

La ricerca sulla sclerosi multipla

Research on multiple sclerosis

**Finanziata dalla Fondazione
Italiana Sclerosi Multipla**

Funded by the Italian Multiple
Sclerosis Foundation

COMPENDIO 2024



**SCLE
ROSI
MULT
iPLA**
associazione
italiana

un mondo
libero dalla SM

AIMS. INSIEME, UNA CONQUISTA DOPO L'ALTRA

La ricerca sulla sclerosi multipla

Research on
multiple sclerosis

**Finanziata dalla Fondazione Italiana
Sclerosi Multipla**

*Funded by the Italian Multiple Sclerosis
Foundation*

Associazione Italiana Sclerosi Multipla - APS/ETS

A cura di:

Roberta Guglielmino

Area Ricerca Scientifica AISM-FISM

Progetto e coordinamento editoriale:

Manuela Capelli

Area Comunicazione e Ufficio Stampa AISM

Copyright FISM ETS 2024

Pubblicato e distribuito da:

Associazione Italiana Sclerosi Multipla - APS/ETS

Via Operai, 40 - 16149 Genova

Tutti i diritti sono riservati.

È vietata la riproduzione con qualsiasi mezzo, anche se parziale,
senza il permesso scritto dell'editore.

Progetto grafico e impaginazione:

Carlo Alberto Liga

Finito di stampare nel mese di maggio 2024

da Ditta Lang Srl - Genova

ISBN 978-88-7148-177-7



Introduzione / Introduction

«Ci spinge un insopprimibile bisogno di rispondere a domande brucianti. Brucianti per noi ricercatori. Brucianti per le persone con sclerosi multipla e patologie correlate, che alla ricerca scientifica chiedono di poter vivere davvero». È nelle parole di uno dei nostri ricercatori, membro del nostro Comitato Scientifico, che leggiamo lo spirito della ricerca scientifica FISM.

Il nostro modo di lavorare, la nostra strategia, il nostro viaggio sono interlacciate come una ragnatela.

Nella trama di rete più esterna, che tutte le altre contiene, c'è una strategia globale della ricerca scientifica in tutti i campi: come ci indica il titolo del Convegno FISM 2024, lavoriamo per inserire la salute del cervello – una partita che riguarda miliardi di persone nel mondo – in un'agenda unitaria, mondiale, che ci colleghi tutti.

Dentro la prima, una seconda rete di connessioni.

Dal maggio 2023 le Associazioni per la Sclerosi Multipla di Italia, Australia, Canada, Danimarca, Francia, Germania, Spagna, Regno Unito, Stati Uniti, insieme alla loro Federazione Internazionale SM, hanno dichiarato il loro impegno collettivo per una strategia di ricerca globale che porti a cure risolutive per la SM.

Ci siamo dati tre direttrici. La prima: bloccare la sclerosi multipla (stop MS), la progressione dei sintomi e della disabilità, trovando i nuovi trattamenti che ancora mancano. La seconda: recuperare la funzione (restore MS): trovare strategie per riparare la mielina, rendere sempre più efficace la riabilitazione, migliorare la qualità di vita delle persone. La terza: mettere una volta per tutte la parola fine alla SM (end MS), che vuol dire ridurre a zero i fattori di rischio e arrivare a un mondo in cui non ci sia più nessuna diagnosi di sclerosi multipla.

Un percorso già consistente, di cui siamo orgogliosi protagonisti: nel periodo 2021-2023, nel mondo, secondo una ricerca commissionata dalle associazioni e dalla Federazione Internazionale SM, sono attivi 2.346 progetti di ricerca, per un valore totale di 1.394.465.196 €, di cui oltre 806 - per un valore di oltre 421 milioni - in Europa.

