

Garattini S, Bertele' V. Price needs to be evaluated against effectiveness. *BMJ* 2002; 325: 1303

Garattini S, Bertele' V. Toward new legislation on drugs in Europe. *Expert Review Pharmacoeconomics Outcomes Research*, 2: 51-56 (2002)

Garattini S, de Andres-Trelles F, Bertele' V, Li Bassi L. Ethics of testing drugs with readily available alternatives. *Lancet* 360: 647 (2002)

Garattini S, Bertele' V. Efficacy, safety, and cost of new anticancer drugs. *BMJ* 325: 269-271 (2002)

Garattini S, Bertele' V, Li Bassi L. Light and shade in the proposed revision of the EU drugs regulatory legislation. *Lancet*, in press 2003

Li Bassi L, Bertele' V, Garattini S. European regulatory policies and medicines and public health needs. *European Journal Public Health*, in press 2003

Garattini S, Bertele' V. Efficacy, safety, and cost of new drugs acting on the central nervous system. *Eur J Clin Pharmacol*, in press 2003

SELEZIONE PUBBLICAZIONI DIVULGATIVE APPARSE NELL'ANNO 2002

Garattini S, Bertele' V, Li Bassi L. Verso una nuova legislazione dei farmaci in Europa. *Ricerca & Pratica*, 18: 167-175 (2002)

Garattini S, Bertele' V. Role of the EMEA for pharmaceutical products. IN: *Regulating the cost and use of pharmaceuticals in Europe: containing costs while improving efficacy, quality and equity*. Elias Messialos, Monique Mrazek, and Tom Walley Eds. Open University Press. In press, 2003

ATTIVITA' DI RICERCA

Contributo alla revisione della legislazione europea sui medicinali

Publicizzazione delle deficienze della legislazione europea sul farmaco e delle proposte per adaguarle alle esigenze di salute pubblica.

Valutazione della documentazione a supporto di procedure registrative dei medicinali

Attività di rapporteur per tre domande di ammissione al commercio di nuovi medicinali

Attività di rapporteur per tre Variazioni cliniche alle condizioni di autorizzazione al mercato

Attività di rapporteur per una serie di Variazioni farmaceutiche alle condizioni di autorizzazione al mercato

Valutazione dei risultati di due studi postmarketing richiesti dall'autorità regolatoria europea

Valutazione di sei Periodic Safety Update Report

Attività di supporto all'autorità regolatoria nazionale

Valutazione di dossier registrativi di farmaci sottoposti all'autorità regolatoria nazionale per l'ammissione al regime di rimborsabilità e per la contrattazione del prezzo.

LABORATORIO PER LA SALUTE MATERNO INFANTILE

PERSONALE

Capo Laboratorio

Maurizio BONATI, Dr.Med.Chir.

INTRODUZIONE ALLE ATTIVITA' DEL LABORATORIO

La ricerca, intesa come approccio multidisciplinare per produrre conoscenza, caratterizza l'attività del laboratorio.

La ricerca fornisce le basi per lo svolgimento e la pianificazione critica delle attività del laboratorio con la partecipazione di operatori sanitari e sociali, madri, bambini e genitori sia del nord che del sud del mondo.

Il principale obiettivo delle attività svolte dal Laboratorio per la Salute Materno Infantile è quello di contribuire al miglioramento del benessere della madre e del bambino mediante un lavoro interdisciplinare e collettivo nell'ambito della Salute Pubblica.

COLLABORAZIONI NAZIONALI

Associazione Culturale Pediatri

Centro per la Salute del Bambino

Cineca

Ministero della Salute, Dipartimento Valutazione dei Medicinali e la Farmacovigilanza

Pensiero Scientifico

COLLABORAZIONI INTERNAZIONALI

Comunità Europea (CE)

European Network Drug Investigation Children (ENDIC)

International Society of Drug Bulletins (ISDB)

The European Agency for the Evaluation of Medicinal Products (EMA)

World Health Organization (WHO)

PRESENZA IN COMITATI EDITORIALI

Il Responsabile di Laboratorio, dott. Maurizio Bonati, è presente nei seguenti Comitati Editoriali: European Journal of Clinical Pharmacology, Paediatric & Perinatal Drug Therapy, Pediatria (Sao Paulo), Quaderni ACP, Ricerca & Pratica, Saludarte

ATTIVITA' DI REVISIONE

Archives of Disease in Childhood, Dialogo sui Farmaci, Drug Safety, Expert Opinion on Pharmacotherapy, European Journal of Clinical Pharmacology, Major Drug Safety Information on the Internet, Pediatric Drugs, Pediatric and Perinatal Drug Therapy, Pediatrics, Prescrire, Progetti Finalizzati Università di Siena, Ricerca in Pediatria, The Italian Journal of Pediatrics

ORGANIZZAZIONE DI EVENTI

Corso interuniversitario finalizzato alla creazione di specialisti in pianificazione e gestione di progetti di cooperazione allo sviluppo "Master in Analisi e Gestione di Progetti di Sviluppo" (www.eco-dip.unimi.it), svoltosi dal 6 al 15 Maggio 2002 presso l'Istituto Mario Negri di Milano.

Conferenza stampa. "Progetto ARNO - Osservatorio sulla prescrizione farmaceutica pediatrica" Rapporto 2000. Milano, il 27 Maggio 2002 presso il Circolo della Stampa.

Nell'ambito di un ampio progetto promosso dall'Organizzazione Mondiale della Sanità (OMS) svolto a incrementare un uso più razionale dei farmaci, nel Luglio 2002 si è svolto a Manila (Filippine) un "Corso internazionale: Come migliorare la valutazione di nuovi farmaci".

PARTECIPAZIONE AD EVENTI CON CONTRIBUTI DEL LABORATORIO

GENNAIO

- Usiamo troppi farmaci? E come li usiamo? Centro Anziani Comune di Milano; Milano.
- Uso razionale dei farmaci in Pediatria. Analisi dei dati di prescrizione. XV Corso di aggiornamento per pediatri. Associazione Culturale Pediatri, Romagna e Azienda U.S.L. di Cesena; Cesena (FO).

FEBBRAIO

- Diffusione delle epidemie e politica dei brevetti. Corso ISPI Povertà e Sviluppo. Università degli Studi di Milano e Centro Studi Luca d'Agliano; Milano.

MARZO

- "Curare il raffreddore con il cortisone" e "Curare l'ADHD". Convegno TABIANO XI, Curare Prevedere Prevenire. Associazione Culturale Pediatri (ACP); Tabiano (PR).
- Quali novità per la salute nei paesi a risorse limitate? Corso Elettivo n. 12 Promozione della salute nei paesi a risorse limitate. Università Milano-Bicocca; Monza.
- Banche dati bibliografiche: percorsi di ricerca. Banche dati delle Agenzie Internazionali: il gioco degli indicatori. Il trasferimento delle conoscenze: la lettura critica della letteratura. Corso di Perfezionamento in Medicina Tropicale e Salute Internazionale. Università degli Studi di Brescia, Clinica di Malattie Infettive e Tropicali; Brescia.

APRILE

- Testimonianza: il caso dei medicinali a basso costo in Sudafrica. Corso ISPI I diritti dell'uomo nel terzo millennio. Università degli Studi di Milano; Milano.
- Farmacovigilanza. Definizione, normative, prospettive. Corso di Aggiornamento Società Italiana di Pediatria, sez. Ligure con la collaborazione della FIMP, APEL, Direzione Scientifica Istituto G. Gaslini; Genova.
- Diritti privati e saperi rubati: TRIPS, industria farmaceutica e biopirateria. 7 giorni in movimento, liberiamoci dal liberismo. Gruppo Studio Globalizzazione, Salute & Salute Attac Bologna; Bologna.

MAGGIO

- Curare il raffreddore con il cortisone? Corso di aggiornamento Razionalizzazione della prescrizione farmaceutica nelle infezioni delle alte vie respiratorie e nelle bronchiti ostruttive in età pediatrica. ASL Brescia, Gruppo Animatori di Formazione e FIMP Brescia; Brescia.
- La prescrizione farmaceutica pediatrica. CINECA; Bologna.

GIUGNO

- La cooperazione nella salute. Corso di perfezionamento in Cooperazione Internazionale e Sviluppo. Università degli studi di Genova, Facoltà di Scienze Politiche; Genova.
- Sorveglianza epidemiologica e sperimentazione clinica nell'area materno-infantile come garanzia di sicurezza per i pazienti. Convegno di Primavera Sicurezza del paziente: prevenzione e monitoraggio delle reazioni avverse. SIFO; Reggio Calabria.
- Consulting or preventing? Malformazioni fetali e farmaci: quale monitoraggio? Società Italiana Farmacologia (SIF), Società Italiana di Ecografia Ostetrico-Ginecologica (SIEOG), Associazione Ostetrici Ginecologi Ospedalieri Italiani (AOGOI); Cannizzaro (CT).

SETTEMBRE

- Analisi critica delle possibili terapie farmacologiche nella sindrome ADHD. Il disagio: del paziente, del medico, delle istituzioni. 6° Congresso regionale della Medicina Generale e della Pediatria di Libera Scelta del Friuli-Venezia Giulia. Regione Autonoma Friuli-Venezia Giulia; Grado (GO).

OTTOBRE

- La sicurezza degli interventi medici ed i sistemi di sorveglianza dei farmaci. Sorveglianza per la sicurezza degli interventi medici: gli effetti avversi associati all'impiego di farmaci. Corso sulla Farmacovigilanza. Regione Valle d'Aosta; Aosta.
- Gli psicofarmaci per i bambini ... non i bambini per gli psicofarmaci. Seminario di Studio. Ministero della Salute; Camera dei Deputati; Roma.

NOVEMBRE

- Decisioni cliniche in mancanza di evidenze: trattamento con psicofarmaci in gravidanza. 2° Corso Residenziale di Psicofarmacologia. Regione Veneto, Dipartimento di Scienze Neurologiche e Psichiatriche Università di Padova e Società Italiana di Psicopatologia, Ordine dei Medici di Padova; Villa di Teolo (PD).

- La vaccinazione è sempre un costo? L'economia della prevenzione. Workshop L'industria del vaccino in Italia: per un modello vincente di collaborazione con le Istituzioni. CHIRON/VACCINES; Rosia (SI).

- Sino-Italian Health Days from evidence to clinical practice. Clinical research and integration of traditional medicine in modern health systems. Istituto Superiore di Sanità e Istituto italo-cinese; Pechino, Cina.

DICEMBRE

- John Q. Oltre lo sguardo. Centro Culturale S.G. Bosco, Assessorato alla Cultura. Cantù (CO).

- Il decennio del diritto internazionale è stato il decennio di riabilitazione della guerra. Testimonianza: epidemiologia delle guerre nella popolazione infantile. 31a Sezione Il Diritto Internazionale e le Nuove Guerre. Tribunale Permanente dei Popoli; Roma.

CONTRIBUTI E CONTRATTI

Boehringer Ingelheim
Cineca
Comunità Europea
Consorzio Mario Negri Sud
Edra
Ministero Salute
Pensiero Scientifico Editore
Regione Lombardia
Regione Valle d'Aosta

**SELEZIONE PUBBLICAZIONI SCIENTIFICHE APPARSE
NELL'ANNO 2002**

Bonati M, Pandolfini C. Off-label prescribing to children in primary care. 2002;
<http://bmj.com/cgi/eletters/324/7349/1290#23216>.

Bonati M, Pandolfini C, Choonara I, Jacqz-Aigrain E, Arnau J. Something is finally moving, at least in the paediatric field. 2002; <http://bmj.com/cgi/eletters/325/7376/1314>.

Campi R, Garattini L, Tediosi F, Bonati M. Pharmacoeconomics ana-lysis of prescriptions in italian paediatric general practice. Eur J Health Econom (HEPAC) 2002;3:261-266;.

Clavenna A, Pandolfini C, Bonati M. Public disclosure of clinical trials in children. Curr Ther Res 2002;63:707-716.

Impicciatore P, Mohn A, Chiarelli F, Pandolfini C, Bonati M. Adverse drug reactions to off-label drugs on a paediatric ward: an italian prospective pilot study. *Paed Perinatal Drug Ther* 2002;5:19-24.

Pandolfini C, Bonati M. Follow up of quality of public oriented health information on the world wide web: systematic re-evaluation. *BMJ* 2002;324:582-583.

Pandolfini C, Impicciatore P, Provasi D, Rocchi F, Campi R, Bonati M, Italian Paediatric Off-label Collaborative Group. The off-label use of drugs in Italy: a prospective, observational, multicentre study. *Acta Paediatric* 2002;91:339-347.

Ricci E, Parazzini F, Motta T, Ferrari CI, Colao A, Clavenna A, Rocchi F, Gangi E, Paracchi S, Gasperi M, Nicolosi AE, Ferrero S, Landi ML, Beck-Peccoz P, Bonati M. Pregnancy outcome after cabergoline treatment in early weeks of gestation. *Reprod Toxicol* 2002;16:791-793.

Abstract

Bonati M. Off-label use of medicinal products. Scientific view. The Patient is waiting. Euromeeting Drug Information Association (DIA); March 5-8, 2002; Basel, Switzerland.

Clavenna A, Rocchi F, Bonati M. Consulting or preventing? Malformazioni fetali e farmaci: quale monitoraggio? Canizzaro (CT) 28-29 Giugno 2002;15.

Bonati M, Pandolfini C, Choonara I, Jacqz-Aigrain E, Arnau J From proposal to reality. ESDP - 8th Biennial Congress. October 25-28, 2002; Liège, Belgium.

Clavenna A, Rossi E, Berti A, Pedrazzi G, De Rosa M, Bonati M. Not appropriate anti-asthmatic drugs prescription in the italian paediatric population. ESDP - 8th Biennial Congress. October 25-28, 2002 Liège, Belgium.

Pandolfini C, Bonati M, Giozani M, Raffaelli MP, Rossi R, Serra G, Joppi R, Temporin G. Off-label and unlicensed drug use in neonatal wards of three different italian hospitals. ESDP - 8th Biennial Congress. October 25-28, 2002 Liège, Belgium.

Rocchi F, Clavenna A, Ferrara T, Campi R, Calati MG, Bonati M. Information and education in sanitary setting. ESDP - 8th Biennial Congress. October 25-28, 2002; Liège, Belgium.

SELEZIONE PUBBLICAZIONI DIVULGATIVE APPARSE NELL'ANNO 2002

Bonati M. I foglietti illustrativi sui farmaci. *Pediatria e Neonatologia* 2002;1:6-10.

Bonati M. Guardiamo con gli occhi dei bambini. In *Va Pensiero*. 2002
<http://www.pensiero.it/continuing/vapensiero/numero92.htm>

Bonati M. More research to improve the health of American children. *Saludarte* 2002;6:63-67.

Bonati M. Un omaggio alla memoria. *Quaderni ACP* 2002;IX(3):6-7.
Pubblicato anche da: *Assistenza infermieristica e ricerca* 2002;21:101-102. *GIFC* 2002;16:128-129.

Bonati M. Malattie e farmaci in pediatria ambulatoriale. Verso una terapia evidence based. *Assistenza infermieristica e ricerca* 2002;21:108.

Bonati M. Il burattino iperattivo. *Quaderni ACP* 2002;IX(6):6-7.

Bonati M. Per guardare oltre. *R&P* 2002;107:207-210.

Bonati M. Ser niño es una calidad del alma. *Espasa e Práctico - Haz tu vida más fácil. Ventanas Abiertas. Pedagogia con afecto y libertad*. 2002;144-145.

- Bonati M. The Annals of Family Medicine. R&P 2002;107:255.
- Bonati M, Clavenna A, Rocchi F, Schiavetti B. Decisioni cliniche in mancanza di evidenze: trattamento con psicofarmaci in gravidanza. In: "Secondo Corso Residenziale di Psicofarmacologia". Atti del Corso 2002;72-81.
- Campi R. Come sintetizzare e rappresentare i dati generali di uno studio. R&P 2002;105:132-136.
- Campi R. La rappresentazione grafica dei dati. R&P 2002;18:238-242.
- Campi R, Bonati M. Indice di sviluppo umano e di mortalità nel primo anno di vita. Quaderni ACP 2002;IX(1):31-34.
- Clavenna A. Una banca dati degli avventi avversi associati ad Internet. R&P 2002;106:188-189.
- Clavenna A, Rossi E, Berti A, Pedrazzi G, De Rosa M, Bonati M. Uso di farmaci antiasmatici nei bambini italiani. Quaderni ACP 2002; IX(6):10-13.
- Pandolfini C. The guide to Community Preventive Services (Community Guide). R&P 2002;104:78-79.
- Pandolfini C. Healthcare IT awards 2001. R&P 2002;105:127-131.
- Pandolfini C. Fidati di me. Sono una pagina web. R&P 2002;106:202-204.
- Rocchi F, Clavenna A, Ferrara T, Campi R, Calati MG, Bonati M. Informazione ed educazione in ambito sanitario. GIFIC 2002;16:78-87.

ALTRE PRODUZIONI EDITORIALI PUBBLICATE NEL CORSO DEL 2002

- CD: Workshop "How to review the available literature in order to improve assessment of new drugs and to ensure proper drug information on established drugs". Manila, 16-20 Luglio 2002.
- Monografie informative per operatori sanitari e cittadini in ambito sanitario.
- Health Informations Maternal (brochures, monographies etc.) for professionals and lay people
- Rapporto attività CRIF
- Ricerca & Pratica
- Traduzione e adattamento del Prontuario Terapeutico Pediatrico "Medicines for Children"

ATTIVITA' DI RICERCA

Quattro sono le aree di ricerca:

*Il monitoraggio e la valutazione epidemiologica dell'uso razionale dei farmaci e dei vaccini. Nel corso del 2002, in collaborazione con il CINECA di Bologna, è stato ultimato il secondo "Rapporto Pediatria" che è la tappa di un percorso iniziato nel 1998, ma formalmente molto

prima, e che continua aumentando e aggregando un numero sempre maggiore di ASL. Per dimensioni qualitative e quantitative, i dati oggi disponibili rappresentano un patrimonio esclusivo, non solo a livello nazionale. I dati raccolti non sono solo epidemiologicamente rappresentativi di una popolazione di alcune centinaia di migliaia di bambini e migliaia di medici, ma anche di andamenti temporali, di realtà geografiche differenti (locali e regionali), di problemi clinico-terapeutici sia rari che ricorrenti, di voci di spesa farmaceutica, etc. I risultati principali qui riportati, di alcune delle analisi effettuate, inducono numerose riflessioni affinché il monitoraggio della prescrizione farmaceutica pediatrica diventi anche un efficiente strumento di esito (la salute dei bambini e dei relativi genitori): compito di tutti, non solo degli operatori che garantiscono l'assistenza delle cure primarie, ma anche di quelli preposti alla pianificazione e organizzazione dei servizi sanitari.

* La ricerca nella pratica ospedaliera e nella medicina del territorio. Anche grazie al contributo del Dipartimento della Valutazione dei Medicinali e la Farmacovigilanza del Ministero della Salute, si sono conclusi alcuni studi epidemiologici che hanno documentato, anche e in particolare in Italia, che:

- Il 60% di tutte le prescrizioni effettuate nei reparti di pediatria è risultato diverso per dose, modalità di somministrazione, indicazione terapeutica od età del paziente da quello per cui era stata concessa la licenza di commercializzazione e d'uso del farmaco. Questo uso "sperimentale", non sottoposto in precedenza a valutazione (cosiddetto uso off-label), ha interessato l'89% dei bambini ricoverati. Gli antiasmatici, gli analgesici-antipiretici-antinfiammatori e gli antibiotici sono i farmaci più frequentemente utilizzati in modo off-label.
 - Proprio l'uso off-label è stato associato ad un aumento di 4 volte delle reazioni avverse gravi da farmaci insorte in ospedale o che hanno reso necessaria l'ospedalizzazione del bambino.
 - La necessità di preparazioni estemporanee di farmaci (preparazioni apposite) non è un'evenienza rara durante il ricovero in ospedale di un bambino; in particolare per i bambini più piccoli, affetti da neoplasie, sottoposti ad interventi chirurgici o con disturbi cardiovascolari.
 - Nell'ambito delle cure extra-ospedaliere, quelle della Medicina di Famiglia, tre quarti delle visite del Pediatra di Famiglia si concludono con almeno una prescrizione di farmaci, soprattutto per i bambini più piccoli. Molti di questi farmaci sono di dubbia, o quanto meno non documentata, efficacia nel bambino e rappresentano una caratteristica del solo mercato italiano.
 - Due terzi delle prescrizioni, spesso effettuate anche telefonicamente, riguardano farmaci del sistema respiratorio o antinfettivi. Nonostante in Italia il Servizio Sanitario Nazionale garantisca la gratuità delle terapie di provata efficacia ed essenzialità, il costo di oltre la metà delle prescrizioni ai bambini è risultato a carico delle famiglie.
- Sono quindi necessari tempestivi ed efficienti interventi finalizzati ad un uso dei farmaci sempre più motivato, appropriato, efficace e sicuro per i bambini. Per garantire tutto questo, il monitoraggio sistematico e continuo della prescrizione farmacologica (drug utilization) rappresenta uno degli strumenti per ottenere informazioni della qualità delle cure: indicatori indispensabili per programmare oculati e appropriati interventi per la Salute Pubblica.

* Lo studio delle variabili socio-sanitarie associate alle condizioni di salute dei bambini. L'introduzione dell'Indice di Sviluppo Umano (ISU) nel 1990 ad opera dell'Undp (United Nations Development Programme – Programma di sviluppo delle Nazioni Unite) ha rappresentato un importante contributo a livello internazionale in campo economico, sanitario e politico, suggerendo una nuova indicazione per la misura del benessere di un paese, basato non solo sulla crescita economica ma anche su altre dimensioni. L'ISU è un indice sintetico costruito sulla base di diversi indicatori semplici che comprendono oltre al reddito pro-capite, l'autonomia culturale delle singole persone e la loro speranza di vita. Questo indice è usato correntemente per suggerire scelte e priorità per le politiche di intervento ed è utilizzato per monitorare nel tempo il corso dello sviluppo per le singole nazioni. Molti studi hanno dimostrato la correlazione dell'ISU con alcuni indicatori "classici", e tra questi il tasso di

Mortalità Infantile (MI), uno dei più frequentemente utilizzati per stimare lo stato di salute di una popolazione e l'impatto dei risultati degli interventi legati alle politiche sanitarie. In accordo con la metodologia utilizzata dall'UNDP, per la prima volta è stato utilizzato un ISU disaggregato a livello regionale, mostrando significative correlazioni con la Latitudine e i tassi di mortalità nel primo anno di vita. Questi risultati documentano che sono anche le componenti sociali e culturali (da sole o insieme), oltre a quelle economiche, a dare il loro contributo nel determinare le differenze di sviluppo e negli indicatori di MI tra le diverse realtà italiane. Tuttavia per meglio comprendere come e perchè queste evidenti diseguaglianze sono prodotte (e riprodotte), dovranno essere considerati anche altri indicatori più immediati ed esplicativi delle diverse realtà nazionali. Questa potrebbe essere una delle sfide di futuri studi ed interventi nel campo della Salute Pubblica, che riguardano anche la salute dei bambini.

* Il trasferimento dell'informazione alla comunità.

Uno sguardo particolare nello svolgimento delle attività è anche rivolto ai Paesi del Sud del Mondo.

Oltre all'attività di ricerca formale il Laboratorio promuove iniziative nel settore della salute pubblica e in particolare quanto concerne alla cura e al prendersi cura della madre e del bambino.

Le attività prevedono la partecipazione e l'organizzazione di iniziative di informazione, formazione e dibattito rivolte e con il coinvolgimento sia degli operatori sanitari e sociali che della popolazione.

Il trasferimento critico e partecipato delle conoscenze scientifiche è stimolo continuo e quotidiano al lavoro che il Laboratorio svolge.

Il Centro Regionale di Informazione sul Farmaco (CRIF), la cui attività principale è finalizzata all'uso razionale dei farmaci in gravidanza, durante l'allattamento e in età pediatrica, è parte del Laboratorio.

Il CRIF, nato con lo scopo di promuovere l'attività dei prontoari terapeutici ospedalieri, si è sempre più caratterizzato per l'interesse verso i pazienti/utenti e gli operatori sanitari in ambito extra-ospedaliero.

Il cuore dell'attività del CRIF è rappresentato dal servizio quotidiano di consulenza telefonica, garantita anche ai non specialisti, per ciò che attiene la terapia farmacologica durante la gravidanza, il periodo perinatale, neonatale e infantile.

Tutte le richieste, e le relative risposte, vengono inserite in una banca-dati, così da permettere il monitoraggio dell'attività, sia in termini di rilevazione farmaco-epidemiologica, che di follow-up dei problemi.

Ogni gestante al termine della gravidanza viene ricontattata dagli operatori e, tramite un'intervista telefonica, viene condotta un'indagine sulle modalità del parto e sullo stato di salute della madre e del neonato. Così strutturato il CRIF rappresenta quindi un osservatorio epidemiologico (unico nel settore) di problemi terapeutici latenti nella comunità, segnalati ed individuati da utenti, medici e farmacisti.

Il personale del CRIF è costituito da medici e farmacisti con esperienza nel settore della documentazione biomedica, della teratologia e della farmacologia clinica. Il CRIF si avvale inoltre di personale tecnico-segretariale specializzato per la gestione dell'attività.

Le fonti di informazione da cui il CRIF attinge le informazioni originali necessarie a fornire risposte accurate ed aggiornate sono costituite dalla biblioteca dell'Istituto "Mario Negri" (350 giornali, 5000 libri), da manuali specialistici e da banche dati in ambito biomedico (p.es. Medline, Embase, Current Content) e di tossicologia materno fetale (Reprorisk, Reprotox, Teris, Sheppard List).

LABORATORIO EPIDEMIOLOGIA GENERALE

PERSONALE

Capo Laboratorio Carlo LA VECCHIA, Dr.Med.Chir.

Unità di Epidemiologia Analitica

Capo Unità' Fabio PARAZZINI, Dr.Med.Chir.

Unità delle Malattie Croniche

Capo Unità' Alessandra TAVANI, Dr.Sci.Biol.

Unità di Metodologia Epidemiologica

Capo Unità' Eva NEGRI, Dr.Mat.

INTRODUZIONE ALLE ATTIVITA' DEL LABORATORIO

Il laboratorio di Epidemiologia Generale si occupa principalmente di epidemiologia di diverse neoplasie comuni (tra cui tumori del seno, del tratto genitale femminile, del tratto respiratorio e digestivo, della prostata e delle vie urinarie, neoplasie linfoidi, melanomi, etc.) e delle malattie cardiovascolari, attraverso un approccio sia descrittivo, che analitico.

Tra le attività di epidemiologia descrittiva vi sono l'analisi degli andamenti temporali e della distribuzione geografica della mortalità per tumore, malattie cardiovascolari, e altre condizioni selezionate, in Italia e Europa; e l'analisi degli andamenti nel consumo del fumo di tabacco nella popolazione italiana, e dei corrispondenti effetti sull'incidenza e la mortalità per tumore del polmone ed altre neoplasie tabacco-relate.

Per ciò che riguarda l'epidemiologia analitica, il Laboratorio si occupa della conduzione ed analisi di studi osservazionali di tipo caso-controllo su vari tumori o patologie cardiovascolari, con la finalità di identificare e quantificare le relazioni tra aspetti genetici e vari fattori legati allo stile di vita, all'utilizzo di ormoni esogeni, e all'esposizione a varie sostanze e l'insorgenza di neoplasie e di malattie cardiovascolari. In particolare, si occupa dell'analisi dei correlati dietetici di tumori e malattie cardiovascolari; dell'analisi del rischio di vari tumori associato all'utilizzo di contraccettivi orali e terapie sostitutive in menopausa; della quantificazione degli effetti sulla salute del fumo di tabacco, consumo di alcool e implicazioni per la prevenzione; della valutazione dell'impatto dello screening nella diagnosi precoce e nella prevenzione del cancro. Altre attività in cui il Laboratorio è coinvolto riguardano la conduzione di meta-analisi e ri-analisi di studi epidemiologici pubblicati sulla tiroide, l'ovaio e la mammella e l'analisi di coorti storiche di esposizioni occupazionali ad amine aromatiche, asbesto, erbicidi, e altri potenziali sostanze cancerogene.

Altri aspetti studiati dal Laboratorio di "Epidemiologia Generale", e in particolare l'unità di "Epidemiologia Analitica", riguardano l'epidemiologia delle condizioni ostetriche e ginecologiche, delle patologie neonatali e perinatali e dell'infezione da HIV. In particolare, questo ambito di ricerca include l'epidemiologia descrittiva della mortalità perinatale, infantile e materna; studi descrittivi ed ecologici sugli insuccessi riproduttivi; studi clinici multicentrici in perinatologia, sull'infertilità e nella prevenzione e il trattamento delle condizioni ostetriche e ginecologiche; studi analitici su disordini ginecologici benigni; epidemiologia di "poor outcome" ostetrici; epidemiologia dell'AIDS in Italia e in Europa, in termine di frequenza e correlati della malattia; prevenzione della trasmissione madre/figlio dell'infezione da HIV.

SCOPERTE/RISULTATI PRINCIPALI

Stima dell'effetto protettivo delle fibre nella dieta sul rischio di cancro della laringe
Identificazione dell'effetto sinergico di alcool, folati e metionina sul rischio di tumore intestinale.

Riconoscimento della relazione diretta tra indice glicemico e rischio di cancro del colonretto, dell'ovaio e della mammella.

Valutazione dei rischi relativi di vari tumori legati all'uso di terapie ormonali sostitutive in menopausa.

Calcolo delle frazioni attribuibili di popolazione per la familiarità al tumore mammario.

Identificazione dei principali fattori di rischio di cancro della laringe e della vescica nelle donne.

Relazione tra micro- e macro-nutrienti e rischio di vari tumori.

Quantificazione del rischio di tumore della laringe legato all'uso di alcool e tabacco.

Declino nella mortalità per tumori nella Unione Europea nell'ultimo decennio, dovuto principalmente agli avanzamenti nella prevenzione del tumore del polmone e di altri tumori

fumo-correlati. I miglioramenti nella terapia dei tumori ormono-correlati hanno giocato anch'essi un ruolo.

Persistenza della tendenza all'aumento nella mortalità per linfomi non Hodgkin in Europa, Stati Uniti e Giappone, in contrasto con il quadro generalmente favorevole osservato per molti altri tumori.

Un elevato numero di figli, così come le infezioni da herpes virus-2 e clamidia tracomatis, aumentano il rischio di tumore squamo-cellulare della cervice in donne HPV positive.

Il fumo di sigaretta è un importante determinante della patologia del deficit erettile.

I contraccettivi orali non aumentano il rischio di patologia del trofoblasto.

I contraccettivi orali riducono il rischio di osteoporosi postmenopausale

I soggetti che hanno buone relazioni familiari e sentimentali mostrano un più alto livello di aderenza ai farmaci anti-HIV.

Le terapie complementari contro l'HIV risultano essere più frequentemente utilizzate dalle donne, e dalle persone più istruite e da chi è da più lungo tempo in terapia antiretrovirale era riportato effetti collaterali.

Non vi sono differenze rilevanti sulla percezione dello stato di salute nei pressi di un'importante centrale termoelettrica (Montalto di Castro, Lazio) rispetto al complesso della popolazione italiana.

Per la prima volta dagli anni cinquanta la prevalenza di fumo in Italia è scesa sotto il 30% negli ultimi anni, ma le percentuali sono attualmente superiori rispetto a molti paesi Occidentali.

Il consumo di caffè aumenta il rischio di infarto miocardico acuto in modo simile nei diabetici e non diabetici e il rischio di tumore della vescica nei fumatori e non fumatori, ed è inversamente correlato al rischio di cirrosi epatica.

Nella popolazione italiana il diabete e il fumo sono fattori di rischio per l'infarto miocardico acuto, il caffè aumenta il rischio solo per consumi maggiori di 3 tazze al giorno, l'olio di oliva non è associato e il consumo di alcol è protettivo.

COLLABORAZIONI NAZIONALI

Centro Cardiologico Monzino, IRCCS, Milano

Centro di Riferimento Oncologico, Servizio di Epidemiologia, Aviano PN

Gruppo Italiano Studi Epidemiologici in Dermatologia GISED, Brescia

Istituto Auxologico Italiano, Divisione Malattie Metaboliche III, IRCCS, Piancavallo (VB)

Istituto Auxologico Italiano, Laboratorio Sperimentale di Ricerche Endocrinologiche (LSRE), IRCCS, Milano

Istituto di Fisiologia Clinica CNR, Sezione di Milano, Milano

Istituto di Medicina del Lavoro, CTO, Torino

Istituto di Pediatria, Milano

Istituto Europeo di Oncologia, Divisione di Epidemiologia e Biostatistica, Milano

Istituto Nazionale per la Ricerca sul Cancro, Genova

Istituto Tumori "Fondazione Pascale", Servizio di Epidemiologia, Napoli

Ospedale Niguarda, Dipartimento Cardiologico "A. De Gasperi", Milano

Prima Clinica Ostetrico Ginecologia, Mangiagalli, Milano

Università degli Studi di Milano - Bicocca, Dipartimento di Statistica, Milano

Università degli Studi di Milano, Milano

Università di Milano, Istituto di Statistica Medica e Biometria, Milano

Università di Milano, Prima Clinica Ostetrico Ginecologica, Milano

Università di Verona, Clinica Ostetrico Ginecologica, Verona

COLLABORAZIONI INTERNAZIONALI

Harvard School of Public Health, Department of Epidemiology, Boston, USA
 Hôpital Necker - Enfants Malades, Centre of the Association Claude Bernard on Auto-immunes diseases, Paris, France
 International Agency for Research on Cancer, Unit of Field and Intervention Studies, Lyon, France
 International Epidemiology Institute, Rockville, USA.
 MRC Biostatistics Unit, Cambridge, UK
 National Cancer Institute, Environmental Studies Section, Bethesda, USA
 National Cancer Institute, Radiation Epidemiology Branch, Bethesda, USA
 National School of Public Health, WHO, Athens, Greece
 National University of Ireland, Department of Psychology, Galway, Ireland
 Organizing Committee – Center of Oncology, Dept. of Epidemiology and Cancer Prevention, Warsaw, Poland
 Registre Vaudois des Tumeurs, Institut Universitaire de Médecine Sociale et Préventive, Lausanne, Switzerland
 University of Toronto and the Clinical Nutrition and Risk Factor Modification Centre, Department of Nutritional Sciences, Faculty of Medicine, St Michael's Hospital, Toronto, Ontario, Canada

PRESENZA IN COMITATI EDITORIALI

Advances in Therapy (Eva Negri)
 Alimentazione e Prevenzione (Carlo La Vecchia)
 American Journal of Epidemiology (Carlo La Vecchia)
 Asian Pacific Journal of Cancer Prevention (Carlo La Vecchia)
 Cancer Causes and Control (Eva Negri)
 Digestive and Liver Disease (Carlo La Vecchia)
 European Journal of Cancer (Carlo La Vecchia)
 European Journal of Cancer Prevention (Carlo La Vecchia)
 European Journal of Clinical Nutrition (Carlo La Vecchia)
 European Journal of Nutrition (Carlo La Vecchia)
 European Journal of Public Health (Carlo La Vecchia, Editor)
 International Journal of Cancer (Carlo La Vecchia)
 Italian Journal of Obstetric and Gynecology (Fabio Parazzini)
 Journal of Epidemiology and Biostatistics (Eva Negri)
 Journal of Epidemiology and Biostatistics (Carlo La Vecchia, Editor)
 Journal of Epidemiology and Biostatistics (Fabio Parazzini)
 Journal of Nephrology (Carlo La Vecchia)
 Nutrition and Cancer (Carlo La Vecchia)
 Oncology (Carlo La Vecchia)
 Revisiones en Ginecología y Obstetricia (Carlo La Vecchia)
 Revista Española de Nutrición Comunitaria (Carlo La Vecchia)
 Revue d'Epidémiologie et de Santé Publique (Carlo La Vecchia)
 Sozial und Praeventivmedizin (Carlo La Vecchia)
 Tumori (Carlo La Vecchia)

ATTIVITA' DI REVISIONE

Acta Psychiatrica Scandinavica, American Journal of Epidemiology, British Journal of Cancer, British Medical Journal, Cancer, Cancer Causes and Control, Cancer Epidemiology Biomarkers and Prevention, Digestive Liver Disease, Epidemiology, Epidemiology & Biostatistic, European Journal of Cancer, European Journal of Cancer Prevention, European Journal of Clinical Nutrition, European Journal of Epidemiology, European Journal of Public Health, Gynecological Endocrinology, Hepatology, Human Reproduction, International Journal of Cancer, International Journal of Epidemiology, International Journal of Obesity, Journal of Epidemiology and Community Health, Journal of the National Cancer Institute, Lancet, Maturitas, Nutrition and Cancer, Obstetric and Gynecology, Oncology, Preventive Medicine, Radiation Research, Revue d'Epidémiologie et de Santé Publique, The Cancer Journal, Tumori

PRESENZA IN COMMISSIONI NAZIONALI E INTERNAZIONALI

Advisory Committee of the Oxford Collaborative group on Aetiological Factors in Cancers of the Female Genital Tract.

Board of Trustees, International Health Foundation, Utrecht.

Comitato Scientifico del Gruppo Italiano Studi Epidemiologici in Dermatologia.

Comitato Scientifico della Società Italiana di Colposcopia e Patologia Cervico Vaginale.

Data and Safety Monitoring Board of the "Phase II therapeutic trial with a humanized non-mitogenic CD3 (ChAgly CD3) monoclonal antibody in recently diagnosed type I diabetic patients".

Harvard School of Public Health, Boston, Ma. Adjunct Associate Professor of Epidemiology.

IARC/OMS di Lione e dell'OMS di Ginevra.

Istituto Clinica di Perfezionamento, Milano.

Progetto Menopausa Italia, Associazione Ostetrici Ginecologi Italiani.

Scientific Review Committee del UND/WHO/World Bank Human Reproduction Programme.

Società Italiana della Riproduzione.

ORGANIZZAZIONE DI EVENTI

Congresso, SIR (Società Italiana di Riproduzione). Quarto week-end clinico "Menopausa Millennio"- 10-11 Gennaio 2003. Firenze.

PARTECIPAZIONE AD EVENTI CON CONTRIBUTI DEL LABORATORIO

Workshop nazionale sulle reazioni avverse alla terapia antiretrovirale. "Gli eventi rari: l'importanza degli studi di farmacovigilanza". 18-19 gennaio 2002. Milano

Corso di aggiornamento. "Obesità dall'estetica alla patologia. Obesità e tumori". 18 gennaio-14 febbraio 2002. Sondrio

Meeting No. 0201. EU Fifth Framework Programme: Quality of Life and Management of Living Resources. Key Action 1: "Health, Food and Nutrition: Dietary Caffeine, Health and Quality of Life in Europe". February 22-23, 2002. Paris

VIII World Congress on Endometriosis. "Left/right side ratio of endometriotic implants in the pelvis". 24-27 febbraio 2002. San Diego, California.

XI Convegno Nazionale di Neuroepidemiologia. "Utilizzo delle statistiche correnti in epidemiologia: l'esempio dello stroke". 14-16 marzo 2002. Baveno (VB).

Corso Registro Tumori Integrato. "Tumori ginecologici". 6 aprile 2002. Catania.

Simposio Satellite. Menopausa, rischio cardiovascolare e terapia ormonale sostitutiva. "Fattori di rischio cardiovascolari e menopausa". 11 aprile 2002. Madonna di Campiglio

7th Congresso. Changing attitudes to contraception and reproductive health. Seminario FOOD "Vitamine ed ingredienti funzionali negli alimenti". "Ruolo della dieta nella prevenzione delle principali malattie degenerative nella popolazione Italiana - dati epidemiologici". 18 aprile 2002. Monza (MI).

V Corso Sessualità e riproduzione. "La contraccezione orale oggi". 4 maggio 2002. Milano.

Congresso. La Investigacion en los sistemas de salud de la UE: necesidades y prioridades. "Perspectivas en la investigacion epidemiologica del cancer". 8-10 maggio 2002. Granada.

Congresso Nazionale SIDEV. "Incidenza e mortalità per tumori cutanei in Italia", "Implementazione e valutazione di programmi educativi. Il progetto sole "sì sole no". 18 maggio 2002. Palermo.

Seventh International Vahouny Symposium. Dietary fibre in health and disease. "Whole Grain Cereals and Cancer in the Northern Italian Studies". 27-30 Maggio 2002. Edinburgh.

IV Convegno Nazionale Tabagismo e servizio sanitario nazionale. "Il contesto nazionale e internazionale". 31 maggio 2002. Roma.

Corso di formazione in sperimentazione clinica dei farmaci per il medico di medicina generale ed il pediatra di famiglia. Milano 27-29 giugno 2002. "La farmacovigilanza nella sperimentazione clinica". 27-29 giugno 2002. Milano

Meeting ECONOMIC ASPECTS OF SMOKING IN EUROPE. A European Project from 15 September 2001 to 15 September 2002. "Smoking in Italy 1970-2001". 11-13 Luglio 2002. Barcellona

Conferenza. Informazione statistica e politiche per la promozione della salute. "Il tabagismo: diffusione ed età di esordio". 10-12 Settembre 2002. Roma.

VI Congresso Nazionale S.I.Gi.T.E. Il benessere nella terza età: sintesi di un percorso iniziato nell'adolescenza. "Fattori di rischio CVD (diabete, ipertensione, peso)". 3-6 ottobre 2002. Napoli.

XVII Meeting annuale GISED, Dermatologia basata sulle prove d'efficacia. "I programmi di ricerca del Gruppo Italiano Studi Epidemiologici in Dermatologia", "Progetto Sole sì Sole no". 11-12 ottobre 2002. Villa Campolieto di Ercolano (NA).

XX Convegno interregionale di patologia neonatale. Problematiche neonatali delle gravidanze multiple. "Determinanti epidemiologici della gemellarità". 12 ottobre 2002. Asiago.

31st E.S.C.P. Innovation in drug therapy and health policy patients rights and economic constraints. "The VTE management costs". 1 novembre 2002. Firenze.

78° Congresso Nazionale SIGO. "Le possibilità di ricerca epidemiologica nell'ambito dello screening. La vaginosi batterica: epidemiologia e fattori di rischio. Menopausa e diabete: analisi dei dati. 9-13 novembre 2002. Perugia.

Corso di aggiornamento sulla patologia endometriosa. "Aspetti epidemiologici. Terapia medica nella endometriosi pelvica ed altre sedi. Linee guida GISE". 22-23 novembre 2002. Ancona.

Giornata di studio- La recidiva nel carcinoma ovarico: stato attuale e prospettive future. "Incidenza e fattori di rischio". 12 dicembre 2002. Pavia.

Simposio Fenomeni aderenziali in ginecologia. "Epidemiologia. Impatto socio-economico". 14 dicembre 2002. Pisa.