Il terzo cerchio, interno e connesso agli altri due, è stato anche il primo a essere stato disegnato ed è la strategia che guida la ricerca indirizzata, promossa e finanziata da AISM con la sua Fondazione, presentata nell'Agenda della Sclerosi Multipla e patologie correlate 2025. Ci indirizza, in piena sintonia con le strategie globali della ricerca, a scoprire le cause della SM (prevenzione primaria), bloccare sin dall'inizio la SM e le patologie correlate (prevenzione secondaria), rallentare e fermare la progressione e i sintomi, promuovendo il benessere e la qualità di vita delle persone, che sono seme, radice e meta di ogni nostro impegno quotidiano.

Nel periodo 2020-2024, nel portfolio di FISM risultano attivi 188 progetti: 84 per bloccare la SM, 74 per ristabilire la funzione, 23 per la prevenzione primaria e 7 per potenziare le infrastrutture di ricerca, per un investimento complessivo di 56 milioni di euro.

I 12 progetti conclusi presentati in questo Compendio, insieme ai 3 del Registro Italiano Sclerosi Multipla e ai Progetti speciali tuttora in corso, fotografano lo stato dell'arte della nostra ricerca.

Due sono dedicati a importanti fattori di rischio, l'impatto del Covid e dell'inquinamento sulla malattia; altri due rappresentano il contributo di FISM all'irrinunciabile ricerca sulle cause della SM.

Tre gli studi dedicati all'identificazione di nuove strade per migliorare la diagnosi e il monitoraggio della malattia.

Un terzo ambito di questo Compendio è costituito dai progetti mirati a identificare strade per nuovi trattamenti.

Decisamente importanti, per la strategia complessiva della nostra ricerca, i progetti speciali indirizzati alla messa a punto di una medicina sempre più personalizzata. A titolo di esempio il progetto che utilizza i dati riportati dalle persone (Patient Reported Outcome). Sempre di più le persone coinvolte nella SM si rivelano co-attori decisivi.

Un'ultima nota: con il bando 2023 abbiamo ottenuto 125 richieste di finanziamento: di questi 24 sono stati finanziati.

La nostra ricerca di eccellenza è viva e vitale, anche più delle risorse che riusciamo a mettere a disposizione.

Abbiamo tutti insieme la responsabilità di fare il possibile e anche di più per rendere possibili tutti i progetti di ricerca che possono cambiare la storia di tante persone e arrivare alla meta del viaggio, un mondo libero dalla sclerosi multipla.

Mario Alberto Battaglia
Presidente FISM

Paola Zarin
Direttore Ricerca Scientifica FISM

«We are driven by an irrepressible need to answer burning questions. Burning for us researchers. Burning for people with multiple sclerosis and related disorders, who ask scientific research to be able to truly live." It is in the words of one of our researchers, member of our Scientific Committee, that we read the spirit of FISM scientific research.

Our way of working, our strategy, our journey are intertwined like a spider's web.

In the outermost network, which contains all the others, there is a global strategy for scientific research in all fields: as the title of the FISM 2024 conference indicates, we work to include brain health – an issue that concerns billions of people in the world – in a united, global agenda that connects us all.

Inside the first, a second network of connections. Since May 2023, the Multiple Sclerosis Societies of Italy, Australia, Canada, Denmark, France, Germany, Spain, the United Kingdom, the United States, together with their International MS Federation, have declared their collective commitment to a global research strategy that leads to definitive treatments for MS.

We have given ourselves three directions. The first: blocking multiple sclerosis (stop MS), the progression of symptoms and disability, by finding the new treatments that are still missing. The second: recover function (restore MS) that is to find strategies to repair myelin, to make rehabilitation increasingly effective, to improve people's quality of life. The third: put an end to MS once and for all (end MS), which means reducing risk factors to zero and arriving at a world in which there is no longer any diagnosis of multiple sclerosis.

A substantial path, of which we are proud protagonists: in the period 2021-2023, in the world, according to research commissioned by the Societies and the International MS Federation, 2,346 research projects are active, for a total value of €1,394,465,196, of which over 806 - worth over €421 million - in Europe.