CONTRIBUTI E CONTRATTI

AIRC Diet and other risk factors for neoplasms in southern Europe: an integrated case-control study

AIRC A pooled analysis of case-control studies on cancer in southern Europe: diet, hormones, genetic factors

AIRC Monitoring and investigation of cancer mortality in Europe

Centro Cardiologico Monzino Indicatori dietetici e biochimici predittivi di comportamenti rischiosi per cardiopatia ischemica

Enel Indagine sulla percezione della salute in un campione rappresentativo della popolazione di Moltalto di Castro

European Commission Toxicological evaluation of the immune function of pesticide workers a European wide assessment

European Commission Dietary Caffeine, Health and Quality of Life in Europe

Glaxo Wellcome Progetto integrato per valutazione di interventi di smoking cessation

L'Oreal Progetto Sole sì/Sole no

Legga Italiana Lotta contro i tumori Dieta e altri fattori di rischio per i tumori, nell'area

mediterranea con specifico riferimento a tumori di mammella e colonretto
 Lega Italiana Lotta contro i tumori Monitoraggio epidemiologico dei danni da fumo
 Lega Italiana Lotta contro i tumori Studio caso-controllo multicentrico sui fattori di rischio per le neoplasie prostatiche
 Lifescan SIEDP Gruppo Diabete - Studio nazionale su qualità e costo-beneficio del trattamento del Diabete mellito nel bambino e nell'adolescente
 Ministero Sanità Tabagismo
 Ministero Sanità Infezione da epatite e rischio oncogeno: studio epidemiologico caso-controllo multicentrico
 Ministero Sanità Ruolo di calorie, grassi, zuccheri e componenti di frutta e verdura nell'eziologia dei tumori della mammella e degli apparati digerenti ed urogenitale
 NOVARTIS Definizione di una coorte di donne osservate presso i centri per la menopausa aderenti allo studio ICARUS
 Registro Sclerosi Sistemico Progetto SYSIR
 Weber Shandwick Italia Caffè e rischio di patologie

SELEZIONE PUBBLICAZIONI SCIENTIFICHE APPARSE NELL'ANNO 2002

- Scalori A, Tavani A, Gallus S, La Vecchia C, Colombo M
 Oral contraceptives and the risk of focal nodular hyperplasia of the liver: A case-control study
Am J Obstet Gynecol 2002; 186: 195-197
- Bortolus R, Parazzini F, Trevisanuto D, Cipriani S, Bortolotti A, Di Cintio E, Ferrarese P, Zanardo V, Gruppo Studio Metodologie Follow-up Pediatriche
 Developmental assessment of preterm and term children at 18 months: Reproducibility and validity of a postal questionnaire to parents
Acta Paediatr 2002; 91: 1101-1107
- Tavani A, Gallus S, Bosetti C, Tzonou A, Lagiou P, Negri E, Trichopoulos D, La Vecchia C
 Diabetes and the risk of prostate cancer
Eur J Cancer Prev 2002; 11: 125-128
- Parazzini F, Cipriani S, Mangili G, Garavaglia E, Guarnerio P, Ricci E, Benzi G, Salerio B, Polverino G, La Vecchia C
 Oral contraceptives and risk of gestational trophoblastic disease
Contraception 2002; 65: 425-427
- Scalori A, Tavani A, Gallus S, La Vecchia C, Colombo M
 Risk factors for focal nodular hyperplasia of the liver: An Italian case-control study
Am J Gastroenterol 2002; 97: 2371-2373
- Negri E, Ron E, Franceschi S, La Vecchia C, Preston-Martin S, Kolonel L, Kleinerman R, Mabuchi K, Jin F, Wingren G, Hallquist A, Levi F, Linos A, Fraumeni Jr J F
 Risk factors for medullary thyroid carcinoma: A pooled analysis
Cancer Causes Control 2002; 13: 365-372
- Negri E, La Vecchia C, Franceschi S
 Relations between vegetable, fruit and micronutrient intake. Implications for odds ratios in a case-control study
Eur J Clin Nutr 2002; 56: 166-170
- Bosetti C, Negri E, Franceschi S, Talamini R, Montella M, Conti E, Lagiou P, Parazzini F, La Vecchia C
 Olive oil, seed oils and other added fats in relation to ovarian cancer (Italy)
Cancer Causes Control 2002; 13: 465-470

Bidoli E, La Vecchia C, Montella M, Dal Maso L, Conti E, Negri E, Scarabelli C, Carbone A, Decarli A, Franceschi S

Nutrient intake and ovarian cancer: An Italian case-control study
Cancer Causes Control 2002; 13: 255-261

Pelucchi C., Negri E., Franceschi S., Talamini R., La Vecchia C.

Alcohol drinking and bladder cancer.

J. Clin. Epidemiol., 55:637-641 (2002).

Pelucchi C, Tavani A, Negri E, Franceschi S, La Vecchia C

Tobacco smoking and bladder cancer in coffee non-drinkers

J Epidemiol Community Health 2002; 56: 78-79

Mirone V, Imbimbo C, Bortolotti A, Di Cintio E, Colli E, Landoni M, Lavezzari M, Parazzini F

Cigarette smoking as risk factor for erectile dysfunction: Results from an Italian epidemiological study.

Eur Urol 2002; 41: 294-297

Martini M, Hollander L, D'Elia S, Paoletti F, Cargnel A, Riva P, Carosi G, Nasta P, Mazzotta F, Di Pietro M,

Filippini P, Scolastico C, Cipriani S, Parazzini F, Agnoletto V

Adherence to HIV treatment: Analysis of contributing factors HIV & AIDS current trends 2002; 8: 12-14

La Vecchia C

Fecal occult blood screening for colorectal cancer: Open issues

Ann Oncol 2002; 13: 31-34

Collaborative Group Hormonal Factors Breast Cancer, La Vecchia C

Breast cancer and breastfeeding: Collaborative reanalysis of individual data from 47 epidemiological studies in 30 countries, including 50 302 women with breast cancer and 96 973 women without the disease

Lancet 2002; 360: 187-195

Gallus S, Tavani A, Negri E, La Vecchia C

Does coffee protect against liver cirrhosis?

Ann Epidemiol 2002; 12: 202-205

La Vecchia C, Brinton L A, McTiernan A

Cancer risk in menopausal women

Best Practice Research Clinical Obstetrics Gynaecology 2002; 16: 293-307

Levi F, Randimbison L, Te V C, La Vecchia C

Long-term mortality of women with a diagnosis of breast cancer

Oncology 2002; 63: 266-269

Levi F, Lucchini F, La Vecchia C

Epidemiology of male breast cancer

Eur J Cancer Prev 2002; 11: 315-318

Levi F, Lucchini F, Negri E, La Vecchia C

Cancer mortality in the European Union, 1988-1997: The fall may approach 80,000 deaths a year

Int J Cancer 2002; 98: 636-637

Levi F, Randimbison L, Te V C, La Vecchia C

Thyroid cancer in Vaud, Switzerland: An update

Thyroid 2002; 12: 163-168

Levi F, Pasche C, Lucchini F, La Vecchia C

Macronutrients and colorectal cancer: A Swiss case-control study

Ann Oncol 2002; 13: 369-373

Colombo P, Scarpino V, Zuccaro P, Apolone G, Gallus S, La Vecchia C

Smoking in Italian women and men, 2001

Tumori 2002; 88: 10-12

Bosetti C, Negri E, Kolonel L, Ron E, Franceschi S, Preston-Martin S, McTiernan A, Dal Maso L, Mark S D, Mabuchi K, Land C, Jin F, Wingren G, Galanti M R, Hallquist A, Glatte E, Lund E, Levi F, Linos D, La Vecchia C
A pooled analysis of case-control studies of thyroid cancer. VII. Cruciferous and other vegetables
(International)
Cancer Causes Control 2002; 13: 765-775

Serraino D, Dal Bo L, La Vecchia C, Franceschi S
Invasive cervical cancer as an AIDS-defining illness in Europe
AIDS 2002; 16: 781-786

Pelucchi C, La Vecchia C, Negri E, Dal Maso L, Franceschi S
Smoking and other risk factors for bladder cancer in women
Prev Med 2002; 35: 114-120

La Vecchia C, Tavani A
A review of epidemiological studies on cancer in relation to the use of anti-ulcer drugs
Eur J Cancer Prev 2002; 11: 117-123

La Vecchia C
Tomatoes, lycopene intake, and digestive tract and female hormone-related neoplasms
Exp Biol Med 2002; 227: 860-863

Levi F, Lucchini F, Negri E, La Vecchia C
Trends in mortality from cardiovascular and cerebrovascular diseases in Europe and other areas of the world
Heart 2002; 88: 119-124

Tavani A, Bertuzzi M, Gallus S, Negri E, La Vecchia C
Diabetes mellitus as a contributor to the risk of acute myocardial infarction
J Clin Epidemiol 2002; 55: 1082-1087

Gallus S, Negri E, Chatenoud L, Bosetti C, Franceschi S, La Vecchia C
Post-menopausal hormonal therapy and gallbladder cancer risk
Int J Cancer 2002; 99: 762-763

Bosetti C, Negri E, Trichopoulos D, Franceschi S, Beral V, Tzonou A, Parazzini F, Greggi S, La Vecchia C
Long-term effects of oral contraceptives on ovarian cancer risk
Int J Cancer 2002; 102: 262-265

Dal Maso L, Franceschi S, Negri E, Conti E, Montella M, Vaccarella S, Canzonieri V, Parazzini F, La Vecchia C
Body size indices at different ages and epithelial ovarian cancer risk
Eur J Cancer 2002; 38: 1769-1774

Chiapparino F, Gallus S, Negri E, Parazzini F, Franceschi S, La Vecchia C
Correspondence re: Weiderpas et al., Alcoholism and risk of cervix uteri, vagina, and vulva. Cancer Epidemiol Biomark Prev., 10: 899-901, 2001
Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 2002; 11: 325-326

Fernandez E, La Vecchia C, Talamini R, Negri E
Joint effects of family history and adult life dietary risk factors on colorectal cancer risk
Epidemiology 2002; 13: 360-363

Munoz N, Franceschi S, Bosetti C, Moreno V, Herrero R, Smith J, Shah K V, Meijer C J L M, Bosch F X, IARC Multi-Centric Cervical Cancer Study Group
Role of parity and human papillomavirus in cervical cancer: The IARC multicentric case-control study
Lancet 2002; 359: 1093-1101

Tavani A, Gallus S, Negri E, La Vecchia C
Milk, dairy products and coronary heart disease
J Epidemiol Community Health 2002; 56: 471-472

Talamini R, Bosetti C, La Vecchia C, Dal Maso L, Levi F, Bidoli E, Negri E, Pasche C, Vaccarella S, Barzan L, Franceschi S

Combined effect of tobacco and alcohol on laryngeal cancer risk: A case-control study
Cancer Causes Control 2002; 13: 957-964

La Vecchia C, Franceschi S

Progestogen-only contraceptives and cancer risk
Eur J Cancer Prev 2002; 11: 113-115

Collaborative Group on Hormonal Factors in Breast Cancer, La Vecchia C., Negri E.

Alcohol, tobacco and breast cancer. Collaborative reanalysis of individual data from 53 epidemiological studies, including 58 515 women with breast cancer and 95 067 women without breast cancer.
Br J Cancer 2002; 87: 1234-1245

Dal Maso L, La Vecchia C, Polesel J, Talamini R, Levi F, Conti E, Zambon P, Negri E, Franceschi S

Alcohol drinking outside meals and cancers of the upper aero-digestive tract
Int J Cancer 2002; 102: 435-437

Bosetti C, Gallus S, Franceschi S, Levi F, Bertuzzi M, Negri E, Talamini R, La Vecchia C

Cancer of the larynx in non-smoking alcohol drinkers and in non-drinking tobacco smokers
Br J Cancer 2002; 87: 516-518

Bosetti C, La Vecchia C, Talamini R, Negri E, Levi F, Dal Maso L, Franceschi S

Food groups and laryngeal cancer risk: A case-control study from Italy and Switzerland
Int J Cancer 2002; 100: 355-360

Bosetti C, Negri E, Franceschi S, Talamini R, La Vecchia C

Epithelial ovarian carcinoma and fertility of parents
Epidemiology 2002; 13: 608-609

Chatenoud L, Soler M, Negri E, La Vecchia C

The recent fall in asthma mortality in Italy and Spain
International Review Asthma 2002; 4: 93-99

La Vecchia C, Bruzzi P, Decarli A, Gaboardi F, Boyle P

An estimate of prostate cancer prevalence in Italy
Tumori 2002; 88: 367-369

Stalteri M, La Vecchia C, Garattini S

Italy: court's expert panel condemns tobacco
Tob Control 2002; 11: 171-175

Bosetti C, Gallus S, La Vecchia C

Aspirin and cancer risk: an update to 2001
Eur J Cancer Prev 2002; 11: 535-542

La Vecchia C, Franceschi S

Third generation oral contraceptives and vascular risks
European Journal Public Health 2002; 12: 81-82

Ricci E, Parazzini F, Motta T, Ferrari C, Colao A, Clavenna A, Rocchi F, Gangi E, Paracchi S, Gasperi M, Lavezzari M, Nicolosi A E, Ferrero S, Landi M L, Beck-Peccoz P, Bonati M

Pregnancy outcome after cabergoline treatment in early weeks of gestation
Reprod Toxicol 2002; 16: 791-793

Levi F, Te V C, Erler G, Randimbison L, La Vecchia C

Epidemiology of unknown primary tumours
Eur J Cancer 2002; 38: 1810-1812

Pelucchi C, La Vecchia C, Negri E, Talamini R, Franceschi S

Alcohol drinking and renal cell carcinoma in women and men
Eur J Cancer Prev 2002; 11: 543-545

La Vecchia C, Negri E, Pelucchi C, Franceschi S
Dietary folate and colorectal cancer
Int J Cancer 2002; 102: 545-547

Levi F, Randimbison L, Te V C, La Vecchia C
Effect of age on risk of second primary colorectal cancer (reply to)
J Natl Cancer Inst 2002; 94: 529-530

Apolone G, Mosconi P, La Vecchia C
Post-traumatic stress disorder
N Engl J Med 2002; 346: 1495-1496

Levi F, Pasche C, Lucchini F, La Vecchia C
Diabetes mellitus, family history, and colorectal cancer
J Epidemiol Community Health 2002; 56: 479-480

La Vecchia C, Negri E, Lagiou P, Trichopoulos D
Oesophageal adenocarcinoma: A paradigm of mechanical carcinogenesis?
Int J Cancer 2002; 102: 269-270

Fattore E, Fanelli R, La Vecchia C
Persistent organic pollutants in food: Public health implications
J Epidemiol Community Health 2002; 56: 831-832

La Vecchia C, Tavani A
Hair dyes and lymphoid neoplasms: An update
Eur J Cancer Prev 2002; 11: 409-412

Martini M, D'Elia S, Paoletti F, Cargnel A, Adriani B, Carosi G, Mazzotta F, Di Pietro M, Filippini P, Nasta P, Cipriani S, Parazzini F, Agnoletto V
Adherence to HIV treatment: Results from a 1-year follow-up study
HIV Medicine 2002; 3: 62-64

Gallus S, Bertuzzi M, Tavani A, Bosetti C, Negri E, La Vecchia C, Lagiou P, Trichopoulos D
Does coffee protect against hepatocellular carcinoma?
Br J Cancer 2002; 87: 957-959

Bosetti C, Talamini R, Levi F, Negri E, Franceschi S, Airoidi L, La Vecchia C
Fried foods. A risk factor for laryngeal cancer?
Br J Cancer 2002; 87: 1230-1233

Levi F, Lucchini F, Negri E, Boyle P, La Vecchia C
Trends in mortality from Hodgkin's disease in western and eastern Europe
Br J Cancer 2002; 87: 291-293

Gallus S, Colombo P, Scarpino V, Zuccaro P, Apolone G, La Vecchia C
Smoking in Italy, 2002
Tumori 2002; 88: 453-456

Carli P, Naldi L, Lovati S, La Vecchia C, GISED
The density of melanocytic nevi correlates with constitutional variables and history of sunburns: A prevalence study among Italian schoolchildren
Int J Cancer 2002; 101: 375-379

Bertuzzi M, Tavani A, Negri E, La Vecchia C
Olive oil consumption and risk of non-fatal myocardial infarction in Italy
Int J Epidemiol 2002; 31: 1274-1275

Levi F, La Vecchia C
Age, cohort and period effects on large bowel cancer incidence
Eur J Cancer Prev 2002; 11: 515-517

Pelucchi C, Negri E, Tavani A, Franceschi S, La Vecchia C
 Attributable risk for familial breast cancer
Int J Cancer 2002; 102: 548-549

Levi F, Lucchini F, Negri E, La Vecchia C
 "Breast cancer mortality in Sweden" (reply to)
Eur J Cancer 2002; 38: 1672

Altieri A, Bosetti C, Talamini R, Gallus S, Franceschi S, Levi F, Dal Maso L, Negri E,
 La Vecchia C
 Cessation of smoking and drinking and the risk of laryngeal cancer
Br J Cancer 2002; 87: 1227-1229

Smith J S, Herrero R, Bosetti C, Munoz N, Bosch F X, Eluf-Neto J, Castellsague X, Meijer
 C J L M, Van den Brule A J C, Franceschi S, Ashley R, IARC Multi-Centric Cervical
 Cancer Study Group Herpes simplex virus-2 as a human papillomavirus cofactor in the etiology of invasive cervical
 cancer
J Natl Cancer Inst 2002; 94: 1604-1613

Levi F, Lucchini F, Negri E, La Vecchia C
 Trends in mortality from non-Hodgkin's lymphomas
Leuk Res 2002; 26: 903-908

Levi F, Pasche C, Lucchini F, Bosetti C, La Vecchia C
 Glycaemic index, breast and colorectal cancer
Ann Oncol 2002; 13: 1688-1689

Bidoli E, La Vecchia C, Talamini R, Negri E, Parpinel M T, Conti E, Montella M, Carbone
 A, Franceschi S
 Micronutrients and ovarian cancer: An Italian case-control study
IARC Sci Publ 2002; 156: 357-360

La Vecchia C, Brinton L A, McTiernan A
 Menopause hormone replacement therapy and cancer: Epidemiology
 In: *Women's health and menopause. New strategies-improved quality of life.* Kluwer, Dordrecht; 2002: 329-338

Augustin L, Franceschi S, Jenkins D J A, Kendall C W C, La Vecchia C
 Glycemic index in chronic disease: A review
Eur J Clin Nutr 2002; 56: 1049-1071

Garattini L, Denti C, Virgili G, Viscarra C, Parazzini F, Study Group, Ricci E
 Costs of macular degeneration associated with pathological myopia in Italian departments of ophthalmology
Journal Drug Assessment 2002; 5: 239-246

La Vecchia C, Negri E, Pelucchi C
 The rise and fall in primary liver cancer mortality in Italy
Dig Liver Dis 2002; 34: 607-608

The ESHRE Capri Workshop Group, La Vecchia C.
 Concordant and discordant effects on cardiovascular risks exerted by oestrogen and
 progestogen in women using oral contraception and hormone replacement therapy.
Human Repr Update 2002; 8: 359-371

Collaborative Group on Hormonal Factors in Breast Cancer, La Vecchia C., Negri E.
 Alcohol, tobacco and breast cancer - collaborative reanalysis of individual data from
 53 epidemiological studies, including 58,515 women with breast cancer and 95,067
 women without the disease.
Br J Cancer 2002; 87: 1234-1245

Bosetti C, La Vecchia C.
 Long-term oral contraceptive use increased the risk of cervical cancer in HPV-positive women.
Evidence-based Obstet Gynecol 2002; 4: 205-206

Martini M, D'Elia S, Paoletti F, Cargnel A, Adriani B, Carosi G, Mazzotta F, Di Pietro M, Filippini P, Nasta P, Cipriani S, Parazzini F, Agnoletto V

Adherence to HIV treatment: results from a 1- year follow-up study
HIV Medicine 3:62-64; 2002

Ricci E, Parazzini F, Motta T, Ferrari CI, Colao A, Clavenna A, Rocchi F, Gangi E, Paracchi S, Gasperi M, Lavezzari M, Nicolosi AE, Ferrero S, Landi ML, Beck-Peccoz P, Bonati M

Pregnancy outcome after cabergoline treatment in early weeks of gestation
Reprod Toxicol 16: 791-793; 2002

Parazzini F, Lavezzari M, Artibani W, on behalf of GISIU

Prevalence of overactive bladder and urinary incontinence in subjects attending their general practitioner in Italy
J Fam Pract 51: 1072-1075; 2002

Martini M, Hollander L, D'Elia S, Paoletti F, Cargnel A, Riva P, Carosi G, Nasta P, Mazzotta F, Di Pietro M, Filippini P, Scolastico C, Cipriani S, Parazzini F, Agnoletto V

Adherence to HIV treatments: analysis of factors and behaviours involved
HIV & AIDS 8: 12-14; 2002

Mirone V, Imbimbo C, Bortolotti A, Di Cintio E, Colli E, Landoni M, Lavezzari M, Parazzini F, on behalf of Gruppo Italiano Studio Deficit Erettile

Cigarette smoking as risk factor for erectile dysfunction: results from an Italian epidemiological study
Eur Urol 41: 294-297; 2002

Bortolus R, Parazzini F, Trevisanuto D, Cipriani S, Cagdas S, Bortolotti A, Di Cintio E, Ferrarese P, Zanardo V, Gruppo Studio Metodologie Follow-up Pediatriche

Developmental assessment of preterm and term children at 18 months: Reproducibility and validity of a postal questionnaire to parents
Acta Paediatr 91: 1101-1107; 2002

Progetto Menopausa Italia Study Group (AOGOI)

Determinants of body mass index in women around menopause attending menopause clinics in Italy
Climacteric; In Press

Ricci E, Parazzini F, Mirone V, Imbimbo C, Longo N

Smoking and erectile dysfunction: a review of epidemiological studies
Tobacco Induced Diseases; In Press

Ricci E, Parazzini F, Mirone V, Imbimbo C, Palmeri A, Bortolotti A, Di Cintio E, Landoni M, Lavezzari M

Current drug use as risk factor for erectile dysfunction: results from an Italian epidemiological study.
Int J Impotence Res; In Press

Parazzini F, Chatenoud L, Surace M, Tozzi L, Salerio B, Bettoni G, Benzi G

Moderate alcohol drinking and risk of preterm birth
Eur J Clin Nutr; In Press

Guaschino S, Ricci E, Franchi M, Del Frate D, Tibaldi C, De Santo D, Ghezzi F, Benedetto C, De Seta F, Parazzini F

Treatment of asymptomatic bacterial vaginosis to prevent preterm delivery: A randomised trial
Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol; In Press

SELEZIONE PUBBLICAZIONI DIVULGATIVE APPARSE NELL'ANNO 2002

La Vecchia C, Negri E, Levi F.

I tumori del testicolo: paradigma di una neoplasia curabile?

Recenti Prog Med 93, 16-18 (2002).

Tavani A

Globalizzazione, ricerca e salute

Terza corsia 93: 16-18 (2002)

Invernizzi G., Nardini S., Bettoncella G., Codifava A., Corti F., Fossati R., Guerra C.,
La Vecchia C., Lazzaro C., Sabato E., Zuccaro P.

L'intervento del medico di medicina generale nel controllo del fumo: raccomandazioni
per un approccio ottimale al paziente fumatore.

Rassegna Patologia Apparato Respiratorio 17: 55-70 (2002).

Bosetti C

Una guida solo per la cura

MediFax 2002; 35: 20-21

Tavani A., Altieri A., Franceschi S., La Vecchia C.

Contraccettivi orali e rischio oncogeno. Un aggiornamento.

Repronews, 4: 14-20 (2002).

Altieri A., Tavani A., Franceschi S., La Vecchia C.

Contraccettivi orali tumori: rischi e benefici.

Aggiornamento Medico, 26: 121-126 (2002).

Bortolus R, Bonfani L, Marchetti F, D'Andrea N, Taccardi R, Annona C, Ghiotti P, Tamburlini G, Mastroiacovo P

L'acido folico e la prevenzione dei difetti del tubo neurale e di altre malformazioni

Riv Ostet Ginecol Prat Med Perinat 2002; 17: 21-26

Parazzini F, Latorre P, Polverino G, Chatenoud L

L'epidemiologia dell'infertilità

In: ESGOI 2002. CIC, Roma; 2002: 65-67

Denti C, Garattini L, Lanzetta P, Parazzini F, Gruppo Studio CARMA

Costi della degenerazione maculare legata all'età in Italia. L'analisi retrospettiva dello
Studio CARMA

Pharmacoeconomics. Italian Research Articles 2002; 4/2: 57-63

Garattini L, Rossi C, Tediosi F, Cornaggia C, Covelli G, Barbui C, Parazzini F, Gruppo Studio SCORE

Costi diretti della schizofrenia nei dipartimenti di salute mentale italiani

Pharmacoeconomics. Italian Research Articles 2002; 4/2: 81-89

Parazzini F, Cipriani S, Ricci E

Il morbo di Alzheimer: epidemiologia

In: Il benessere nella terza età. CIC, Roma; 2002: 343-345

Parazzini F, Moroni S, Cipriani S

L'epidemiologia dell'endometriosi

In: Corso di aggiornamento sulla patologia endometriosa. Ancona, 22-23 novembre. Istituto Clinica Ostetrica
Ginecologica-Univ.Studi, Ancona; 2002: 4-10

La Vecchia C., Garattini S.

An ideal minister of health: the Italian view.

J. Epidemiol. Commun. Health, 56: 890 (2002).

La Vecchia C.

Un traguardo da mantenere per il bene di tutti.

Ricerca Roche, 35: 4-6 (2002).

La Vecchia C.

L'identikit del fumatore? Giovane e poco istruito.

Il Giorno, 26 Nov. 2002, p. XXXVI.

Parazzini F, Gruppo Italiano Studio Endometriosi (GISE)

Produzione di linee guida per il trattamento della malattia endometriosa pelvica: metodologia

Endometriosi: dalla ricerca alle linee guida. (Venturini PL, Prefumo F, eds) Parthenon Pub.

4° Convegno Internazionale sull'Endometriosi - Santa Margherita 4-6 ottobre 2001 69-76; 2002

Parazzini F, Moroni S, Cipriani S

L'epidemiologia dell'endometriosi

In: Corso di aggiornamento sulla patologia endometriosa. Ancona 22-23 novembre 2002. Abstract book 4-10; 2002

Parazzini F, Cipriani S, Ricci E

Il morbo di Alzheimer: epidemiologia

In: Il benessere nella terza età (A. Chiantera, N. Colacurci, eds) CIC Edizioni Internazionali, Roma 343-345; 2002

Garattini L, Rossi C, Tediosi F, Cornaggia C, Covelli G, Barbui T, Parazzini F, Gruppo di Studio SCORE

Costi diretti della schizofrenia nei dipartimenti di salute mentale italiani

Pharmacoeconomics 4: 81-89; 2002

Denti C, Garattini L, Lanzetta P, Parazzini F, Ricci E, Gruppo di Studio Progetto CARMA

Costi della degenerazione maculare legata all'età in Italia. L'analisi retrospettiva della studio CARMA.

Pharmacoeconomics 4: 57-63; 2002

Parazzini F, Latorre P, Polverino G, Chatenoud L

L'epidemiologia dell'infertilità

In: ESGOI 2002. (Genazzani AR, Cela V, Artini PG, eds) CIC Edizioni Internazionali, Roma. 65-67; 2002

Parazzini F

Dolore pelvico ed endometriosi

Atti Convegno Santa Margherita; In Press

Parazzini F

L'effetto della terapia estrogenica in post-menopausa sui processi di carcinogenesi, l'osteoporosi e la patologia cardiovascolare.

Doctor Ginecologia; In Press

Parazzini F

Epidemiologia della malattia endometriosa.

Milano Medicina '94. Ginecologia. La Patologia Ginecologica Benigna. Milano 19-24 Novembre 1994; In Press

Chiaffarino F, Parazzini F, De Besi P, Lavezzari M, medici partecipanti

Fattori di rischio per la vaginosi batterica

Current Obstetrics Gynecology; In Press

ALTRE PRODUZIONI EDITORIALI PUBBLICATE NEL CORSO DEL 2002

Garattini S., La Vecchia C.

Il Fumo in Italia. Prevenzione, patologie & costi.

Milano, Editrice Kurtis srl, 2002. Num. Reg.:

ATTIVITA' DI RICERCA

RACCOLTA E ORGANIZZAZIONE DEI DATI

La raccolta dati di casi di tumori di mammella, colonretto, prostata e relativi controlli è continuata come previsto nella rete di ospedali nell'area della Grande Milano, come è peraltro proseguita tutta l'attività di gestione, verifica, input e analisi dei dati.

FOLATI E RISCHIO DI TUMORE INTESTINALE

Per ciò che concerne il tumore del colonretto, i dati del nostro studio caso-controllo hanno consentito di analizzare e quantificare il ruolo protettivo dei folati. Il rischio relativo (RR) era dell'ordine di 0.7-0.8 per il livello più alto di consumo. Questi dati sono particolarmente rilevanti a livello di sanità pubblica, poiché i folati sono notoriamente protettivi sui difetti del tubo neurale e verosimilmente sulle patologie cardiovascolari, e una fortificazione di alcuni cibi è stata adottata o considerata in diversi Paesi ma non ancora in Italia. Elevato consumo di alcool e basso intake di folati e metionina agiscono in sinergia sul rischio nel tumore del colonretto.

STORIA FAMILIARE DI CANCRO, DIETA, E RISCHIO DI TUMORE INTESTINALE

Il rischio relativo (RR) associato alla storia familiare di tumori intestinali era di 3.2, aprendo possibili prospettive per la localizzazione nella diagnosi precoce. A questo proposito, è stato rivisto sistematicamente il ruolo del test del sangue occulto nelle feci, che porta nel complesso a una riduzione del 20% del rischio di tumore del colonretto, anche se restano aperte le questioni dell'applicazione del test nella popolazione generale, e soprattutto del rapporto costo-efficacia. E' stato inoltre considerato l'effetto combinato della storia familiare - quale indicatore di rischio genetico - e delle abitudini dietetiche nella vita adulta sul rischio di tumore del grosso intestino. Tra i soggetti con storia familiare positiva per tumore del colon retto, quelli nello score di rischio ambientale più basso non erano a rischio elevato di tumore del colonretto, mentre quelli con score più elevato avevano un RR di 5.5 (intervallo di confidenza, IC, al 95% 3.5-8.7). Questi dati suggeriscono che l'espressione della suscettibilità genetica può essere sostanzialmente modificata da esposizioni a fattori di rischio ambientali nell'età adulta. Ciò apre pertanto importanti possibilità di prevenzione per sottogruppi ad alto rischio.

DIABETE E TUMORI DELLA PROSTATA E DELL'INTESTINO

La relazione con il tumore della prostata è stata studiata utilizzando dati di un'analisi combinata di due studi caso-controllo ospedalieri condotti tra il 1985 e il 1997 in Italia e Grecia, includenti un totale di 608 uomini con tumore e 1.008 controlli ospedalieri. Non vi era associazione tra diabete e rischio di tumore della prostata, anche se un aumento di rischio è stato riportato per i pazienti con una diagnosi di diabete degli ultimi 5 anni.

Per ciò che concerne il tumore del colonretto, il diabete era associato a un rischio elevato di cancro intestinale (RR=1.7), e potrebbe spiegare circa il 3% dei casi nella popolazione italiana.

FATTORI ORMONALI E TUMORE INTESTINALE

Sono rassicuranti i dati sul possibile ruolo degli ormoni femminili, e in particolare dei contraccettivi orali (OC), sul rischio di neoplasie del colonretto. Nei nostri studi, il rischio-relativo (RR) era di 0.8 nelle donne che riferivano utilizzo di contraccettivi orali e l'apparente protezione era coerente in strati di durata, tempo dal primo e dall'ultimo uso. Questi dati forniscono pertanto ulteriore supporto all'ipotesi che gli ormoni femminili esercitino un effetto favorevole sulla carcinogenesi intestinale.

DIETA E RISCHIO DI TUMORE MAMMARIO

La possibile relazione tra grassi animali e tumore del seno e del tratto genitale femminile rimane non confermata, così come un ruolo dell'attività fisica è ancora non quantificato. L'alcool è uno dei principali fattori dietetici consistentemente associato al rischio di tumore del seno, e il sovrappeso è associato al tumore al seno in post-menopausa, e fortemente associato al tumore dell'endometrio.

ALLATTAMENTO AL SENO E RISCHIO DI TUMORE MAMMARIO

In una re-analisi conclusiva dei dati disponibili, è stato considerato l'allattamento al seno, che non appare significativamente protettivo sul rischio di tumore mammario per durate di alcuni mesi - quali quelle usuali nei Paesi sviluppati - ma che arriva a esercitare una protezione dell'ordine del 20-30% per durate di molti anni, che sono ancora frequenti in molti Paesi in via di sviluppo. In altre parole, l'allattamento al seno rappresenta un significativo fattore protettivo sul rischio di tumore alla mammella a livello mondiale e può costituire un elemento minore, ma non trascurabile, di prevenzione anche nella nostra popolazione.

ALCOOL, TABACCO E RISCHIO DI TUMORE MAMMARIO

L'insieme dei dati epidemiologici disponibili sul tumore della mammella ha consentito di analizzare in maniera esaustiva il ruolo di alcool e tabacco nella carcinogenesi mammaria. Da queste analisi emerge che il tabacco non è un fattore di rischio importante per il tumore della mammella, mentre l'alcool, anche a dosi moderate, è associato ad aumentato rischio. Venti grammi al giorno, ad esempio, aumentano il rischio di cancro della mammella del 10-15%.

FATTORI ORMONALI E TUMORE MAMMARIO

Per ciò che concerne il carcinoma della mammella, sono stati approfonditi gli aspetti riguardanti diversi fattori ormonali sul processo di carcinogenesi. In particolare, una revisione del ruolo dei contraccettivi contenenti solo progestinici (orali e intramuscolari deposito) non ha mostrato eccesso di rischio di neoplasia mammaria, anche se i dati disponibili sono relativamente limitati, in conseguenza dello scarso utilizzo di tali preparati. Più importante - a livello di sanità pubblica - e innovativo sul piano delle conoscenze recenti è il problema della terapia ormonale sostitutiva sul rischio di tumore della mammella. I dati italiani sono stati aggiornati e rivisti alla luce dell'ampliarsi delle conoscenze, confermando un eccesso di rischio del 20-30% nelle utilizzatrici di terapie ormonali sostitutive, in particolare di terapie combinate con estrogeni e progestinici.

STORIA FAMILIARE DI CANCRO E RISCHIO DI TUMORE MAMMARIO

Prendendo spunto da uno studio di record-linkage condotto in Svezia, abbiamo stimato le frazioni attribuibili di popolazione per quanto concerne la familiarità al tumore della mammella. Nel complesso, la frazione attribuibile stimata era circa del 7%, lo stesso risultato dello studio svedese, a conferma della validità delle informazioni sulla familiarità a tumori raccolte attraverso intervista. La frazione attribuibile di popolazione è stata anche scomposta rispetto al tipo di parente affetta, risultando in un 3% per la madre, 3% per una sorella, 1% per più di una parente con storia di carcinoma mammario.

DIETA E TUMORE OVARICO

Per ciò che concerne il tumore dell'ovaio, è stato considerato il potenziale ruolo di grassi usati per condire o cuocere, utilizzando i dati di uno studio caso-controllo condotto in Italia tra il 1992 e il 1999 su 1.031 casi e 2.411 controlli. Una riduzione di rischio di tumore dell'ovaio è stata riportata per l'olio di oliva e per un gruppo di oli specifici, tra cui soia, mais e girasole. Non è invece stata osservata alcuna relazione significativa col consumo di oli di semi vari, margarina e burro.

Un'analisi è stata basata sui nutrienti e ha mostrato un'associazione diretta con gli amidi - e quindi con i cereali raffinati, come peraltro osservato per il tumore della mammella - e un'associazione inversa con i grassi monoinsaturi.

FATTORI ORMONALI E RIPRODUTTIVI E TUMORE OVARICO

Un altro aspetto studiato sullo stesso insieme di dati è il possibile aumento di rischio di tumore dell'ovaio in relazione al numero di figli, come misura dell'infertilità dei genitori. Tale studio non ha però confermato l'ipotesi che il numero di figli possa in qualche modo influire sul rischio di questo tumore.

Nell'ambito di una ri-analisi di 5 studi caso-controllo europei sul tumore dell'ovaio, abbiamo considerato l'associazione con l'utilizzo di terapia sostitutiva ormonale. Tale analisi ha confermato l'ipotesi di una moderata associazione tra terapia sostitutiva ormonale in menopausa e rischio di tumore dell'ovaio, che sembra persistere fino ad almeno 14 anni dalla fine dell'utilizzo.

INDICE GLICEMICO E RISCHIO DI VARI TUMORI

Il ruolo dell'indice (o carico) glicemico è stato considerato anche in relazione al tumore dell'ovaio. Un'associazione diretta è stata osservata nei soggetti nel terzile più elevato di indice e carico glicemico, sia nelle donne in pre- che in post-menopausa. Questo studio supporta perciò l'ipotesi di un'associazione tra il tipo e la quantità di carboidrati consumati e il rischio di tumore dell'ovaio, e un possibile ruolo dell'iperinsulinemia/resistenza all'insulina nello sviluppo di questa neoplasia.

La relazione tra il consumo di cibi con un elevato indice glicemico, tra cui i carboidrati raffinati, è stato studiato anche in relazione al rischio di tumore del colonretto e della mammella, utilizzando i dati di uno studio condotto tra il 1992 e il 2001 nel cantone svizzero di Vaud. Un elevato indice glicemico, associato ad un più rapido assorbimento dei carboidrati, e conseguentemente degli zuccheri nel sangue e dell'insulina, è stato infatti associato ad un aumento di rischio di queste neoplasie. In questo studio, includente 169 pazienti con tumore del colon, 154 con tumore del retto, 331 donne con tumore della mammella e 1145 controlli, un rischio di circa 2 è stato osservato per il colonretto nei soggetti con un più elevato indice glicemico, mentre un'associazione non significativa è stata riportata per il tumore della mammella.

La potenziale relazione col rischio di tumori del colonretto e della mammella è stata inoltre sistematicamente rivista all'interno di un articolo sulle patologie croniche. Una riduzione del consumo di carboidrati ad elevato indice glicemico, che producono una risposta iperinsulinica con il relativo stimolo sui fattori di crescita, potrebbe esercitare un ruolo favorevole nella carcinogenesi intestinale, e possibilmente anche mammaria.

ALCOOL, TABACCO, E RISCHIO DI CANCRO DELLA LARINGE

Per ciò che concerne il tumore della laringe, il ruolo dell'alcool e del tabacco sono stati quantificati nell'ambito di uno studio caso-controllo condotto tra il 1992 e il 2001, su un totale di 527 casi incidenti e 1.297 controlli ospedalieri. In tale studio, il rischio di tumore della laringe era di circa 20 volte più elevato nei fumatori che nei non fumatori, con un ulteriore incremento del rischio in relazione al numero di sigarette fumate e alla durata dell'abitudine. Il rischio era di 2.8 nei bevitori di alcolici rispetto ai non bevitori, e saliva a 5.9 per bevitori di ≥ 8 alcolici al giorno. L'effetto combinato delle due abitudini era di tipo moltiplicativo.

Ulteriori analisi sono state condotte per stimare l'effetto dell'alcool e del tabacco separatamente. Nei non-bevitori il rischio di tumore della laringe era di 9.4 nei fumatori, rispetto ai non fumatori, e di 13.6 nei forti fumatori; mentre nei non-fumatori il rischio era di 2.5 per bevitori di ≥ 8 alcolici al giorno, rispetto a < 8 , mentre non si è osservato alcun aumento del rischio per livelli inferiori di alcool.

DIETA E RISCHIO DI CANCRO DELLA LARINGE

Nello stesso insieme di dati sono stati analizzati alcuni fattori dietetici in relazione al tumore della laringe, con particolare interesse al ruolo degli alimenti, dei grassi da condimento, e delle fibre. Dopo aver aggiustato per i principali fattori confondenti, un significativo aumento del rischio è stato osservato in relazione ad un elevato consumo di uova, carne rossa, insaccati, pesce e zuccheri. Associazioni inverse sono invece state osservate in relazione al consumo di verdure fresche, verdure cotte, legumi, agrumi ed altra frutta.

Per ciò che riguarda i grassi da condimento, una significativa riduzione di rischio di tumore della laringe è stata osservata per consumo di olio di oliva e oli vegetali specifici (girasole, arachidi, soia, mais), mentre il consumo di oli di semi misti era associato ad un aumentato rischio. Un effetto protettivo sul tumore della laringe è stato osservato in relazione al consumo di vari tipi di fibre ed in particolare per quelle di origine vegetale.

Ulteriori analisi sui fattori dietetici hanno evidenziato un aumento di rischio in relazione al consumo di cibi fritti, in particolare carne, pesce e uova. In assenza di un semplice meccanismo biologico, non è chiaro se tale associazione possa essere considerata causale, e non riflettere piuttosto una non specifica associazione con una dieta povera.

FATTORI DI RISCHIO DI CANCRO DELLA LARINGE NELLE DONNE

Il ruolo di diversi fattori sul rischio di tumore della laringe è stato analizzato nelle sole donne (68 casi e 340 controlli). Il fumo di sigarette era fortemente associato al rischio di questo tumore (RR=46.0 nelle fumatrici rispetto alle non); il rischio associato al consumo di alcool era più limitato, ma comunque dell'ordine di 4-volte delle forti bevitrice rispetto alle non bevitrice. Il ruolo protettivo delle verdure, della frutta e dell'olio di oliva è stato confermato anche nelle sole donne, mentre i fattori riproduttivi e mestruali non sono consistentemente associati al rischio di tumore della laringe.

FATTORI DI RISCHIO PER IL TUMORE DELLA VESCICA

La questione riguardante il consumo di alcolici e il rischio di tumore della vescica è stata ampiamente discussa nella letteratura scientifica, ma è ancora aperta al dibattito. Il nostro studio caso-controllo, basato su una popolazione con elevati consumi di bevande alcoliche, in particolare di vino, ha rilevato l'assenza di associazione tra consumo di alcool, anche in quantità elevate, e tumore della vescica.

Inoltre, a seguito di un articolo recentemente pubblicato sull'argomento, abbiamo indagato la relazione tra fumo e tumore della vescica nei non bevitori di caffè. Il rischio relativo legato al fumo appare più alto nei non bevitori di caffè piuttosto che nei bevitori, in accordo con l'articolo citato.

Infine, uno studio è stato dedicato all'analisi dei fattori di rischio per il tumore della vescica nelle donne. Il principale fattore di rischio per le neoplasie della vescica nella donna, come nell'uomo, è il fumo di sigaretta. Esistono inoltre delle relazioni tra rischio di cancro della vescica e fattori legati alla dieta, ad alcune esposizioni occupazionali, e forse all'uso di terapie sostitutive in menopausa, anche se questo punto richiede conferme in ulteriori studi.

ALCOOL E TUMORE RENALE

Il rischio di tumore del rene è stato investigato in relazione al consumo di bevande alcoliche, separatamente per uomini e donne. Non abbiamo rilevato differenze significative nei rischi tra i due sessi, né il consumo degli alcolici considerati (vino, birra e liquori) è risultato in alcun modo legato al rischio di carcinoma renale.