The third circle, internal and connected to the other two networks, was also the first to be designed. This is the strategy that guides the research directed, promoted and financed by AISM with its Foundation, presented in the Agenda of Multiple Sclerosis and related pathologies 2025. It directs us, in full harmony with global research strategies, to discover the causes of MS (primary prevention), block MS and related disorders from the beginning (secondary prevention), slow down and stop the progression and symptoms, promoting the well-being and quality of life of people, who are the seed, root and goal of all our daily commitments.

In the period 2020-2024, 188 projects are active in the FISM portfolio: 84 to block MS, 74 to restore function, 23 for primary prevention and 7 to strengthen research infrastructures, for a total investment of €56 million euros.

The 12 completed projects presented in this Compendium, together with the 3 from the Italian Multiple Sclerosis Registry and the special projects still underway, illustrate the state of the art of our research.

Two are dedicated to important risk factors, the impact of Covid and pollution on the disease; two others represent FISM's contribution to the indispensable research on the causes of MS.

Three studies are dedicated to identifying new ways to improve the diagnosis and monitoring of the disease. A third area of this Compendium consists of projects aimed at identifying paths for new treatments.

The special projects are significantly important for the overall strategy of our research, aimed at developing increasingly personalized medicine. A clear example is the project that uses data reported by people (Patient Reported Outcomes). More and more, people involved in MS are proving to be decisive co-actors.

One last note: following the 2023 call for proposals, we received 125 funding requests: of these, 24 were funded. Our excellent research is alive and vital, even more than the resources we are able to provide.

We all have the responsibility to do everything we can and even more to make all the research projects that can change the lives of many people possible and reach the final destination of our journey, a world free from multiple sclerosis.

Mario Alberto Battaglia
Chairman of the Italian
Multiple Sclerosis Foundation

Paola Zaratini
Director of Scientific Research for the
Italian Multiple Sclerosis Foundation

5,2 milioni / 5.2 million €

stanziati per la ricerca scientifica nel 2023 allocated to scientific research in 2023

196

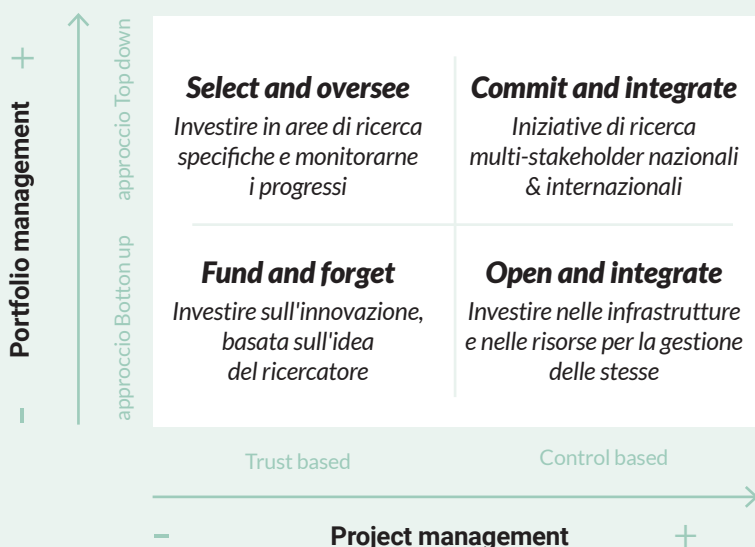
gruppi di ricerca attivi active research groups

L'Associazione Italiana Sclerosi Multipla, attraverso la sua Fondazione (FISM), promuove e orienta la ricerca scientifica sulla sclerosi multipla in Italia e ne è la principale finanziatrice: sostiene il percorso scientifico dei ricercatori di talento, tramite un bando annuale di carattere generale rispetto agli obiettivi di ricerca, bandi dedicati a programmi speciali, la partecipazione a progetti internazionali, la promozione e il finanziamento di centri/network di eccellenza e infrastrutture di ricerca.

Per individuare terapie e trattamenti efficaci a rallentare il decorso della malattia e per trovare, domani, una cura risolutiva, AISM e FISM hanno guidato il talento e la passione dei ricercatori negli ambiti di ricerca più promettenti, investendo oltre 22 milioni di euro negli ultimi 3 anni. Hanno contribuito al posizionamento di eccellenza del sistema di ricerca italiano; oltre a finanziare la ricerca extramurale e intramurale, hanno sviluppato modelli europei innovativi di partnership finalizzati a promuovere un unico ecosistema tra ricerca e cura.

Tutte le persone con SM e patologie correlate, loro caregiver e familiari hanno diritto a una ricerca scientifica rigorosa, di eccellenza e innovativa che sia indirizzata, promossa e finanziata, in modo coresponsabile da tutti gli attori che condividono questa missione, verso una cura personalizzata. Un diritto alla ricerca che si deve esplicare anche attraverso la cittadinanza scientifica: la conoscenza e il coinvolgimento di tutti i cittadini – non solo delle persone interessate – per garantire la piena partecipazione e la traduzione della ricerca in risposte concrete per le persone e per la società (cfr. Agenda della sclerosi multipla e patologie correlate 2025).

La ricerca FISM è finanziata in accordo con la mappa strategica di finanziamento AISM-FISM.



- 1) Fund and forget, finanzia e dimentica:** investire nell'innovazione, basata sulle idee del ricercatore
- 2) Select and oversee, seleziona e monitora:** sostenere un'area di ricerca specifica e monitorare i progressi della ricerca
- 3) Open and integrate, aprire e integrare:** sostenere insieme anche ad altri enti di ricerca, le infrastrutture di ricerca e le risorse per la gestione delle stesse anche per garantire che i risultati della ricerca siano condivisi
- 4) Commit and integrate, impegno e integrazione con tutti gli attori coinvolti:** l'impegno delle fondazioni a sostenere aree di ricerca strategiche integrando le competenze di tutti gli attori (stakeholder) coinvolti

122

pubblicazioni
publications

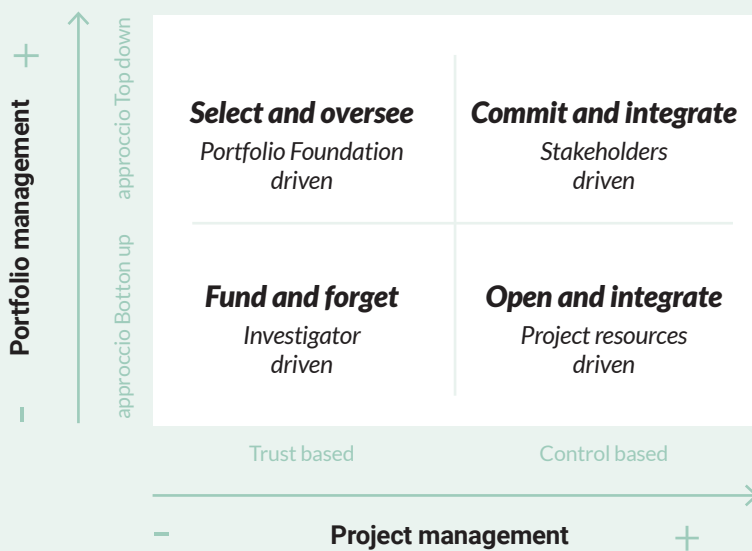
con impact factor medio di 10,13
with an average impact factor of

The Italian Multiple Sclerosis Association, through its Foundation (FISM), promotes and guides research on multiple sclerosis in Italy and is its main funder: it supports the scientific path of talented researchers, through an annual call of a general nature with respect to the research objectives, calls dedicated to special programs, participation in international projects, promotion and financing of centers / networks of excellence and research infrastructures.