CAFFÈ E TUMORE DEL FEGATO

In relazione al tumore del fegato, analizzando i dati provenienti da due studi caso-controllo condotti in Italia e Grecia tra il 1984 e il 1998, e che comprendevano 834 casi e 1912 controlli, abbiamo riscontrato una diminuzione del rischio nei forti bevitori di caffè: il rischio relativo dei bevitori di 3 o più caffè al giorno, rispetto ai non bevitori, era di 0.7.

FATTORI DI RISCHIO PER IL TUMORE DELLA TIROIDE

Il ruolo di alcuni fattori dietetici è stato analizzato sul rischio di tumore della tiroide in un'analisi combinata dei dati originali di 13 studi caso-controllo, includenti un totale di circa 2500 casi e 4000 controlli. In particolare è stata analizzata la relazione col consumo di pesci e crostacei e di vegetali della famiglia delle crucifere. Complessivamente non è stata osservata alcuna associazione significativa tra consumo di pesce e crostacei e tumore della tiroide; vi era però un'indicazione di un possibile effetto protettivo in aree caratterizzate da gozzo endemico. Tale analisi combinata ha inoltre fornito evidenza convincente che le crucifere non erano associate al rischio di tumore della tiroide, mentre ha suggerito che gli altri vegetali potrebbero avere un effetto favorevole su questo tumore.

Un'analisi specifica è stata condotta per individuare i fattori di rischio di tumori midollari della tiroide (MTC), su un totale di 64 casi individuati nel totale dei 13 studi caso-controllo e 335 controlli appaiati per sesso, età e studio. L'educazione, il peso e l'indice di massa corporea non erano associati al rischio di MTC, mentre una relazione significativa è stata osservata con l'altezza. Inoltre aumenti di rischio erano associati a storia di noduli/adenomi tiroidei, ipertensione, malattie della cistifellea e allergie. Nelle donne, il rischio relativo era significativamente più elevato in chi aveva avuto il primo figlio dopo i 25 anni, ma non vi era alcuna chiara tendenza di rischio con altri fattori riproduttivi.

MICRONUTRIENTI E RISCHIO DI CANCRO

In questo ambito di ricerca, è stato considerato il ruolo di specifici antiossidanti e in particolare di diversi carotenoidi, incluso il licopene di cui sono ricchi i pomodori. Mentre tali micronutrienti sembrano esercitare un'azione favorevole sul rischio di neoplasie del tratto digerente, non vi è una coerente relazione inversa col rischio di tumore della mammella, né di altre neoplasie ormono-relate, quali quelle dell'ovaio o dell'endometrio.

L'insieme dei dati disponibili e pubblicati nel corso degli ultimi due anni sugli aspetti dietetici della carcinogenesi mammaria e genitale femminile, incluso il ruolo di micronutrienti e grassi sono stati anche sinteticamente rivisti in un articolo di review. Tale revisione ha sottolineato come, nonostante i numerosi studi pubblicati, l'argomento rimanga ancora aperto. Il possibile effetto benefico di frutta e verdura - e conseguentemente di alcuni micronutrienti antiossidanti - su questi tumori, non è emerso consistentemente dai diversi studi.

CONSUMO DI PIZZA E RISCHIO DI CANCRO

La pizza è uno dei più noti cibi italiani, e la più usata insegna commerciale in tutto il mondo. D'altra parte, in letteratura pochi studi epidemiologici hanno studiato il ruolo della pizza sul rischio di tumori. Utilizzando quindi i dati provenienti da vari studi caso-controllo condotti in Italia tra il 1991 e il 2000, abbiamo analizzato le associazioni tra il consumo di pizza e i tumori del cavo orale e faringe (598 casi), esofago (304 casi), laringe (460 casi), colon (1225 casi) e retto (728 casi). I controlli erano 4999 pazienti ammessi negli stessi ospedali dei casi per disturbi acuti, non correlati a tumori. I rischi relativi per i consumatori abituali di pizza, rispetto ai non consumatori, erano 0.66 per i tumori del cavo orale e faringe, 0.41 per l'esofago, 0.82 per la laringe, 0.74 per il colon e 0.93 per il retto. La pizza appare dunque essere un indicatore favorevole del rischio dei tumori dell'apparato digerente.

CONSUMO DI ACIDI GRASSI n-3 DAL PESCE E RISCHIO DI CANCRO

E' stato possibile ricavare, con l'uso della banca dati di composizione alimentare, il dato relativo all'assunzione dei grassi polinsaturi omega-3 derivanti dal consumo di pesce, ed esaminarne la relazione con il rischio di cancro. I tumori considerati nell'analisi sono stati, oltre a quelli di mammella e colonretto, quelli di cavo orale, faringe, esofago e ovaio. I rischi relativi di tutti i tumori esaminati sono risultati inversamente correlati all'assunzione di omega-3, con riduzioni del rischio variabili, per il livello di assunzione più elevato, tra il 20% e il 50%. Inoltre, è emerso che sarebbero sufficienti piccoli aumenti nelle quantità di omega-3, del livello di 1g (corrispondente a circa una porzione di pesce) a settimana, per diminuire significativamente il rischio di tumore ai siti considerati. In particolare, per i carcinomi mammari e intestinali, l'abbassamento del rischio sarebbe del 10%.

CONSUMO DI PATATE FRITTE E RISCHIO DI CANCRO

Risale ad aprile 2002 la notizia che alcuni cibi, cucinati a temperature elevate, presenterebbero tracce di acrilammide, una sostanza considerata probabilmente cancerogena per l'uomo. Le patate fritte sono il cibo in cui sono stati rilevati i contenuti più alti di acrilammide. Abbiamo quindi analizzato, nei nostri studi sui tumori di mammella, colonretto, cavo orale, faringe, esofago, laringe, e ovaio, la relazione che intercorre tra consumo di patate fritte o arrostiti e rischio di cancro. Il risultato è stato rassicurante. Ai livelli di consumo, relativamente bassi, della nostra popolazione, non abbiamo riscontrato aumenti di rischio significativi per nessuno dei tumori considerati.

ASPIRINA, TERAPIE ANTIULCERA E RISCHIO DI CANCRO

Il ruolo dell'utilizzo di aspirina sul rischio di tumore del colonretto e di altre comuni neoplasie è stato valutato nell'ambito di una revisione dei dati pubblicati. Tale revisione ha confermato, sulla base dell'evidenza di circa 15 studi osservazionali, che l'uso di aspirina è associata ad una riduzione del rischio di tumore del colonretto di circa 20-30%. Diversi studi indicano che l'aspirina ha un effetto protettivo sul rischio di tumore della mammella, e, nonostante i dati siano limitati, ci sono indicazioni che possa avere un effetto favorevole sull'insorgenza di altri tumori, tra cui in particolare quelli dello stomaco e dell'esofago.

Inoltre è stato rivisto il ruolo delle moderne terapie anti-ulcera (antagonisti dei recettori H2 e inibitori della pompa protonica) sul rischio di tumori digerenti e in particolare intestinali, concludendo che non si rileva un'associazione apprezzabile.

HRT E RISCHIO DI CANCRO

Per ottenere informazioni complete e quantitative sui benefici e rischi dell'uso di terapie ormonali sostitutive in menopausa per svariati tipi di tumori, abbiamo esaminato la relazione tra uso di terapie sostitutive e il rischio di vari tumori in donne di età compresa tra i 45 e i 79 anni, usando dati provenienti da una serie di studi caso-controllo condotti in Italia tra il 1985 e il 2000. L'insieme completo dei dati conteneva i seguenti tipi di tumori: cavo orale, faringe, laringe e esofago (253 casi), stomaco (258 casi), colon (886 casi), retto (488 casi), fegato (105 casi), colecisti (31 casi), pancreas (122 casi), mammella (4,713 casi), endometrio (704 casi), ovaio (1,614 casi), vescica (106 casi), rene (102 casi), tiroide (26 casi), linfoma di Hodgkin (26 casi), linfoma non-Hodgkin (145 casi), mieloma (65 casi), e sarcoma (78 casi). Il gruppo dei controlli comprendeva 6976 donne ammesse negli stessi ospedali dei casi per disturbi acuti non correlati a tumori. E' stata trovata una associazione inversa, statisticamente significativa tra l'uso di terapie ormonali sostitutive in menopausa e il rischio di tumore di colon (rischio relativo, RR=0.7), retto (RR=0.5), e fegato (RR=0.2). Un significativo eccesso di rischio è stato invece riscontrato per i tumori di colecisti (RR=3.2), mammella (RR=1.1), endometrio (RR=3.0), e vescica (RR=2.0).

DIVULGAZIONE DELLE INFORMAZIONI

E' continuata l'attività di divulgazione scientifica e di prevenzione, rivolta all'opinione pubblica generale, onde diffondere informazione quantitativa e favorire concreti atteggiamenti di riduzione di rischio, sia attraverso articoli e altre pubblicazioni divulgative che attraverso interventi nei media o seminari rivolti al pubblico.

MONITORAGGIO E INDAGINE DELLA MORTALITA' PER TUMORI IN EUROPA

Negli anni passati il nostro gruppo ha costruito una banca dati contenente, in formato standard, i dati di mortalità per numerose sedi tumorali selezionate ed altre maggiori cause di morte per i paesi europei ad alcuni paesi extra-europei. L'obiettivo principale di questo progetto è di mantenere, aggiornare e valorizzare il sistema integrato di analisi e valutazione delle statistiche di mortalità in Europa e altre aree geografiche creato dal nostro gruppo. In particolare, nel 2002 sono stati aggiornati gli andamenti della mortalità per tumore nella Unione Europea, e le cause del declino nella mortalità per tumore sono state discusse. Come negli anni passati, il monitoraggio della mortalità per tumori in Italia è continuato con i nuovi dati resi disponibili dall'Istituto Centrale di Statistica (ISTAT). Gli andamenti temporali delle certificazioni di morte per malattia di Hodgkin e linfomi non Hodgkin in Europa e, a scopi comparativi, negli Stati Uniti e Giappone, sono stati analizzati e commentati. Inoltre sono stati analizzati gli andamenti globali e età-specifici della mortalità per tumore primario del fegato in Italia. Infine, gli andamenti della mortalità per asma e patologie cardio- e cerebrovascolari sono stati analizzati nel quadro della sorveglianza sulle abitudini al fumo e morbilità e mortalità ad esso correlata in Italia e, più generalmente, in Europa, che è sempre stata una priorità per il nostro gruppo.

FATTORI DI RISCHIO PER IL TUMORE DELLA CERVICE

In collaborazione con l'Agenzia Internazionale per la Ricerca sul Cancro di Lione, è stato condotto uno studio per valutare alcuni fattori di rischio per il tumore della cervice dell'utero in donne positive per lo human papilloma virus (HPV), noto per essere una causa necessaria allo sviluppo di questa neoplasia. Si è trattato di un'analisi combinata di dieci studi caso-controllo (8 su carcinoma invasivo, 2 su carcinoma "in situ") condotti in otto paesi in Africa, Sud America ed Asia, includenti un totale di 1.676 casi incidenti di tumore squamo-cellulare della cervice, 124 casi di adenocarcinoma e 155 controlli identificati nella popolazione generale (in due degli studi), o in alcuni ospedali di riferimento. Tutti i soggetti inclusi in questa analisi erano risultati positivi per l'HPV. Dalle analisi condotte si è osservata un'associazione diretta tra il numero di gravidanze a termine e rischio di tumore squamo-cellulare della cervice, con un OR significativo di 8.3 per le donne con ≥ 7 gravidanze, rispetto alle nulliparae e di 2.3 rispetto alle donne con 1 o 2 gravidanze.

Un aumento di rischio di tumore della cervice è stato osservato inoltre per infezioni da herpes virus-2 (OR=2.2 per tumore squamo-cellulare e 3.4 per adenocarcinoma) e da clamidia trachomatis (OR=1.8 per tumore squamo-cellulare).

VALUTAZIONE TOSSICOLOGICA DELLA FUNZIONE IMMUNITARIA DI LAVORATORI DI PESTICIDI (EUROPIT)

Questo progetto, condotto in collaborazione con altri quattro paesi Europei, consiste in uno studio epidemiologico "cross sectional" su soggetti occupazionalmente esposti a pesticidi (composti organofosforici e ditiocarbamati) e su un gruppo adeguato di controlli, condotto al fine di stimare gli effetti immunitari conseguenti ad un'esposizione cronica a questi composti. Tra gli obiettivi del progetto vi è la misurazione dell'esposizione dei lavoratori in diverse condizioni occupazionali utilizzando indicatori biologici e analisi chimiche dei pesticidi e/o dei loro metaboliti; la valutazione dell'effetto dei ditiocarbamati e dei pesticidi organofosforici e dell'esposizione ad un mix di composti organofosforici e di ditiocarbamati, sul sistema

immunitario umano, tra cui la risposta immunitaria agli antigeni; la determinazione di una relazione dose/risposta degli effetti osservati; e la valutazione dei polimorfismi genetici per alcuni enzimi di detossificazione e per i fattori immunologici, e il loro effetto sui marcatori biologici di esposizione e i parametri del sistema immunitario. Al fine di stimare l'effetto dei pesticidi sul sistema immunitario, i dati immunitari dei soggetti esposti saranno comparati con quelli ottenuti nei controlli. Ulteriori confronti saranno fatti con i risultati immunologici ottenuti dagli stessi soggetti esposti prima dell'esposizione, e dopo un appropriato periodo senza alcuna esposizione al composto studiato.

STUDIO EPIDEMIOLOGICO SULLA MENOPAUSA ED I SUOI EFFETTI SULLA SALUTE DELLA DONNA

L'unità di epidemiologia analitica nel corso del 2002 è stata coinvolta nell'analisi dei dati relativi ad un vasto studio epidemiologico sulle caratteristiche delle donne che si rivolgono ai centri per la menopausa italiani e sull'impatto della menopausa sulla salute della donna. Tale studio iniziato nel 1998 che ha visto al 2002 l'ingresso in studio di più di 60.000 donne ha offerto interessanti spunti di ricerca epidemiologica. I temi sviluppati nel corso del 2002 sono stati prevalentemente l'analisi dei fattori di rischio per la patologia osteopenica ed osteoporotica nelle donne in postmenopausa. Un tema specifico è stata l'analisi del ruolo dei contraccettivi orali sul rischio di deplezione ossea. Alcuni studi hanno infatti suggerito un effetto protettivo dell'uso di contraccettivi orali durante l'età fertile sul rischio di frattura dell'anca ed in generale sulla patologia osteoporotica. Una simile evidenza è anche emersa dall'analisi dei dati di questo vasto data-set. Inoltre è stata analizzata l'epidemiologia della "premature ovarian failure", una condizione rara e poco studiata che tuttavia ha un importante impatto sia sulla salute sia psicologico.

STUDI DI UROGINECOLOGIA

Nel corso del 2002 sono stati condotti una serie integrata di studi epidemiologici su patologie di interesse uroginecologico e specificamente sull'incontinenza urinaria, la patologia benigna endometriale, e la patologia del deficit erettile. Tali studi hanno visto l'inclusione di più di 1000 soggetti. I principali risultati dei progetti sviluppati nel corso del 2002 sono: la quantificazione del diverso ruolo del parto vaginale sui diversi tipi di incontinenza urinaria. Il parto è il principale determinante del rischio di incontinenza da sforzo, ma non da urgenza o di overactive bladder; il profilo di rischio della patologia endometriale benigna è largamente simile a quello del carcinoma endometriale, sottolineando il continuum epidemiologico e clinico delle due patologie; il fumo di sigaretta è un importante determinante della patologia del deficit erettile.

STUDI OSTETRICI

Nel corso del 2002 la ricerca epidemiologica in campo ostetrico (linea di ricerca che ha visto il coinvolgimento ormai di più di 4000 soggetti tra casi e controlli) ha offerto alcuni risultati che sono stati oggetto di pubblicazione su riviste internazionali:

Si è studiata la relazione tra assunzione di contraccettivi orali e rischio di patologia del trofoblasto utilizzando un approccio caso-controllo. I risultati di questo studio sono stati tranquillizzanti. Infatti non si è osservato un maggior rischio di mola vescicolare nelle donne che avevano fatto uso di contraccettivi orali. Tale dato è importante in quanto non conferma alcune osservazioni cliniche precedenti che avevano ipotizzato un rischio legato all'uso di contraccettivi orali

Si è analizzata la relazione tra consumo di alcool in gravidanza e rischio di parto pretermine. Sebbene l'alcool in gravidanza sia associato ad esiti negativi o ad effetti malformativi, un consumo moderato non aumenta il rischio di parto pretermine.

Si è studiata (in collaborazione con il Laboratorio Materno infantile) la potenziale teratogenicità

della cabergolina in uno studio prospettico; i risultati sono stati tranquillizzanti: non si è infatti osservata alcun effetto negativo sull'esito della gravidanza nelle donne che avevano assunto cabergolina nel periodo del concepimento.

DERMATO-EPIDEMIOLOGIA: IL PROGETTO

La dermato-epidemiologia è presente nel nostro laboratorio dall'inizio degli anni 90, frutto principalmente di un'intensa e proficua collaborazione con il "Gruppo Italiano per gli Studi Epidemiologici in Dermatologia" (GISED, diretto dal Dr. Luigi Naldi).

Nel corso del 2002 sono stati analizzati i dati relativi alla fase pilota dello studio "Sole Sì/Sole No". Si tratta di uno studio randomizzato, sull'efficacia di un intervento educativo riguardante la corretta esposizione al sole, rivolto a bambini che frequentano la scuola elementare (II e III). Sono oggetto di valutazione: le abitudini di esposizione solare degli alunni; il grado di conoscenza sia dei bambini che dei genitori sugli effetti del sole sulla pelle; il numero di nevi melanocitici sugli arti superiori. Tutte le valutazioni verranno fatte sia prima dell'intervento che a un anno dalla conclusione dell'intervento stesso.

La fase pilota (Marzo-Giugno 2002), ha coinvolto circa la metà del campione totale previsto (intervento attivo 2116 bambini/controlli 2117 bambini), con età media otto anni. Tutti i parametri hanno mostrato distribuzioni sovrapponibili nei due gruppi di randomizzazione. Il 12% del campione (508 bambini), dichiara di aver avuto almeno un arrossamento con bruciore lo scorso anno, ma solo il 42% di questi bambini ha riportato un'intensa esposizione solare. Di questi 508 bambini, il 79% circa usava regolarmente creme schermanti o maglietta. I risultati di questa fase pilota indicano un tasso di ustioni solari più basso dell'atteso e un'attenzione maggiore dei bambini e dei genitori nei confronti di una corretta esposizione al sole. Il progetto "Sole Sì/Sole No" rappresenta inoltre uno dei pochi tentativi di valutazione controllata di un intervento educativo in questo settore nel nostro paese.

DERMATO-EPIDEMIOLOGIA: IL PROGETTO PRAKTIS

Nel 2002, sempre in collaborazione con il GISED, si è dato inoltre inizio allo studio "PRAKTIS" sulla cheratosi attinica, patologia che oltre ad essere associata ad una considerevole morbilità, è fortemente associata al rischio di basaliomi e di carcinoma squamo-cellulare della pelle. Questo studio si articolerà in due fasi, la prima fase riguarderà la validazione di uno strumento sufficientemente sensibile e specifico per la diagnosi della cheratosi attinica; la seconda fase, invece, utilizzerà questo strumento diagnostico per stimare la prevalenza della cheratosi attinica nella popolazione Italiana, ad oggi sconosciuta. Questo studio potrà apportare nuovi elementi nel campo della prevenzione dei tumori della pelle (non-melanocitici).

INDAGINE SULLA PERCEZIONE DELLA SALUTE NELL'AREA DI MONTALTO DI CASTRO

Nel corso del 2002, sono stati analizzati, in collaborazione con il laboratorio di Ricerca Clinica in Oncologia del Dipartimento di Oncologia, i dati relativi ad uno studio sulla percezione della salute e dei rischi ad essa connessi (rischio ambientale potenziale o percepito), dei residenti nell'area di Montalto di Castro (Lazio) dove è in funzione un'importante centrale termoelettrica. A tale scopo, sono stati intervistati nell'ottobre 2001, 2000 soggetti residenti nell'area di interesse e un secondo campione, sempre di 2000 soggetti, rappresentativo dell'intera popolazione italiana. I due campioni erano comparabili per sesso, età e altre principali caratteristiche socio-demografiche.

Lo stato di salute percepita globale, misurato attraverso un validato questionario standard (SF-12) era del tutto analogo nei due campioni con una media di 50 e 48 rispettivamente per l'indice fisico e l'indice mentale rispettivamente per entrambi i campioni. Analogamente, non vi erano differenze sulla percezione di tutta una serie di possibili cause di inquinamento sulla salute (scarichi industriali, delle automobili, di allevamenti, etc), con la sola eccezione delle emissioni

di centrali termoelettriche, che erano percepite come potenzialmente rilevanti dal 55% degli abitanti attorno a Montalto di Castro, rispetto al 39% degli italiani. E' da notare peraltro come il fumo di sigaretta sia ritenuto una rilevante fonte di inquinamento solo dal 52% del campione di Montalto di Castro, e dal 48% degli italiani. Ciò riflette una percezione erronea dei principali rischi sulla salute. Nessuna sostanziale differenza era inoltre evidente per tutta una serie di possibili cause di inquinamento dell'aria e dell'acqua.

EPIDEMIOLOGIA DELLE PATOLOGIE AUTO-IMMUNI

Nel corso dell'anno 2002, è continuata la collaborazione con il Prof. Jean-François Bach, dell'Istituto Nazionale per la Salute e la Ricerca Medica francese (INSERM) presso l'Ospedale "Necker-Enfants Malades" di Parigi. Il Prof. Bach è uno dei più importanti referenti internazionali per quanto riguarda l'immunologia clinica, con un ampio spettro di studi clinici controllati e non, condotti da più di quindici anni nel settore della patologia auto-immune. La collaborazione si basa sulla possibilità di vagliare un'ipotesi sperimentale (immunologica) attraverso studi epidemiologici.

L'ipotesi che si vorrebbe vagliare porta il nome di "Ipotesi Igienista", e nasce dalla constatazione che al generale declino delle infezioni nei paesi sviluppati, dovuto all'aumento degli standard igienici, corrisponde un aumento di certe patologie immuno-dipendenti quali il diabete e le patologie associate all'espressione dell'atopia (asma, rinite e dermatite atopica). Una meta-analisi di dati pubblicati è attualmente in corso con l'obiettivo di verificare e quantificare la potenziale protezione delle infezioni sulla patologia allergica.

INFEZIONE DA HIV

Nel corso del 2002 è iniziata una collaborazione con la I Divisione Malattie Infettive dell'ospedale L. Sacco di Milano. Il Progetto SCOLTA (Surveillance COhort Long-term Toxicity Antiretrovirals) si articola in due modalità operative: la prima mira a valutare la tossicità dei farmaci antiretrovirali di recente introduzione (Progetto Nuovi Farmaci), la seconda a rilevare gli eventi inattesi e ritardati in corso di terapia antiretrovirale (Progetto Eventi Inattesi). Questi due studi hanno lo scopo di identificare: l'aumento di frequenza degli eventi avversi da farmaci (ADR) gravi, e gli eventi rari; ADR precedentemente sconosciute; i fattori di rischio e i possibili meccanismi alla base delle ADR; gli eventi inattesi in corso di trattamento antiretrovirale.

In collaborazione con l'associazione LILA (Lega Italiana Lotta Aids) abbiamo analizzato i dati dello studio "Compliance in HIV", uno studio osservazionale multicentrico, svolto a valutare il livello di aderenza ai farmaci anti-HIV e ad identificare i fattori influenzanti l'aderenza alle terapie.

Inoltre abbiamo analizzato i dati di ELECTHIV2, uno studio caso-controllo sulle caratteristiche di soggetti positivi all'HIV che utilizzano terapie complementari, in sette paesi europei.

PREVALENZA DI FUMO IN ITALIA

Durante l'anno 2002 sono stati studiati dati provenienti da studi di prevalenza per analizzare e aggiornare la situazione del fumo in Italia. In particolare, sono state considerate due indagini condotte dalla DOXA nel 2001 e nel 2002 su più di 3.000 uomini e donne rappresentativi della intera popolazione adulta italiana (≥ 15 anni). E' stato osservato che nel 2001 il 28.9% della popolazione italiana era fumatore corrente di sigarette, e nel 2002 il 26.6% (31.1% degli uomini e 22.3% delle donne). Per la prima volta dagli anni cinquanta la prevalenza di fumo in Italia è scesa sotto il 30% negli ultimi anni. Sembra però che parte della diminuzione di prevalenza di fumo in Italia sia dovuta ad un crescente "sotto-riporto" dell'abitudine, specialmente tra i giovani.

In un progetto finanziato dalla Unione Europea è stato inoltre considerato il ruolo del prezzo delle sigarette sui consumi in Italia nel periodo 1970-2001. E' stato infatti accertato che le

variazioni di prezzo di sigarette hanno avuto un apprezzabile impatto sul consumo di tabacco in molti paesi. In Italia, un incremento dell'1% del prezzo delle sigarette ha portato ad uno 0.30% di diminuzione nella prevalenza di fumatori, e ad un decremento dello 0.43% nel consumo di sigarette, indicando che anche in Italia gli aspetti economici possono avere importanti implicazioni di salute pubblica nel controllo del tabagismo.

RELAZIONE TRA ASSUNZIONE DI CAFFÈ E DIVERSE MALATTIE

Abbiamo esaminato la relazione tra caffè, caffè decaffeinato e tè e l'incidenza di infarto miocardico acuto (IMA), tumore a siti selezionati e cirrosi in studi caso-controllo in corso in diverse parti d'Italia. L'interesse è stato focalizzato sulle seguenti relazioni:

Fattori di rischio per l'IMA non fatale in soggetti diabetici. Rispetto ai non diabetici che bevono ≤ 3 tazze di caffè/giorno, i non diabetici che bevono > 3 tazze hanno un odds ratio (OR) di 1.3, i diabetici che bevono ≤ 3 tazze hanno un OR di 2.3 e i diabetici che bevono > 3 tazze di 2.8. Il rischio era più forte nelle donne (OR 4.9 per > 4 tazze) che negli uomini (OR 2.0).

La relazione tra caffè e rischio di carcinoma epatico. In un dataset combinato italiano e greco, che includeva 834 casi, rispetto ai non bevitori il rischio per i bevitori di ≥ 3 tazze di caffè/giorno era 0.7, che suggerisce una potenziale associazione inversa.

La relazione tra caffè e cirrosi epatica. In uno studio che include 101 casi, rispetto ai non bevitori, l'OR era 0.29 per ≥ 3 tazze di caffè/giorno. L'OR per ≥ 40 anni di consumo era 0.45. Le tendenze del rischio erano significative per il numero di tazze e per la durata.

Il rischio di tumore della vescica correlato al tabacco è più forte nei non bevitori di caffè che nei bevitori? In uno studio basato su 727 casi, rispetto chi non ha mai fumato, l'OR per i fumatori correnti era 3.2 (significativo) tra i bevitori di caffè e 5.3 (significativo) tra i non bevitori. L'OR tra i fumatori correnti aumentava con il numero di sigarette sia nei bevitori di caffè (OR 2.7 per < 15 sigarette, OR 3.8 per ≥ 15) che nei non bevitori (OR corrispondenti 4.6 e 5.5).

STUDIO SULL'INFARTO MIOCARDICO ACUTO

Abbiamo condotto uno studio caso-controllo per stabilire il rischio di infarto miocardico acuto (IMA) non fatale nella popolazione italiana. Nel 2002, le analisi sono state focalizzate sui seguenti aspetti.

Il ruolo del diabete come fattore di rischio e come fattore modificante per l'IMA non fatale. Nel dataset combinato di tre studi italiani, basati su 1.737 casi e 2.317 controlli ospedalieri, l'odds ratio (OR) multivariato di IMA era 2.3. Rispetto ai non diabetici con ciascun fattore di rischio al livello di rischio più basso, l'OR per i diabetici era 4.7 nei fumatori, 2.8 nei forti bevitori di caffè, 2.7 nei diabetici con alto indice di massa corporea, 3.4 nei diabetici con colesterolo alto, 4.3 per i diabetici con ipertensione e 4.3 nei diabetici con storia familiare di IMA.

L'associazione era molto più forte nelle donne diabetiche.

La relazione tra fumo, alcol, caffè e rischio di IMA. Nel nostro studio, basato su 507 casi e 478 controlli, rispetto ai non bevitori di alcol, l'OR era 0.5 nei bevitori di > 3 porzioni al giorno, simile per tutte le bevande alcoliche. Rispetto a chi non ha mai fumato, l'OR era 2.2 nei fumatori (4.6 per ≥ 25 sigarette/giorno), simile per le sigarette a basso e alto contenuto di catrame. L'OR era vicino all'unità 5 anni dopo aver smesso. Non vi era associazione con il caffè per consumi fino a 3 tazze al giorno, ma l'OR era superiore all'unità per consumi più elevati ed era 3.3 nei fumatori correnti che bevevano > 3 tazze al giorno.

La relazione tra consumo di olio di oliva e rischio di IMA. Nel nostro studio, basato su 507 casi e 478 controlli, rispetto al più basso quintile di consumo di olio di oliva l'OR multivariato per il più alto quintile era 1.48, senza trend nel rischio con il consumo, il che suggeriva assenza di relazione tra assunzione di olio di oliva e rischio di IMA.

LABORATORIO DI INFORMATICA MEDICA

PERSONALE

Capo Laboratorio

Eugenio SANTORO, Dr. Sci. Informaz.

INTRODUZIONE ALLE ATTIVITA' DEL LABORATORIO

Il laboratorio di Informatica Medica è coinvolto nelle seguenti attività:

- gestione degli aspetti informatici dell'Istituto;
- sviluppo di siti web a carattere medico;
- gestione del sito web dell'Istituto;
- attività di formazione su argomenti legati a "Internet e medicina" e all'informatica medica;
- analisi statistica di sperimentazioni cliniche.

SCOPERTE/RISULTATI PRINCIPALI

Sviluppo del sito web PNEUMO.CARE
 Sviluppo del sito web DERMA.CARE
 Sviluppo del sito web Minosse
 Sviluppo del sito della rivista Ricerca&Pratica
 Mantenimento del sito web dell'Istituto Mario Negri

COLLABORAZIONI NAZIONALI

Centro Studi e Ricerche in Medicina Generale (CSeRMEG)
 CNR Milano
 Gruppo Italiano per la Medicina Basata sulle Evidenze (GIMBE)
 Gruppo Italiano Studi Epidemiologici in Dermatologia (GISED)
 Gruppo Italiano per lo Studio della Sopravvivenza nell'Infarto miocardico (GISSI)
 Istituto Europeo di Oncologia
 Istituto di Fisiologia Clinica CNR, Sezione di Pisa
 Ministero dell'Ambiente e della Tutela del Territorio
 Società Italiana Attività Regolatorie
 Università degli Studi di Milano
 Dipartimento di Ricerca Cardiovascolare – Istituto “Mario Negri”
 Dipartimento Ambiente e Salute – Istituto “Mario Negri”
 Laboratorio per la Salute Materno Infantile - Istituto “Mario Negri”
 Servizio Biblioteca - Istituto “Mario Negri”

COLLABORAZIONI INTERNAZIONALI

Organizzazione Mondiale della Sanità
 Society for Internet in Medicine

PRESENZA IN COMITATI EDITORIALI

Journal of Medical Internet Research (Eugenio Santoro)
Società Italiana Attività Regolatorie News, SIARNews (Eugenio Santoro)

ATTIVITA' DI REVISIONE

Journal of Medical Internet Research
Pharmacoeconomics

PRESENZA IN COMMISSIONI NAZIONALI E INTERNAZIONALI

Consorzio Italiano per la Ricerca Medica

PARTECIPAZIONE AD EVENTI CON CONTRIBUTI DEL LABORATORIO

Workshop. Informatica medica, bioinformatica e neuroinformatica nella ricerca biomedica. Segrate, CNR-ITB, 19 febbraio 2002. Titolo relazione: Internet in biomedicina.

Workshop. La medicina in rete. Promosso dalla ALSS n.6 di Vicenza, Vicenza, 19 aprile 2002.

Convegno "Internet e diagnostica per immagini". Promosso dalla Associazione Italiana di Medicina Nucleare e dal Gruppo Interregionale Meridionale di Medicina Nucleare. Lecce 12-13 aprile, 2002. Titolo relazione " Riviste mediche e Medline".

Convegno "Internet e diagnostica per immagini". Promosso dalla Associazione Italiana di Medicina Nucleare e dal Gruppo Interregionale Meridionale di Medicina Nucleare. Lecce 12-13 aprile, 2002. Titolo relazione "I database per il medico: Sperimentazioni cliniche e linee guida".

Convegno ExpoSanità 2002, Bologna, 23-24 maggio 2002. Titolo relazione "I portali sanitari e la qualità dei siti: i siti clinici italiani", Bologna, 23-24 maggio 2002.

Convegno "Informazione scientifica: come trovarla, dove aggiornarsi. Un approccio pratico". Promosso dall'Istituto Zooprofilattico Sperimentale dell'Umbria e delle Marche. Perugia 18-19 luglio 2002. Titolo relazione "La ricerca di informazioni mediche strutturate in medicina: le sperimentazioni cliniche e le linee guida".

3° Congresso della Associazione Italiana di Telemedicina e Informatica Medica, Firenze, 27-30 ottobre 2002. Titolo relazione "Lo sviluppo di Internet nella sanità in Italia: stato dell'arte".

3° Congresso Italiano di Pneumologia, Roma, 6-9 novembre 2002. Titolo relazione: "PNEUMO.CARE: Uno strumento per la ricerca di informazioni pneumologiche su Internet".

Convegno "Internet e diagnostica per immagini". Promosso dalla Associazione Italiana di Medicina Nucleare e dal Gruppo Interregionale Meridionale di Medicina Nucleare. Termoli, 13 dicembre 2002. Titolo relazione "Riviste mediche e Medline".

Convegno "Internet e diagnostica per immagini". Promosso dalla Associazione Italiana di Medicina Nucleare e dal Gruppo Interregionale Meridionale di Medicina Nucleare. Termoli, 13 dicembre 2002. Titolo relazione "I database per il medico: Sperimentazioni cliniche e linee guida".

CONTRIBUTI E CONTRATTI

AstraZeneca Italia
Fidia Farmaceutici SPA

SELEZIONE PUBBLICAZIONI SCIENTIFICHE APPARSE NELL'ANNO 2002

Avanzini F, Ferrario G, Santoro L, Peci P, Giani P, Santoro E, Franzosi M G, Tognoni G, GISSI-3. Risks and benefits of the early treatment of acute myocardial infarction with an angiotensin converting enzyme inhibitor in patients with a history of arterial hypertension. Analysis of the GISSI-3 database. *Am Heart J* 2002; 144: 1018-1025

Mauri F, Franzosi M G, Maggioni A P, Santoro E, Santoro L. Clinical value of 12-lead electrocardiography to predict long-term prognosis of GISSI-1 patients. *J Am Coll Cardiol* 2002; 39: 1594-1600

Santoro E. Internet and cardiovascular research: The present and its future potentials and limits. *Minimally Invasive Therapy Allied Technologies* 2002; 11: 73-75

Santoro E. Educational tools in oncology on the Internet: medical journals, clinical trials and the main web sites. *Bulletin Suisse Cancer* 2002; 22: 75-77

SELEZIONE PUBBLICAZIONI DIVULGATIVE APPARSE NELL'ANNO 2002

Santoro E. Le riviste elettroniche. *Ricerca & Pratica* 2002; n. 104: 56-59

Santoro E. Il sito del Ministero della Salute. *Ricerca & Pratica* 2002; n. 104: 76-78

Bazzi D, Rossi L. I virus informatici: come difendersi. *Ricerca & Pratica* 2002; n. 104: 80-82

Bazzi D, Rossi L. I virus informatici: come difendersi. *Scienza e Cultura nel Mondo* 2002; 5 n.3: 14-17

Rossi Lorenzo, Farina M. I sistemi di compressione dei file. *Ricerca & Pratica* 2002; n. 106: 192-195

Santoro E. Le nuove frontiere della editoria elettronica. In: *L'Agora'*. Cardiologia e metabolismo. Evidenze ed opinioni. *Momento Medico* 2002; 1: 85-90

- Santoro E. Dove reperire su Internet informazioni sulle sperimentazioni cliniche in medicina e in cardiologia. In: L'Agora'. Cardiologia e metabolismo. Evidenze ed opinioni. Momento Medico 2002; 2: 93-100
- Santoro E. Come riconoscere siti medici di qualità su Internet. In: L'Agora'. Cardiologia e metabolismo. Evidenze ed opinioni. Momento Medico 2002; 3: 89-95
- Santoro E. Internet e congressi: quali applicazioni? In: L'Agora'. Cardiologia e metabolismo. Evidenze ed opinioni. Momento Medico 2002; 4: 97-101
- Santoro E. Aggiornamento: come muoversi nella rete. Medicinae Doctor 2002; 9: 22-23
- Santoro E. Economia sanitaria. CARE 2002; 4/3-4: 15
- Santoro E, Pandolfini C. I database per il medico: Sperimentazioni cliniche e linee guida. (Versione cd-rom). In: Internet e diagnostica per immagini. Atti Congresso, Lecce 12-13 aprile, 2002. 2002
- Santoro E, Pandolfini C. Riviste mediche e Medline. (Versione cd-rom). In: Internet e diagnostica per immagini. Atti congresso, Lecce 12-13 aprile, 2002. 2002
- Santoro E. Healthcare IT awards 2002. Parte 1. SiarNews 2002; 39/40: 38-39.

ALTRE PRODUZIONI EDITORIALI PUBBLICATE NEL CORSO DEL 2002

Santoro E. Guida alla medicina in rete. Il Pensiero Scientifico Editore. Roma 2a ed. 2002.

ATTIVITA' DI RICERCA

Sviluppo del sito web Minosse

Il sito web Minosse (<http://www.marionegri.it/minosse>) è stato sviluppato in collaborazione con il Dipartimento Ambiente e Salute dell'Istituto Mario Negri e con il Ministero dell'Ambiente della Tutela del Territorio. Il sito web consente di creare e gestire un database della normativa nazionale e internazionale relativa a problematiche legate all'ambiente. Il sito offre anche un sistema di interrogazione di nuova generazione che consente di raggiungere in pochi passi i documenti desiderati. L'attività, iniziata nel 2001, è continuata anche nel 2002.

Sviluppo del sito web PNEUMO.CARE

PNEUMO.CARE (<http://www.pneumocare.it>) è un catalogo di risorse disponibili su Internet in pneumologia. Questo sito web è stato realizzato dal Laboratorio di Informatica Medica per raccogliere, classificare e commentare i migliori siti web disponibili sulla rete, fornendo agli utenti di Internet uno strumento efficace di ricerca sulla rete. Il progetto è stato realizzato sul modello dei precedenti progetti in ambito cardiologico (<http://www.cardiocare.it>), neurologico (<http://www.neurocare.it>), oncologico (<http://www.oncocare.it>) e gastroenterologico (<http://www.gastrocare.it>) realizzati negli scorsi anni in collaborazione con il Dipartimento di Ricerca Cardiovascolare, il Laboratorio delle malattie neurologiche e il Dipartimento di Oncologia dell'Istituto Mario Negri.

Sviluppo del sito web DERMA.CARE

DERMA.CARE (<http://www.dermacare.it>) è un catalogo di risorse disponibili su Internet in dermatologia. Questo sito web è stato realizzato dal Laboratorio di Informatica Medica per raccogliere, classificare e commentare i migliori siti web disponibili sulla rete, fornendo agli utenti di Internet uno strumento efficace di ricerca sulla rete. Il progetto è stato realizzato in collaborazione con il Gruppo Italiano Studi Epidemiologici in Dermatologia (GISED).

Gestione degli aspetti informatici dell'Istituto

Una delle attività del Laboratorio di Informatica Medica è la gestione dell'informatica dell'istituto. Tra i compiti ad essa assegnati: l'assistenza hardware e software dei client e dei server installati in istituto, la gestione della posta elettronica, la gestione del collegamento Internet, la gestione della rete interna, la gestione del sito web dell'Istituto.

Gestione del sito web dell'Istituto Mario Negri

Nel corso del 2002 è proseguita l'attività inerente alla gestione del sito web dell'Istituto Mario Negri (<http://www.marionegri.it>). Sono stati aggiunti nuovi servizi come la segnalazione degli articoli recentemente pubblicati dal personale dell'istituto e la segnalazione di eventi organizzati dall'istituto, o nei quali l'Istituto ricopre un ruolo primario, accompagnati dal materiale impiegato dai relatori (diapositive, file pdf, ecc). E' stata inoltre aperta una sezione dedicata alla rivista Ricerca&Pratica (<http://www.marionegri.it/ricercaepratica>) nella quale il lettore può prendere visione degli indici dei volumi pubblicati negli ultimi anni.

Creazione CD-ROM per scopi formativi

In collaborazione con il Laboratorio per la Salute Materno Infantile dell'Istituto "Mario Negri" è stato sviluppato un CD-ROM contenente il materiale (diapositive, video, testi, esercizi) utilizzato dal Laboratorio per la Salute Materno Infantile nel corso del workshop "How to review the available literature in order to improve the assessment of new drugs and ensure proper drug information on established drugs". Il workshop è stato promosso dall'Organizzazione Mondiale per la Sanità e si è svolto a Manila dal 16 al 20 luglio. Nel CD-ROM il materiale è stato strutturato come un ipertesto consentendo ai fruitori la massima interazione con i singoli moduli.

Attività di formazione

Nel corso del 2002 è proseguita l'attività di formazione su tematiche legate a "Internet e Medicina" attraverso lo svolgimento di corsi e workshop (sia interni all'istituto, sia esterni) a cui ha partecipato il personale del laboratorio con ruoli di docenza. In questo contesto si colloca anche l'esperienza fatta con la Scuola di Scrittura Scientifica diretta dal Prof. Eugenio Picano dell'Istituto di Fisiologia Clinica del CNR di Pisa.

Analisi dati dei database GISSI

Nel corso del 2002 è continuata la collaborazione con il Dipartimento di ricerca cardiovascolare per l'analisi degli studi GISSI (Gruppo Italiano per lo Studio della Sopravvivenza nell'Infarto miocardico). Tali analisi hanno prodotto alcuni articoli apparsi sulle maggiori riviste mediche internazionali che riguardano lo sviluppo di indici prognostici per il calcolo del rischio cardiovascolare, il follow-up a 10 anni della popolazione arruolata nel corso dello studio GISSI-1 e la prognosi dei pazienti con ipertensione arteriosa arruolate nello studio GISSI-3.

CENTRO COCHRANE ITALIANO

PERSONALE

Direttore del Centro

Alessandro LIBERATI, Dr. Med. Chir.

INTRODUZIONE ALLE ATTIVITA' DEL CENTRO

Il Centro Cochrane Italiano (CCI) è attivo dal 1994 ed è affiliato alla Cochrane Collaboration (CC), un'organizzazione no-profit che ha lo scopo di produrre, mantenere aggiornati e diffondere i risultati di sintesi (revisioni sistematiche) degli effetti degli interventi sanitari. Il principale prodotto della Cochrane Collaboration è la Cochrane Library, una pubblicazione trimestrale che contiene le revisioni sistematiche prodotte dai gruppi collaborativi della CC e altri database relativi a revisioni sistematiche pubblicate su riviste internazionali e prodotte da gruppi non Cochrane e la sintesi dei migliori rapporti di Technology Assessment.

Gli obiettivi del CCI sono centrati sul supporto alle diverse attività della Cochrane Collaboration in Italia, con particolare riferimento a:

- a) far crescere la conoscenza delle attività della CC in Italia;
- b) fornire supporto metodologico e pratico a tutti gli individui e gruppi che vogliono collaborare alle attività della CC;
- c) contribuire all'adozione e disseminazione della pratica della Evidence-based Medicine (EBM) in Italia, sia a livello accademico sia nella pratica dei servizi sanitari.

SCOPERTE/RISULTATI PRINCIPALI

Creazione di una rete nazionale di ricercatori e operatori sanitari che producono revisioni sistematiche di letteratura per la Cochrane Collaboration.

COLLABORAZIONI NAZIONALI

Ce.V.E.A.S. (www.ceveas.it)
 Dipartimento di Epidemiologia della ASL Roma E
 Istituto Neurologico "Carlo Besta"
 Istituto Superiore di Sanità (www.iss.it)
 Ministero della Salute (www.ministerosalute.it)
 Regione Lombardia (www.regione.lombardia.it)
 Regione Veneto (www.regione.veneto.it)
 Università degli Studi di Milano (www.unimi.it)

COLLABORAZIONI INTERNAZIONALI

Centre for Reviews and Dissemination, University of York, York, UK (www.york.ac.uk)
 British Medical Journal Group (www.bmj.com)
 The Cochrane Collaboration (www.cochrane.org)
 The Campbell Collaboration (www.campbellcollaboration.org)

PRESENZA IN COMITATI EDITORIALI

Annals of Internal Medicine (Alessandro Liberati)
 Clinical Evidence (Alessandro Liberati)
 Evidence Based Health Policy and Research (Alessandro Liberati)
 Journal of Health Services Research (Alessandro Liberati)

ATTIVITA' DI REVISIONE

Annals of Internal Medicine (Alessandro Liberati)
 Annals of Oncology (Alessandro Liberati)
 British Medical Journal (Alessandro Liberati)
 JAMA (Alessandro Liberati)
 Tumori (Alessandro Liberati)

PRESENZA IN COMMISSIONI NAZIONALI E INTERNAZIONALI

Clinical Trials Planning Committee, Medical Research Council MRC, London, UK

ORGANIZZAZIONE DI EVENTI

Corso "Evidence-based Medicine per bibliotecari biomedici", 26 Febbraio 2002, Università degli Studi di Milano, Milano

Master "Metodologia delle revisioni sistematiche in campo medico e sanitario", Marzo 2002-Febbraio 2003, Università degli Studi di Milano, Milano

Convegno internazionale "Il ruolo dei Comitati Etici in Italia", 11-12 Ottobre 2002, Verona

PARTECIPAZIONE AD EVENTI CON CONTRIBUTI DEL CENTRO

Corso "Evidence-based Medicine per bibliotecari biomedici", 26 Febbraio 2002, Università degli Studi di Milano, Milano

Master "Metodologia delle revisioni sistematiche in campo medico e sanitario", Marzo 2002-Febbraio 2003, Università degli Studi di Milano, Milano

X International Cochrane Colloquium, 28-31 Luglio 2002, Stavanger, Norvegia

"Being a Cochrane Center", 8th European Conference of Medical and Health Libraries, 16-21 Settembre 2002, Colonia, Germania

CONTRIBUTI E CONTRATTI

Regione Lombardia
Ministero della Salute
Astra Zeneca

SELEZIONE PUBBLICAZIONI SCIENTIFICHE APPARSE NELL'ANNO 2002

Davoli M., Ferri M., Perucci C., Liberati A.

Health policies on drug dependence must be based on scientific evidence.
British Medical Journal 2002;324:1338

Lombardi F., Taricco M., De Tanti A., Telaro E., Liberati A.

Sensory stimulation for brain injured individuals in coma or vegetative state.
The Cochrane Library 2002, Issue 2

McDonald S, Westby M, Clarke M, Lefebvre C and The Cochrane Centres' Working Group On 50 Years Of Randomized Trials. Number and size of randomized trials reported in general health care journals from 1948 to 1997. Int J Epidemiol 2002; 31:125-7

McDonald S, Lefebvre C, Antes G, Galandi D, Gotzsche P, Hammarquist C, Haugh M, Jensen KL, Kleijnen J, Loep M, Pistotti V, Ruther A. The contribution of handsearching European general health care journals to the Cochrane Controlled Trials Register. Eval Health Prof. 2002; 25: 65-75.

SELEZIONE PUBBLICAZIONI DIVULGATIVE APPARSE NELL'ANNO 2002

Adone R, Pistotti V. Ruolo del fisioterapista nell'aerosolterapia del bambino: revisione della letteratura.
Rivista Italiana di Fisioterapia e Riabilitazione Respiratoria 2002; 1: 14-18

Liberati A, Bordogna I. Il ruolo dei Comitati Etici in Italia, Il Sole 24 Ore Sanità, ottobre 2002

ALTRE PRODUZIONI EDITORIALI PUBBLICATE NEL CORSO DEL 2002

Edizione italiana del volume "Clinical Evidence", prodotta e distribuita grazie a un finanziamento del Ministero della Salute.

Edizione italiana di Effective Health Care Bulletin, un bimestrale prodotto dal Centre for Reviews and Dissemination dell'Università di York (UK).

ATTIVITA' DI RICERCA

Attività di Formazione

A partire dall'anno accademico 1999-2000 il CCI ha contribuito all'organizzazione del Master in "Metodologia delle Revisioni Sistematiche in Campo Medico e Sanitario" in collaborazione con la Facoltà di Medicina e Chirurgia

dell'Università degli Studi di Milano. Il Master è giunto nel 2002 alla sua terza edizione e ha finora coinvolto 60 studenti. I docenti del Master sono ricercatori dei Centri Cochrane europei ed esperti italiani provenienti sia da università sia da centri di ricerca italiani. Gli studenti che frequentano il Master hanno tra i propri obiettivi didattici la preparazione di una revisione sistematica svolta secondo i requisiti metodologici della Cochrane Collaboration.

Nell'anno 2002 il Centro Cochrane Italiano ha contribuito all'organizzazione del "Master in Evidence-based Medicine e Metodologia della Ricerca Sanitaria" presso l'Università di Modena e Reggio Emilia che ha coinvolto, nella prima edizione, 21 studenti.

Nel 2001 il CCI ha curato - su incarico del Ministero della Salute - la traduzione e adattamento italiano di Clinical Evidence, il compendio delle migliori prove di efficacia prodotto dal BMJ Publishing Group, largamente basato sulle revisioni sistematiche della Cochrane Collaboration. La prima edizione è stata pubblicata nel 2002. Grazie ai risultati positivi di questa prima iniziativa-pilota, l'incarico è stato rinnovato per il 2003 e una nuova edizione aggiornata del volume sarà distribuita gratuitamente in 300.000 copie a tutti i medici italiani.

Attività di Disseminazione

Il CCI ha la responsabilità scientifica dell'edizione italiana di Effective Health Care Bulletin, un bimestrale prodotto dal Centre for Reviews and Dissemination dell'Università di York (UK).

Nel 2002 sono stati pubblicati sei numeri sui seguenti argomenti: a) Trattamenti delle tossicodipendenze e dell'alcolismo; b) Omeopatia; c) Trattamento della sindrome da stanchezza cronica; d) Piaghe da decubito; e) Riconoscimento e gestione della depressione in medicina generale; f) Prevenzione e trattamento dell'obesità infantile.

Linee di ricerca

Il CCI e i ricercatori ad esso afferenti hanno collaborato alla produzione di diverse revisioni sistematiche Cochrane. Al Dicembre 2002 erano disponibili nella Cochrane Library 41 revisioni complete e 48 protocolli che avevano un ricercatore italiano come autore principale o co-autore. La lista completa di queste pubblicazioni è disponibile nel Rapporto Annuale di Attività 2002 del CCI (consultabile anche on line al sito www.cochrane.it) o attraverso il sito web dell'Istituto Mario Negri (www.marionegri.it).

Lo staff del CCI è anche attivamente coinvolto in progetti di approfondimento metodologico mirati a identificare strumenti validi e riproducibili per misurare la qualità delle revisioni sistematiche.

ANIMAL CARE UNIT

PERSONALE

Capo Unità

Amalia GUAITANI, Dipl. tecn. Sci. Biol.

REGOLAMENTAZIONE E LINEE GUIDA

L'Animal Care Unit (ACU) si occupa, a livello istituzionale, di regolamentazione della sperimentazione animale, di preparazione professionale in scienza degli animali da laboratorio, di diffusione delle conoscenze in questa disciplina sia all'interno dell'Istituto che a livello nazionale, di collaborazione con altre istituzioni e associazioni attive nel settore. Il sistema di autoregolamentazione introdotto in Istituto dai primi anni '80 ha contribuito a migliorare la sperimentazione e a ridurre significativamente l'uso degli animali, come documentato da diverse pubblicazioni. Ogni cinque anni, in considerazione dei suoi regolamenti interni, l'Istituto riceve l'Animal Welfare Assurance Renewal dal Public Health Service (Office for Protection from Research Risks, OPRR) Statunitense. I membri rappresentativi dell'ACU sono ricercatori con esperienza specifica nelle scienze degli animali da laboratorio, un medico veterinario e il direttore dell'Istituto. Uno speciale Comitato, costituito da membri non istituzionali, due medici, un avvocato e un teologo, affianca i membri dell'ACU per una consulenza di tipo etico su esperimenti con animali che richiedano un'accurata valutazione. Questa attività coinvolge anche i ricercatori responsabili dei progetti e delle procedure di ricerca.

Vedere sito web <<http://www.marionegri.it/news/fls/sperimentaz-animale.htm>> "La ricerca farmacologica continua nel suo progresso, la sperimentazione animale diminuisce".

ATTIVITA' DI CONTROLLO DELLA SPERIMENTAZIONE ANIMALE

La supervisione della sperimentazione animale comprende: 1) controllo dello stato di salute e benessere degli animali, 2) revisione dei progetti di ricerca, dei protocolli e delle procedure sperimentali, 3) preparazione e aggiornamento delle linee-guida istituzionali, 4) valutazione statistica dell'uso degli animali, 5) controllo dell'osservanza delle leggi nazionali ed internazionali, 6) preparazione dei documenti richiesti dalle autorità competenti per ottenere le autorizzazioni istituzionali, 7) consulenza tecnica nella progettazione di nuove strutture di stabulazione.

ATTIVITA' DI PREPARAZIONE PROFESSIONALE

Vengono organizzati corsi teorici e pratici per certificare la qualifica professionale del personale autorizzato. A tale scopo viene tenuto due volte all'anno (Aprile-Novembre 2002) un corso interno di 16 ore, seguito da un programma continuo di addestramento pratico nelle metodologie per la sperimentazione animale. Vengono organizzate inoltre attività extramurali (seminari, lezioni, corsi) in collaborazione con Università, organizzazioni pubbliche e private, e Associazioni nell'area delle Scienze degli Animali da Laboratorio. L'attività dell'Associazione Italiana per le Scienze degli Animali da Laboratorio (AISAL) è coordinata principalmente dallo staff dell'ACU.

CORSI E CONGRESSI

AISAL Symposium in collaborazione con AICC e l'Università di Milano: "Sperimentazione in vitro e in vivo. Percorsi complementari nella ricerca biomedica". Milano, 30-31 Maggio, 2002. AISAL Symposium in collaborazione con l'Università di Milano: "I dibattiti aperti nella sperimentazione animale: problematiche regolatorie e proposte pratiche", Gargnano del Garda, 5-6 Settembre, 2002.

G.A. PFEIFFER MEMORIAL LIBRARY

PERSONALE

Capo Bibliotecaria

Vanna Pistotti

La Biblioteca, specializzata nel campo della farmacologia ed epidemiologia clinica, è stata fondata nel 1963 grazie ad una donazione della Gustavus and Louise Pfeiffer Research Foundation con sede a Denville, New Jersey, USA.

Enti pubblici e privati contribuiscono al suo funzionamento mediante donazioni, offerte di materiale e di abbonamenti a periodici.

PERSONALE

Il personale della Biblioteca è formato da una responsabile, tre assistenti ed un incaricato del servizio fotocopie

LA COLLEZIONE

La biblioteca possiede 5000 volumi tra libri di testo, monografie ed atti di convegno e 250 abbonamenti a periodici. I libri vengono classificati secondo la US National Library of Medicine Classification, quinta edizione ed il Medical Subject Headings di Medline (MeSH). Oltre alla collezione interna la Biblioteca accede al Catalogo Nazionale dei Periodici, al Catalogo delle biblioteche appartenenti al Sistema Bibliotecario Biomedico Lombardo e a quello del GIDIF,RBM

BANCHE DATI E RIVISTE ELETTRONICHE

Da ogni postazione interna all'Istituto è possibile accedere a circa 1500 riviste elettroniche e a tre tra le banche dati piu' importanti al mondo: Medline, La Cochrane Library, Embase

PROGETTI

La biblioteca partecipa alla realizzazione del Catalogo dei Periodici dell'Associazione Italiana dei Documentalisti GIDIF,RBM e al Catalogo Italiano dei Periodici (ACNP)

Collabora attivamente al sito web dell'Istituto di cui in particolare cura la parte delle Pubblicazioni dell'Istituto sia scientifiche che divulgative

Ogni anno vengono svolti corsi al personale scientifico dell'Istituto sull'uso delle banche e delle riviste elettroniche

PUBBLICAZIONI 2002

McDonald S, Westby M, Clarke M, Lefebvre C and The Cochrane Centres' Working Group On 50 Years Of Randomized Trials. Number and size of randomized trials reported in general health care journals from 1948 to 1997. Int J Epidemiol 2002; 31:125-7

McDonald S, Lefebvre C, Antes G, Galandi D, Gotzsche P, Hammarquist C, Haugh M, Jensen KL, Kleijnen J, Loep M, Pistotti V, Ruther A. The contribution of handsearching European general health care journals to the Cochrane Controlled Trials Register. *Eval Health Prof.* 2002; 25: 65-75.

Adone R, Pistotti V. Ruolo del fisioterapista nell'aerosolterapia del bambino: revisione della letteratura.

Rivista Italiana di Fisioterapia e Riabilitazione Respiratoria 2002; 1: 14-18

CONTRATTI PIU' SIGNIFICATIVI

Dal 1994 aderisce al progetto SBBL Sistema Bibliotecario Biomedico Lombardo della Regione Lombardia cui partecipano sedici biblioteche lombarde come Poli primari e che offre banche dati, riviste elettroniche e articoli a piu' di 140 strutture in Regione.

Laboratori Negri Bergamo

RAPPORTI
ATTIVITA' 2002
dipartimenti e laboratori

DIPARTIMENTO DI MEDICINA MOLECOLARE

PERSONALE

Capo Dipartimento Ariela BENIGNI, Dr. Sci. Biol. Ph. D.

Unità di Terapia Genica
Capo Unità Susanna TOMASONI, Dr. Sci. Biol. Ph. D.

Laboratorio di Biologia Cellulare e Xenotrapianto
Capo Laboratorio Marina MORIGI, Dr. Sci. Biol.

Unità dell'Interazione Piastrine-Endotelio Vascolare
Capo Unità Miriam GALBUSERA, Dr. Sci. Biol.

Laboratorio di Immunologia e Genetica del Trapianto e Malattie Rare
Capo Laboratorio Marina NORIS, Dr. Chim. Farm.

Laboratorio di Modelli Sperimentali di Malattie Renali
Capo Laboratorio Carla ZOJA, Dr. Sci. Biol. Ph. D.

Unità di Patologia e Immunopatologia
Capo Unità Mauro ABBATE, Dr. Med.

INTRODUZIONE ALLE ATTIVITA' DEL DIPARTIMENTO

Il Dipartimento di Medicina Molecolare è stato istituito nel 1999 presso i laboratori del Mario Negri di Bergamo con lo scopo di coordinare il lavoro di tre laboratori e tre unità.

L'attività del Dipartimento di Medicina Molecolare è strettamente collegata a quella del Dipartimento di Medicina Renale del Centro di Ricerche Cliniche per le Malattie Rare "Aldo e Cele Daccò".

Questi i principali obiettivi del Dipartimento:

- 1) Identificazione di mediatori e di meccanismi d'azione responsabili della perdita irreversibile di funzionalità renale nelle malattie renali; sviluppo di strategie terapeutiche volte a rallentare o bloccare la progressione della malattia renale verso l'insufficienza renale terminale.
- 2) Analisi dei processi responsabili del danno della cellula endoteliale nelle microangiopatie trombotiche e nel rigetto iperacuto dei trapianti allogenici.
- 3) Sviluppo di nuove strategie, tra cui la terapia genica, per modulare la risposta immunitaria post-trapianto e per prevenire il rigetto acuto e cronico del trapianto d'organo; studio di possibili vie immunologiche che portino alla tolleranza dell'organo trapiantato.
- 4) Studio delle basi molecolari e genetiche di malattie rare come la sindrome emolitico uremica/porpora trombotica trombocitopenica e la preeclampsia; valutazione di alterazioni genetiche responsabili dello sviluppo di malattie rare e caratterizzazione di polimorfismi genetici che predicono la risposta dei pazienti alle terapie farmacologiche per malattie mono- e poligeniche.

Questi obiettivi sono perseguiti grazie all'impiego di svariati approcci metodologici:

- 1) modelli sperimentali di malattie renali, di tipo immunologico e non, rappresentativi di malattie umane, per studiare i mediatori vasoattivi ed infiammatori e per testare nuovi farmaci che riducano la proteinuria e conferiscano renoprotezione.
- 2) Valutazione "in vitro" dell'effetto tossico di un sovraccarico proteico su colture di cellule renali.
- 3) Modelli "in vitro" per studiare l'interazione delle cellule dell'endotelio vascolare con leucociti e piastrine in condizioni di flusso controllato.
- 4) Modelli sperimentali di allotrapianto di rene per studiare i processi immunologici responsabili del rigetto acuto e cronico, la tossicità renale di farmaci immunosoppressori e per identificare strategie di induzione della tolleranza.
- 5) Trasferimento genico di costrutti virali contenenti geni per molecole immunomodulatorie come strategia per impedire il rigetto acuto del trapianto e ridurre o evitare la terapia immunosoppressiva.
- 6) Analisi di linkage, ricerca di mutazioni e studio di polimorfismi genetici per identificare i geni responsabili o predisponenti allo sviluppo di malattie genetiche rare.

SCOPERTE/RISULTATI PRINCIPALI

La difettosa attività di ADAMTS13 non è il solo determinante dell'anomala frammentazione del fattore di vonWillebrand nelle forme ricorrenti e familiari di SEU/PTT.

Le cellule staminali mesenchimali riparano il danno funzionale e strutturale del rene nell'insufficienza renale acuta.

L'associazione di anticorpo anti-TGF beta con ACE inibitore rappresenta una nuova strategia terapeutica per la nefropatia diabetica.

Regressione del danno funzionale e strutturale del rene con trattamento combinato di ACE inibitore, antagonista del recettore dell'angiotensina II e statina.

Effetto protettivo della propionil-L-carnitina sul danno da ischemia/riperfusionne nel trapianto di rene nel ratto.

La tolleranza indotta dai leucociti del donatore è dovuta alla formazione di cellule T regolatrici.

Identificazione di mutazioni nel gene del fattore H in pazienti con SEU tipica.

Prevenzione del rigetto acuto del trapianto dopo trasfezione del rene del donatore con adenovirus per CTLA4Ig e TGF beta.

COLLABORAZIONI NAZIONALI

International Centre for Genetic Engineering and Biotechnology, Molecular Medicine Group, Trieste.

Istituto Dermopatico dell'Immacolata, Roma.

U.O. di Ostetricia e Ginecologia, Ospedale San Gerardo di Monza

U.O. di Ostetricia e Ginecologia, Azienda Ospedaliera -Ospedali Riuniti di Bergamo.

Università di Ancona.

COLLABORAZIONI INTERNAZIONALI

Academisch Ziekenhuis Maastricht, Interne Geneeskunde, Maastricht, The Netherlands.

Albert Einstein College of Medicine, Bronx, New York, USA.

Beth Israel Deaconess Medical Center and Harvard Medical School, Boston, USA.

Children's Hospital and Regional Medical Center, University of Washington, Seattle, USA.

Erasmus University of Rotterdam, The Netherlands.

Hans-Knoll Institute for Natural Products Research, Jena, Germany.

Inselspital, University of Bern, Switzerland.

Pediatric Nephrology and Hypertension, University of Utah, USA.

The Scripps Research Institute, La Jolla, CA, USA.

University of Colorado Cardiovascular Institute, Denver, CO, USA.

Univeristy of Groningen, The Netherlands

PRESENZA IN COMITATI EDITORIALI

Kidney International (Ariela Benigni)

ATTIVITA' DI REVISIONE

American Journal of Cardiovascular Pathology
 American Journal of Pathology
 Blood Purification
 British Journal of Obstetrics and Gynaecology
 Circulation
 Kidney International
 Journal of American Society of Nephrology
 Nephrology, Dialysis and Transplantation
 Pediatric Nephrology
 Thrombosis and Haemostasis

PARTECIPAZIONE AD EVENTI CON CONTRIBUTI DEL DIPARTIMENTO

Meeting "New ACE inhibitors: new opportunities". "NCX 899 and kidney dysfunction: preliminary data". March 21, 2002, Sophia-Antipolis, France.

Congresso "Renal tubule and biliary duct diseases a kidney and liver workshop". "Gene therapy and the kidney". April 12, 2002, Clinical Research Center for Rare Diseases Ranica (Bergamo), Italy.

The American Society of Gene Therapy 5th Annual Meeting. "Viral IL-10 Gene Transfer Does Not Consistently Prolong Rat Renal Allograft Survival". June 5-9, 2002, Boston, USA.

Journées Gabriel Richet. Renal epithelial cells: differentiation and plasticity. "Proteinuria and differentiation of tubular cells". June 14-15, 2002, Le Coudray Montceaux, France.

Genzyme Expert Renal Panel Meeting. "Anti TGFbeta therapies in diabetic nephropathy". "The preclinical data on the effects of TGFbeta-neutralizing reagents in renal disease and to evaluate their application in diabetic nephropathy". July 11-12, 2002, Amsterdam, The Netherlands.

XIX International Congress of the Transplantation Society. "In a rat model of renal allograft a late treatment with an angiotensin converting enzyme (ACE) inhibitor protects from chronic rejection". August 25-30, 2002, Miami, USA.

4th International Symposium on Podocyte Biology. Session: Responses of Podocyte to Toxic Factors. "Gene activation and loss of differentiated phenotype in podocyte exposed to protein overload". September 19-20, 2002, Niigata, Japan.

5th International Congress on Cutaneous Adverse Drug Reactions. “From Immunosuppression to Immunotolerance in Organ Transplantation”. September 18-19, 2002, Geneva, Switzerland.

American Society of Nephrology 35th Annual Meeting, “Targeted deletion of angiotensin II type 1A receptor does not protect mice from progressive nephropathy of overload proteinuria”. November 1-4, 2002, Philadelphia, Pennsylvania, USA.

American Society of Nephrology 35th Annual Meeting, “Adult Bone Marrow Stromal Cells Protect Mice Against Acute Renal Failure and Tubular Damage”. November 1-4, 2002, Philadelphia, Pennsylvania, USA.

CONTRIBUTI E CONTRATTI

Banca Popolare di Bergamo – Credito Varesino
 Comitato Telethon
 Fondazione Italo Monzino
 Foundation for Children with Atypical HUS
 Roche Organ Transplantation Research Foundation
 The Nando Peretti Foundation
 Abbott GmbH & Co KG
 Aventis Pharmaceuticals Inc
 Aventis Pharma Deutschland GmbH
 Bracco SpA
 Cyclacel Ltd
 Dompè SpA
 Genzyme Corporation
 Merck Sharp & Dohme Italia SpA
 Nicox Research Institute Srl
 Pharmacia Italia SpA
 Sigma Tau SpA

SELEZIONE PUBBLICAZIONI SCIENTIFICHE APPARSE NELL'ANNO 2002

M. Mister, M. Noris, J. Szymczuk, N. Azzollini, S. Aiello, M. Abbate, L. Trochimowicz, E. Gagliardini, A. Arduini, N. Perico, G. Remuzzi. Propionyl-L-carnitine prevents renal function deterioration due to ischemia/reperfusion. *Kidney Int* 2002;61:1064-1078.

A. Benigni, S. Tomasoni, G. Remuzzi. Impediments to successful gene transfer to the kidney in the context of transplantation and how to overcome them. *Kidney Int* 2002;61 (Symposium 1):S115-S119.

C. Zoja, D. Corna, D. Rottoli, D. Cattaneo, C. Zanchi, S. Tomasoni, M. Abbate, G. Remuzzi. Effect of combining ACE inhibitor and statin in severe experimental nephropathy. *Kidney Int* 2002;61:1635-1645.

G. Remuzzi, P. Ruggenti, D. Codazzi, M. Noris, J. Caprioli, G. Locatelli, B. Gridelli. Combined kidney and liver transplantation for familial haemolytic uraemic syndrome. *Lancet* 2002;359:1671-1672

M. Abbate, C. Zoja, D. Rottoli, D. Corna, S. Tomasoni, G. Remuzzi. Proximal tubular cells promote fibrogenesis by TGF-beta1-mediated induction of peritubular myofibroblasts. *Kidney int* 2002;61:2066-2077.

M. Morigi, D. Macconi, C. Zoja, R. Donadelli, S. Buelli, C. Zanchi, M. Ghilardi, G. Remuzzi. Protein overload-induced NF-kB activation in proximal tubular cells requires H₂O₂ through a PKC-dependent pathway. *J Am Soc Nephrol* 2002;13:1179-1189.

G. Remuzzi, M. Galbusera, M. Noris, M.T. Canciani, E. Daina, E. Bresin, S. Contaretti, J. Caprioli, S. Gamba. Von Willebrand factor cleaving protease (ADAMTS13) is deficient in recurrent and familial thrombotic thrombocytopenic purpura and hemolytic uremic syndrome. *Blood* 2002;100:778-785.

C. Zoja, S. Angioletti, R. Donadelli, C. Zanchi, S. Tomasoni, E. Binda, B. Imberti, M. te Loo, L. Monnens, G. Remuzzi, M. Morigi. Shiga toxin-2 triggers endothelial leukocyte adhesion and transmigration via NF-kB dependent up-regulation of IL-8 and MCP-1. *Kidney Int* 2002;62:846-856.

A. Remuzzi, E. Gagliardini, C. Donadoni, A. Fassi, F. Sangalli, M.S. Lepre, G. Remuzzi, A. Benigni. Effect of angiotensin II antagonism on the regression of kidney disease in the rat. *Kidney Int* 2002;62:885-894.

P. Bettinaglio, A. Galbusera, J. Caprioli, S. Orisio, A. Perna, F. Arnoldi, S. Bucchioni, M. Noris on behalf of the BENEDICT Study Group. Single Strand Conformation Polymorphism (SSCP) as a quick and reliable method to genotype M235T polymorphism of angiotensinogen gene. *Clinical Biochemistry* 2002;35:363-368.

M. Todeschini, D. Macconi, N. Garcia Fernandez, M. Ghilardi, A. Anabaya, E. Binda, M. Morigi, D. Cattaneo, E. Peticucci, G. Remuzzi, M. Noris. Effect of acetate-free biofiltration and bicarbonate hemodialysis on neutrophil activation. *Am J Kidney Dis* 2002;40:783-793.

M. Abbate, C. Zoja, M. Morigi, D. Rottoli, S. Angioletti, S. Tomasoni, C. Zanchi, L. Longaretti, R. Donadelli, G. Remuzzi. Transforming Growth Factor-beta1 is upregulated by podocytes in response to excess intraglomerular passage of proteins: a central pathway in progressive glomerulosclerosis. *Am J Pathol* 2002;161:2179-2193.

C. Zoja, D. Corna, D. Camozzi, D. Cattaneo, D. Rottoli, C. Batani, C. Zanchi, M. Abbate, G. Remuzzi. How to fully protect the kidney in a severe model of progressive nephropathy: a multidrug approach. *J Am Soc Nephrol* 2002; 13:2898-2908.

ALTRE PRODUZIONI EDITORIALI PUBBLICATE NEL CORSO DEL 2002

N. Perico, A. Benigni, G. Remuzzi. Xenotransplantation in the 21st century. *Blood Purification* 2002; 20:45-54.

M. Noris, G. Remuzzi. ACE inhibitors and AT1 receptor antagonists: Is two better than one. *Kidney Int* 2002;61:1545-1547.

G. Remuzzi, N. Perico, A. Benigni. New therapeutics that antagonize endothelin: promises and frustrations. *Nature Reviews Drug Discovery* 2002;1:986-1001.

ATTIVITA' DI RICERCA

Laboratorio di Biologia Cellulare e Xenotrapianto

L'attività della proteasi (ADAMTS13) che taglia il fattore di von Willebrand (FVW) è difettosa nelle forme ricorrente e familiare sia di porpora trombotica trombocitopenica (PTT) che di sindrome emolitico uremica (SEU).

Questo lavoro è stato fatto in collaborazione con il Laboratorio di Immunologia e Genetica delle Malattie Rare e del Trapianto d'organo e con il Centro di Ricerche Cliniche per le Malattie Rare.

Se la misura dell'attività di ADAMTS13 possa servire a distinguere la PTT dalla SEU è ancora un argomento controverso. Lo scopo del nostro lavoro è stato quello di chiarire se i pazienti possono essere distinti per quanto riguarda le manifestazioni della malattia e la distribuzione multimerica del FVW in base alla normale o assente attività di ADAMTS13. Abbiamo valutato l'attività di ADAMTS13 e la distribuzione multimerica del FVW in pazienti con le forme ricorrenti e familiari di PTT (n=20) e SEU (n=29). Nella maggior parte dei pazienti con PTT si è rilevata una deficienza completa o parziale dell'attività di ADAMTS13 durante la fase acuta; in alcuni di questi pazienti il difetto persisteva anche in remissione. In un sottogruppo di questi pazienti il difetto era dovuto alla presenza di autoanticorpi diretti contro la proteasi. Comunque, una completa assenza di attività di ADAMTS13 è stata trovata in 5 su 9 pazienti con SEU in fase acuta ed in 5 pazienti durante la remissione. I pazienti con SEU con un difetto di ADAMTS13 non erano clinicamente distinguibili da quelli con attività normale. In un sottogruppo di pazienti con PTT e SEU il difetto di ADAMTS13 era ereditato, come documentato dal fatto che nei loro parenti asintomatici l'attività di ADAMTS13 era circa la metà del normale, compatibile con uno stato di portatori eterozigoti. Nei pazienti con PTT e SEU c'era una evidenza indiretta di un aumento della frammentazione del FVW anche nei pazienti con assente attività di ADAMTS13. In conclusione, una difettosa attività di ADAMTS13 non consente di distinguere la PTT dalla SEU, almeno nelle forme ricorrente e familiare, e non è l'unico determinante delle anomalie del FVW in questi pazienti.

TRAPIANTO DI CELLULE STAMINALI MESENCHIMALI COME CURA PER L'INSUFFICIENZA RENALE ACUTA

"In collaborazione con il Laboratorio di Modelli Sperimentali di Malattie Renali e con l'Unità di Terapia Genica".

Alcune cellule del midollo osseo, grazie alla loro capacità di percepire il danno subito da organi bersaglio, sono in grado di migrare al sito di danno, differenziare e promuovere un riparo strutturale e funzionale dell'organo danneggiato. La notevole plasticità delle cellule staminali isolate dal midollo osseo ci ha spinto a valutare la possibilità che cellule staminali mesenchimali ed ematopoietiche potessero rappresentare una cura per l'insufficienza renale acuta indotta da cisplatino in un modello murino. I risultati hanno mostrato che la somministrazione di cellule mesenchimali staminali, isolate dal midollo di topi maschi, proteggeva in modo rilevante dalla perdita di funzione renale e dal danno tubulare osservato in topi femmina trattati con cisplatino. Cellule positive per il cromosoma Y e per la lectina Lens culinaris sono state identificate nell'epitelio tubulare renale indicando che le cellule mesenchimali staminali si localizzavano nel rene danneggiato e differenziavano in cellule epiteliali tubulari, ristabilendo la struttura e la

funzione renale. Diversamente, le cellule ematopoietiche non migravano nel rene ed erano prive di effetti benefici. Questi risultati aprono nuove prospettive per esplorare nell'uomo la possibilità che le cellule mesenchimali staminali, grazie alla loro capacità renotropica e al loro potenziale rigenerativo, abbiano un ruolo nel trattamento dell'insufficienza renale acuta.

Cambiamenti nel fenotipo e nell'espressione genica di endotelina-1 in podociti in coltura esposti a carico proteico.

"In collaborazione con il Laboratorio di Modelli Sperimentali di Malattie Renali e con l'Unità di Terapia Genica".

Le alterazioni strutturali dei podociti a carico dei pedicelli avvengono precocemente in numerose malattie glomerulari associate a proteinuria e sono accompagnate da evidenti alterazioni del citoscheletro. Abbiamo documentato in una linea immortalizzata di podociti murini differenziati esposti ad alte concentrazioni di albumina una marcata redistribuzione delle fibre di F-actina alla periferia delle cellule. Queste alterazioni erano concomitanti ad una riduzione della distribuzione di sinaptopodina una proteina associata all'actina ed espressa esclusivamente in podociti differenziati. Dato che il riarrangiamento della F-actina può attivare vie intracellulari in grado di regolare la trascrizione di geni che codificano per mediatori infiammatori e vasoattivi come l'endotelina-1 (ET-1), abbiamo studiato se l'esposizione ad albumina potesse influenzare l'espressione genica di ET-1 nei podociti. Il trattamento con albumina induceva un aumento di ET-1 mRNA che era seguito da una aumentata sintesi del peptide nel tempo. Jasplakinolide, un agente in grado di stabilizzare le fibre di F-actina e Y27632, un inibitore delle Rho/ROCK chinasi, riducevano significativamente l'espressione genica e la produzione di ET-1, suggerendo un ruolo del citoscheletro nella regolazione di questo peptide. L'attività di AP-1 e NF- κ B, fattori trascrizionali coinvolti nella regolazione del gene per ET-1, era aumentata in podociti esposti ad albumina. Questi dati indicano che il carico proteico aumenta marcatamente la produzione da parte dei podociti di ET-1, che potrebbe contribuire all'ischemia glomerulare e alla patogenesi delle lesioni croniche renali.

Studio in vitro sul ruolo dell'angiotensina II nei meccanismi molecolari responsabili dell'alterata funzione della barriera glomerulare.

"In collaborazione con il Dipartimento di Bioingegneria, Laboratorio di Biofisica Renale".

Una proteinuria persistente predice la progressione della nefropatia verso l'insufficienza renale. Il trattamento con farmaci che bloccano l'angiotensina II è efficace nel limitare il traffico di proteine attraverso la membrana glomerulare ed esercita un effetto renoprotettivo nelle nefropatie diabetiche e non diabetiche. Tuttavia la protezione, sebbene ottimale nell'animale, non è completa nell'uomo. Identificare i meccanismi molecolari responsabili dell'alterata funzione della barriera glomerulare e della resistenza ai farmaci diventa perciò cruciale per future strategie. I podociti ed, in particolare, le giunzioni intercellulari che li uniscono (slit diaphragms) hanno un ruolo determinante nel mantenere le proprietà selettive della parete del capillare glomerulare al passaggio delle macromolecole. In studi condotti in vitro abbiamo dimostrato che l'angiotensina II induce una redistribuzione della proteina zonula occludens-1 (ZO-1), un componente dello slit diaphragm, in podociti differenziati in coltura e aumenta la permeabilità all'albumina del monostrato cellulare. Questi eventi sono secondari alla riorganizzazione del citoscheletro alla quale la ZO-1 è fisicamente associata. L'inibizione del legame dell'angiotensina II al suo recettore preserva la funzione del podocita prevenendo l'attivazione di segnali intracellulari quali le Src chinasi e la fosfolipasi C, che contribuiscono alla riorganizzazione del citoscheletro e alla distribuzione della ZO-1.

Laboratorio di Modelli Sperimentali di Malattie Renali

L'associazione di anticorpo anti-TGFbeta con ACE inibitore arresta la progressione della nefropatia diabetica nel ratto

Gli inibitori dell'enzima di conversione dell'angiotensina (ACEi) sono efficaci nel ridurre la progressione della malattia renale nelle fasi precoci della nefropatia diabetica, mentre nelle fasi più tardive la protezione può non risultare completa. In base ad evidenze sperimentali e cliniche in favore di un ruolo cruciale del TGFbeta nella patogenesi della nefropatia diabetica, abbiamo valutato l'effetto dell'inibizione simultanea di TGFbeta e di angiotensina II sulla progressione della malattia in ratti con nefropatia conclamata. Ratti resi diabetici da streptozotocina sono stati trattati con: anticorpi anti-TGFbeta murino (1D11) o umano (CAT-192) da soli o associati con ACEi lisinopril; anticorpo irrilevante murino; fisiologica; ACEi. Il trattamento, iniziato 4 mesi dopo l'induzione della malattia (quando gli animali erano proteinurici), era continuato fino all'ottavo mese. L'aumento della pressione sistolica era controllato dai singoli trattamenti ed ancora più efficacemente dalle loro combinazioni. 1D11 ed ACEi mantenevano la proteinuria a livelli numericamente più bassi di quelli misurati nei ratti che ricevevano anticorpo irrilevante o salina, mentre CAT-192 non aveva effetto. L'aggiunta di anticorpo anti-TGFbeta, sia murino che umano, ad ACEi normalizzava la proteinuria. Consistente con l'effetto antiproteinurico, glomerulosclerosi e danno tubulare erano abrogati dalla combinazione di 1D11 e ACEi. Espansione del volume interstiziale ed accumulo nell'interstizio di linfociti/macrofagi erano limitati da 1D11 e ACEi da soli ed ulteriormente ridotti dalla loro associazione. L'aumento del deposito di collagene di tipo III nell'interstizio era parzialmente attenuato da 1D11 ed ACEi, ma veniva normalizzato dalla combinazione. In conclusione, l'associazione di anticorpo anti-TGFbeta con ACEi arresta la progressione della proteinuria e del danno renale nella fase di nefropatia diabetica conclamata e potrebbe rappresentare una nuova strategia terapeutica.

Ruolo patogenetico di transforming growth factor beta 1 nella sclerosi glomerulare progressiva

"In collaborazione con il Laboratorio di Biologia Cellulare e Xenotrapianto"

Le nefropatie croniche hanno in comune un decorso progressivo verso l'insufficienza renale. L'aumentata permeabilità glomerulare alle proteine plasmatiche concorre con l'aumento della pressione nei capillari glomerulari a determinare deterioramento funzionale e strutturale attraverso meccanismi che appaiono condivisi da malattie di eziologia diversa. Lesioni tipiche nel glomerulo sono a carico delle cellule epiteliali glomerulari o podociti, e precedono l'evoluzione verso la sclerosi. Abbiamo ipotizzato che l'eccessivo passaggio di proteine attraverso la barriera di filtrazione glomerulare possa stimolare i podociti a sintetizzare TGFbeta1, un mediatore responsabile di accumulo di matrice extracellulare in processi di fibrosi. A questo scopo abbiamo condotto uno studio morfologico e immunoistochimico in un modello di nefropatia progressiva e studi in vitro su podociti murini differenziati. Nel modello di riduzione della massa renale nel ratto, l'accumulo delle proteine plasmatiche albumina, IgG e complemento C3 nei podociti in seguito a eccessiva filtrazione attraverso la parete capillare precedeva la perdita di un marker di differenziazione (sinaptopodina) e l'espressione di desmina, che in numerose condizioni patologiche si associa selettivamente a danno cellulare nei podociti. A queste modificazioni si associava un aumento di espressione genica per TGFbeta1 nei podociti e la trasformazione fenotipica di cellule mesangiali in miofibroblasti, documentata dalla comparsa di actina alfa del muscolo liscio - la cui espressione è indotta da TGFbeta1. Il trattamento con un inibitore dell'enzima di conversione di angiotensina I, che migliora la permeabilità della barriera glomerulare alle proteine, preveniva l'accumulo di proteine plasmatiche, l'aumento di sintesi di TGFbeta1 e la comparsa di sclerosi. In vitro il carico proteico (albumina) induce perdita di sinaptopodina, espressione genica di TGFbeta1 nei podociti e rilascio di TGFbeta1 nel surnatante. Inoltre il medium condizionato di podociti

stimolati con albumina induceva trasformazione miofibroblastica di cellule mesangiali, effetto riproducibile da stimolazione con TGFbeta1 e bloccato da anticorpi anti-TGFbeta1. Questi dati ci hanno portato a concludere che in seguito a difetti di permselectività glomerulare il passaggio di eccessive quantità di proteine plasmatiche promuove disfunzione cellulare e perdita di differenziazione del podocita che, attraverso una risposta mesangiale mediata da TGFbeta1, contribuisce allo sviluppo della sclerosi. L'implicazione clinica è che nuovi approcci terapeutici dovrebbero avvalersi di agenti capaci di bloccare TGFbeta, eventualmente in associazione con il blocco farmacologico dell' angiotensina.

Associazione di più farmaci per bloccare la progressione della malattia renale

La terapia attuale per le nefropatie proteinuriche croniche è rappresentata dagli inibitori dell'enzima di conversione dell'angiotensina (ACEi) che rallentano, ma possono non arrestare la progressione della malattia ed avere lo stesso grado di efficacia in tutti i pazienti. In un modello di severa nefropatia nel ratto, la nefrite passiva di Heymann (PHN), che mima le fasi avanzate della nefropatia membranosa dell'uomo, abbiamo valutato l'effetto della combinazione di ACEi con antagonista del recettore dell'angiotensina (AIIRA) e con statina che, indipendentemente dall'effetto di ridurre l'ipocolesterolemia, influenza processi di infiammazione e fibrosi. I ratti con PHN hanno ricevuto per via orale: veicolo; lisinopril; lisinopril+L-158,809; lisinopril+L-158,809+cerivastatina. I trattamenti, iniziati due mesi dopo l'induzione della malattia, quando gli animali avevano severa proteinuria e segni di danno renale, erano continuati fino al decimo mese. La pressione sistolica aumentava nel tempo negli animali con PHN ed era normalizzata dai trattamenti. ACEi riduceva la proteinuria a livelli numericamente, ma non significativamente, più bassi del gruppo veicolo. L'associazione di ACEi e AIIRA era più efficace: i valori di proteinuria erano più bassi di quelli misurati prima del trattamento e significativamente diversi dal veicolo. L'ulteriore aggiunta di statina ad ACEi e AIIRA portava ad una regressione della proteinuria e proteggeva in maniera significativa dalla perdita della funzione renale. Glomerulosclerosi, danno tubulare ed infiammazione interstiziale erano migliorati da ACEi da solo o in combinazione con AIIRA e prevenuti dall'aggiunta di statina. I ratti PHN presentavano un'aumentata espressione renale di TGFbeta che veniva normalizzata dalla triplice terapia. Questi dati suggeriscono che l'associazione di più farmaci possa rappresentare un approccio terapeutico per quei pazienti in fase avanzata della malattia renale che non rispondono al trattamento con ACEi.