To identify effective therapies and treatments to slow down the course of the disease and to find, tomorrow, a definitive cure, AISM and FISM have guided the talent and passion of researchers in the most promising research areas, investing over 22 million euros in the last 3 years. They have contributed to the positioning of excellence of the Italian research system; in addition to funding extramural and intramural research, they have developed innovative European models of partnerships aimed at promoting a single ecosystem between research and care.

All people with MS and related diseases, their caregivers and family members have the right to rigorous, excellent and innovative scientific research that is directed, promoted and funded, in a co-responsible way by all the actors who share this mission, towards personalized care. A right to research that must also be expressed through scientific citizenship: the knowledge and involvement of all citizens – not only the persons concerned – to ensure full participation and the translation of research into tangible answers for people and for society (cfr. Multiple sclerosis and related diseases Agenda 2025).

FISM research is funded in accordance with the AISM-FISM funding strategy map.



- 1) Fund and forget:** investing in innovation, based on the ideas of the researcher;
- 2) Select and oversee, select and monitor:** support a specific research area and monitor research progress
- 3) Open and integrate, open and integrate:** support together with other research institutions, research infrastructures and resources for their management also to ensure that research results are shared
- 4) Commit and integrate, commitment and integration with all the actors involved:** the commitment of the foundations to support strategic research areas by integrating the skills of all the actors (stakeholders) involved

Lista degli autori / List of Authors

Banndiera Paolo	52	Morandi Elena	25
Barresi Giacinto	59	Mosconi Paola	127
Battistini Luca	99	Patti Francesco	133
Bergamaschi Roberto	19	Pedullà Ludovico	76
Bezzini Daiana	55	Picozza Mario	35
Bricchetto Giampaolo	68	Podda Jessica	71
Cavalla Paola	130	Prada Valeria	79
Cucca Francesco	95	Pugliese Anna Maria	45
De Rosa Veronica	21	Ristori Giovanni	83
De Vito Francesca	28	Stampanoni Bassi Mario	42
Filippi Massimo	16; 107	Tacchino Andrea	74
Ghezzi Angelo	89	Tramontano Enzo	32
Giovannetti Ambra Mara	63	Uccelli Antonio	40
Mancorda Tommaso	52	Ulivelli Monica	85
Matarese Giuseppe	99		

Indice / Index

INTRODUZIONE / INTRODUCTION

Mario A. Battaglia
Paola Zarin

4

LISTA DEGLI AUTORI / LIST OF AUTHORS

8

PROGETTI BANDO FISM TERMINATI NEL 2023 FISM CALL PROJECTS ENDED IN 2023

14

SCOPRIRE LE CAUSE DELLA SM E I FATTORI DI RISCHIO DISCOVERING THE CAUSES OF MS AND RISK FACTORS

15

Massimo Filippi

COVID-19 nelle persone con sclerosi multipla: impatto su attività, progressione, profili neuropsichiatrici e aspetti immunologici della malattia. Lo studio DISCERNING

COVID-19 in people with multiple SClERosis: impact on disease activity, progression, Neuropsychiatric profile and ImmuNoloGical features. The DISCERNING study

16

Roberto Bergamaschi

L'inquinamento Atmosferico come possibile trigger di Infiammazione nella sclerosi multipla

Air Pollution as a possible trigger of inflammation in multiple sclerosis (API)

19

Veronica De Rosa

Ruolo delle vescicole extracellulari nella regolazione dell'espressione del Foxp3 e della funzione soppressoria in cellule T regolatorie nella sclerosi multipla

Elucidating the extracellular vesicle-associated determinants modulating Foxp3 expression and suppressive function of T regulatory cells in multiple sclerosis

21

Elena Morandi

Analisi dei meccanismi attraverso i quali la variante genetica Gly307Ser associata alla sclerosi multipla influenza la funzione dei linfociti T

Investigation of the mechanisms by which the multiple sclerosis associated genetic variant CD226 Gly307Ser influences T cell function