Laboratorio di Immunologia e Genetica del Trapianto e Malattie Rare

Prevenzione del danno da ischemia riperfusione nel trapianto di rene

Circa il 20-30 % dei pazienti che ricevono un trapianto di rene da cadavere sviluppa insufficienza renale acuta durante le prime settimane post-trapianto e ciò è dovuto principalmente a necrosi tubulare acuta causata dal danno da ischemia e riperfusione. Questi pazienti vanno incontro ad un maggiore rischio di complicanze precoci post-trapianto, tra cui il rigetto acuto e l'outcome del trapianto a lungo termine è meno favorevole rispetto ai pazienti che non hanno sviluppato insufficienza renale acuta. Il nostro gruppo ha valutato se un acilderivato della carnitina, la propionil-L-carnitina, implicato nel pathway ossidativo degli acidi grassi e nella rigenerazione dell'ATP nei mitocondri, era in grado di prevenire l'insufficienza renale acuta causata dall'ischemia/riperfusione, in un modello di trapianto di rene singenico nel ratto. Abbiamo osservato che la funzione renale dei reni trapiantati dopo 4 ore di conservazione in soluzione di Belzer UW ghiacciata contenente propionil-L-carnitina era decisamente migliore

rispetto a quella dei reni trapiantati dopo conservazione in soluzione di Belzer UW da sola. Nello stesso modello l'aggiunta di propionil-L-carnitina alla Belzer preveniva l'infiltrazione di leucociti polimorfonucleati nel rene e riduceva il danno tubulare. Questi risultati offrono nuove prospettive per la prevenzione dell'insufficienza renale acuta post-trapianto.

Induzione di tolleranza mediante infusione di leucociti del donatore è associata alla formazione di cellule T regolatrici

Durante gli ultimi anni sono stati fatti numerosi studi per cercare metodi per prevenire il rigetto acuto del trapianto di organo solido che potessero minimizzare l'utilizzo di farmaci immunosoppressori. In precedenza il nostro gruppo aveva dimostrato che l'infusione pretrapianto di leucociti del donatore era in grado di indurre tolleranza nella maggior parte di ratti Lewis (Lw) che ricevevano un trapianto di rene incompatibile da ratti Brown-Norway (BN). Per valutare se nel nostro modello l'induzione della tolleranza fosse associata alla generazione di cellule T regolatrici, abbiamo successivamente studiato la funzione delle cellule T nelle reazioni linfocitarie miste (MLR), utilizzando cellule dei linfonodi stimulate con splenociti Lw, BN o Wistar-Furth (WF, terza parte) irradiati. Abbiamo perciò isolato i linfonodi dai ratti tolleranti Lw (sacrificati a più di 100 giorni dal trapianto di rene), e da ratti Lw naive. I linfonodi isolati dagli animali tolleranti mostravano una ridotta proliferazione nei confronti degli splenociti del donatore, mentre la risposta verso gli splenociti della terza parte era normale. Quando i linfonodi degli animali tolleranti sono stati messi in co-cultura con linfonodi di ratti naive, abbiamo visto che la risposta proliferativa verso il donatore, ma non quella verso la terza parte, era inibita. L'effetto inibitore dei linfonodi di animali tolleranti non era modificato dall'aggiunta di un anticorpo anti-IL-10 ma veniva invece abolita quando gli esperimenti di co-cultura venivano ripetuti in un sistema transwell in cui le cellule tolleranti e le cellule naive erano separate da un filtro. Ciò esclude un ruolo di IL-10 nell'induzione della tolleranza e indica che è necessario che avvenga un contatto tra cellula e cellula. L'attività immunoregolatrice dei linfociti tolleranti era confinata nella sottopopolazione CD4+CD25+. Questi risultati dimostrano che la formazione di cellule T regolatrici specifiche verso il donatore gioca un ruolo importante nel nostro modello di tolleranza.

Ottenimento di cellule dendritiche stabilmente immature mediante trasferimento genico

Nell'ambito degli studi finalizzati all'induzione della tolleranza di un organo trapiantato, il laboratorio ha avviato in collaborazione con l'Unità di Terapia Genica una serie di progetti basati sull'ottenimento di cellule dendritiche del donatore manipolate geneticamente mediante trasfezione con costrutti adenovirali. In particolare abbiamo valutato l'ipotesi che cellule dendritiche rese stabilmente immature mediante l'overespressione di una forma dominante negativa di IKK2 (dnIKK2) che blocca l'attivazione dell'NF-κB, fossero incapaci di stimolare la proliferazione di cellule T allojeniche. Cellule dendritiche dnIKK2 presentavano una ridotta espressione di antigeni MHC di classe II e di B7-1 rispetto a cellule dendritiche controllo trasfettate con il vettore nullo (Ad-null). In reazioni linfocitarie miste primarie (MLR), le cellule dendritiche dnIKK2 inducevano iporisposta in linfociti T allojenici rispetto alle cellule dendritiche Ad-null. La stimolazione secondaria con cellule dendritiche normali dei linfociti T purificati da MLR primarie con cellule dendritiche dnIKK2 non era in grado di ripristinare la risposta proliferativa delle cellule T. Nonostante la mancanza di risposta proliferativa, un'elevata % di cellule T isolate da MLR primarie con cellule dendritiche dnIKK2 esprimevano il marker CD25, il che suggerisce la formazione di cellule regolatrici. A conferma di ciò, cellule T purificate da MLR primarie con cellule dendritiche dnIKK2, messe in co-cultura con MLR naive, erano in grado di inibire la risposta proliferativa delle cellule T naive stesse. Questi risultati dimostrano che la trasfezione con dnIKK2 di cellule dendritiche dnIKK2 blocca l'attivazione dei linfociti T e che il contatto tra cellule dendritiche dnIKK2 e linfociti T

allogenici determina la formazione di cellule regolatrici. Cellule dendritiche dnIKK2 del donatore potrebbero rappresentare uno strumento terapeutico per inibire la risposta immune nel trapianto d'organo o nelle patologie autoimmuni.

Alterazioni genetiche del sistema del complemento nella sindrome emolitico uremica (SEU)

A differenza della SEU tipica del bambino, associata ad infezione da ceppi di E. coli che producono tossine shiga-like (D+SEU), le altre forme di HUS (D-SEU) hanno un outcome infausto, con morte o insufficienza renale cronica osservate nella maggior parte dei casi. Il nostro ed altri gruppi hanno dimostrato la presenza di mutazioni nel gene che codifica per il fattore H in alcuni casi di D-SEU familiare, ricorrente e anche sporadica, tuttavia dati sull'incidenza di mutazioni in questi pazienti non erano mai stati riportati. In collaborazione con il Centro di Informazione per le Malattie Rare abbiamo perciò screenato 76 pazienti con D-SEU ed abbiamo trovato mutazioni nel gene del fattore H nel 30 % di essi. L'analisi retrospettiva dei dati clinici ha rivelato che la presenza di mutazioni nel fattore H è sempre associata allo sviluppo di ricorrenza di SEU sull'organo trapiantato, con serie conseguenze per la vita del paziente. Per questo lo screening genetico è necessario prima che un paziente con D-SEU venga inserito in una lista trapianto. Per assicurare ai pazienti un migliore trattamento terapeutico, il nostro gruppo collabora con il Centro di Informazione per le Malattie Rare eseguendo la ricerca di mutazioni al fattore H in tutti i pazienti che si rivolgono al Centro per una consulenza genetica. Inoltre in collaborazione con il Dr. Peter Zipfel a Jena (Germania), abbiamo espresso alcune delle mutazioni trovate nei pazienti con SEU ed abbiamo osservato che le proteine mutate perdono la capacità di legare il Cb e le molecole eparino simili sulle cellule endoteliali. La comprensione della genetica della SEU speriamo fornirà informazioni cruciali per il trattamento futuro di questa grave malattia.

Distribuzione dei polimorfismi I/D dell'ACE e M235T dell'angiotensinogeno in pazienti ipertesi e diabetici

In letteratura sono riportati dati contrastanti sulla relazione tra i polimorfismi I/D del gene dell'ACE e M235T del gene dell'angiotensinogeno (AGT) e il diabete e l'ipertensione. Ciò probabilmente è dovuto al piccolo numero di pazienti studiati, ai diversi criteri di inclusione e ai differenti metodi utilizzati per la genotipizzazione. Nel nostro laboratorio abbiamo sviluppato un nuovo metodo basato sulla PCR-SSCP, specifico per l'analisi del genotipo M235T. La sua specificità è stata comparata con quella dei metodi precedentemente utilizzati in letteratura per tale polimorfismo. Il nuovo metodo è stato utilizzato per genotipizzare una popolazione di 1171 pazienti ipertesi con diabete di tipo II che sono stati inoltre genotipizzati per il polimorfismo I/D dell'ACE. Sono stati inoltre genotipizzati un gruppo di 88 pazienti ipertesi non diabetici ed un gruppo di soggetti sani di controllo. Il nuovo metodo in PCR-SSCP ha identificato correttamente il polimorfismo M235T in tutti i pazienti a differenza dei metodi AS-PCR e MS-PCR che hanno mostrato una preferenziale amplificazione dell'allele T. Abbiamo osservato che nei pazienti diabetici ipertesi la prevalenza del genotipo TT dell'AGT era più elevata rispetto ai soggetti normotesi di controllo ed era uguale a quella osservata nei pazienti ipertesi non diabetici. Non è stata invece osservata alcuna differenza tra i vari gruppi nella distribuzione del polimorfismo I/D dell'ACE. Questi risultati dimostrano un'associazione tra il genotipo TT del gene dell'AGT con l'ipertensione, sia nei pazienti diabetici che nei non diabetici.

Unità di Terapia Genica

Trasfezione di organi solidi mediante vettori virali propedeutica alla prevenzione del rigetto acuto dell' organo solido trapiantato

Mentre la sopravvivenza a breve termine di un trapianto renale è stata notevolmente migliorata negli ultimi decenni grazie alla scoperta della ciclosporina e di altre molecole anti-rigetto recentemente introdotte nella pratica clinica non è così per la sopravvivenza a lungo termine. L'insorgenza infatti del rigetto cronico è ancora difficile da controllare con gli attuali farmaci anti-rigetto che nel tempo inducono danno e malfunzionamento del trapianto. Uno dei fattori predittivi di insorgenza di rigetto cronico è il verificarsi di un precedente episodio di rigetto acuto. Quindi riuscire ad evitare il rigetto acuto potrebbe rivelarsi benefico anche a lungo termine. Dati precedenti del nostro laboratorio hanno dimostrato che il costrutto adenovirale codificante per CTLA4Ig, una proteina chimerica in grado di bloccare il segnale di costimolazione CD28/B7, è in grado di prolungare la sopravvivenza del rene di ratto trapiantato in un animale altamente incompatibile in assenza di terapia immunosoppressiva. Poiché dati in letteratura hanno dimostrato che il trasferimento genico di interleuchina (IL)-10 o di transforming growth factor-beta (TGF-beta) erano in grado di prolungare la sopravvivenza di un allotrapianto di fegato e cuore, abbiamo valutato se adenovirus codificanti per vIL-10 e TGF-beta3 fossero in grado di prolungare la sopravvivenza anche di un allotrapianto renale sia somministrati singolarmente che in combinazione con CTLA4Ig. Nell'ambito di questi studi, la combinazione di TGF-beta3 e CTLA4Ig è risultata efficace.

Ricerca di vettori virali altamente efficienti ma meno immunogenici

L'unità di terapia genica si sta dedicando alla costruzione di vettori adenovirali più deleti (delezione delle regioni E1, E2a e E3 del genoma virale) per ridurre l'immunogenicità. Nel contesto della ricerca di nuovi vettori, stiamo anche valutando la capacità di vettori adeno-associati (AAV), codificanti per il gene reporter beta-gal, di trasfettare il rene di ratto in un modello di trapianto singenico. In particolare, stiamo valutando il time-course di espressione del transgene e l'eventuale presenza di infiltrati. Questo studio è condotto in collaborazione con il Dr Mauro Giacca dell'Istituto ICGEB di Trieste.

Trasfezione di cellule dendritiche per indurre tolleranza di organi solidi

Nell'ambito delle possibili strategie per indurre la tolleranza di un organo trapiantato, l'Unità di Terapia Genica si sta interessando, in collaborazione con il Laboratorio di Immunologia e Genetica del Trapianto e Malattie Rare diretto dalla Dr Marina Noris, alla trasfezione di cellule dendritiche del donatore con costrutti adenovirali. A tale scopo, abbiamo costruito un vettore adenovirale di seconda generazione (deleto nelle regioni E1, E2a e E3) che codifica per il recettore di una chemochina prodotta dal timo, il CCR9 (AdCCR9). Cellule dendritiche trasfettate con AdCCR9 esprimono alti livelli di mRNA. Sono in corso esperimenti in vivo in un modello di allotrapianto renale in ratti. Cellule dendritiche immature sono state trasfettate con un vettore adenovirale di prima generazione codificante per dnIKK2 allo scopo di mantenere le cellule dendritiche in uno stato di immaturità. Sono in corso studi in vivo.

DIPARTIMENTO DI BIOINGEGNERIA

PERSONALE

Capo Dipartimento

Andrea REMUZZI, Dr.Ing.

Laboratorio di Biofisica Renale

Capo Laboratorio

Daniela MACCONI, Dr.Sci.Biol.

Laboratorio di Tecnologie Biomediche

Capo Laboratorio

Bogdan ENE IORDACHE, Dr.Bio.Ing.

Unità di Ingegneria dei Tessuti

Capo Unita'

Marina FIGLIUZZI, Dr.Sci.Biol.

INTRODUZIONE ALLE ATTIVITA' DEL DIPARTIMENTO

Lo scopo dei programmi di ricerca del Dipartimento è l'impiego di tecniche ingegneristiche per lo studio di processi fisiopatologici e per lo sviluppo di strategie terapeutiche innovative. Le competenze acquisite in anni di attività in questo settore hanno permesso di avviare diverse linee di ricerca, sia di base che applicata. Gli strumenti utilizzati sono di varia natura e comprendono l'impiego di modelli teorici per l'analisi di fenomeni biologici, di immagini sia diagnostiche che microscopiche per quantificare le strutture tridimensionali oggetto di studio, misure dirette o indirette di parametri fisico-chimici sia a livello sperimentale che clinico, l'impiego di tecnologie informatiche per l'archiviazione e l'analisi dei dati clinici e, infine, l'impiego di tecniche di colture cellulari per generare tessuti biologici in laboratorio. In particolare sono in corso studi in quattro settori della ricerca biomedica. Il primo è quello relativo allo studio dei meccanismi coinvolti nella progressione del danno renale nelle nefropatie croniche. Queste indagini sono mirate a indagare i meccanismi responsabili di queste patologie e a documentare l'effetto protettivo di trattamenti farmacologici impiegati per rallentare la progressione o per arrestarla. Un'altra area di interesse del programma di ricerca in bioingegneria è costituita dagli studi emodinamici in campo vascolare. Obiettivo di questi studi è quello di caratterizzare le condizioni emodinamiche coinvolte nel danno vascolare affiancando lo studio dei determinanti biochimici del danno con quelli biofisici. Il più recente sviluppo del programma di bioingegneria è legato all'ingegneria dei tessuti. In questo ambito siamo coinvolti nello sviluppo di un pancreas bio-artificiale, di vasi sanguigni bio-artificiali e di colture di condrociti per la generazione di cartilagine bio-artificiale. Infine, grazie alle competenze sviluppate nell'area informatica, stiamo sviluppando sistemi informativi innovativi per la gestione di dati clinici sia nell'ambito di studi controllati che nella pratica clinica convenzionale.

SCOPERTE/RISULTATI PRINCIPALI

- Il lavoro svolto nell'ambito della ricostruzione tridimensionale dei grossi vasi arteriosi ha permesso di sviluppare programmi di calcolo che sono in grado di elaborare nel giro di poche ore indagini TAC o RM per la visualizzazione tridimensionale dei vasi e la simulazione del flusso ematico nel distretto. Questa tecnologia potrà permettere di ottenere informazioni aggiuntive da indagini TAC e RM angiografiche.
- Nell'ambito delle analisi numeriche sui grossi vasi abbiamo eseguito simulazioni su alcuni tratti arteriosi che sono di interesse nelle attività cliniche svolte nel Centro Daccò. In particolare, abbiamo studiato il moto del sangue all'interno della fistola arterovenosa di pazienti emodializzati, ottenendo così una mappa precisa dei cambiamenti dello sforzo di taglio sulla parete in conseguenza a variazioni croniche del flusso. La novità del nostro studio è l'aver dimostrato che l'arteria si adatta al cambiamento della portata ematica in modo da mantenere costante il picco dello shear stress, anziché il valore medio, come precedentemente riportato in letteratura. Abbiamo anche realizzato simulazioni emodinamiche in modelli di aorta addominale ricostruiti da indagini RM. In particolare questa tecnica è stata impiegata in una paziente affetta da una malattia rara, l'arterite di Takayasu.
- Abbiamo recentemente sviluppato una cartella elettronica (e-CRF) per uno studio clinico controllato che permette la raccolta dei dati nei vari centri dello studio, facilitando il lavoro degli investigatori. Questo strumento innovativo permette di raccogliere i dati degli studi clinici senza bisogno di supporto cartaceo con notevoli vantaggi in termini di tempo di raccolta dei dati e possibilità di monitoraggio immediato.

- Abbiamo attivato il sito della rete regionale per le Malattie Rare all'indirizzo <http://malattierare.marionegri.it>. Il sito pubblica le ultime informazioni della normativa italiana sulle malattie rare e farmaci orfani, un elenco ed un database dei presidi ospedalieri della Regione Lombardia che si occupano delle malattie rare, ed un database aggiornato delle associazioni di pazienti.

- Gli studi nel campo della regressione delle malattie renali hanno permesso di dimostrare che una terapia basata sull'antagonismo dell'angiotensina II è in grado non solo di arrestare la malattia renale in un modello animale spontaneo di nefropatia ma anche di indurre un certo grado di regressione del danno funzionale e strutturale. Queste indicazioni aprono prospettive veramente interessanti per la cura di queste patologie che sono responsabili dell'ingresso in dialisi di molti pazienti ogni anno nel nostro paese.

- Gli studi condotti in vitro in podociti differenziati in coltura esposti a angiotensina II hanno evidenziato il ruolo fondamentale del citoscheletro nel regolare le proprietà selettive della membrana dello slit, attraverso il controllo delle proteine che lo compongono e suggeriscono che preservare tale funzione sia il meccanismo attraverso cui farmaci che bloccano l'angiotensina II esercitano la loro azione renoprotettiva. L'identificazione di una classe di tirosina chinasi quali segnali intracellulari responsabili della riorganizzazione del citoscheletro e delle proteine in modelli di nefropatia proteinurica.

- Le tecniche di ingegneria dei tessuti sviluppate nel nostro laboratorio hanno permesso di generare alcuni dispositivi contenenti materiali artificiali e cellule in grado di comportarsi come protesi biologicamente attive. In particolare abbiamo generato un dispositivo contenente isole pancreatiche in grado di essere impiantato sottocute nel ratto reso diabetico e di controllare la glicemia per un periodo di tempo significativo. Queste ricerche incoraggiano a perseguire la strada del trapianto di isole immunoisolate nell'uomo per il controllo della glicemia senza necessità di trattamenti farmacologici.

COLLABORAZIONI NAZIONALI

Dr. Caverni, Prof. Cornalba, Unità di Radiologia, Ospedale San Paolo, Milano

Prof. Pietrabissa, Dr. Sara Mantero, Dr. Manuela Raimondi, Dipartimento di Bioingegneria, Politecnico di Milano, Milano

Dr. Mario Marazzi, Divisione di chirurgia Plastica, Ospedale Ca' Granda, Niguarda, Milano

Dr. Alessandra Pavesio, Dr. Claudio de Luca, Fidia Advanced Biopolymers, Abano Terme, Padova

Dr. Giorgio Soldani, Istituto di Fisiologia Clinica CNR, Pisa

Dr. Corrado Piconi, Tecnobio medica, Roma

COLLABORAZIONI INTERNAZIONALI

Prof. R. M. Nerem, Institute for Bioengineering and Bioscience, Georgia Institute of Technology, Atlanta GA , USA.

Prof. W. M. Deen, Massachusetts Institute of Technology, Cambridge MA, USA.

Prof. D. Neuenschwander, Politecnico Federale di Zurigo, Dept. of Material Science, Zurich

Prof. Hiroshi Kawachi, Istituto di Nefrologia, Dipartimento di Biologia Cellulare, Niigata University Graduate School of Medical and Dental Sciences

PRESENZA IN COMITATI EDITORIALI

Remuzzi Andrea, Associated Editor della rivista "Drugs of Today"

ATTIVITA' DI REVISIONE

Attività di revisione di lavori sottoposti per pubblicazione sulle riviste: Kidney International, Nephron, European Journal of Physiology, Journal of the American Society of Nephrology.

ORGANIZZAZIONE DI EVENTI

Seminario Prof. Steinman –" Image-based CFD Modelling: Applications to Vascular Biology and Beyond"- Gennaio 2002

Seminario Prof. Dewey –"Biomedical Information Technology "- Giugno 2002

PARTECIPAZIONE AD EVENTI CON CONTRIBUTI DEL DIPARTIMENTO

Remuzzi Andrea, partecipazione al convegno "Tissue Engineering 2002" Ottobre 13-16, 2002 Atlanta Georgia.

Remuzzi Andrea, partecipazione al convegno "XXI Scuola Annuale del Gruppo Nazionale di Bioingegneria", Settembre 2002, Bressanone

CONTRIBUTI E CONTRATTI

Progetto di ricerca "Effects of ITF1697 on leukocyte and platelet interaction with endothelial cells under dynamic flow conditions", Italfarmaco SpA, Bresso (MI)

Progetto di ricerca "Theoretical analysis and graphical representation of the selectivity of polysulfone membranes towards albumin and [beta] 2-microglobulin" Fresenius GmbH, Germany

Progetto di Ricerca "FIRB-Ingegneria del Tessuto Vascolare" PNR 2002/04

SELEZIONE PUBBLICAZIONI SCIENTIFICHE APPARSE NELL'ANNO 2002

Imberti B., Seliktar D., Remuzzi A and Nerem R.M. The response of endothelial cells to fluid shear stress using a co-culture model of the arterial wall. *Endothelium*, 9(1):9-21, 2002.

Raimondi M.T., Boschetti F., Falcone D., Fiore G.B., Remuzzi A., Marinoni E., Marazzi M. and Pietrabissa R. Mechanobiology of engineered cartilage cultured under a quantified fluid dynamic environment. *Biomech Model Mechanobiol* 1:69-82, 2002.

Antiga L., Ene-Iordache B., Caverni L., Cornalba G.P. and Remuzzi A. Geometric reconstruction for computational mesh generation of arterial bifurcations from CT angiography. *Comp Med Imaging and Graphics* 26: 227-235, 2002.

Pisoni R., Ruggenti P., Sangalli F., Lepre M.S., Remuzzi A. and Remuzzi G. Glomerular permselectivity amelioration by ramipril is not improved by indomethacin. *Kidney Int*, 62:1010-1019, 2002.

Remuzzi A., Gagliardini E., Donadoni C., Fassi A., Sangalli F., Lepre M.S., Remuzzi G. and Benigni A. Effect of angiotensin II antagonism on regression of kidney disease in the rat. *Kidney Int* 62:885-894, 2002.

Campbell R., Sangalli F., Peticucci E., Aros C., Viscarra C., Perna A., Remuzzi A., Bertocchi F., Remuzzi G., Fagiani L. and Ruggenti P. Hemodynamics and glomerular permeability effect of combined ACE inhibitor and angiotensin II antagonist treatment in human chronic nephropathies. *Kidney Int* 63: 1094-1103, 2003.

Remuzzi A, Ene-Iordache B., Mosconi L, Bruno S, Antiga L, Remuzzi G., Shear stress regulation of radial artery remodeling in patients with arteriovenous fistula for hemodialysis access. *Biorheology*, 40:423-30, 2003.

Antiga L., Ene-Iordache B., Remuzzi A., Computational geometry for patient-specific reconstruction and meshing of blood vessel from MR and CT angiography. *IEEE Trans Med Imaging*, in press

SELEZIONE PUBBLICAZIONI DIVULGATIVE APPARSE NELL'ANNO 2002

Remuzzi A. Mantero S. "Ingegneria del tessuto vascolare" in "Ingegneria dei Tessuti Biologici" ed. R. Cancedda R. Pietrabissa, Patron Editore

ATTIVITA' DI RICERCA

Laboratorio di Biofisica Renale

Studio in vitro sul ruolo dell'angiotensina II nei meccanismi molecolari responsabili dell'alterata funzione della barriera glomerulare.

Una proteinuria persistente predice la progressione della nefropatia verso l'insufficienza renale. Il trattamento con farmaci che bloccano l'angiotensina II è efficace nel limitare il traffico di proteine attraverso la membrana glomerulare ed esercita un effetto renoprotettivo nelle nefropatie diabetiche e non diabetiche. Tuttavia la protezione, sebbene ottimale nell'animale, non è completa nell'uomo. Identificare i meccanismi molecolari responsabili dell'alterata funzione della barriera glomerulare e della resistenza ai farmaci diventa perciò cruciale per future strategie. I podociti ed, in particolare, le giunzioni intercellulari che li uniscono (slit diaphragms) hanno un ruolo determinante nel mantenere le proprietà selettive della parete del capillare glomerulare al passaggio delle macromolecole. In studi condotti in vitro abbiamo dimostrato che l'angiotensina II induce alterazione nella distribuzione della proteina zonula occludens-1 (ZO-1), un componente dello slit diaphragm, in podociti differenziati in coltura e aumenta la permeabilità del monostrato cellulare all'albumina. Questi eventi sono secondari alla riorganizzazione del citoscheletro la quale la ZO-1 è fisicamente associata. L'inibizione del legame dell'angiotensina II al suo recettore preserva la funzione del podocita prevenendo l'attivazione di segnali intracellulari, quali le Src chinasi e la fosfolipasi C, che contribuiscono alla riorganizzazione del citoscheletro e alla redistribuzione della ZO-1.

** in collaborazione con il Dipartimento di Medicina Molecolare, Laboratorio di Biologia Cellulare e Xenotrapianto*

Studio in vivo sul ruolo dell'angiotensina II nei meccanismi molecolari responsabili dell'alterata funzione della barriera glomerulare.

Sulla base delle informazioni ottenute in vitro abbiamo cercato di approfondire, in modelli animali in vivo, le nostre conoscenze sull'espressione delle proteine che compongono lo slit diaphragm, sulla loro interazione e l'interazione con il citoscheletro in condizioni fisiologiche, di proteinuria e in conseguenza al trattamento con farmaci che bloccano l'angiotensina II. Utilizzando un modello di danno glomerulare spontaneo, analogamente a quanto già dimostrato per la ZO-1, risultati preliminari documentano effettive alterazioni nell'espressione glomerulare della nefrina in ratti proteinurici rispetto ad animali controllo. che possono essere responsabili dell'alterata escrezione urinaria di proteine.

** In collaborazione con il Dipartimento di Medicina Molecolare, Laboratorio Modelli Sperimentali di Malattie Renali*

Regressione della malattia renale in un modello animale

Numerosi studi clinici e sperimentali dimostrano che farmaci che ostacolano l'azione dell'angiotensina II, sono in grado non solo di controllare la pressione sistemica ma anche di ridurre la velocità di progressione del danno renale. L'obiettivo dei nostri studi in questo settore è quello di verificare se un trattamento intensivo con farmaci che riducono l'azione dell'angiotensina II sia in grado di far regredire il danno renale a livello strutturale e funzionale. A questo scopo abbiamo trattato animali spontaneamente affetti dal danno renale con un ACE inibitore e abbiamo valutato l'effetto del trattamento sulla funzione e sulla struttura del tessuto renale. I risultati preliminari ottenuti dimostrano che il trattamento farmacologico è in grado di far regredire completamente l'escrezione urinaria di proteine e di arrestare l'aumento di creatinina serica. L'osservazione morfologica ha permesso di documentare una effettiva riduzione del danno glomerulare e una consistente regressione delle lesioni sclerotiche. Questi

risultati indicano che è possibile perseguire una nuova importante strada nella cura di queste patologie, che consiste non solo nell'arrestare la progressione della malattia ma addirittura nel farla regredire, mediante rigenerazione di parte del tessuto danneggiato.

** In collaborazione con il Dipartimento di Medicina Molecolare, Laboratorio Modelli Sperimentali di Malattie Renali*

Determinazione della selettività glomerulare alle macromolecole.

Le malattie renali proteinuriche progrediscono spesso verso l'insufficienza renale terminale. Il nostro gruppo di ricerca ha formulato l'ipotesi che la perdita di permeabilità alle macromolecole della membrana glomerulare sia il passo iniziale nel processo patologico che porta alla necessità del trattamento dialitico. Lo studio dei meccanismi responsabili del danno renale richiede un'attenta valutazione dei fenomeni di trasporto che hanno luogo attraverso la membrana capillare glomerulare. L'obiettivo di questi studi è di valutare sperimentalmente le proprietà selettive della membrana glomerulare in pazienti affetti da nefropatie e di studiare se trattamenti farmacologici in grado di antagonizzare l'effetto dell'angiotensina II sono in grado di migliorare le proprietà selettive della membrana capillare glomerulare. Le tecniche impiegate in questi studi sono basate sulla determinazione della clearance renale di traccianti per determinare la selettività della membrana glomerulare a molecole neutre di diversa grandezza. L'utilizzo di modelli teorici permette poi di stimare alcuni parametri che descrivono la selettività della membrana in termini di distribuzione dei raggi di ipotetici pori. Gli studi recentemente completati hanno dimostrato che il trattamento sia con ACE inibitori, che con antagonisti recettoriali dell'angiotensina induce un'effettiva riduzione delle dimensioni dei pori della membrana glomerulare in diverse patologie renali croniche progressive e in pazienti sottoposti a trapianto di rene.

Laboratorio di Tecnologie Biomediche

Ricostruzione tridimensionale ed analisi geometrica di segmenti vascolari mediante angiografia TAC e RM

L'evidenza che le placche aterosclerotiche si formano principalmente nelle ramificazioni del circolo arterioso ha portato a ipotizzare che condizioni emodinamiche "disturbate" favoriscano l'insorgenza dell'aterosclerosi. Data l'influenza della forma del vaso sull'emodinamica, è importante disporre di metodi accurati e veloci di ricostruzione geometrica. Le tecniche angiografiche moderne, come la tomografia assiale computerizzata (TAC) e la risonanza magnetica (RM), permettono di ottenere informazioni dettagliate sulla struttura dei vasi. Nel nostro laboratorio abbiamo sviluppato tecniche per la ricostruzione tridimensionale, l'analisi geometrica e la generazione di mesh per il calcolo numerico di tratti arteriosi da angiografie. Immagini TAC e RM vengono trasferite su calcolatore grazie al protocollo di trasferimento DICOM. Usando algoritmi di modellazione tridimensionale, abbiamo generato superficie tridimensionali che riproducono accuratamente l'interfaccia tra parete vascolare e lume del vaso. Sul modello generato possiamo effettuare misure accurate utilizzando algoritmi di geometria computazionale. Le stesse tecniche sono state impiegate per la generazione di mesh per il calcolo fluidodinamico agli elementi finiti. Tutte le procedure sono state sviluppate con l'obiettivo di minimizzare l'intervento dell'operatore e massimizzare l'accuratezza dei risultati.

Analisi numerica computazionale del moto del sangue in segmenti vascolari arteriosi

Numerosi studi hanno dimostrato uno stretto rapporto fra le condizioni emodinamiche locali e la formazione di placche aterosclerotiche. Il danno vascolare insorge preferenzialmente in prossimità delle ramificazioni, dove lo shear stress (la forza di scorrimento indotta sulla parete del vaso dal moto del sangue) è basso e oscillante durante il ciclo cardiaco. Lo shear stress non è misurabile direttamente, ma viene calcolato come prodotto della derivata della velocità del sangue in direzione normale alla parete e la viscosità del sangue. Per calcolarlo si utilizzano tecniche numeriche mediante programmi di "computational fluid dynamics" (CFD). Lo scopo di questo progetto è quello di simulare con tecniche numeriche le condizioni emodinamiche sulla parete vascolare a livello del singolo paziente. Abbiamo studiato alcuni segmenti vascolari, ricostruiti a partire da angiografie TAC o RM, e abbiamo simulato il moto del sangue al loro interno. Per le simulazioni numeriche vengono usate come condizioni al contorno le velocità del sangue misurate mediante echo-color-Doppler del paziente. Obiettivo di queste ricerche è quello di mettere a punto tecniche che permettano di studiare le relazioni tra lo sforzo di taglio indotto dal moto del sangue e il danno vascolare che si sviluppa.

Rimodellamento dell'arteria radiale nelle fistole arterovenose del paziente emodializzato

E' stato ipotizzato che il rimodellamento vascolare dipenda da variazioni delle condizioni emodinamiche che possono derivare da variazioni della portata ematica. In particolare, è stato ipotizzato che lo shear stress medio nel tempo indotto dal moto del sangue sulla parete influenzi la funzione delle cellule endoteliali che sembrano agire come recettori meccanici. Abbiamo disegnato il presente studio per investigare la relazione fra lo shear stress pulsatile ed il rimodellamento dell'arteria radiale dopo un aumento cronico della portata ematica, dovuto alla creazione di una fistola arterovenosa nei pazienti emodializzati. Mediante l'esame ecografico abbiamo misurato il diametro dell'arteria radiale e l'andamento della velocità al centro del vaso. In concomitanza con l'ecografica è stato eseguito un prelievo di sangue per determinare la concentrazione di proteine plasmatiche e l'ematocrito, usate per calcolare la viscosità del sangue. Abbiamo effettuato rilevazioni prima e dopo l'intervento chirurgico, ad una settimana, un mese e tre mesi. Sulla base delle misure effettuate abbiamo calcolato mediante un modello analitico (Womersley) l'andamento dello shear stress nel tempo sulla parete dell'arteria radiale. I risultati hanno evidenziato una stretta relazione tra il rimodellamento e le caratteristiche dello sforzo di taglio alla parete, e indicato un nuovo meccanismo di risposta alle variazioni emodinamiche croniche.

**in collaborazione con il Dipartimento di Medicina Renale, Laboratorio di Fasi Avanzate dello Sviluppo dei farmaci*

Data management per Studi Clinici Controllati

Nel centro di Ricerche Cliniche "Aldo e Cele Daccò", in collaborazione con altri gruppi di ricerca a livello nazionale o internazionale, sono in corso numerosi studi clinici. Questi studi devono essere svolti secondo le linee guida di Good Clinical Practice (GCP) e richiedono un'adeguato standard di qualità nella raccolta di dati e nella loro gestione. Ogni studio clinico richiede la preparazione di case report form (CRF) su carta per la registrazione dei dati clinici. Tali dati devono essere quindi archiviati in maniera elettronica in database appositamente predisposti. Nel nostro laboratorio abbiamo realizzato una libreria di forms per facilitare il design e la stampa dei CRF. Abbiamo sviluppato diverse basi di dati per gli studi clinici, utilizzando sistemi tradizionali di tipo Relational Database Management System (RDBMS). Usando il linguaggio Visual Basic abbiamo sviluppato programmi finalizzati all'elaborazione, convalida ed all'analisi statistica dei dati. Ultimamente abbiamo sviluppato un sistema innovativo di raccolta dei dati da CRF elettronici anziché cartacei. Il sistema è basato sull'uso di

personal computers in dotazione ai medici investigatori. Il sistema permette di evitare completamente l'uso della modulistica cartacea.

Sviluppo di un sito Internet per la Rete Regionale per le Malattie Rare

Recentemente è stata istituita in Italia la rete nazionale per le malattie rare, con lo scopo principale di ridurre le difficoltà dei pazienti affetti da malattie rare. Per la Regione Lombardia, come riconoscimento di quanto fatto finora nel campo delle malattie rare nel nostro Istituto, è stato individuato come Centro con funzioni di Coordinamento il Centro di Ricerche Cliniche per le Malattie Rare Aldo e Cele Daccò. L'attività di coordinamento propria viene svolta dal Centro di Informazioni per le Malattie Rare. E' sorta quindi l'esigenza di realizzare un sito web dedicato alla rete regionale per le malattie rare della Lombardia. Nel nostro Laboratorio abbiamo installato un server web dedicato e realizzato il sito internet consultabile all'indirizzo <http://malattierare.marionegri.it>. Mentre i colleghi del Centro di Informazioni per le Malattie Rare si occupano di generare le informazioni da divulgare, il nostro Laboratorio assicura l'amministrazione, la manutenzione e la pubblicazione dei contenuti del sito.

** in collaborazione con il Laboratorio di Coordinamento Informazione e Diagnosi delle Malattie Rare*

Sviluppo di un vaso bioartificiale mediante scaffold in acido ialuronico.

L'uso di protesi vascolari sintetiche di piccolo calibro è limitato dall'elevato rischio trombotico. Un sostituto vascolare ideale deve possedere la capacità di risposta funzionale agli stimoli causati dalle variazioni di portata ematiche e/o di sostanze circolanti vasoattive. Queste proprietà possono essere ottenute solamente con una protesi biologica che dovrebbe essere caratterizzata anche da meccanismi di riparazione, rimodellamento e crescita che sono propri dei vasi nativi. L'ingegneria dei tessuti si propone, attraverso tecniche di coltura in vitro di cellule vascolari su supporti tridimensionali biodegradabili di generare strutture vascolari. Le ricerche in corso nei nostri laboratori sono rivolte all'utilizzo di un materiale biodegradabile per la generazione di costrutti con cellule vascolari. Abbiamo messo a punto una tecnica sperimentale che permette la semina di cellule muscolari lisce dell'aorta di maiale e la generazione di un costrutto tubolare del diametro interno di circa quattro millimetri. L'analisi istologica e prove meccaniche preliminari hanno permesso di documentare un buon grado di popolazione cellulare del materiale e le sue proprietà meccaniche in termini di resistenza ed elasticità. Attualmente stiamo sviluppando sistemi sperimentali che permettano di sollecitare meccanicamente il costrutto vascolare per riprodurre le condizioni fisiche che caratterizzano la parete dei vasi arteriosi di piccolo calibro.

**In collaborazione con il laboratorio di Biologia della cellula e Xenotrapianto*

Trapianto di isole pancreatiche immunoisolate mediante capsule di alginato in ratti diabetici.

L'inclusione di isole pancreatiche in microcapsule di alginato è una valida strategia per il trattamento del diabete insulino-dipendente, perché le isole possono garantire un'appropriata produzione di insulina e le capsule sono in grado di prevenire il rigetto immunologico perché impermeabili alle cellule del sistema immunitario dell'ospite. Scopo del progetto è quello di verificare se isole pancreatiche bovine incapsulate in gel di alginato siano in grado di ridurre i livelli ematici di glucosio in modo differente in due ceppi di ratti diabetici. Microcapsule contenenti le isole o microcapsule vuote sono state impiantate nella cavità peritoneale di ratti Sprague-Dawley o Munich Wistar Fromter preventivamente resi diabetici con streptozotocina. In entrambi i ceppi di ratti si è osservato un rapido abbassamento della glicemia e la condizione di normoglicemia si è mantenuta stabile e costante nel tempo per diverse settimane. Al contrario gli animali trapiantati con capsule di alginato vuote si sono mantenuti nel range iperglicemico per tutta la durata dell'osservazione. I risultati ottenuti dimostrano che capsule di alginato

costituiscono un buon sistema di immunisolamento per prevenire il rigetto di isole pancreatiche trapiantate.

Sviluppo di un dispositivo per il trapianto di isole pancreatiche immunisolate.

Il trapianto di isole pancreatiche è attualmente di grande interesse per la cura del diabete di tipo I e l'immunisolamento è una delle strategie utilizzate per prevenire il rigetto del materiale impiantato. Nel nostro laboratorio abbiamo sviluppato un dispositivo di immunisolamento per inglobare le isole costituito da fibre cave semipermeabili in polisulfone affiancate parallelamente l'una all'altra. Le membrane hanno una permeabilità in grado di bloccare il passaggio di cellule e macromolecole, ma che lascia passare molecole di piccole dimensioni. Scopo del progetto è quello di valutare la sopravvivenza e la funzionalità di isole pancreatiche bovine immunisolate nel dispositivo a fibre cave. Abbiamo trapiantato due dispositivi contenenti 16.000 isole pancreatiche bovine sottocute sul dorso in ratti Munich Wistar Fromter (MWF) o Sprague-Dawley (SD) preventivamente resi diabetici con streptozotocina. L'impianto dei dispositivi contenenti le isole nei ratti MWF ha portato ad un pronto abbassamento della glicemia. Le condizioni di normoglicemia si sono mantenute sino a 20 giorni dopo l'impianto. Al contrario in ratti SD l'impianto dei dispositivi ha permesso di mantenere una condizione di normoglicemia solo per 5 giorni in media. I risultati fino ad ora ottenuti confermano che le isole contenute nel dispositivo costituito da fibre cave di polisulfone sopravvivono per più giorni permettendo un adeguato scambio di glucosio e insulina e che la perdita di funzionalità dipende dal grado di reazione al materiale artificiale.

Isolamento di isole pancreatiche finalizzato al trapianto nell'uomo.

Il trapianto di isole pancreatiche umane nei pazienti diabetici potrebbe portare a grandi vantaggi in termini di miglioramento della qualità di vita e di sopravvivenza. In questi ultimi anni è stato dimostrato che questo tipo di trapianto è molto efficace se viene trapiantato un numero sufficiente di isole. La finalità di questo progetto è quella di mettere a punto tecniche per isolare un numero adeguato di isole umane vitali e funzionanti tali da poter essere, in futuro, trapiantate in pazienti diabetici. La metodica da noi utilizzata sino a qualche mese fa consiste nella separazione manuale del tessuto pancreatico su setacci con porosità differente. In questi mesi abbiamo migliorato la tecnica utilizzando un metodo automatico, in particolare una camera di digestione collegata ad un circuito di perfusione che permette il ricircolo delle soluzioni di digestione. Con questa tecnica possiamo controllare in modo più efficace la variazione di temperatura e le fasi del processo di digestione. Nel corso dell'anno abbiamo processato i primi pancreas umani mediante il metodo manuale con una resa media di 217 ± 179 isole/g di tessuto. Nelle separazioni eseguite utilizzando il metodo automatico abbiamo ottenuto invece 2700 ± 1220 isole/g di tessuto in media. Le modifiche apportate alla metodica di separazione hanno permesso di migliorare considerevolmente la resa del procedimento permettendo di prevedere un potenziale utilizzo nel trapianto di isole.

Utilizzo di tessuto esocrino di pancreas bovino come fonte di cellule staminali

Il trapianto di isole pancreatiche è un possibile trattamento per la cura del diabete di tipo I, ma la scarsità di pancreas di donatori umani spinge alla ricerca di procedure alternative per ottenere cellule che producono insulina. La neogenesi in vitro di tessuto endocrino da cellule staminali del pancreas potrebbe costituire una nuova fonte di cellule beta che producono insulina. Scopo del progetto è di valutare se, partendo da tessuto esocrino di pancreas bovino, si possono ottenere cellule in grado di proliferare per lungo tempo in coltura e, al tempo stesso, di differenziarsi in cellule che contengono insulina. La frazione di tessuto esocrino normalmente scartata dalle preparazioni di isole pancreatiche bovine viene mantenuta in coltura per 7 giorni,

dopo di che una parte delle cellule viene continuamente espansa per incrementarne la quantità mentre la parte restante viene indotta alla differenziazione con l'aggiunta al terreno di coltura di fattori di crescita. A tempi differenti, campioni di cellule vengono processati per analisi immunostochimica con markers specifici delle cellule acinari, delle cellule epiteliali del dotto e per l'insulina. Le cellule del tessuto esocrino in coltura continuano a proliferare per lungo tempo mentre le cellule indotte alla differenziazione modificano la loro struttura e dopo circa 2-3 settimane in coltura, si addensano e formano aggregati tridimensionali, con struttura molto simile a quella delle isole, che contengono cellule positive per l'insulina.

**Centro di Ricerche Cliniche
per le Malattie Rare
Aldo e Cele Daccò Ranica (Bg)**

**RAPPORTI
ATTIVITA' 2002
dipartimenti**



DIPARTIMENTO DI MEDICINA RENALE

PERSONALE

Capo Dipartimento Piero RUGGENENTI, Dr.Med.Chir.

Laboratorio di Biostatistica

Capo Laboratorio Annalisa PERNA, Dr.Sci.Stat.

Unità di Monitoraggio dei Farmaci

Capo Unita' Giulia GHERARDI, Dipl.Liceo Scientifico

Laboratorio di Farmacocinetica e Chimica Clinica

Capo Laboratorio Flavio GASPARI, Dr.Chim.

Laboratorio di Fasi Avanzate dello Sviluppo dei Farmaci nell'Uomo

Capo Laboratorio Norberto PERICO, Dr.Med.Chir.

Unità di Fasi Precoci dell'Utilizzo dei Farmaci nell'Uomo

Capo Unita' Aneliya PARVANNOVA, Dr.Med.Chir.

INTRODUZIONE ALLE ATTIVITA' DEL DIPARTIMENTO

Il Dipartimento di Medicina Renale è stato istituito nel 1999 presso il Centro di Ricerche Cliniche per le Malattie Rare “Aldo e Cele Daccò” – Villa Camozzi, Ranica per coordinare le attività di tre laboratori e due unità.

Il Dipartimento si dedica in principal modo allo studio dei meccanismi di progressione delle nefropatie croniche e alla definizione di nuove strategie di prevenzione/trattamento della nefropatia diabetica, delle nefropatie croniche non diabetiche, della nefropatia cronica del trapianto, delle complicanze cardiovascolari del paziente diabetico, nefropatico, dializzato o trapiantato e delle microangiopatie trombotiche.

Gli obiettivi principali di queste attività sono:

1. Identificare strategie di screening e intervento atte a prevenire l'insorgenza della nefropatia e di altre complicanze croniche nel paziente diabetico e/o iperteso
2. Definire strategie di intervento per prevenire o rallentare la progressione delle nefropatie croniche ed eventualmente ottenere una remissione/regressione del danno renale
3. Ottimizzare i protocolli di terapia immunosoppressiva nel trapianto col fine ultimo di ottenere la tolleranza dell'organo trapiantato ed identificare nuovi criteri di selezione dei donatori per aumentare il pool di organi disponibili

Questi obiettivi vengono perseguiti attraverso le seguenti modalità operative principali:

1. studi pilota di fisiopatologia e farmacologia clinica realizzati interamente presso il Centro di Ricerche Cliniche per testare nuove ipotesi patogenetiche e nuove modalità di intervento
2. realizzazione di networks e coordinamento di trials multicentrici nazionali e internazionali per verificare l'efficacia di nuovi trattamenti identificati nelle fasi di cui in a.
3. metanalisi e sviluppo di modelli probabilistici per testare fattori di rischio e trattamenti su grandi campioni di pazienti e verificarne il valore predittivo e l'efficacia a livello individuale.

Molte di queste attività si avvalgono di una stretta collaborazione con il Dipartimento di Medicina Molecolare, del Dipartimento di Bioingegneria e del Dipartimento Pubblico-Privato di Medicina Specialistica e dei Trapianti col fine ultimo di programmare le attività di ricerca clinica del Dipartimento alla luce delle conoscenze che derivano dalla ricerca di base e delle problematiche che emergono dalla attività clinica di routine.

SCOPERTE/RISULTATI PRINCIPALI

Definizione e validazione di nuovi protocolli integrati di trattamento atti a rallentare la progressione e/o ottenere la remissione/regressione delle nefropatie croniche diabetiche e non diabetiche

Caratterizzazione dell'effetto antiproteinurico, nefroprotettivo e cardioprotettivo dell'inibizione massimale e polifarmacologica del sistema renina angiotensina

Identificazione di fattori di rischio acquisiti o congeniti per lo sviluppo di complicanze croniche del diabete

Definizione e validazione di trattamenti specifici per la nefropatia membranosa idiopatica e la sindrome emolitico uremica associata a deficit di fattore H

Definizione e validazione di nuove metodiche di laboratorio e di modelli predittivi per il monitoraggio e ottimizzazione della terapia immunosoppressiva nel trapianto

Ottimizzazione di procedure di diagnostica e monitoraggio ecodoppler delle complicanze vascolari del paziente trapiantato ed emodializzato

Finalizzazione ed avvio di trials clinici multicentrici finalizzati alla prevenzione della nefropatia diabetica, della progressione delle nefropatie croniche proteinuriche e del rigetto acuto e cronico del trapianto ed alla identificazione di fattori di rischio e promotori di danno d'organo

Computerizzazione delle procedure di acquisizione e monitoraggio dei dati nella conduzione di trials clinici controllati

COLLABORAZIONI NAZIONALI

Lombardia

- Ospedale Fenaroli, Alzano Lombardo (BG)
- Azienda Ospedaliera OO.RR., Bergamo
- Ospedale Caduti Bollatesi, Bollate (MI)
- Azienda Ospedaliera Spedali Civili, Brescia
- Ospedale San Biagio, Clusone (BG)
- Ospedale S. Anna, Como
- Ospedale di Desio (MI)
- Ospedale Briolini, Gazzaniga (BG)
- Azienda Ospedaliera di Melegnano, Melegnano – Vizzolo Predabissi (MI)
- Ospedale San Leopoldo Mandic, Merate (LC)
- Ospedale Maggiore Policlinico, Milano
- Ospedale Provinciale San Carlo Borromeo, Milano
- Azienda Ospedaliera - Polo Universitario L. Sacco, Milano
- Ospedale Fatebenefratelli, Milano
- Ospedale Niguarda Ca' Granda, Milano
- Clinica Pediatrica "G. e D. De Marchi", Milano
- Ospedale San Raffaele, Milano
- Ospedale Pediatrico di Montichiari, Montichiari (BS)
- Ospedale San Gerardo, Monza (MI)
- Università degli Studi di Pavia, Dipartimento di Medicina Interna e Terapia Medica, Pavia
- Centro Antidiabetico, Ponte San Pietro (BG)
- Azienda Ospedaliera Ospedale Treviglio Caravaggio, Romano di Lombardia (BG)
- Ospedale Bolognini, Seriate (BG)
- Azienda Ospedaliera Ospedale Treviglio Caravaggio, Treviglio (BG)
- Ospedale Regionale di Circolo Fondazione Macchi, Varese
- USL 60, Unità Operativa di Nefrologia e Dialisi, Vimercate (LC)

Piemonte

- Azienda Ospedaliera Santa Croce e Carli, Cuneo
- Ospedale Civile, Ivrea (TO)
- Azienda Ospedaliera San Giovanni Battista, Torino
- Ospedale Mauriziano Umberto I, Torino
- Ospedale Regina Margherita, Torino
- Ospedale Martini, Torino
- Ospedale Luigi Einaudi, Torino

Veneto, Trentino Alto-Adige e Friuli Venezia Giulia

- Ospedale Civile, Belluno
- Ospedale S. Giacomo Apostolo, Castelfranco Veneto, Treviso
- Ospedale Provinciale Umberto I, Mestre (VE)
- Ospedale Giustiniano, Padova
- Università degli Studi di Padova, Istituto di Anatomia Patologica, Padova
- Ospedale Civile, Padova
- Ospedale S. Camillo dé Lellis, Schio (VI)
- Ospedale Regionale Santa Maria dei Battuti, Treviso
- Ospedale Civile Maggiore Borgo Trento, Verona
- Ospedale Policlinico Borgo Roma, Verona
- Ospedale Civile San Bortolo, Vicenza
- Ospedale Santa Chiara, Trento
- Istituto Scientifico per l'infanzia Burlo Garofalo, Trieste
- Ospedale S. Antonio, S. Daniele del Friuli, Udine
- Università degli Studi di Udine, Centro Trapianti Fegato-Rene-Pancreas, Udine

Liguria, Emilia Romagna e Toscana

- Azienda Ospedaliera San Martino, Genova
- Istituto "G. Gaslini", Genova
- Ospedale S. Orsola Malpighi, Bologna
- Ospedale Policlinico, Modena
- Istituto di Clinica Medica e Nefrologia, Parma
- Ospedale Santa Maria delle Croci, Ravenna
- Arcispedale Santa Maria Nuova, Reggio Emilia
- Ospedale Santa Maria Annunziata, Bagno a Ripoli, Firenze
- Azienda Ospedaliera Careggi-Monna Tessa, Firenze
- Ospedale Nuovo "S. Giovanni di Dio", Firenze
- Azienda Ospedaliera Meyer, Firenze
- Ospedale di S. Miniato, S. Miniato (FI)

Marche

- Ospedale Regionale Torrette, Torrette di Ancona, Ancona
- Azienda Ospedaliera S. Salvatore, Pesaro

Lazio, Basilicata e Campania

- Ospedale Polispecializzato, Anzio, Roma
- Ospedale Fatebenefratelli, Roma
- Ospedale Pediatrico Bambino Gesù, Roma
- Policlinico Gemelli, Roma
- Ospedale Policlinico Umberto I, Roma
- Università Cattolica del Sacro Cuore, Roma
- Dipartimento di Biopatologia Umana, Università La Sapienza, Roma
- Ospedale Grande degli Infermi, Viterbo
- Ospedale Riuniti, Matera
- Azienda Ospedaliera Ospedale Civile, Caserta (NA)
- Università Federico II di Napoli, Cattedra di Nefrologia, Napoli
- Azienda Ospedaliera "S. G. di Dio e Ruggi d'Aragona", Salerno

Abruzzo

- Ospedale G. Bernabeo, Ortona, Chieti
- Presidio Ospedaliero “San Massimo”, Penne (PE)

Puglia, Calabria, Sicilia e Sardegna

- Ospedale Regionale “Miulli”, Acquaviva delle Fonti, Bari
- Ospedale Pediatrico “Giovanni XXIII”, Bari
- Ospedale Policlinico, Bari
- Azienda Ospedaliera V.Fazzi, Lecce
- Ospedale Casa Sollievo dalla Sofferenza, S.Giovanni Rotondo (FG)
- Presidio Ospedaliero di Martina Franca, Martina Franca, Taranto
- Azienda Ospedaliera Ospedale Pugliese Ciaccio, Catanzaro
- Ospedale dell'Annunziata, Cosenza
- Centro di Fisiologia Clinica del CNR, Divisione di Nefrologia, Reggio Calabria
- Azienda Ospedaliera “Bianchi-Melacrino-Morelli”, Reggio Calabria
- Ospedale “N. Giannettasio”, Rossano Calabro, Cosenza
- Nuovo Presidio Ospedaliero, Acireale, Catania
- Ospedale Civico, Palermo
- Ospedale “V. Cervello”, Palermo
- Azienda Sanitaria G. Brotzu, Ospedale San Michele, Cagliari
- Istituto di Clinica e Biologia dell'Età Evolutiva, Cagliari
- Ospedale A. Segni, Ozieri, Sassari
- Ospedale SS. Annunziata, Sassari
- Ospedale Policlinico, Sassari

COLLABORAZIONI INTERNAZIONALI

- University Hospital Ziekenhuis, Edegem Antwerpen, Belgio
- Clinique de Nephrologie-Dialyse Chu Brugmann, Bruxelles, Belgio
- University Ziekenhuis Gent, Gent, Belgio
- U.Z. Gasthuisberg, Leuven, Belgio
- General Hospital Maria Middelaes, Sint Niklaas, Belgio
- University of Groningen, AV Groningen, Olanda
- Academisch Ziekenhuis, Maastricht, Olanda

- Thracian University, Stara Zagora, Bulgaria

- The Birmingham Children's Hospital, Birmingham, Inghilterra
- Guy's Hospital, London, Inghilterra
- Manchester Children's Hospital, Manchester, Inghilterra
- Nottingham City Hospital, Nottingham, Inghilterra
- Aalborg Hospital, Aalborg, Denmark
- Nephrological Department, University of Copenhagen, Copenhagen, Danimarca
- Steno Diabetes Center, Gentofte, Danimarca
- Department of Nephrology, Odense University Hospital, Odense, Danimarca
- Department of Nephrology, Sahlgrenska University Hospital, Goteborg, Svezia

- Ospedale San Giovanni, Bellinzona Svizzera
- Department of Nephrology, University of Wien, Wien, Austria
- Carl Thiem Klinikum, Cottbus, Germania
- Klinikum der Johann Wolfgang, Frankfurt am Main, Germania
- Arbeitsgruppe für Biomolekulare Medizin, Hamburg, Germania
- Universitätsklinik Heidelberg, Heidelberg, Germania
- Medizinische Klinik, Mannheim, Germania
- Luitpold Krankenhaus Med. Universitätsklinik/Dialyse, Würzburg, Germania

- Hospital Ntra Sra. de Sonsoles, Avila, Spagna
- Hospitalet de Llobregat, Institut Català de la Salut, Barcellona, Spagna
- Fundacion Jimenez Diaz, Madrid, Spagna
- Hospital Clinico Martin Logas, Madrid, Spagna
- Hospital 12 de Octubre, Madrid, Spagna
- Hospital Gregorio Maranon, Madrid, Spagna
- Hospital La Paz, Madrid, Spagna
- Hospital Puerta de Hierro, Madrid, Spagna
- Hospital Ramon y Cajal, Madrid, Spagna
- Hospital Severo Ochoa, Leganes, Madrid, Spagna
- Hospital Universitario de Tarragona Joan XXIII, Tarragona, Spagna

- Hospital Garcia de Orta, Almada, Portugal

- Brigham & Women's Hospital, Boston, USA
- Hennepin County Medical Center, Minneapolis, USA
- SIU School of Medicine, Springfield, USA
- The Toronto Hospital, Toronto, Canada

- INCUCAI, Buenos Aires, Argentina
- Hospital Italiano de Buenos Aires, Buenos Aires, Argentina
- Hospital Regional de Valdivia, Valdivia, Cile

- Soroka Medical Center, Beer Sheva, Israele

PRESENZA IN COMITATI EDITORIALI

Journal of the American Society of Nephrology (Piero Ruggenenti)
 Journal of Nephrology (Piero Ruggenenti)

ATTIVITA' DI REVISIONE

American Journal of Hypertension
 American Journal of Kidney Diseases
 American Journal of Physiology
 American Journal of Transplantation
 Clinical Science
 Diabetologia

Diabetes Care
 Drugs and Aging
 Haematologia
 Hematology Journal
 Hypertension
 International Immunology
 Journal of American Society of Nephrology
 Journal of Hypertension
 Journal of Internal Medicine
 Journal of Nephrology
 Kidney International
 Nephrology Dialysis and Transplantation
 Nephron
 Pediatric Nephrology
 The Lancet
 The New England Journal of Medicine

PARTECIPAZIONE AD EVENTI CON CONTRIBUTI DEL DIPARTIMENTO

International Conference on Dialysis. "Future of Xenotransplantation in the 21st Century". 23-25 Gennaio 2002, Phoenix, USA

International Congress of the Egyptian Society of Cardiology. "How to retard renal disease progression in type 2 diabetes". 4-8 Febbraio 2002, Alexandria, Egitto

Congresso Ipertensione Arteriosa e Prevenzione Cardiovascolare, "Remissione, regressione delle malattie renali croniche: una strada poco frequentata" 8-9 Febbraio 2002, Roma

International Bioethical Congress. "Conflict of interest as seen from a researcher's perspective". 5 Aprile 2002, Varsavia, Polonia

American Diabetes Association Annual Meeting. "Decreased Insulin Sensitivity - a possible specific marker of proliferative retinopathy in type 2 diabetes". 14-18 Giugno 2002, S.Francisco, USA

3rd Regional Hypertension Congress. "State of the art lecture. The kidney as a cardiovascular risk factor". 4-6 Luglio 2002, Beirut, Libano

Convegno La Sopravvivenza del rene e del paziente trapiantato all'inizio del terzo millennio. "Fattori immunologici e non immunologici" 4 Ottobre 2002, Udine

American Society of Nephrology Annual Meeting; "Rituximab for idiopathic membranous nephropathy (IMN)". 1-3 Novembre 2002, Philadelphia, USA

34th Course on Advances in Nephrology and Dialysis. "Ruolo del controllo pressorio e del blocco del sistema RRA". 5 Dicembre 2002, Milano

CONTRIBUTI E CONTRATTI

Abbott GmbH & Co.
 AstraZeneca
 Associazione Trenta Ore per la Vita
 Aventis Pharma SA
 Chiesi Farmaceutici SpA
 European Commission
 Farmaceutici Damor SpA
 Merck Sharp & Dohme Italia SpA
 Ministero della Salute
 Nicox SA
 Novartis Farma
 Pfizer
 Regione Lombardia
 Roche SpA
 Wyeth Lederle

SELEZIONE PUBBLICAZIONI SCIENTIFICHE APPARSE NELL'ANNO 2002

P. Ruggenenti, A. Perna, G. Remuzzi (on behalf of Gruppo Italiano di Studi Epidemiologici in Nefrologia -GISEN-) ACE inhibitors to prevent end-stage renal disease: when to start and why possibly never to stop: A Post Hoc analysis of the rein trial results. *J Am Soc Nephrol* 2002;12:2832-2837.

G. Remuzzi, P. Ruggenenti, N. Perico. Chronic renal diseases: renoprotective benefits of renin-angiotensin system inhibition. *Ann Intern Med* 2002;136:604-615.

G. Remuzzi, A. Schieppati, P. Ruggenenti. Clinical Practice: Nephropathy in patients with type 2 diabetes. *New Engl J Med* 2002;346:1145-1151.

G. Remuzzi, P. Ruggenenti, N. Perico. Chronic renal diseases: renoprotective benefits of renin-angiotensin system inhibition. *Ann of Internal Med* (in press)

D. Cattaneo, N. Perico, F. Gaspari, E. Gotti, G. Remuzzi. Glucocorticoids interfere with mycophenolate mofetil bioavailability in kidney transplantation. *Kidney Int* 2002;62:1060-1067.

A. Schieppati, N. Perico, G. Remuzzi. Tacrolimus and ciclosporin microemulsion in renal transplantation. Correspondence. *Lancet* 2002;360:799-800.

G. Remuzzi, C. Chiurchiu, M. Abbate, V. Brusegan, M. Bontempelli, P. Ruggenenti. Rituximab for idiopathic membranous nephropathy. Research Letter. *Lancet* 2002;360:923-924

R. Pisoni, P. Ruggenenti, F. Sangalli, M.S. Lepre, A. Remuzzi, G. Remuzzi. Effect of high dose ramipril with or without indomethacin on glomerular selectivity. *Kidney Int* 2002;62:1010-1019.

B.D. Dimitrov, G. Remuzzi. Combination therapy for renal disease. *Hospital Prescriber Europe* 2002;3:21-23.

N. Perico, G. Remuzzi. Nitric oxide and renal perfusion in humans. *J Hypertens* 2002;20:391-393.

C. Chiurchiu, P. Ruggenenti, G. Remuzzi. Thrombotic microangiopathy in renal transplantation. *Annals of Transpl* 2002;7:28-33.

- C. Aros, G. Remuzzi. The renin-angiotensin system in progression, remission and regression of chronic nephropathies. *J Hypertens* 2002;20(3):S45-S53.
- R.C. Campbell, G. Remuzzi. Halting the progression of renal disease: where we stand? Editorial. *Nefrologia* 2002;XXII(4):303-305.
- R. Pisoni, R. Faraone, P. Ruggenti, G. Remuzzi. Inhibitors of the rennin-angiotensin system reduce the rate of GFR decline and end-stage renal disease in patients with severe renal insufficiency. *J Nephrol* 2002;15:428-430.
- A. Schieppati, N. Perico, G. Remuzzi. Conflict of interest as seen from a researcher's perspective. *Science and Engineering Ethics* 2002;8:337-342.
- R. Pisoni, C. Aros, P. Ruggenti, G. Remuzzi. Mechanisms of progression of chronic renal disease. *Saudi J Kidney Dis Transplant* 2002;13:250-256.
- R.C. Campbell, P. Ruggenti, G. Remuzzi. Halting the progression of chronic nephropathy. *J Am Soc Nephrol* 2002;13:S190-S195.
- N. Perico, P. Ruggenti, M. Scalamogna, G. Locatelli, G. Remuzzi. One or two marginal organs for kidney transplantation? *Transplant Proc* 2002;34:3091-3096.

ATTIVITA' DI RICERCA

Laboratorio di Biostatistica

Sviluppo di una procedura completamente informatizzata per la registrazione e il monitoraggio dei dati degli studi clinici

La registrazione dei dati sulle schede raccolta dati (CRFs) ed il monitoraggio di queste schede sono componenti importanti, ma anche costose e lunghe, delle diverse attività necessarie alla realizzazione di uno studio clinico. Le attività di monitoraggio includono la verifica dei dati (scritti o stampati) prima che essi siano inseriti nel database. Poter evitare la fase di registrazione dei dati significa velocizzare l'informatizzazione dei dati, ma crea anche una serie di problemi legati alle procedure di monitoraggio.

Nel 2002, in collaborazione con il Laboratorio di Tecnologie Biomediche del Dipartimento di Bioingegneria, abbiamo sviluppato una scheda raccolta dati completamente informatizzata (e-CRF) che consente di inserire i dati direttamente in computer in accordo a quanto previsto dalle linee guida CFR part 11 della Food and Drug Administration (FDA) relativamente alla registrazione elettronica dei dati e le firme elettroniche utilizzate in alternativa a quelle cartacee. Grazie a questo approccio, i dati clinici sono immediatamente disponibili, la gestione dei dati necessita di minor tempo, il rischio di errori nell'inserimento dei dati risulta inferiore. Tutti questi elementi insieme dovrebbero aumentare la qualità finale dei dati degli studi clinici. Questa nuova modalità è attualmente applicata nella gestione dei dati dello studio clinico "DElapril and MANidipine for Nephroprotection in Diabetes (DE.MA.N.D.)": uno studio multicentrico, randomizzato, prospettivo, in doppio cieco finalizzato a comparare l'effetto di diversi trattamenti sulla riduzione nel tempo del filtrato glomerulare in 342 pazienti normo- o micro-albuminurici con diabete mellito di tipo 2. Il prossimo passo di questo programma di ricerca, che sarà finalizzato entro la fine del 2003, sarà quello di creare delle procedure operative standardizzate di monitoraggio della e-CRF in accordo con le linee guida della FDA. L'obiettivo finale sarà quello di informatizzare completamente tutte le fasi di gestione dati relativamente alle attività di ricerca che si svolgono presso il Centro di Ricerche Cliniche per le Malattie Rare Aldo e Cele Daccò di Villa Camozzi.

L'uremia terminale: un approccio bayesiano per la valutazione del rischio a livello individuale

Le malattie renali croniche, sia di origine diabetica, che non-diabetica, sono le principali cause di uremia terminale nel mondo. Nel presente studio abbiamo considerato dati clinici epidemiologici che consentissero di costruire modelli predittivi per l'uremia terminale nel singolo paziente, al fine di un'ottimizzazione innovativa di processi decisionali nell'ambito della pratica clinica, con l'obiettivo finale di limitare la progressione delle malattie renali croniche. Abbiamo impiegato informazioni solitamente disponibili a priori, al momento della prima visita clinica, immediatamente utilizzabili per la valutazione del rischio. Il modello ha evidenziato come utilizzare al meglio i dati di prevalenza di popolazione sull'uremia terminale (USA 1998) e l'informazione relativa ai due più noti fattori di rischio (aumentata escrezione urinaria di proteine e pressione arteriosa sistolica elevata) derivata da un'analisi aggregata di 11 studi clinici randomizzati e dai dati della letteratura. Abbiamo strutturato il problema della relazione causale tra proteinuria severa, ipertensione e l'uremia terminale e abbiamo affrontato diversi scenari, descritti attraverso alberi decisionali e l'uso del Teorema di Bayes. Un'analisi di sensitività ha permesso di tener conto delle cosiddette 'health utilities' e dell'incertezza della stima. La più alta probabilità di sviluppare uremia terminale per il paziente medio americano (rischio individuale del 3.61-5.07%) è stata identificata ad un livello di escrezione urinaria di proteine > 3g/24h e ad una pressione arteriosa sistolica > 140 mmHg. La consistenza dei risultati ottenuti ha permesso di costruire profili di rischio sia a livello di gruppo, che di singolo paziente. Verosimilmente, utilizzando informazioni sulla progressione delle malattie, sull'efficacia dei farmaci e attraverso simulazioni di studi, questo approccio può aiutare ad implementare il ricorso ad interventi terapeutici, ottimizzando il rapporto 'costi-efficacia', non solo nelle malattie renali, ma anche nelle patologie croniche cardiovascolari o nelle patologie neoplastiche.

La sindrome emolitico-uremica nel bambino: predizione della prognosi attraverso una rete neurale artificiale

La sindrome emolitico-uremica è la causa principale di insufficienza renale acuta e cronica nel bambino. Nel presente studio abbiamo cercato di superare i limiti delle precedenti analisi, identificabili nella ridotta dimensione del campione, nell'elevata variabilità dei dati e nella ridotta capacità predittiva dei modelli utilizzati. Nello studio clinico multicentrico ENCHLOSE, che includeva 284 bambini con sindrome emolitico-uremica individuati presso cinque centri pediatrici e nefrologici europei, abbiamo valutato la prognosi dei pazienti attraverso un approccio innovativo basato sull'impiego di una rete neurale artificiale (ANN). I dati clinici disponibili sono stati inclusi nel modello al fine di predire degli 'scores' individuali che riflettessero le probabilità per ogni singolo paziente di avere una disfunzione renale alla dimissione (a breve termine) e all'ultimo follow-up (a lungo termine). Sia a breve che a lungo termine le maggiori probabilità di prognosi sfavorevole si associavano in modo indipendente, nella totalità del gruppo, all'assenza di diarrea (D- HUS) e all'età all'esordio < 4 anni, e, all'interno del sottogruppo con diarrea (D+), alla necessità di dialisi durante l'episodio acuto e all'età all'esordio. La prognosi a breve termine era inoltre, di per sé, un forte predittore anche della prognosi a lungo termine. La curva della caratteristica operativa del ricevitore (curva ROC) ha evidenziato che, rispetto alla regressione logistica, i modelli riferiti all'ANN predicevano sistematicamente in modo più adeguato sia la prognosi a breve termine, che quella a lungo termine. Ad esemplificazione delle possibili applicazioni pratiche di questo approccio clinico abbiamo utilizzato l'ANN per calcolare a livello individuale 16 'scores' di probabilità di disfunzione renale a lungo termine. In termini più generali, questo approccio può consentire nella pratica clinica di routine l'identificazione di bambini con sindrome emolitico-uremica a rischio più elevato, nei quali è possibile quindi applicare protocolli particolarmente intensificati di monitoraggio, prevenzione e trattamento.

Sviluppo di un modello probabilistico integrato per predire il rischio individuale di progressione verso l'uremia terminale

L'identificazione di pazienti affetti da nefropatie croniche a rischio più elevato di progressione può aiutare ad ottimizzare le misure preventive e d'intervento, orientate a limitare la probabilità di evoluzione verso l'uremia terminale. Ciò può essere ottenuto attraverso la costruzione di algoritmi che quantifichino il rischio di uremia terminale a livello individuale. La realizzazione di questo approccio si è basata su studi teorici precedenti, relativi alla valutazione del rischio per scopi di 'decision-making' in ambito clinico e per conseguire in modo adeguato gli obiettivi di remissione renale. Allo scopo si sono utilizzati dati relativi a 344 pazienti con nefropatia cronica arruolati nello studio Ramipril Efficacy In Nephropathy (REIN). Diversi tipi di modellistica sono stati impiegati come il 'data mining', la regressione multivariata di Cox, la rete neurale artificiale, l'albero decisionale con approccio bayesiano e la curva ROC. La creatinina serica, l'escrezione urinaria di proteine nelle 24 ore ed il prodotto calcio-fosforo sono risultati essere i predittori più forti corretti per il tempo fino all'uremia terminale. Il rischio di uremia terminale più elevato, pari al 69%, veniva predetto da valori di creatinina serica all'arruolamento >2.40 mg/dl in concomitanza, nello stesso individuo, ad un'escrezione urinaria di proteine > 3 g/24h e ad un prodotto calcio-fosforo > 32.64 mg²/dl². L'albero decisionale sequenziale secondo l'approccio bayesiano prediceva in modo consistente non solo il rischio individuale di uremia terminale, ma anche le preferenze legate alla salute (per esempio le utilità che riflettono la qualità di vita dei pazienti nefropatici). L'applicazione del modello, unitamente all'impiego delle preferenze relative alla salute o ai costi, consentirà di definire, predire ed utilizzare un indice di rischio renale individuale con l'obiettivo finale di ottimizzare la cura, di migliorare la qualità di vita e di minimizzare i costi. Il modello potrà inoltre contribuire a disegnare studi clinici atti a testare l'efficacia di interventi di prevenzione dell'insorgenza di uremia terminale in pazienti ad alto rischio, soprattutto nei paesi in via di sviluppo.

Ritardare la progressione della malattia renale cronica: il problema negletto della proteinuria residua

Dati sperimentali e clinici hanno evidenziato come la proteinuria rappresenti un determinante maggiore della progressione delle malattie renali croniche. Tuttavia rimane irrisolto il problema se sia la riduzione della pressione arteriosa o della proteinuria il determinante principale di un'eventuale riduzione/prevenzione di questa progressione. Questo studio mira quindi a chiarire il contributo specifico ed indipendente della proteinuria nella progressione della malattia renale cronica, nonché il ruolo della sua riduzione nel migliorare la progressione renale.

Specificamente, abbiamo indagato se nelle nefropatie croniche, modifiche alla proteinuria indotte dal trattamento e la proteinuria residua (definita come escrezione urinaria di proteine a 3 mesi dall'inizio del trattamento) possano influenzare l'andamento del filtrato glomerulare a lungo termine. Pertanto abbiamo valutato se la riduzione della proteinuria a tre mesi, corretta rispetto ai concomitanti cambiamenti nel filtrato glomerulare (GFR), e se la proteinuria residua a tre mesi fossero predittive dell'andamento del filtrato glomerulare in 273 pazienti con nefropatie croniche proteinuriche, arruolati nello studio clinico Ramipril Efficacy In Nephropathy (REIN). Le analisi hanno dimostrato che variazioni a breve termine nella proteinuria e la proteinuria residua predicono in modo affidabile l'andamento della patologia nel lungo termine, indipendentemente dal controllo pressorio e dal tipo di trattamento. Questi risultati, unitamente alla recente evidenza che la proteinuria è un importante fattore/promotore di eventi cardiovascolari, suggerisce che la riduzione della proteinuria potrebbe rappresentare il principale obiettivo di approcci terapeutici mirati a diminuire la morbilità e la mortalità renale e cardiovascolare dei pazienti affetti da nefropatie croniche progressive.

Completamento del reclutamento e delle analisi al baseline dei pazienti dello studio BENEDICT (Bergamo Nephrologic Diabetes Complications Trial)

Studi clinici e sperimentali suggeriscono che ACE inibitori e calcio-antagonisti abbiano un effetto renoprotettivo specifico e che questo effetto può essere aumentato quando questi farmaci sono usati in combinazione. Per testare formalmente questa ipotesi abbiamo disegnato lo studio BENEDICT (Bergamo Nephrologic Diabetes Complications Trial), uno trial controllato, randomizzato, multicentrico, in doppio-cieco, organizzato in due fasi. La Fase A di questo studio mira a valutare se il trattamento combinato con l'ACE inibitore, trandolapril, e il calcio-antagonista, verapamil, più efficacemente dei due farmaci da soli e di un trattamento di controllo previene l'insorgenza della microalbuminuria (presa come marker di nefropatia incipiente) in 1200 pazienti ipertesi, con diabete di tipo 2 e normoalbuminuria. Il reclutamento della Fase A si è concluso nell'anno 2000. Questo ci ha consentito di descrivere le principali caratteristiche demografiche, cliniche e biochimiche dei 1209 randomizzati e degli 840 soggetti screenati, ma successivamente non randomizzati. Abbiamo inoltre valutato, attraverso analisi trasversali, l'associazione tra livelli più alti di albumina ed una serie di possibili fattori di rischio acquisiti o geneticamente determinati, quali, ad esempio, il fumo, l'obesità, il controllo metabolico e pressorio e vari genotipi dei componenti del sistema renina-angiotensina. Analisi preliminari, che dovranno trovare conferma nel follow-up dello studio, suggeriscono che il fumo e il polimorfismo DD del gene dell'ACE si associano ad un rischio aumentato di albuminuria definita 'high-normal', che rappresenta un possibile fattore di rischio per lo sviluppo della nefropatia diabetica. Col 2003 è prevista la fine della Fase A dello studio e si renderanno disponibili anche i risultati delle analisi comparative tra i diversi trattamenti.

Il trattamento immunosoppressivo nella nefropatia membranosa: una metanalisi di 18 studi randomizzati

La nefropatia membranosa idiopatica rappresenta la forma più comune di sindrome nefrosica. Il decorso di questa patologia è relativamente benigno e la maggior parte dei pazienti ottiene spontaneamente una remissione, completa o parziale. Tuttavia, una percentuale non trascurabile di soggetti (30-40 %) progredisce verso l'uremia terminale nell'arco di 5-15 anni. Se, e in che misura, questa prognosi così sfavorevole può essere migliorata da terapie specifiche, atte ad interferire con l'attività della malattia non è ancora chiarito. Inoltre queste terapie che si basano sull'impiego di steroidi e farmaci immunosoppressivi quali gli agenti alchilanti, e gli inibitori della calcineurina, hanno effetti collaterali che potrebbero anche eccedere i possibili benefici. Per meglio definire il profilo rischio-beneficio di questi approcci terapeutici abbiamo eseguito una metanalisi su 1025 pazienti inclusi in 18 studi controllati randomizzati identificati secondo le linee-guida indicate dalla Collaborazione Cochrane, attraverso l'utilizzo di MEDLINE, EMBASE, della Cochrane Library, nonché la consultazione manuale di ulteriori fonti di informazione. La metanalisi non ha documentato alcun beneficio a lungo termine sulla sopravvivenza renale o del paziente di questi trattamenti rispetto alla sola terapia conservativa. Si sono però osservate più remissioni complete o parziali nel gruppo dei pazienti trattati con agenti alchilanti rispetto al gruppo in terapia conservativa. All'interno della classe degli agenti alchilanti si è potuto dimostrare che la ciclofosfamida ha un effetto antiproteinurico lievemente superiore rispetto al chlorambucil e determina un numero significativamente inferiore di uscite dallo studio dovute ad effetti collaterali rispetto al chlorambucil. Questi dati suggeriscono che la terapia con farmaci alchilanti può esercitare un effetto antiproteinurico superiore rispetto a quello di altri farmaci immunosoppressivi. Questo però non si ripercuote in un migliore andamento della funzione renale a lungo termine. Complessivamente la metanalisi non ha fornito una chiara dimostrazione dell'efficacia della terapia immunosoppressiva nella nefropatia membranosa idiopatica.

Laboratorio di Farmacocinetica e Chimica Clinica

Ottimizzazione dell'uso di ciclosporina (Neoral) mediante monitoraggio farmacocinetico: confronto tra diverse strategie di campionamento.

La ciclosporina è il farmaco di riferimento nella terapia immunosoppressiva per la prevenzione del rigetto dell'organo trapiantato. È tuttavia caratterizzata da un indice terapeutico ristretto e da significative variazioni interindividuali nei livelli ematici. Per questi motivi è necessario monitorare l'esposizione del singolo paziente al farmaco (definita dall'area sotto la curva concentrazione-tempo, AUC) come guida all'ottimizzazione della terapia con CsA per minimizzare la tossicità a carico del rene. Questa strategia è, tuttavia, costosa e laboriosa. Abbiamo studiato il profilo farmacocinetico completo in 58 pazienti con trapianto di rene da almeno un anno con l'obiettivo di valutare se l'AUC potesse essere predetta dalla misura di singoli campioni ematici di CsA. Lo studio ha dimostrato che la concentrazione a 2 ore dalla somministrazione di CsA (C2) correla meglio con l'esposizione giornaliera al farmaco. Peggiori sono i risultati utilizzando la concentrazione di CsA in campioni ematici raccolti prima della somministrazione del farmaco (C0). L'errore di predizione dell'AUC associato al C2 è tuttavia inaccettabile per il 35% delle valutazioni. Inoltre, l'analisi multivariata ha dimostrato che i livelli di C0, e non quelli di C2, sono predittori significativi di peggioramento della funzione dell'organo trapiantato. Questo studio sfida la credenza comune secondo cui, in pazienti sottoposti a trapianto di rene a distanza di tempo dall'intervento chirurgico, la misurazione di C2 è un predittore accurato e universale di esposizione al farmaco e di outcome clinico. Per questo motivo, attualmente stiamo studiando approcci alternativi per ottimizzare il monitoraggio di CsA nella pratica clinica.

Studio delle potenziali interazioni tra farmaci antirigetto: effetto dei glucocorticoidi sull'esposizione giornaliera all'acido micofenolico

Il rischio di interazioni farmacologiche aumenta significativamente all'aumentare del numero di farmaci utilizzati. I pazienti sottoposti a trapianto di rene, costretti ad assumere cronicamente anche 3 farmaci diversi per prevenire il rigetto dell'organo, sono più a rischio di interazioni farmacologiche. Significativi cambiamenti nell'esposizione ad un farmaco possono avere conseguenze cliniche rilevanti, sia in termini di efficacia del trattamento che di tossicità. Studi precedenti hanno dimostrato che i glucocorticoidi inducono l'espressione e l'attività di glucuronosil transferasi, una classe di enzimi attivamente coinvolti nel metabolismo dell'acido micofenolico (MPA). Per valutare l'impatto degli steroidi sulla farmacocinetica di MPA abbiamo misurato i livelli plasmatici di MPA e l'esposizione giornaliera (definita dall'area sottesa alla curva concentrazione-tempo, AUC) attraverso studi di farmacocinetica in 26 pazienti sottoposti a trapianto di rene in triplice terapia con ciclosporina, MPA e glucocorticoidi, dopo riduzione progressiva nelle dosi di steroide e ad un anno dalla completa sospensione degli steroidi. Dopo aver ridotto e sospeso gli steroidi si è osservato un progressivo aumento nei livelli plasmatici di MPA, accompagnati da una riduzione nei livelli medi di MPAG, il metabolita principale di MPA. I risultati di questo studio indicano che i glucocorticoidi interferiscono con la biodisponibilità di MPA. La loro sospensione aumenta in modo significativo l'esposizione del paziente a MPA. Per migliorare la terapia immunosoppressiva cronica di pazienti sottoposti a trapianto di rene, la dose di MPA dovrebbe essere modificata in base ai diversi regimi antirigetto che prevedono o meno l'utilizzo di steroidi.

Misura dei livelli ematici di sirolimus: sviluppo di una metodica analitica in HPLC

Il sirolimus (SRL) è un nuovo farmaco antirigetto da poco approvato per l'uso clinico in Italia. Alcuni studi hanno evidenziato la stretta relazione tra concentrazioni di sirolimus nel sangue ed efficacia immunosoppressiva o tossicità del farmaco. Data la finestra terapeutica ristretta del

farmaco, è necessario il monitoraggio accurato della biodisponibilità di SRL per ottimizzare il rapporto rischio/beneficio della terapia con SRL. Le metodiche disponibili sono complesse, hanno tempi lunghi di analisi, utilizzano solventi tossici o richiedono strumentazioni spesso non disponibili nei comuni laboratori clinici (come la spettrofotometria di massa), tutti fattori che limitano l'utilizzo di queste metodiche nella pratica clinica. Per questi motivi abbiamo sviluppato una metodica in cromatografia liquida ad elevate prestazioni (HPLC) che potesse sfruttare un detector con lampada a luce ultravioletta (facilmente reperibile nei diversi laboratori). Il campione ematico viene purificato precipitando la matrice biologica con zinco solfato, mentre SRL viene estratto con acetone e ulteriormente purificato sfruttando un'estrazione di tipo solido-liquido. Questa metodica non è influenzata da picchi interferenti derivanti da farmaci di solito utilizzati nei pazienti sottoposti a trapianto, inoltre il range di linearità è ampio, e con livelli di riproducibilità e sensibilità adeguati. Questa procedura di estrazione semplificata permette di analizzare almeno 60-70 campioni per ogni singola analisi. Nel corso del 2002 abbiamo analizzato più di 3000 campioni provenienti da 40 centri di trapianto italiani per diversi studi di ricerca. Lo step successivo di questo progetto prevede l'uso di questa strategia di monitoraggio per meglio definire finestre terapeutiche per SRL, al fine di ottimizzare i regimi farmacologici che contemplano l'utilizzo di SRL.

Laboratorio di Fasi Avanzate dello Sviluppo dei Farmaci nell'Uomo

Diversi effetti dell'incremento delle dosi di lisinopril sull'assetto lipidico nelle nefropatie croniche

La dislipidemia complica frequentemente il decorso delle nefropatie croniche ed aumenta il rischio di eventi renali e cardiovascolari. Questo potrebbe essere limitato da farmaci quali gli inibitori dell'enzima di conversione della angiotensina (ACEi) che efficacemente riducono la proteinuria.

In questo studio longitudinale, abbiamo valutato gli effetti sulla proteinuria e sulla dislipidemia del progressivo aumento dell'ACEi lisinopril sino alle massime dosi tollerate (mediana [range]: 30 [da 10 a 40] mg/die) in 28 pazienti con nefropatie croniche non diabetiche e proteinuria in range nefrosico.

Lo studio ha mostrato che dosi massime tollerate di lisinopril (che eccedono quelle correntemente raccomandate per il controllo della pressione arteriosa) oltre a ridurre in modo sicuro e significativo la proteinuria, migliorano l'ipertrigliceridemia (attraverso un effetto diretto, dose-dipendente) e l'ipercolesterolemia (attraverso il miglioramento della sindrome nefrosica, soprattutto in pazienti con severa ipoalbuminemia). Questi risultati aprono la prospettiva di nuove aree di ricerca atte a valutare se un controllo efficace della pressione arteriosa, della proteinuria e della dislipidemia, attraverso l'utilizzo di dosi elevate di ACEi inibitori, possa a lungo termine limitare o prevenire il drammatico eccesso di eventi renali e cardiovascolari associati alle nefropatie croniche proteinuriche.

Effetto di dosi elevate di ramipril con o senza indometacina sulla proteinuria e selettività della barriera glomerulare

Nelle nefropatie croniche progressive, nonostante la chiara evidenza della loro efficacia, i farmaci inibitori dell'enzima di conversione della angiotensina (ACEi) ancora non assicurano una renoprotezione completa. L'aumento progressivo del loro dosaggio (oltre le dosi normalmente consigliate per il controllo pressorio) e la combinazione con altri agenti antiproteinurici potrebbe aumentarne l'effetto renoprotettivo, in particolare nei pazienti a maggior rischio di rapido deterioramento della funzione renale a seguito di una più severa proteinuria. In questo studio abbiamo valutato gli effetti delle dosi massime tollerate di un ACEi

(ramipril 15 mg/die, range da 5 a 20) da solo o combinato a indometacina (75 mg x 2/die) sulla proteinuria e sulla funzione selettiva della parete glomerulare in 19 pazienti con nefropatie croniche non diabetiche e severa proteinuria persistente. Lo studio ha mostrato che l'aumento progressivo del dosaggio dell'ACEi sino alla dose massima tollerata aumenta l'effetto antiproteinurico dell'ACEi e riduce in modo significativo (più del 50%) lo shunt della membrana glomerulare non selettiva (presa come marker delle migliorate proprietà selettive della parete glomerulare). Questo potrebbe conferire un superiore effetto protettivo a lungo termine. La combinazione con indometacina è risultata inefficace e scarsamente tollerata. Abbiamo concluso che al fine di migliorarne le proprietà renoprotettive, gli ACEi quindi potrebbero essere utilizzati alle massime dosi tollerate anche nella pratica clinica corrente. La riduzione della proteinuria piuttosto che della pressione arteriosa dovrebbe essere l'obiettivo principale del trattamento. L'indometacina non dovrebbe essere utilizzata quando gli ACEi sono usati in modo appropriato.

Uno studio prospettico, randomizzato, multicentrico, volto a valutare l'effetto antiproteinurico delle Statine in associazione a terapia combinata con ACE-inibitori e Antagonisti Recettoriali dell'Angiotensina nelle nefropatie croniche proteinuriche: Lo studio europeo di prevenzione della insufficienza renale terminale tramite agenti ipolipemizzanti e ACE inibitori: Lo studio ESPLANADE

L'insufficienza renale terminale è in progressivo aumento nel mondo. I pazienti con uremia terminale presentano inoltre elevata morbilità e mortalità, principalmente dovuta ad un'elevata incidenza di patologie cardiovascolari. Quindi, impedire o limitare la progressione delle nefropatie croniche, oltre a limitare l'incidenza della uremia terminale, può anche portare a un prolungamento della sopravvivenza di questi pazienti. A lungo termine i farmaci che inibiscono il sistema renina-angiotensina, quali gli Inibitori dell'enzima di conversione (ACEi) e gli Antagonisti recettoriali dell'Angiotensina II (ATA), hanno un chiaro effetto reno- e cardio-protettivo. Sono inoltre disponibili dati preliminari che attribuiscono proprietà reno-protettive specifiche anche alle Statine. Nel corso di quest'anno abbiamo quindi progettato e iniziato lo studio ESPLANADE, il cui scopo principale è valutare se la terapia con statine, oltre a limitare la morbilità e la mortalità cardiovascolare, è anche in grado di amplificare gli effetti reno-protettivi di ACEi ed ATA.

ESPLANADE è uno studio multicentrico, prospettico, a gruppi paralleli nel quale dopo due mesi di trattamento con ACEi ed ATA, due gruppi di 102 pazienti, con o senza diabete tipo 2, vengono sottoposti o meno a terapia con Fluvastatina (10 o 20 mg/die) per 4 mesi. Allo studio aderiscono venti Centri Italiani di Nefrologia e il reclutamento dei pazienti è già iniziato. Lo studio sarà interamente coordinato dal Centro di Ricerche Cliniche per le Malattie Rare Aldo e Cele Daccò, Villa Camozzi, Ranica. I risultati finali sono attesi per la fine del 2003.

Effetti a breve e a lungo termine del controllo pressorio intensificato in pazienti con nefropatie croniche proteinuriche: L'efficacia del Ramipril nelle Nefropatie 2: Lo studio REIN 2

Lo studio REIN, che valutava l'efficacia del Ramipril nelle nefropatie croniche progressive, ha mostrato che a livelli paragonabili di controllo pressorio, gli inibitori dell'enzima di conversione dell'Angiotensina (ACEi) sono più efficaci di altri agenti antipertensivi nel rallentare la progressione delle nefropatie croniche verso l'uremia terminale. Lo studio relativo alle modificazioni della dieta nelle malattie renali (MDRD) ha mostrato inoltre che anche un controllo intensificato della pressione arteriosa può avere uno specifico effetto reno-protettivo. Nello studio REIN 2 abbiamo voluto verificare se un controllo intensificato della pressione arteriosa, ottenuto tramite l'utilizzo di Calcio antagonisti in associazione con ACE inibitori, è in grado di incrementare l'effetto renoprotettivo attribuibile al controllo convenzionale della

pressione arteriosa, ottenuto semplicemente con ACE inibitori. Il REIN 2 è uno studio multicentrico, randomizzato, nel quale 356 pazienti selezionati in trenta centri di Nefrologia Italiani, Spagnoli, Svizzeri e Bulgari, vengono randomizzati ad un trattamento con ACE inibitore (ramipril 5 mg/die) da solo o in associazione ad un Calcio antagonista (felodipina 10 mg/die) al fine di ottenere due differenti target di controllo pressorio, convenzionale (pressione diastolica <90 mmHg) e intensificato (pressione sistolica/diastolica <130/80 mmHg). Durante quest'anno la fase di reclutamento è stata completata. Per la fine dell'anno 2003 saranno disponibili i risultati dell'analisi interinale, effettuata presso i Laboratori di Biostatistica del Centro di Ricerche Cliniche per le Malattie Rare Aldo e Cele Daccò, Villa Camozzi, Ranica.

Effetti cardiaci secondari al confezionamento di una fistola arterovenosa per emodialisi

Si dice che il ridotto tempo di circolo e l'aumento del ritorno venoso, della gittata sistolica e della frequenza cardiaca secondari alla riduzione delle resistenze vascolari dovuta alla fistola artero-venosa, aumenta il lavoro cardiaco con maggior rischio di sviluppare uno scompenso cardiaco ad alta gittata, aumentando così la mortalità cardiovascolare nei pazienti emodializzati. Noi abbiamo valutato prospetticamente la correlazione tra flusso della fistola e funzione cardiaca mediante valutazioni ecocolorDoppler del flusso dell'arteria radiale e dei volumi telesistolici e telediastolici, della frazione d'eiezione, della gittata sistolica e dell'indice cardiaco prima e 90 giorni dopo il confezionamento della fistola.

Le analisi preliminari hanno mostrato una correlazione positiva tra il flusso della fistola e i volumi cardiaci sisto-diastolici, senza variazioni della frazione d'eiezione e dell'indice cardiaco. Questi risultati mostrano che, diversamente a quanto si crede, la fistola per emodialisi non contribuisce al progressivo deterioramento cardiaco tramite un cronico aumento della gittata cardiaca.

Affidabilità della tecnica Eco-Doppler nel monitorare l'efficacia della rivascolarizzazione nella stenosi dell'arteria renale del trapianto

La stenosi dell'arteria renale, una ben nota, ma potenzialmente trattabile complicanza del post-trapianto, è solitamente trattata mediante angioplastica e posizionamento di stent, ma l'efficacia della riperfusione dell'organo trapiantato è difficile da stabilire sul piano clinico. Pertanto, abbiamo valutato mediante eco-Doppler (un affidabile, non-invasivo strumento di screening della stenosi) i cambiamenti associati alla correzione di una stenosi emodinamicamente significativa, e abbiamo considerato in che modo questi cambiamenti riflettevano le concomitanti modificazioni dell'emodinamica renale.

Abbiamo paragonato le variazioni dei parametri ecoDoppler con quelle dei parametri emodinamici misurati prima ed 1 mese dopo l'angioplastica in pazienti portatori di stenosi dell'arteria renale del trapianto.

Le variazioni dei parametri ecografici (indice di resistenza e picco di velocità sistolica) riflettevano quelle dei parametri emodinamici (resistenze vascolari e velocità di flusso) con sensibilità e specificità del 100%.

Questi risultati mostrano con chiara evidenza che l'ecoDoppler è un affidabile, non invasivo, e facilmente reperibile strumento per monitorare l'efficacia della procedura di rivascolarizzazione. Il follow-up di questo programma di ricerca consisterà nel valutare se lo stesso approccio può essere utilizzato per monitorare l'efficacia della rivascolarizzazione della stenosi arteriosa renale nei reni nativi.

Trapianto renale e anuria post-trapianto: analisi retrospettiva degli outcome di pazienti mantenuti in terapia con ciclosporina o convertiti al trattamento con timoglobuline di coniglio

L'anuria post-trapianto rappresenta una delle principali complicanze del trapianto di rene. E' associata ad una ridotta sopravvivenza del graft ed espone il paziente ad un aumentato rischio di rigetti acuti e di infezioni. Inoltre, la necessità di trattamenti dialitici e di periodi di ospedalizzazione prolungati aumenta i costi della procedura. L'anuria post-trapianto è stata associata a diverse caratteristiche del paziente e del donatore, al tempo di ischemia fredda e calda ed a complicanze chirurgiche. Il trattamento con inibitori della calcineurina inoltre, attraverso l'effetto di vasocostrizione a livello dell'arteriola afferente glomerulare, può ritardare la ripresa funzionale. E' quindi probabile che la temporanea sospensione del trattamento con CsA ed il passaggio all'utilizzo di immunoglobuline di coniglio anti-timociti (RATG) migliori gli outcome a breve e lungo termine dei pazienti con anuria post trapianto.

A tal fine abbiamo condotto un'analisi retrospettiva di tutti i pazienti con anuria post-trapianto seguiti presso il nostro Reparto di Nefrologia dal gennaio 1982 al marzo 2000, mantenuti in terapia con CsA (n=19) oppure convertiti al trattamento con RATG (n=28). Le analisi preliminari suggeriscono che i pazienti convertiti al trattamento con RATG hanno una ripresa funzionale più precoce, una inferiore richiesta del numero di dialisi ed un periodo di ospedalizzazione più breve rispetto a quelli mantenuti in terapia con CsA. Si osserva inoltre un trend verso una migliore funzionalità renale a lungo termine. Entrambi i trattamenti sono stati ben tollerati. Questi risultati suggeriscono che una ritardata introduzione della terapia con CsA possa migliorare l'outcome a breve e lungo termine dei pazienti con anuria post-trapianto. Tale approccio è sicuro ed economicamente vantaggioso.

Due protocolli finalizzati alla prevenzione del rigetto acuto e cronico nel trapianto renale

Il rigetto acuto e quello cronico continuano a rappresentare i principali ostacoli per la sopravvivenza a breve e lungo termine del trapianto renale. La terapia immunosoppressiva attuale è infatti in grado di limitare solo parzialmente il rischio di entrambe le forme di rigetto, esponendo inoltre i pazienti a pesanti effetti collaterali. Nuove strategie sono state proposte per prevenire il rigetto acuto e quello cronico; al fine di testarne il bilancio rischi/benefici, abbiamo disegnato due trial prospettici. Il primo è uno studio monocentrico finalizzato alla valutazione della possibilità di indurre tolleranza attraverso l'infusione pre-trapianto di un anticorpo anti CD52. Il secondo è invece un trial multicentrico randomizzato che valuta la possibilità di prevenire il rigetto cronico attraverso un trattamento non-immunosoppressivo finalizzato al controllo dei fattori di rischio per la progressione delle nefropatie croniche, come l'ipertensione, l'iperfiltrazione glomerulare, la proteinuria e la dislipidemia. I due studi interesseranno, rispettivamente, 10 e 120 pazienti. La fase di reclutamento di entrambi gli studi è già iniziata e terminerà entro il 2003.

Studio prospettico randomizzato atto a stabilire se in pazienti con trapianto di rene è possibile ridurre o eliminare gli inibitori della calcineurina o lo steroide a distanza dall'intervento chirurgico in base ai risultati di biopsia renale

Non è ancora definitivamente stabilito quale sia la miglior combinazione di farmaci antirigetto e neppure quale sia la dose ottimale di steroidi e di inibitori della calcineurina oltre il primo anno dal trapianto di rene che permetta un'adeguata immunosoppressione minimizzando gli effetti collaterali. In questo studio abbiamo randomizzato pazienti con trapianto di rene in terapia con steroide, ciclosporina (CsA) e azatioprina a sottoporsi a biopsia renale "per protocollo" o a non biopsia a distanza di 1 o 2 anni dal trapianto. In base al riscontro bioptico, i pazienti sospendevano lo steroide o riducevano la dose di CsA: l'obiettivo era stabilire l'incidenza di

rigetto acuto e monitorare la funzione dell'organo nei successivi 3 anni di follow-up. Al termine dello studio i pazienti sono stati sottoposti ad una seconda biopsia. L'analisi delle biopsie basali eseguite "per protocollo" hanno dimostrato l'assenza di lesioni (nel gruppo randomizzato a sospendere lo steroide), la presenza di nefropatia da CsA (pazienti randomizzati a riduzione di CsA), o rigetto cronico (pazienti che hanno continuato con terapia standard). La sospensione o la riduzione di farmaci ha diminuito l'incidenza degli effetti collaterali rispetto ai pazienti rimasti in terapia standard. Gli steroidi sono stati eliminati senza che vi fossero rigetti acuti o che venisse persa la funzionalità dell'organo. La diminuzione della dose di CsA così da ottenere livelli ematici molto più bassi della norma (da 30 a 70 ng/ml) non si è associata né a rigetti acuti né a compromissione della funzione renale. Nei pazienti rimasti in terapia convenzionale non si sono avuti rigetti acuti, e dal punto di vista funzionale solo una modesta diminuzione del flusso plasmatico renale. L'analisi della seconda biopsia eseguita al termine dello studio ha escluso la comparsa di lesioni strutturali in pazienti che avevano sospeso lo steroide e ha dimostrato un quadro istologico sostanzialmente invariato in chi era stato randomizzato a ridurre la dose giornaliera di CsA. Eseguire una biopsia "per protocollo" ad oltre un anno dal trapianto di rene è una procedura sicura per stabilire un cambiamento di terapia e per diminuire il rischio di effetti collaterali legati all'uso cronico di farmaci antirigetto.

Livelli ematici di ciclosporina misurati nell'immediato post-trapianto sono critici nel predire i rischi di rigetto acuto: analisi del trial clinico MY.S.S.

L'organo trapiantato esprime antigeni che vengono riconosciuti direttamente da cellule T specifiche. Il processo di riconoscimento è critico nella comparsa di rigetto. Quanto prima viene inibita l'attivazione delle cellule T da parte della ciclosporina (CsA), tanto più dovrebbe essere ridotto il rischio di rigetto. Abbiamo studiato questa possibilità in un numero elevato di pazienti con trapianto "de novo" di rene arruolati in un trial clinico multicentrico denominato "Mycophenolate Steroid Sparing (MY.S.S) study". L'obiettivo principale dello studio è stato determinare il valore predittivo della misurazione seriata di livelli di valle di CsA (C0) e di quelli misurati a distanza di 2 ore dalla somministrazione del farmaco (C2), considerati singolarmente o in combinazione, e di identificare quale fosse la misurazione critica dopo il trapianto sulla base della quale modificare la terapia con ciclosporina per minimizzare il rischio di rigetto acuto. I livelli di CsA misurati il giorno 2 dopo il trapianto sono risultati il migliore predittore di rigetto nel periodo studiato di 6 mesi. Livelli ematici di farmaco tra 300 e 440 ng/ml si associano al rischio minore di rigetto, mentre per livelli inferiori a 300 ng/ml il rischio di rigetto acuto è più che raddoppiato. I livelli di C2 non sono predittivi di rigetto acuto. I risultati dello studio indicano che la misurazione dei livelli di CsA eseguita al giorno 2 post-trapianto meglio predice i successivi episodi di rigetto. Questi risultati evidenziano la necessità di modulare la terapia con CsA nell'immediato post-trapianto con l'obiettivo di inibire rapidamente l'attivazione delle cellule T all'interfaccia tra il sangue del paziente e l'organo trapiantato, dove, di fatto, prende inizio la risposta alloimmune.

Effetto dell'antagonista recettoriale dell'angiotensina II e di un calcioantagonista sull'emodinamica glomerulare e sulla permselectività alle proteine in pazienti con trapianto di rene

L'inibizione del sistema renina-angiotensina (RAS) oggi è la terapia standard per pazienti con nefropatie croniche proteinuriche. L'uso di farmaci che bloccano il RAS nel trapianto di rene è finora stato molto limitato. In questo studio di cross-over, prospettico, randomizzato e in doppio cieco, su 10 pazienti con trapianto di rene, abbiamo confrontato l'effetto di un breve trattamento con un antagonista recettoriale dell'angiotensina II o con un calcioantagonista a parità di controllo pressorio sull'escrezione urinaria di proteine, l'emodinamica renale e la permselectività della parete capillare glomerulare alle macromolecole oltre che la tollerabilità del trattamento. L'antagonista recettoriale ma non il calcioantagonista ha ridotto la proteinuria rispetto ai valori

basali. L'escrezione urinaria di albumina ha avuto un andamento simile. La velocità di filtrazione glomerulare è risultata ridotta con l'antagonista recettoriale ma non il calcioantagonista rispetto al valore basale. Le variazioni di permeabilità glomerulare alle macromolecole erano comparabili nei due gruppi. Il trattamento con l'antagonista recettoriale è stato ben tollerato. L'analisi di questi dati con un modello matematico ha permesso di concludere che l'effetto antiproteinurico dell'antagonista recettoriale dipende in parte dall'effetto emodinamico ma anche da un effetto a livello dei tubuli prossimali. Il trattamento cronico con un antagonista recettoriale dell'angiotensina II va considerato la terapia renoprotettiva di scelta anche nei pazienti con trapianto di rene.

Organizzazione e coordinamento di un trial multicentrico internazionale di sospensione della terapia steroidea in pazienti con trapianto di rene: lo studio MY.S.S.

I protocolli di immunosoppressione oggi impiegati nel trapianto di rene si basano su una triplice terapia con ciclosporina, azatioprina e steroide. Gli eventi avversi che si possono associare all'impiego di questi farmaci hanno portato ad ipotizzare che la sospensione di un farmaco possa rappresentare un beneficio per i pazienti con funzione stabile del rene trapiantato a distanza di tempo dall'intervento chirurgico. Ciò è particolarmente importante per quanto riguarda la sospensione dello steroide. L'introduzione di nuovi potenti immunosoppressori nella terapia antirigetto, quali il micofenolato mofetile (MMF) potrebbe facilitare la sospensione dello steroide a distanza di tempo dal trapianto e rendere di routine questa strategia. Lo studio MY.S.S. (Mycophenolate Steroid Sparing Study) si propone di confrontare la possibilità di sospendere la terapia steroidea a distanza di 6 mesi dal trapianto di rene in pazienti che, oltre allo steroide, ricevono ciclosporina e azatioprina o ciclosporina e MMF come terapia antirigetto. Si tratta di un trial clinico multicentrico italiano/europeo coordinato dal Laboratorio di Biostatistica, in cui i pazienti afferenti a 11 Centri di Trapianto sono stati randomizzati al trattamento con azatioprina o MMF. Sono stati reclutati 336 pazienti con trapianto di rene seguiti per 21 mesi dopo l'intervento chirurgico. Lo studio si è concluso nei primi mesi dell'anno 2003. L'analisi dei parametri principali e secondari di efficacia e tollerabilità/sicurezza sono tuttora in corso.

L'insulino resistenza e il rischio di retinopatia proliferante: uno studio caso-controllo trasversale in 115 pazienti con diabete mellito tipo 2

I Pazienti diabetici possono essere colpiti da due diverse forme di retinopatia: una forma semplice (background, non proliferante), molto frequente ma relativamente benigna, e una forma proliferativa che colpisce solo un sottogruppo (più del 25% di pazienti con più di 25 anni di diabete) e spesso conduce ad una riduzione dell'acuità visiva e a cecità. Il motivo per cui la retinopatia proliferante colpisce solo un sottogruppo di pazienti diabetici rimane sconosciuto. L'evidenza che la retinopatia proliferante è associata con l'incremento dell'albuminuria e della morbilità cardiovascolare che spesso accompagnano la riduzione della sensibilità all'insulina, ci ha condotto a vagliare la possibile associazione tra retinopatia proliferante ed insulino resistenza. A tal fine abbiamo eseguito uno studio caso-controllo trasversale in 3 gruppi di pazienti di cui 28 con retinopatia proliferante, 29 con retinopatia background e 58 senza evidenza di retinopatia, tutti paragonabili per fattori confondenti come età, sesso, durata del diabete, body mass index e filtrato glomerulare. Lo studio mostrava che l'insulino resistenza era significativamente più severa in pazienti con retinopatia proliferante che in quelli con retinopatia semplice o senza retinopatia. In più, all'analisi multivariata l'insulino resistenza era indipendentemente associata con la retinopatia proliferante. Questi risultati possono suggerire che l'insulino resistenza può essere un fattore di rischio indipendente - almeno in parte geneticamente determinato - per la retinopatia proliferante. Questo può condurre a considerare la riduzione della sensibilità all'insulina come un marker precoce di un aumentato rischio di

retinopatia proliferante. Sono necessari studi prospettici atti a valutare se i trattamenti che migliorano la funzione insulinica siano in grado di prevenire l'esordio e la progressione di questa grave complicanza del diabete.

Iperomocisteinemia ed aumentato rischio di retinopatia: uno studio caso-controllo trasversale in 37 pazienti con diabete mellito tipo 2

L'incremento della concentrazione plasmatica di omocisteina è un ulteriore fattore di rischio recentemente identificato per la malattia cardiovascolare aterosclerotica, che potrebbe avere un ruolo anche nella patogenesi delle complicanze microvascolari del diabete ed, in particolare nella retinopatia diabetica. In questo studio caso-controllo, trasversale abbiamo valutato l'eventuale associazione tra iperomocisteinemia e retinopatia diabetica in 37 pazienti con diabete mellito tipo 2 e con creatinina sierica ≤ 2 mg/dL. Per ogni caso reclutato con retinopatia (n=11) sono stati identificati due controlli senza retinopatia (n=26) con medesima età e sesso. La prevalenza di iperomocisteinemia (54.5% vs. 26.9%) e la concentrazione plasmatica di omocisteina (17.2+6.6 vs. 12.3+4.1 mmol/l, $p<0.05$) erano più alti nei pazienti con retinopatia che nei controlli. I casi avevano inoltre una più lunga durata di diabete, ed un body mass index (BMI), una pressione sistolica ed una albuminuria superiori e più frequentemente erano micro- o macroalbuminurici. Gli altri parametri erano comparabili nei due gruppi di pazienti. Le analisi multivariate mostravano che l'omocisteinemia, la durata di diabete e la pressione arteriosa sistolica predicavano in maniera indipendente la retinopatia diabetica con una accuratezza del 86.5%. Abbiamo quindi concluso che l'iperomocisteinemia è un marker indipendente di retinopatia diabetica e si associa ad altri fattori di rischio quali la durata del diabete, l'ipertensione arteriosa sistolica e l'albuminuria. Pertanto, uno screening per l'iperomocisteinemia può aiutare ad identificare precocemente i pazienti diabetici ad aumentato rischio di complicanze microvascolari.

Insulino sensibilità come marker di nefropatia nel diabete mellito tipo 2: uno studio trasversale su 173 pazienti con diabete mellito tipo 2

La nefropatia diabetica è la principale causa di insufficienza renale terminale nei Paesi Occidentali, dove contribuisce per più di un terzo del totale dei pazienti in terapia sostitutiva. Perché la nefropatia diabetica colpisca solo un sottogruppo di pazienti (quasi il 25% di loro), rimane comunque sconosciuto. Una predisposizione genetica potrebbe spiegare un aumentato rischio di nefropatia in questo sottogruppo, ed una diminuita sensibilità all'azione dell'insulina (insulino resistenza) potrebbe essere un marker di tale predisposizione. Per testare questa ipotesi abbiamo studiato in maniera trasversale, la relazione tra insulino sensibilità, misurata con clamp iperinsulinemico euglicemico, e nefropatia diabetica in un grande gruppo di pazienti con diabete mellito tipo 2, con diversi gradi di danno renale.

Lo studio ha mostrato che la diminuita insulino sensibilità si associa indipendentemente con l'incremento dell'albuminuria (considerata come marcatore di nefropatia diabetica) ed è relativamente indipendente dal grado di insufficienza renale. È interessante notare che la diminuita sensibilità all'insulina si associa anche con l'ipertrigliceridemia, un altro componente della sindrome metabolica e noto fattore di rischio cardiovascolare. Queste associazioni sono consistenti con l'ipotesi che la ridotta sensibilità all'insulina possa essere un indipendente - ed almeno in parte geneticamente definito - fattore di rischio di eventi reno- e cardiovascolari in corso di diabete. Questo offre nuove prospettive di ricerca volte ad esaminare la possibilità di prevenire l'esordio e la progressione di queste complicanze croniche tramite interventi finalizzati a migliorare l'azione insulinica.

Effetto antiproteinurico relativo di inibitori dell'enzima di conversione (ACEi) e antagonisti recettoriali dell'angiotensina II (ATA) da soli e in combinazione e di calcio antagonisti diidropiridinici (dCCBs) nella nefropatia conclamata del diabete mellito di tipo 2

I farmaci che inibiscono il Sistema Renina Angiotensina (RAS), come gli inibitori dell'enzima di conversione (ACEi) e gli antagonisti recettoriali dell'angiotensina (ATA) – diminuiscono efficacemente l'escrezione urinaria delle proteine e rallentano la progressione della nefropatia diabetica sia nell'animale che nell'uomo. Per testare se in combinazione hanno un effetto antiproteinurico sinergico e se da soli o in combinazione questo supera quello di un trattamento convenzionale con un calcio antagonista diidropiridinico (dCCBs), abbiamo confrontato in modo prospettico gli effetti di due mesi di trattamento con l'ACEi Enalapril (20 mg/giorno), l'ATA Losartan (100 mg/giorno), la loro combinazione, e la Felodipina (dCCB) (10 mg/giorno) in 39 pazienti con diabete mellito di tipo 2 e nefropatia conclamata. Per evitare l'effetto confondente di una maggiore riduzione della pressione arteriosa, il dosaggio dell'ACEi e dell'ATA è stato dimezzato nei pazienti con terapia combinata. Alla fine del periodo del trattamento la proteinuria si è ridotta più efficacemente con Enalapril da solo (42.2%) o combinato a Losartan (47.8%), che con Losartan (9.5%) o Felodipina (15.4%) da soli. La riduzione della pressione arteriosa era simile in tutti i gruppi di trattamento. Tutti i trattamenti sono stati ben tollerati. Pertanto, nella nefropatia diabetica conclamata, gli ACE inibitori hanno un effetto antiproteinurico maggiore rispetto ad ATA e dCCBs. Questo effetto non è modificato significativamente dall'aggiunta degli ATA. Questi risultati aprono una linea nuova di ricerca finalizzata a verificare se il superiore effetto antiproteinurico degli ACEi rispetto a quello degli ATA o di altri farmaci antiipertensivi che non interferiscono direttamente con l'attività di RAS, si traduce anche in un superiore effetto renoprotettivo a lungo termine.

Realizzazione di uno studio prospettico, randomizzato, multicentrico mirato a valutare gli effetti di Delapril e Manidipina in 342 normo- o microalbuminurici con diabete mellito tipo 2: Studio Delapril e Manidipina per la Nefroprotezione nel Diabete (DEMAND)

Studi sperimentali e clinici dimostrano che gli inibitori dell'enzima di conversione (ACEi) ed i calcio antagonisti (CCBs) hanno un effetto renoprotettivo specifico che potrebbe aumentare quando i due farmaci si usano in combinazione. Per testare questa ipotesi abbiamo disegnato lo studio Delapril e Manidipina per la Nefroprotezione nel Diabete (DEMAND), uno studio prospettico, randomizzato, in doppio cieco mirato a paragonare la velocità di perdita della funzionalità renale (definita come diminuzione della velocità di filtrato glomerulare) in 342 normo- e micro-albuminurici con diabete mellito tipo 2, randomizzati a 3 anni di trattamento con l'ACEi Delapril (30 mg/giorno), da solo o combinato al CCB Manidipina (10 mg/giorno), oppure a terapia convenzionale (non ACEi, non CCB). Si sono disegnati anche dei sottoprogetti mirati ad esplorare l'impatto di tali trattamenti sulle altre complicanze croniche (come neuropatia diabetica e retinopatia diabetica) ed il ruolo della diminuita insulino sensibilità e/o l'aumentata attività dell'endotelina in queste complicanze. Nel 2002 sono stati randomizzati 50 pazienti e ci si aspetta che la fase di reclutamento si completerà entro la fine del 2003. Lo studio è coordinato dal Centro di Ricerche Cliniche per le Malattie Rare Aldo e Cele Daccò, Villa Camozzi, Ranica, dove verranno raccolti ed analizzati tutti i dati ed i campioni biologici. L'ultimo paziente randomizzato effettuerà la visita finale nel 2006.

Il Lisinopril nella dislipidemia associata a nefropatia diabetica

La presenza di dislipidemia è di comune riscontro nelle malattie renali croniche ed è presente anche per valori di funzione renale lievemente ridotti. Tale condizione, in grado di accelerare l'arteriosclerosi, è un fattore di progressione della malattia renale. In pazienti con nefropatie croniche non diabetiche e proteinuria nefrosica, l'utilizzo del Lisinopril ai dosaggi massimi

tollerati, riduce in modo marcato i valori plasmatici di trigliceridi e di colesterolo. Al fine di valutare se questo si applica anche a pazienti affetti da diabete mellito tipo II e nefropatia conclamata che rappresentano la gran parte dei pazienti nefropatici ad elevato rischio di eventi renali e cardiovascolari, abbiamo testato gli effetti di un simile approccio terapeutico sul profilo lipidico di quindici pazienti con diabete mellito tipo II e proteinuria >1g/24h.

Dopo un periodo di quattro settimane senza terapia con ACE inibitori, antagonisti recettoriali dell'Angiotensina II e statine, i pazienti sono stati trattati per sedici settimane con dosi crescenti di Lisinopril (da 10 a 40 mg/die). I pazienti hanno effettuato una visita finale otto settimane dopo la sospensione del farmaco.

In contrasto con gli studi precedenti, in questo studio alte dosi di ACE inibitori hanno ridotto in modo significativo la pressione arteriosa ma non hanno prodotto effetti apprezzabili sulla proteinuria e sul profilo lipidico. Questo conferma evidenze che la nefropatia diabetica conclamata risponde difficilmente a trattamenti potenzialmente reno- e cardio-protettivi. Nuovi approcci terapeutici devono essere individuati al più presto al fine di migliorare la prognosi di questa devastante complicanza del diabete di tipo 2.

Gli effetti dell'associazione di un ACE inibitore con un antagonista recettoriale nel trattamento delle nefropatie croniche

L'entità della proteinuria predice la progressione della malattia renale e la sua riduzione tramite gli inibitori dell'enzima di conversione dell'angiotensina (ACEi) o gli antagonisti recettoriali dell'angiotensina II (ARA) ha un effetto renoprotettivo.

In questo studio, prospettico, randomizzato e incrociato, che comprendeva ventiquattro pazienti con nefropatia cronica non diabetica abbiamo confrontato gli effetti a pari controllo pressorio su proteinuria, emodinamica e selettività glomerulare di otto settimane di trattamento con l'associazione di Benazepril (10 mg/die) e Valsartan (80 mg/die) o con Benazepril (20 mg/die) e Valsartan (160 mg/die) assunti singolarmente. Nonostante effetti simili sulla pressione arteriosa e la velocità di filtrazione glomerulare (VFG) la terapia combinata riduceva maggiormente la proteinuria rispetto al Benazepril (-56% vs -45.9%, P=0.02) e al Valsartan (-41.5%, P=0.002) usati singolarmente. La frazione di filtrazione e le resistenze vascolari renali si riducevano maggiormente con la terapia combinata o col Benazepril rispetto al Valsartan da solo.

Questi risultati mostrano che a paragonabile controllo pressorio, la terapia combinata con ACEi e ARA riduce la proteinuria maggiormente che la terapia con un unico farmaco. ARA non dovrebbe essere utilizzato per sostituire gli ACEi in questa particolare condizione clinica.

Il rituximab nella nefropatia membranosa idiopatica

La nefropatia membranosa idiopatica rappresenta la più frequente causa di sindrome nefrosica e può progredire verso l'insufficienza renale terminale nel 30-40% dei casi. Il trattamento con steroidi e farmaci immunosoppressivi è poco efficace e decisamente tossico. Vista la potenziale implicazione, dei linfociti B, nella patogenesi di questa malattia, ci siamo proposti di studiare gli effetti del trattamento con rituximab (375 mg/m²) in unica somministrazione settimanale per quattro settimane consecutive. Il farmaco in sperimentazione, un anticorpo monoclonale dell'antigene di superficie CD20 delle cellule B, è stato somministrato in otto pazienti affetti da nefropatia membranosa idiopatica con persistente proteinuria nefrosica. Lo studio ha mostrato che alla quarta e alla ventesima settimana di follow-up, la proteinuria si riduceva in media (ES) da 8.6 g/24h (1.4) a 3.8 (0.8) e 3.7 (0.9), rispettivamente (p<0.0001). Alla ventesima settimana, l'albuminuria e la clearance frazionata dell'albumina si riducevano del 70 e 65% rispettivamente, e l'albumina sierica aumentava del 31%. I linfociti B CD20 si mantenevano a livelli inferiori alla norma alla fine dello studio. Il profilo rischio-beneficio a breve termine del rituximab sembra essere quindi più favorevole di quello di qualsiasi farmaco immunosoppressivo fino ad ora utilizzato nel trattamento della nefropatia membranosa

idiopatica. Questi risultati aprono la prospettiva a studi prospettici, randomizzati, volti a valutare il profilo rischio/beneficio a lungo termine del rituximab rispetto a regimi immunosoppressivi aspecifici e terapia conservativa.

Trapianto combinato di fegato e rene per curare una forma di sindrome emolitico uremico associata a ridotta biodisponibilità di fattore H

La sindrome emolitico uremica (SEU) ricorrente è una forma genetica di microangiopatia trombotica, in genere associata con una ridotta attività del fattore H, responsabile di gran parte dei casi di SEU non preceduti da diarrea. Di solito si manifesta in famiglie, risulta in uremia terminale irreversibile ed invariabilmente recidiva sul rene trapiantato. Questa forma di SEU non ha per ora alcun trattamento efficace. Un bambino di due anni con SEU ed una mutazione del fattore H per cui è stata posta indicazione a trapianto di rene, ha ricevuto, in concomitanza al trapianto di rene, un trapianto di fegato al fine di ripristinare una normale sintesi del fattore H. Il trapianto combinato non è stato complicato da alcun segno di recidiva della malattia. Quindi, il trapianto combinato di fegato e rene è una procedura efficace per curare questa forma di SEU ed ottenere l'indipendenza dalla terapia dialitica sostitutiva e può essere salva-vita nei bambini ad imminente rischio di morte.



LABORATORIO EPIDEMIOLOGIA CLINICA

PERSONALE

Capo Laboratorio

Guido BERTOLINI, Dr.Med.Chir.

INTRODUZIONE ALLE ATTIVITA' DEL LABORATORIO

L'obiettivo generale delle attività del Laboratorio di Epidemiologia Clinica è quello di contribuire al miglioramento dell'assistenza sanitaria in diversi ambiti disciplinari. Due sono le principali direttrici seguite: aiutare gli operatori ad utilizzare al meglio le conoscenze e le risorse disponibili; contribuire alla produzione di nuove conoscenze utili alla pratica clinica. Gli ambiti assistenziali in cui il Laboratorio è particolarmente attivo sono quello della rianimazione e terapia intensiva e quello delle malattie rare in generale.

SCOPERTE/RISULTATI PRINCIPALI

Novantacinque TI italiane hanno partecipato al progetto Margherita sulla valutazione della qualità dell'assistenza nel 2002, reclutando più di 24.000 pazienti. Ciò ha permesso di sviluppare un modello di predizione della mortalità del paziente critico. A partire da questo modello, abbiamo potuto produrre un rapporto personalizzato a ciascuna TI partecipante, nel quale abbiamo confrontato la performance della singola TI con quella di tutte le altre, rese confrontabili con opportuni approcci matematici.

Abbiamo dimostrato che la polimiopia e polineuropatia rappresenta una componente fondamentale della sindrome della Insufficienza Multipla di Organi (Multi Organ Failure). La definizione di questa sindrome deve quindi essere aggiornata.

E' stata raccolta la più grossa casistica di pazienti affetti da sindrome di Takayasu mai descritta in un Paese occidentale (più di cento soggetti). Ciò ha consentito di documentare una elevata variabilità assistenziale e di mettere in luce i problemi più comuni da questo punto di vista.

COLLABORAZIONI NAZIONALI

Dipartimento di Neurologia, Clinica Medica II, Azienda ULSS 16, Università di Padova

COLLABORAZIONI INTERNAZIONALI

Medical Economics and Research Centre (MERCs), Royal Hallamshire Hospital, Sheffield UK
Bloomsbury Institute of Intensive Care Medicine, Institute of Biomedical Research, University College London UK

Medical Intensive Care Unit, Hôpital Henri Mondor & Université Paris, F

ATTIVITA' DI REVISIONE

Intensive Care Medicine

PRESENZA IN COMMISSIONI NAZIONALI E INTERNAZIONALI

Research Group on Cost-Effectiveness, European Society of Intensive Care Medicine

ORGANIZZAZIONE DI EVENTI

Corso residenziale “Statistica applicata alla ricerca biomedica”.

Meeting residenziale GiViTI – Valutazione degli interventi in Terapia Intensiva.

PARTECIPAZIONE AD EVENTI CON CONTRIBUTI DEL LABORATORIO

3rd International Workshop “Respiratory High Dependency Care Unit”; Firenze.

Consensus Conference “La formazione a distanza nel progetto E.C.M.”; Venezia.

15th Annual Congress of the European Society of Intensive Care Medicine; Barcelona.

56° Congresso Nazionale SIAARTI; Milano.

XV° Congresso Nazionale CSeRMEG (Centro Studi e Ricerche in Medicina Generale) - Rimini.

CONTRIBUTI E CONTRATTI

AstraZeneca Italia

Eli-Lilly Italia

SEVIT S.p.A.

Bloomsbury Institute of Intensive Care Med. UCL - London

Azienda ULSS 16, Padova - Italia

Sanofi-Synthelabo Italia

SELEZIONE PUBBLICAZIONI SCIENTIFICHE APPARSE NELL'ANNO 2002

Bertolini G, Minelli C, Latronico N, Cattaneo A, Mura G, Melotti R M, Iapichino G. The Use of analgesic drugs in postoperative patients: the neglected problem of pain control in intensive care units. An observational, prospective, multicentre study in 128 intensive care units. *Eur J Clin Pharmacol* (2002) 58: 73-77

Latronico N, Botteri M, Minelli C, Zanotti C, Bertolini G, Candiani A. Quality of reporting randomised controlled trials in intensive care literature. A systematic analysis of papers published in *Intensive Care Medicine* over 26 years. *Intensive Care Med* (2002) 8: 1316-1323.

Brazzi L, Bertolini G, Arrighi E, Rossi F, Facchini R, Luciani D. Top-down costing: problems in determining staff costs in intensive care medicine. *Intensive Care Med* (2002) 28: 1661-1663.

Luciani D, Marchesi M, Bertolini G. The role of Bayesian Network in the diagnosis of pulmonary embolism. *Journal of Thrombosis and Haemostasis* Accettato in Novembre 2002

Bertolini G, Rossi C, Brazzi L, Simini B. Local Clinical research and changes in local clinical practice. *Anaesthesia*. Accettato in Novembre 2002

Galli M, Luciani D, Bertolini G, Barbui T. Lupus anticoagulants are stronger risk factors of Thrombosis than anticardiolipin antibodies in the antiphospholipid syndrome: a systematic review of the literature. *Blood* Accettato in Agosto 2002

SELEZIONE PUBBLICAZIONI DIVULGATIVE APPARSE NELL'ANNO 2002

Brazzi L, Rossi C, Rossi G, Iapichino G, Bertolini G. Il progetto GiViTi sui costi delle terapie intensive italiane. *Minerva Anestesiologica* 2002; 68(S1): S343-S348.

ATTIVITA' DI RICERCA

Appropriatezza in Terapia Intensiva

Questa linea di ricerca è orientata a valutare l'appropriatezza di utilizzo di specifiche procedure, nonché più in generale delle risorse umane e materiali, nelle Terapie Intensive (TI) italiane. Si tratta di un progetto pluriennale promosso all'interno del gruppo collaborativo GiViTi (Gruppo italiano per la Valutazione degli interventi in Terapia Intensiva), coordinato dal Laboratorio. Fulcro di queste attività è il Progetto Margherita. Si tratta di un progetto di valutazione continua della qualità dell'assistenza, basato su un software di raccolta dati appositamente sviluppato all'interno del Laboratorio e distribuito gratuitamente a tutte le TI iscritte. Il software è stato realizzato con una struttura modulare, che permette di integrare facilmente la raccolta dati di base (il "core" della Margherita) con raccolte dati relative a progetti di ricerca specifici (i "petali" della Margherita).

Insufficienza d'organo nel paziente critico

Questa linea di progetti è volta a comprendere meglio i meccanismi che portano allo sviluppo, nel paziente critico, di insufficienze d'organo, nonché a migliorare gli strumenti diagnostici e terapeutici oggi disponibili. I progetti di questo gruppo sono denominati ALIVE, CRIMYNE e NUTRI. Il primo è uno studio di coorte per la descrizione epidemiologica dell'occorrenza e del trattamento dell'ARDS (Acute Respiratory Distress Syndrome) in Europa. Il secondo (CRIMYNE – CRITICAL Illness MYopathy and NEuropathy) è un progetto volto a studiare la storia naturale della polimiopatia e polineuropatia del paziente critico nonché a precisare il rapporto con l'insufficienza multipla d'organo. Il terzo progetto (NUTRI) è un trial clinico randomizzato che ha confrontato l'efficacia di due diversi approcci di nutrizione artificiale nel paziente critico nel prevenire sepsi, insufficienze d'organo e mortalità.

Epidemiologia clinica delle malattie rare e della medicina orfana

Gli obiettivi di questo ambito di attività sono quelli di individuare e descrivere i problemi aperti per la ricerca e la clinica, nonché i bisogni assistenziali dei pazienti, relativamente a patologie rare o ad aspetti trascurati di malattie più comuni.

Di questa linea di ricerca fanno parte due progetti specifici: "Epidemiologia della malattia di Takayasu in Italia" e "PNS - Euronetwork".

Il primo è un progetto multicentrico volto a descrivere la storia naturale della malattia di Takayasu (una rara forma di vasculite che colpisce le grosse arterie) in Italia, nonché l'assistenza ricevuta nel nostro Paese da chi ne è affetto. Il secondo è un progetto europeo, finanziato nel contesto del Quinto Programma Quadro della Comunità Europea, che ha gli obiettivi di: realizzare una rete di centri di riferimento per queste patologie con un database comune; organizzare una banca dati di siero e di liquido cerebrospinale per mettere a punto i migliori indicatori anticorpali per la diagnosi e la prognosi di questi pazienti; realizzare progetti di ricerca sul trattamento di questa sindrome.



COORDINAMENTO, INFORMAZIONE E DIAGNOSI DELLE MALATTIE RARE

PERSONALE

Capo Laboratorio

Arrigo SCHIEPPATI, Dr.Med.

Centro di Informazione per le Malattie Rare

Capo Unità

Erica DAINA, Dr.Med.

INTRODUZIONE ALLE ATTIVITA' DEL LABORATORIO

Le malattie rare possono essere definite come condizioni patologiche a bassa prevalenza e incidenza. Con l'obiettivo di introdurre un criterio rigoroso, il Working Group on Rare Diseases - istituito dalla Comunità Europea - ha stabilito si possa considerare rara una malattia con prevalenza inferiore a 5 casi per 10.000 abitanti. Per la maggior parte delle malattie rare mancano peraltro dati epidemiologici; per pochissime di esse esiste infatti un sistema di notifica dei casi a livello nazionale o internazionale. Pur interessando ciascuna un piccolo numero di individui, solo apparentemente le malattie rare sono un problema di pochi: l'Organizzazione Mondiale della Sanità stima ve ne siano almeno 5.000 e nel loro insieme rappresenterebbero il 10% della patologia umana.

Uno dei primi problemi che una persona colpita da malattia rara si trova ad affrontare è che la sua condizione venga riconosciuta; spesso la diagnosi giunge con notevole ritardo. Anche quando la diagnosi è tempestiva, i pazienti - o i loro familiari - incontrano molte difficoltà nell'ottenere esaurienti informazioni. Anche i ricercatori ed i clinici interessati allo studio delle malattie rare incontrano obiettive difficoltà; fra esse la scarsa probabilità di ricevere finanziamenti. Non è tuttavia solo un problema di risorse. Spesso mancano adeguati modelli animali; per definizione infine le malattie rare colpiscono pochi individui in una popolazione; è dunque verosimile che i pazienti siano dispersi su un'ampia area, a dimensione nazionale o addirittura sovranazionale. E' complesso realizzare un progetto di ricerca anche perchè è difficile localizzare i pazienti da studiare.

Le malattie rare comprendono patologie molto eterogenee e coinvolgono praticamente tutte le aree di interesse medico. Un programma di ricerca clinica sulle malattie rare di livello adeguato presuppone pertanto un approccio molto articolato, multidisciplinare.

Dal 1992 è iniziato un progetto pilota che ha l'obiettivo di contribuire ad aumentare le conoscenze e le possibilità di cura delle malattie rare.

Il Laboratorio ha costituito un Centro di Informazione per pazienti ed operatori sanitari, svolge progetti di ricerca mirati per alcune malattie rare ed è attivo nel campo della divulgazione e della formazione.

SCOPERTE/RISULTATI PRINCIPALI

Dal Dicembre 2001, con Delibera della Giunta Lombarda N.7328, il Centro è stato individuato quale sede del "Coordinamento della Rete Regionale per le Malattie Rare".

Dal Luglio 2000 la Commissione Europea ha riconosciuto al Laboratorio ruolo di "Postgraduate training on rare diseases" (contract No. QLK4-1999-50547).

Nel Database del Centro di Informazione sono contenuti i dati relativi ad oltre 8.000 pazienti affetti da 653 diverse malattie rare.

Nella Banca di materiale biologico sono raccolti e conservati campioni relativi a 200 pazienti con malattie rare e loro familiari.

Il Centro ha stabilito contatti con oltre 200 Associazioni Italiane di pazienti e loro familiari. I pazienti affetti da 70 malattie rare per le quali non esiste ancora una Associazione dedicata, hanno potuto incontrarsi tra loro.

COLLABORAZIONI NAZIONALI

Istituto Superiore di Sanità
 Italian Takayasu's Arteritis Study Group - ITAKA Group
 Ministero dell'Università e della Ricerca Scientifica e Tecnologica - M.U.R.S.T.
 Regione Lombardia, Assessorato alla Sanità
 Università degli Studi di Bergamo, Facoltà di Scienze dell'Educazione
 Università degli Studi di Torino, Scuola di Specializzazione in Patologia Clinica, Facoltà di
 Medicina e Chirurgia

COLLABORAZIONI INTERNAZIONALI

Comunità Europea
 International Registry for Hemolytic Uremic Syndrome and Thrombotic Thrombocytopenic
 Purpura

PRESENZA IN COMMISSIONI NAZIONALI E INTERNAZIONALI

Commissione per gli Interventi Urgenti a Sostegno delle Persone Affette da Malattie Rare
 (Decreto Ministeriale 6/6/2002).

Gruppo di Lavoro con funzioni di coordinamento operativo e di condivisione di strategie
 comuni per la prevenzione, la sorveglianza, la diagnosi, la terapia delle malattie rare, ai sensi del
 D.M. 18/5/2001, N°279, istituito dalla Regione Lombardia (Delibera Regione Lombardia
 N°7328, 11/12/2001).

ORGANIZZAZIONE DI EVENTI

Renal tubule and biliary duct diseases - a kidney and liver Workshop
 Azienda Ospedaliera Ospedali Riuniti di Bergamo, Italy
 April 11-12, 2002

Seminario sulla Malattia di Anderson-Fabry
 Nuove proposte collaborative
 Centro di Ricerche Cliniche per le Malattie Rare Aldo e Cele Daccò, Ranica (BG), 18 Settembre
 2002.

European Symposium "THE ROLE OF PATIENT SUPPORT GROUPS FOR RARE
 DISEASES", Clinical Research Center for Rare Diseases - Mario Negri Institute, Ranica
 (Bergamo), November 8, 2002.

PARTECIPAZIONE AD EVENTI CON CONTRIBUTI DEL LABORATORIO

Convegno "Le malattie respiratorie rare nel neonato"
Malattie rare: informazione e ricerca
Centro Congressi Giovanni XXIII, Bergamo, 15 - 16 Marzo 2002

Corso di formazione
"Ricerca clinica: gli infermieri professionali cosa c'entrano?"
Ospedale M. Bufalini, Cesena, 29 Maggio - 29 Ottobre 2002

Corso di aggiornamento in Pediatria 2002
Malattie rare: problematiche e nuovi aspetti normativi
Ospedale Leopoldo Mandic, Merate (LC), 24 Ottobre 2002

Seminari patologico-clinici 2002
Scuola di Specializzazione di Patologia Clinica
Approccio epidemiologico e patologico-clinico alle malattie rare
Università di Torino, 25 Ottobre 2002

Workshop: Patologie rare: biotecnologie e farmaci orfani
L'assistenza ai pazienti con malattie rare: esempio di coordinamento regionale
MOSAN EuroSalute 2002, Milano, 7 Novembre 2002

Corso di aggiornamento
"Ricerca e analisi della letteratura per infermieri di nefrologia e dialisi"
Ospedali Riuniti, Bergamo, 24 Novembre 2002

CONTRIBUTI E CONTRATTI

Commissione Europea, contratto No. QLK4-1999-50547
Comitato "Trenta Ore per la Vita"
"Associazione Ricerca Malattie Rare", Bergamo
"Una speranza per le Malattie Rare", Credito Bergamasco

SELEZIONE PUBBLICAZIONI SCIENTIFICHE APPARSE NELL'ANNO 2002

Remuzzi G, Schieppati A, Ruggerenti P
Clinical practice. Nephropathy in patients with type 2 diabetes.
N Engl J Med 2002 Apr 11; 346(15):1145-51

Schieppati A, Perico N, Remuzzi G
Conflict of interest as seen from a researcher's perspective.
Sci Eng Ethics 2002 Jul; 8(3):337-42

Remuzzi G, Galbusera M, Noris M, Canciani MT, Daina E, Bresin E, Contaretti S, Caprioli J, Gamba S, Ruggenenti P, Perico N, Mannucci PM, on behalf of the Italian Registry of Familial and Recurrent HUS/TTP. Von Willebrand factor cleaving protease (ADAMTS13) is deficient in recurrent and familial thrombotic thrombocytopenic purpura and hemolytic uremic syndrome. *Blood*. 2002 Aug 1;100(3):778-85

Schieppati A, Perico N, Remuzzi G
Tacrolimus and ciclosporin microemulsion in renal transplantation. *Lancet* 2002 Sep 7; 360(9335):799-800, author reply 800-1

SELEZIONE PUBBLICAZIONI DIVULGATIVE APPARSE NELL'ANNO 2002

Dossier: Malattie rare e farmaci orfani
Bollettino SIFO 48, 5, 2002

ALTRE PRODUZIONI EDITORIALI PUBBLICATE NEL CORSO DEL 2002

Schieppati A, Remuzzi G
La dialisi - per saperne di più.
Divisione EDIMES, Edizioni Medico Scientifiche, Pavia 2002

Schieppati A, Remuzzi G
La sindrome emolitico uremica - per saperne di più.
Wichtig Editore, Milano, Aprile 2002

Schieppati A, Remuzzi G
Le malattie renali - per saperne di più.
Lions Club Bergamo San Marco, Bergamo, Ottobre 2002

ATTIVITA' DI RICERCA

Centro di Informazione per le Malattie Rare

Nel 1992 presso il Centro di Ricerche Cliniche per le Malattie Rare Aldo e Cele Daccò, è stato istituito il Centro di Informazione per le Malattie Rare.

Il Centro è a disposizione dei pazienti affetti da malattie rare, dei loro familiari e dei loro medici. Fornisce gratuitamente informazioni, aggiornamenti e indirizzi utili per cercare di risolvere almeno in parte alcuni dei problemi che chi è colpito da una malattia rara si trova ad affrontare.

Nel corso degli anni la fisionomia dell'attività del Centro si è venuta gradualmente trasformando: da punto di smistamento di notizie aggiornate sulle malattie rare, a vero e proprio Centro di documentazione e di cultura su tutti i problemi relativi a queste malattie. La banca dati contenente notizie relative a numerose malattie rare è andata configurandosi come un vero e proprio patrimonio di dati che possono e potranno diventare utilissimi nella programmazione degli studi clinici.

Sebbene la natura delle malattie rare non consenta - per definizione - l'accumularsi di numeri rilevanti di casi, si è verificata già per oltre 100 patologie la possibilità di disporre di piccole coorti di pazienti con la stessa diagnosi.

La banca di materiale biologico

La nostra conoscenza sulla frequenza e sulla diffusione delle malattie genetiche rare è limitata, e questo è ovviamente un ostacolo alla loro prevenzione. Ancora più difficile è disporre di materiale biologico da un numero sufficiente di casi per poter condurre studi biochimici e genetici che permettano di identificare la possibile cura per queste malattie.

L'obiettivo del contributo al programma è quello di raccogliere dati clinici e campioni di materiale biologico relativi a pazienti affetti da alcune malattie genetiche rare e dai rispettivi familiari. Per realizzarlo sono stati creati un Archivio informatizzato dei casi segnalati e una Banca per la raccolta e la conservazione dei campioni biologici. La disponibilità dei dati clinici e dei campioni biologici relativi ai casi raccolti, consente di eseguire test biochimici e genetici nell'ambito di progetti di ricerca finalizzati a comprendere sempre meglio i meccanismi attraverso i quali le malattie si possono manifestare e a definire i trattamenti che più efficacemente potrebbero prevenirle o curarle.

Proposta di impiego di MMF, da confrontare con la terapia convenzionale, in pazienti con nefrite secondaria a LES

La nefrite lupica è la più comune complicanza viscerale del Lupus Eritematoso Sistemico (LES) e rappresenta una delle maggiori cause di morbidità e mortalità. I pazienti con glomerulonefrite proliferativa diffusa sono candidati ad una pesante terapia immunosoppressiva avente l'obiettivo di controllare l'infiammazione intrarenale. Essi ricevono alte dosi di cortisonici con effetti collaterali di rilievo. I protocolli di trattamento che prevedono l'associazione di farmaci citotossici sono più efficaci rispetto al solo cortisonico nel controllare la nefrite e nel ridurre il rischio di insufficienza renale terminale, tuttavia non si sono dimostrati in grado di migliorare la sopravvivenza dei pazienti. Tra i trattamenti con farmaci citotossici, quello basato sull'impiego della ciclofosfamide presenta l'indice terapeutico più favorevole. I pazienti trattati con citotossici possono tuttavia sviluppare importanti effetti collaterali. Lo studio (aperto, multicentrico, randomizzato) mira a verificare i possibili vantaggi offerti dalla terapia con un farmaco immunosoppressore di recente introduzione, il micofenolato mofetile (MMF) nei pazienti con nefrite lupica proliferativa diffusa.

Valutazione della efficacia della terapia enzimatica sostitutiva nella malattia di Fabry

La malattia di Fabry è una rara malattia metabolica legata al cromosoma X, causata dal deficit dell'enzima lisosomiale Alfa-galattosidasi A, e caratterizzata dall'accumulo progressivo e disseminato di glicosfingolipidi in vari organi e tessuti.

Si manifesta prevalentemente ed in modo più grave nei maschi emizigoti e le manifestazioni cliniche principali sono a carico di cute, reni, cuore, occhi, sistema nervoso.

Attualmente è disponibile una terapia enzimatica sostitutiva per la malattia di Fabry. I risultati preliminari sono incoraggianti, sia in termini di tollerabilità che di efficacia. Lo scopo di questo studio è valutare l'efficacia a lungo termine della terapia enzimatica sostitutiva nei pazienti con malattia di Fabry e coinvolgimento renale.

Si prevede di arruolare 20 pazienti (uomini e donne) afferenti al Registro dello Studio Multicentrico Italiano sulla Malattia di Anderson-Fabry (SMIMAF).

Proposta di impiego di MMF in pazienti con Arterite di Takayasu resistente al trattamento con cortisone

La malattia di Takayasu è una rara infiammazione delle arterie, le cui cause sono ancora sconosciute. I vasi maggiormente colpiti sono l'aorta e i suoi rami principali che, proprio a causa della malattia, possono restringersi fino all'occlusione completa o dilatarsi in più punti. Ad ammalarsi sono più spesso donne giovani, tra i 20 e i 30 anni. L'obiettivo del trattamento è quello di fermare l'infiammazione delle arterie e nel 50% dei casi è possibile utilizzando alte dosi di cortisone. Il restante 50% non trova beneficio dalla terapia, presenta ricadute della malattia o non può mai sospendere il trattamento con cortisone. È stato dimostrato che l'aggiunta di altri farmaci come la ciclofosfamide e il methotrexate alla terapia con cortisone, può facilitare la remissione della malattia. Il rischio di tossicità per l'uso prolungato di ciclofosfamide o metotrexate è però ben noto. È quindi necessario studiare nuove strategie terapeutiche che offrano un equivalente se non un migliore effetto sul controllo della malattia, ma che siano meno tossici per i pazienti. Il micofenolato mofetile (MMF) potrebbe avere queste caratteristiche e l'obiettivo dello studio è valutarne l'utilità di impiego in pazienti con Arterite di Takayasu resistente al trattamento con cortisone.

Registro Internazionale per la Sindrome Emolitico Uremica e la Porpora Trombotica Trombocitopenica

La Sindrome Emolitico Uremica (SEU) è una malattia rara caratterizzata da anemia emolitica e diminuzione del numero delle piastrine, con prevalente coinvolgimento dei reni. Nella sua forma tipica si manifesta con un evento acuto seguito da una guarigione senza conseguenze nell'80-90% dei casi; ciò può avvenire spontaneamente (come in molti casi di SEU infantile) oppure dopo infusione di plasma o plasmaferesi. Alcuni pazienti vanno invece incontro ad una remissione transitoria, seguita da ricadute che comportano lo sviluppo di danni neurologici o renali permanenti. In queste forme, chiamate ricorrenti, si ipotizza l'esistenza di un fattore genetico che predisponga allo sviluppo della malattia. Esistono inoltre varianti estremamente rare di SEU, quelle denominate familiari in cui sono colpiti almeno due soggetti nella stessa famiglia.

Il Laboratorio coordina il Registro Internazionale per la Sindrome Emolitico Uremica e la Porpora Trombotico Trombocitopenica. Tale iniziativa ha permesso di raccogliere un rilevante numero di casi segnalati da 55 Centri Italiani e da 16 Centri stranieri (Europei ed extra Europei) e di impostare specifici progetti di ricerca in collaborazione con il Laboratorio di Immunologia e Genetica del trapianto e malattie rare.

Analisi di linkage della malattia policistica renale autosomica dominante

La malattia policistica renale autosomica dominante (ADPKD) è una malattia geneticamente eterogenea, che può essere causata da mutazioni di geni diversi. Finora sono stati identificati due geni responsabili della malattia: il gene PKD1, localizzato sul cromosoma 16, mutato nell'85% dei pazienti, e il gene PKD2, localizzato sul cromosoma 4, mutato nel 10% circa dei pazienti. La principale manifestazione renale è rappresentata dalla formazione bilaterale di cisti, che aumentano di numero e dimensioni con l'età causando una progressiva perdita della funzione renale. Nei pazienti PKD1 la malattia è più severa con un esordio più precoce e un'età media di sopravvivenza renale di 54 anni, comparata ai 73 anni nei pazienti PKD2. L'ecografia renale, che è certamente l'esame diagnostico di scelta per riconoscere i soggetti a rischio (familiari di un soggetto affetto), è ritenuta attendibile solo dopo i 20 o 30 anni. L'introduzione della diagnostica molecolare ha migliorato l'identificazione presintomatica delle persone affette. Il Laboratorio ha attivato un progetto di screening dei pazienti con ADPKD afferenti all'Unità di Nefrologia e Dialisi degli Ospedali Riuniti di Bergamo. Nelle famiglie ADPKD verrà effettuata l'analisi di linkage, in collaborazione con il Laboratorio di Immunologia e Genetica del

trapianto e malattie rare, allo scopo di distinguere le famiglie PKD1 dalle famiglie PKD2 e di individuare all'interno di ciascuna famiglia i soggetti a rischio (diagnosi presintomatica).

Valutazione della qualità della vita nei pazienti affetti da malattie rare

Negli ultimi decenni sono stati introdotti numerosi progressi nei metodi per effettuare valutazioni della QdV, e sempre più sono gli studi che descrivono l'importanza di questo tipo di valutazioni per una più completa assistenza sanitaria. Il Laboratorio ha condotto uno studio di valutazione della QdV (Progetto QUALI-TA) in un gruppo di pazienti con arterite di Takayasu, che è una rara infiammazione delle arterie, le cui cause sono ancora sconosciute e che colpisce prevalentemente le donne giovani, tra i 20 e i 30 anni. Lo strumento di valutazione della QdV che è stato utilizzato per questo progetto è il questionario sullo stato di salute SF-36. Si tratta di un questionario generico, non specifico per patologia e di cui è disponibile una versione italiana validata. L'obiettivo principale del progetto QUALI-TA era quello di confrontare i risultati ottenuti dalla analisi dei punteggi dell'SF-36 dei pazienti che malattia di Takayasu che avevano contattato il Centro di Informazione per le Malattie Rare, con quelli disponibili della popolazione generale italiana e creare spunti per ulteriori iniziative e approfondimenti. È stato così possibile creare un archivio computerizzato contenente i dati relativi a tutti i pazienti italiani con malattia di Takayasu che hanno aderito al progetto. Questa prima iniziativa ci permetterà di elaborare progetti di valutazione della QdV anche per altre malattie rare per le quali sono disponibili presso il Centro dati relativi ad un numero adeguato di pazienti.

European Network for Childhood HUS Longterm Sequelae (Progetto ENCHLOSE)

La Sindrome Emolitico Uremica (SEU) è una malattia rara che colpisce 2.1/100.000 individui per anno con un picco di incidenza nei bambini al di sotto dei 5 anni di età (6.1/100.000/anno). Le manifestazioni cliniche più significative sono rappresentate da insufficienza renale acuta, anemia emolitica microangiopatica e trombocitopenia. Nel 95% dei casi pediatrici tali manifestazioni sono precedute da diarrea, talvolta con presenza di sangue nelle feci (SEU diarrea associata o D+), precipitata da infezione gastrointestinale con *Shigella dysenteriae* o alcuni ceppi di *E. Coli* che producono una particolare tossina (Shiga-like toxin - STx). Le forme non associate a diarrea (D-) sono talvolta precedute da febbre o infezioni delle vie respiratorie, possono essere familiari o ricorrenti e talvolta secondarie ad anomalie genetiche. La prognosi della SEU nei bambini non è ancora stata definita con precisione.

L'obiettivo dello studio è stato quello di descrivere la prognosi a breve e a lungo termine di 284 pazienti colpiti da SEU in età pediatrica, identificati attraverso un gruppo collaborativo internazionale. Si è inoltre cercato di correlare le caratteristiche dell'episodio acuto con le conseguenze a distanza della malattia.

Registro dei farmaci orfani

I farmaci orfani sono medicinali caratterizzati, per definizione, da scarsi ritorni economici; per questo motivo, la loro produzione non risulta in generale conveniente per le imprese farmaceutiche. I farmaci orfani possono essere suddivisi concettualmente in varie categorie (nella realtà spesso interrelate), in funzione della motivazione alla base della loro scarsa convenienza economica: farmaci per malattie rare, farmaci utilizzati durante calamità naturali, farmaci per malattie diffuse nei paesi poveri, farmaci dai costi di ricerca e sviluppo molto elevati, farmaci non brevettabili. Nel primo caso la non redditività è legata a un'insufficiente domanda di mercato: i volumi di vendita non assicurano ricavi in grado di coprire le spese complessive di produzione, ricerca e sviluppo. Legislazioni atte a favorire la ricerca e lo sviluppo dei farmaci per curare malattie rare sono in vigore in alcuni paesi quali Stati Uniti, Giappone, Australia, Singapore e, più recentemente, nella Comunità Europea. Ciascuno di questi Paesi ha agenzie o organi governativi che si occupano dei prodotti dalla designazione alla

registrazione. Il Centro di Informazione per le Malattie Rare, in collaborazione con lo specifico progetto coordinato dall'Istituto Superiore di Sanità, ha assunto l'incarico di prendere contatto con queste agenzie e di tenere aggiornato l'elenco dei prodotti medicinali registrati come farmaci orfani; si occuperà inoltre di mantenere un Registro aggiornato degli antidoti e dei dosaggi orfani e degli studi clinici in corso sulle malattie rare.



CESAV

Centro di Economia Sanitaria A. e A. Valenti

PERSONALE

Capo Laboratorio

Livio GARATTINI, Dr.Econ.Comm.

INTRODUZIONE ALLE ATTIVITA' DEL CENTRO

Il CESAV, Centro di Economia Sanitaria Angelo e Angela Valenti, localizzato a Ranica (BG) presso la Villa Camozzi ed esistente dal 1992, svolge attività di ricerca nel settore sanitario, al cui sviluppo offre il proprio contributo in materia di economia e di management. In particolare, il centro sviluppa la propria attività nelle aree di ricerca riguardanti la valutazione economica (cioè l'analisi dei costi e dei benefici di possibili alternative in sanità) e l'analisi comparativa (cioè lo studio di sistemi sanitari esteri, per poter individuare possibili innovazioni da proporre al SSN e, più in generale, a livello europeo).

SCOPERTE/RISULTATI PRINCIPALI

Nel 2002, gli studi di valutazione economica hanno riguardato stime sui costi sanitari della maculopatia, dell'epilessia, della schizofrenia, del dolore, della trombosi venosa profonda, della BPCO e dei centri trasfusionali.

Gi studi inerenti l'analisi comparativa, concentrata esclusivamente su Paesi dell'Unione Europea per una maggiore integrazione futura anche in campo sanitario, hanno riguardato soprattutto l'analisi sul mercato dei farmaci generici e le modalità di approvvigionamento e distribuzione di alcuni dispositivi medici quali: sacche per stomia, dispositivi di assorbenza e ossigeno medicale.

COLLABORAZIONI NAZIONALI

AIES (Associazione Italiana di Economia Sanitaria).

Collaborazione con enti pubblici nazionali (Ministero della Sanità, Assessorati Regionali, Unità Sanitarie Locali, Ospedali,...).

Collaborazioni con enti privati (tipicamente aziende del settore e associazioni di categoria).

COLLABORAZIONI INTERNAZIONALI

CES (Collège des Economistes de la Santé).

Università di Hannover.

Università di York.

PRESENZA IN COMITATI EDITORIALI

Applied Health Economics and Health Policy (Dr. Livio Garattini).

Eurohealth (Dr. Livio Garattini).

FarmacoEconomia News (Dr. Livio Garattini).

Farmeconomia e Percorsi Terapeutici (Dr. Livio Garattini).

Journal of Drug Assessment (Dr. Livio Garattini).

Journal of Medical Economics (Dr. Livio Garattini).

PharmacoEconomics Italian Research Articles (Dr. Livio Garattini).
 Pharma Hospital (Dr. Livio Garattini).
 The European Journal of Health Economics (Dr. Livio Garattini).
 View & Review (Dr. Livio Garattini).

ATTIVITA' DI REVISIONE

Applied Health Economics and Health Policy.
 Hepac.
 PharmacoEconomics.
 PharmacoEconomics Italian Research Articles.

ORGANIZZAZIONE DI EVENTI

Ranica, 27 Maggio.
 Titolo: "Workshop di Economia Sanitaria".
 Titolo degli interventi: "Transferring the results of economic evaluations from country to country".
 "The role of budget impact analysis in economic evaluations of pharmaceuticals".
 "Specifying good practice in economic evaluation- an update in the ISPOR Task Forces on Methodology in Economic Evaluation".

PARTECIPAZIONE AD EVENTI CON CONTRIBUTI DEL CENTRO

Brunico, 11 Gennaio - Congresso.
 Titolo: "I farmaci generici".
 Titolo della relazione: "Il farmaco generico-uno strumento di razionalità e trasparenza del mercato".

Giulianova (TE), 24 Gennaio - Congresso.
 Titolo: "Modelli distributivi a confronto: ossigenoterapia e dispositivi per incontinenza.-Fra devolution del SSN e aspettative dei pazienti".
 Titolo delle relazioni: "Fattori critici per il decisore pubblico";
 "Ossigenoterapia: Realtà europee a confronto";
 "Dispositivi per incontinenza: realtà europee a confronto".

Parigi: 2 Febbraio - Congresso.
 Titolo: "Trisenox Pricing Strategy, tactics, negotiations".
 Titolo della relazione: "Discussion of country specific requirements".

Roma, 13 Febbraio - Congresso.
 Titolo: "Studio di Valutazione Economica della Broncopneumopatia Cronica Ostruttiva".
 Titolo delle relazioni: "Presentazione protocollo studio BIC (BPCO Italian Costs)" ; "I costi di struttura dei servizi di pneumologia" .

Padova, 13 Marzo - Convegno.

Titolo: Presentazione modalità di acquisto e distribuzione da parte delle ASL venete dei dispositivi per incontinenza, per stomia e ossigenoterapia.

Prato, 16 Maggio - Convegno.

Titolo: “Modelli distributivi a confronto: ossigenoterapia e dispositivi per incontinenza –Fra centralismo regionale e devolution locale”.

Titoli delle relazioni: “Fattori critici per il decisore pubblico”; “Realtà europee a confronto” .

Bergamo, 22 Maggio - Congresso.

Titolo congresso e relazione: “Farmaci, salute e anziani” .

Milano, 28-29 Maggio - Congresso.

Titolo: “Farmacoeconomia e SSN: teoria e pratica della valutazione economica”.

Titolo delle relazioni: “La valutazione economica: fra teoria e pratica”;

“SSN e farmaci generici: le esperienze delle ASL”.

Bassano, 7 Giugno - Congresso.

Titolo del congresso e della relazione: “Il farmaco generico: cultura o risparmio?”.

Parigi, 14 Giugno - Congresso.

Titolo: “Créés.-l’Observatoire”.

Titolo della relazione: Evaluation pharmacoéconomique: utilité européenne –Italie.

Fano, 27 Giugno - Convegno.

Titolo: Presentazione modalità di acquisto e distribuzione da parte delle ASL emiliane dei dispositivi per incontinenza, per stomia e ossigenoterapia.

Trieste, 12-13 Settembre - Congresso.

Titolo: “Update diagnostico e terapeutico nelle patologie maculari: opinioni a confronto”.

Titolo della relazione: “Lo studio “CARMA” (Cost Age-Related MAcular degeneration).

Copenhagen, 11-12 Ottobre - Congresso.

Titolo: "Practising Medicine in Europe: Towards New Metiers"- XXIV Conferenza Europe Blanche (tavola rotonda).

Bonate Sotto (Bg), 14 Ottobre - Congresso.

Titolo del congresso e della relazione : “La nostra salute: concorrenza nella sanità?-Fra mito e realtà”

Roma, 23-24 Ottobre - Congresso.

Titolo: “Ruolo delle nuove tecnologie nella prevenzione, diagnosi e cura del cancro della mammella” (tavola rotonda).

Somma Lombardo (Va), 25 Ottobre - Congresso.

Titolo: “Studio nazionale su qualità e costo-beneficio del trattamento del diabete mellito nel bambino e nell’adolescente”.

Titolo della relazione: “I costi del trattamento del diabete- Programmi di analisi-Profilo organizzativo dei centri di Diabetologia: risultati 1° questionario”.

Firenze, 29 Ottobre - Convegno.

Titolo: Presentazione modalità di acquisto e distribuzione da parte delle ASL toscane dei dispositivi per incontinenza, per stomia e ossigenoterapia.

Firenze, 30 Ottobre - Congresso.

Titolo del congresso e della relazione: "Distribuzione e rimborso dei dispositivi medici-modelli assistenziali a confronto".

Tunisi, 31 Ottobre - Congresso.

Titolo del congresso e della relazione: "Evaluation du médicament: aspects pharmaco-economiques".

Rotterdam, 4 Novembre - Congresso.

Titolo: Editorial Board Meeting of "The European Journal of Health Economics"(tavola rotonda).

Barcellona, 6-11 Novembre - Congresso.

Titolo: "Third International Symposium on Clinical and Economic Aspects of Osteoporosis and Osteoarthritis"(tavola rotonda).

Bruxelles, 13 Novembre - Congresso.

Titolo: "The Informed Patient" Meeting (tavola rotonda).

San Paolo, 21-24 Novembre - Congresso.

Titolo: "Pharmacoeconomy, with emphasis on the practical applications" (tavola rotonda).

Ranica (BG), 17 Dicembre - Convegno.

Titolo: Presentazione modalità di acquisto e distribuzione da parte delle ASL siciliane dei dispositivi per incontinenza, per stomia e ossigenoterapia.

CONTRIBUTI E CONTRATTI

Alfa Wassermann.

Boehringer-Ingelheim.

Coloplast.

Gentium.

Hartmann.

Lifescan.

Novartis.

Novo Nordisk.

Pharmacia & Upjohn.

Sanofi-Synthélabo.

Vivisol.

Unione Europea.

SELEZIONE PUBBLICAZIONI SCIENTIFICHE APPARSE NELL'ANNO 2002

Cornago D, Garattini L "The stoma appliances market in five European countries: a comparative analysis" *Applied Health Economics and Health Policy* 1(1): 43-50.

Tetto A, Manzoni P, Millul A, Beghi E, Garattini L, Tartara A, Avanzini G "The costs of epilepsy in Italy. A prospective cost-of-illness study in referral patients with disease of different severity" *Epilepsy Research* 48: 208-16.

Ghislandi S, Apolone G, Garattini L, Ghislandi I "Is EQ-5D a valid measure of HRQoL in patients with movement disorders?" *Hepac* 3: 125-130.

Garattini L, Denti C, Virgili G, Viscarra C, Parazzini F on behalf of the Study Group, Ricci E "Costs of macular degeneration associated with pathological myopia in Italian departments of ophthalmology" *Journal of Drug Assessment* 5(3): 239-246.

Campi R, Garattini L, Tediosi F, Bonati M "Pharmacoeconomic analysis of prescriptions in Italian pediatric general practice" *Hepac* 4: 261-266.

SELEZIONE PUBBLICAZIONI DIVULGATIVE APPARSE NELL'ANNO 2002

Cornago D, Garattini L "Efficienza tecnologica e produttiva delle strutture trasfusionali in Italia" *Farmeconomia e percorsi terapeutici* 3(1):29-35.

Denti C, Garattini L, Lanzetta P, Parazzini F, Ricci E "Costi della Degenerazione Maculare legata all'età in Italia" *PharmacoEconomics Italian Research* 4(2):57-63.

Garattini L, Rossi C, Tediosi F, Cornaggia C, Covelli G, Barbui C Parazzini F per il Gruppo di Studio SCORE "Costi diretti della schizofrenia nei dipartimenti di salute mentali italiani" *PharmacoEconomics Italian Research* 4(2):57-63.

Martina S, Cornago D, Garattini L e Gruppo di Studio I.H.A.G.O.: Arduini P, Mentrangolo F, Capparoni G, Dainese G, Frolidi G, Speziali A, Gari S, Gelosa G, Leggieri A, Laner B, Macchi G, Re D, Palmarocchi A ("Incentivi ai farmaci generici a livello di ASL: l'osservatorio I.H.A.G.O.") *Farmeconomia e percorsi terapeutici* 3(2):71-80.

De Compadri P, Viscarra C, Garattini L "Costi della rinite allergica e collegamenti con l'asma: una rassegna della letteratura" *FarmacoEconomia News* 3: 7-13.

De Compadri P, Viscarra C, Garattini L "Epidemiologia e costi dell'osteoporosi: una revisione della letteratura" *FarmacoEconomia News* 4: 3-14.

Garattini L "I farmaci generici: una storia italiana, IV° ed ultimo atto?". *Salute: qualità & economia* 1:1-2.

Garattini L "Per i piccoli ospedali UN NUOVO RUOLO". *Famiglia Cristiana* 36:51.

Garattini L "La "storia infinita" dei piccoli ospedali da chiudere" *ASI* 37:27-28.

Garattini L, Tediosi F "L'ossigenoterapia domiciliare in cinque paesi europei: un'analisi comparativa" *PharmaHospital* 3:7-11.

Cornago D, Garattini L "Processi di acquisto e distribuzione dell'ossigenoterapia di lungo termine in Lombardia" *PharmaHospital* 4:1-3.

Cornago D, Garattini L "Il mercato dei dispositivi per stomia in cinque Paesi europei: indicazioni per l'Italia" *PharmaHospital* 4:8-11.

ATTIVITA' DI RICERCA

Attività di formazione

L'attività di formazione è sviluppata solo se collegata ai progetti di ricerca, al fine di offrire contributi originali che supportino in modo naturale gli obiettivi della ricerca stessa.

Valutazione Economica in Sanità

L'obiettivo di questa linea di ricerca è valutare i costi delle patologie e i rapporti costo-efficacia delle alternative diagnostico-terapeutiche disponibili. I tipi di analisi si differenziano a seconda che si tratti di studi osservazionali di costi della patologia, oppure di studi di valutazione economica in senso stretto (tipicamente analisi costo-efficacia). Nel primo caso, il metodo utilizzato è quello di seguire coorti di pazienti affetti dalla stessa patologia per un periodo significativo di tempo, al fine di verificare i relativi consumi sanitari la cui monetizzazione implica l'individuazione dei costi unitari delle singole prestazioni. A livello ospedaliero, l'obiettivo è quello di stimarne i costi reali, analizzando i dati di contabilità per centri di costo laddove disponibili.

Nel caso delle analisi costo-efficacia, vengono anche valutati distintamente i costi e l'efficacia delle alternative prese in esame (si raccolgono, quindi, informazioni anche di carattere clinico sulle terapie analizzate).

Analisi dei sistemi sanitari

L'obiettivo di questa linea di ricerca è studiare l'organizzazione dei sistemi sanitari per trarre delle indicazioni dai confronti sistematici fra gli stessi. Le scelte dei legislatori nazionali, a fronte di problemi comuni in ogni paese, variano molto da una nazione all'altra e si concretizzano in trend di spesa sempre crescenti. L'intervento pubblico è presente in ogni nazione, poichè il servizio sanitario non possiede meccanismi regolatori di mercato collegati alle leggi economiche della domanda e dell'offerta; pertanto, l'analisi comparativa di tali scelte a livello internazionale è utile per verificare il livello di razionalità perseguito da ogni politica sanitaria nazionale.

Lo schema d'indagine del CESAV prevede un approfondimento dell'assetto istituzionale, dei principali servizi erogati e della gestione finanziaria del sistema sanitario indagato per ricostruirne una monografia il più possibile esaustiva e per trarne, perciò, indicazioni sia positive che negative del relativo funzionamento.

L'ATTIVITA' DIDATTICA

Direttore della Scuola - Mario Salmona

L'attività didattica dell'Istituto si svolge nel campo delle scienze biomediche, è inserita nell'ambito dei programmi di formazione professionale della Regione Lombardia ed è costituita da un percorso formativo per la specializzazione di tecnici di laboratorio, per la specializzazione postdottorale di laureati che intendono dedicarsi alla ricerca e per il diploma di Infermiere professionale in ricerca clinica (presso il Centro di Ricerche Cliniche per le Malattie Rare "Aldo e Cele Daccò" di Ranica, BG). Di recente l'Istituto ha anche attivato un corso di Ph.D (Dottorato di Ricerca) in collaborazione con la Open University di Londra.

Tutti gli allievi dei corsi dopo tre mesi di preparazione fruiscono di borse di studio dell'Istituto, che dal 1963 al 2002 ne ha erogate 5.428 di cui 625 a ricercatori stranieri. L'Istituto favorisce l'inserimento nel mondo del lavoro degli allievi dopo il conseguimento del diploma.

Gli allievi svolgono la loro attività di specializzazione prevalentemente in un determinato laboratorio dell'Istituto e sono progressivamente inseriti nei programmi di ricerca in corso. Essi sono tenuti a frequentare lezioni, seminari, corsi e convegni e ad utilizzare la biblioteca interna. L'Istituto fornisce a tutti gli allievi la possibilità di utilizzare Internet per l'accesso alle basi di dati di biomedicina e stampare in linea gli articoli delle principali riviste scientifiche. Gli allievi devono essere disponibili a recarsi all'estero per partecipare a corsi e congressi. Dopo l'ottenimento del diploma o del titolo di Ph.D. i laureati ed i periti possono avere l'opportunità di trascorrere 1 o 2 anni all'estero.

I diplomi di "Specialista in Ricerca Farmacologica" e di "Tecnico in Ricerca Biochimica" sono rilasciati ufficialmente dalla Regione Lombardia e dall'Istituto di Ricerche Farmacologiche "Mario Negri" ed hanno valore legale in tutto il territorio della Repubblica Italiana. Essi possono essere riconosciuti nei concorsi pubblici e contribuire alla formazione dei relativi punteggi. Infine, i diplomi rilasciati dall'Istituto "Mario Negri" vengono unanimemente considerati una garanzia di ottima formazione teorica e pratica.

Il titolo di Ph.D ha valore legale in tutto il mondo ed è equivalente al titolo di Dottorato di Ricerca. Una volta ottenuto il Diploma regionale oppure il titolo di Ph.D gli allievi che vogliono proseguire la loro attività nella ricerca possono ottenere delle borse di studio per trascorrere all'estero uno o due anni di ulteriore specializzazione presso rinomati istituti stranieri.

I corsi attualmente tenuti sono:

- Corso triennale per laureati, che porta al conseguimento del diploma di “SPECIALISTA IN RICERCA FARMACOLOGICA”.
- Corso triennale per diplomati periti, che porta al conseguimento del diploma di “TECNICO IN RICERCA BIOCHIMICA”.
- Corso di Ph.D. (Dottorato di Ricerca) nell’ambito di un accordo siglato con la Open University di Londra.
- Corso biennale per infermieri professionali che porta al conseguimento del diploma di “INFERMIERE PROFESSIONALE IN RICERCA CLINICA” (soltanto presso il Centro Daccò di Ranica, BG).

Altre attività formative

- TESI DI LAUREA

E’ possibile preparare la tesi di laurea in materie scientifiche presso l’Istituto previa approvazione delle rispettive Facoltà. E’ necessario frequentare l’Istituto per almeno 2 anni.

- SUMMER STUDENTS

L’Istituto accoglie, nei mesi di giugno e luglio, un certo numero di studenti degli ultimi due anni delle scuole superiori nell’ambito degli stages formativi “scuola-lavoro”.

ORGANIGRAMMA

Unità organizzative
Uffici e Servizi

Mario Negri Milano

Direzione

Direttore Prof. Silvio GARATTINI, Dr. Med.

Amministrazione

Maria Grazia PEZZONI, Capo Servizio Amministrativo

Ufficio Studi

Armanda JORI, Dr. Farm.

Ufficio Relazioni Esterne

Claudio PANTAROTTO, Comm., Chim.

Servizio Prevenzione e Protezione

Emilio BENFENATI, Dr. Chim.
Annamaria SEGALINI, Dr. Fisica, Responsabile

English Style Editor

Judi BAGGOTT

Manutenzione Generale

Alessandro CAMPOSARCONE

Servizio Fotografico

Felice e Vincenzo DE CEGLIE

Ufficio Acquisti

Eufrasia COVIELLO

Segreteria di Direzione

Rosanna MAPELLI, Capo Segreteria

Segreteria Generale

Lida DAL BO, Capo Segreteria

Custodi

Elisabetta e Romano BERTOLI

Laboratori Negri Bergamo

Direzione

Direttore Prof. Silvio GARATTINI, Dr. Med.
Coord. Ricerche Giuseppe REMUZZI, Dr. Med.
Segretario Scientifico Ariela BENIGNI, Dr. Sci. Biol., Ph. D.

Progetti di Ricerca/Assistenza Amministrazione

Daniela MELACINI, Dr. Sci. Biol.

Servizio Grafico Scientifico

Antonella PICCINELLI, Dr. Sci. Biol.

Servizio Prevenzione e Protezione

Responsabile Annamaria SEGALINI, Dr. Fisica,
Flavio GASPARI, Dr. Chim.

Biblioteca

Responsabile Anna BOZZALE
Valeria MIGLIOLI

Manutenzione Generale

Giancarlo GASPARI

Ufficio Acquisti

Luciana PROMETTI

Segreteria di Direzione

Antoinette van ENGELLEN, Capo Segreteria

Centro Aldo e Cele Daccò Ranica (Bg)

Direzione

Direttore Prof. Silvio GARATTINI, Dr. Med.
Coord. Ricerche Giuseppe REMUZZI, Dr. Med.
Segretario Scientifico Ariela BENIGNI, Dr. Sci. Biol., Ph. D.
Direttore Sanitario Norberto PERICO, Dr. Med.

Affari Regolatori

Paola BOCCARDO, Dr. Sci. Biol.

Servizio Prevenzione e Protezione

Responsabile Annamaria SEGALINI, Dr. Fisica,
Paola BOCCARDO, Dr. Sci. Biol.

Biblioteca 'Mansueto Astori'

Responsabile Anna BOZZALE
Monica MINALI

Ufficio Acquisti

Monica MINALI

Affari Regolatori

Paola BOCCARDO, Dr. Sci. Biol.

Segreteria di Direzione

Daniela RICEPUTI, Capo Segreteria
Sara PERACCHI, Assistente Studi Clinici

Manutenzione Generale/Custode

Giovanni GERVASONI