25

DIAGNOSI E MONITORAGGIO DELLA MALATTIA DIAGNOSIS AND MONITORING OF THE DISEASE

27

Francesca De Vito

I microRNA circolanti nel liquido cerebrospinale come potenziali biomarkers della progressione della malattia mediata dalla sinaptopatia nella sclerosi multipla

MicroRNAs in cerebrospinal fluid as potential biomarkers for synaptopathy-driven disease progression in multiple sclerosis

28

Enzo Tramontano	32
Identificazione di singoli loci HERV-W espressi differenzialmente nei pazienti affetti da sclerosi multipla come biomarcatori specifici e bersagli terapeutici innovativi	
Identification of individual HERV-W loci differentially expressed in multiple sclerosis patients as specific biomarkers and innovative therapeutic targets	
Mario Picozza	35
Tutto in una goccia: studio dei correlati immunitari di efficacia, meccanismo ed effetti collaterali delle terapie contro la SM in citometria ad alta dimensionalità su prelievo capillare	
Every Drop is Sacred (EDSS): searching for immune correlates of efficacy, mode-of-action and side effects of MS drugs by high-dimensional cytometry on finger prick-derived capillary blood	
VERSO NUOVI TRATTAMENTI / TOWARDS NEW TREATMENTS	39
Antonio Uccelli	40
Comprendere il controllo neurale della linfopoiesi nell'Encefalite Autoimmune Sperimentale per designare nuove terapie e monitorare l'attivazione del sistema immunitario nella sclerosi multipla	
Exploiting a neural reflex to reduce generation of T cells in Experimental Autoimmune Encephalomyelitis and monitor immune system activation in multiple sclerosis	
Mario Stampanoni Bassi	42
Effetti dei farmaci anti-CD20 sull'eccitotossicità sinaptica dipendente dalle cellule T nella sclerosi multipla	
Effects of anti-CD20 therapy on T lymphocyte-dependent synaptic excitotoxicity in multiple sclerosis	
Anna Maria Pugliese	45
Nuove strategie terapeutiche di re-mielinizzazione: ruolo dei recettori A2B adenosinergici nella oligodendrogenesi e loro possibile interazione con la via di segnalazione di sfingosina-1- fosfato	
New insights for remyelinating therapies: oligodendrogenic role of adenosine A2B receptors and their putative interplay with sphingosine-1-phosphate axis	
PROGETTI SPECIALI / SPECIAL PROJECTS	49
Introduzione / Introduction	50
ADVOCACY / ADVOCACY	51
Tommaso Manacorda, Paolo Bandiera	52
Il PDTA come strumento di umanizzazione e personalizzazione dei percorsi di cura e assistenziali presso la Rete della SM	
The Integrated Care Pathway as a tool for humanization and personalization of care and assistance paths within the MS Network	
Daiana Bezzini	55
Descrizione dell'aderenza alle principali campagne di medicina preventiva nelle persone con sclerosi multipla	
Description of adherence to the main preventive health campaigns of persons with multiple sclerosis	

MEDICINA PERSONALIZZATA / PERSONALIZED MEDICINE 58

Giacinto Barresi 59
ENACT. Impiegare soluzioni neuroergonomiche per attenuare il tremore cerebellare www.enactproject.eu
ENACT. Employing Neuroergonomic solutions to Attenuate the Cerebellar Tremor www.enactproject.eu

Ambra Mara Giovannetti 63
Allestimento italiano del programma "REsilience and Activity every DaY for MS", degli outcomes, e valutazione pilota di efficacia mediante impiego di metodologia mista (READY- It-MS)
Italian set up of the program "REsilience and Activity every DaY for MS", of outcomes, and pilot assessment of efficacy using a mixed methodology (READY-It-MS)

Giampaolo Bricchetto 68
Un nuovo profilo funzionale per monitorare la progressione della disabilità nella sclerosi multipla (PROMOPRO-MS)
A new functional profile to monitor the progression of disability in MS (PROMOPRO-MS)

Jessica Podda 71
Design, sviluppo e test di usabilità di un'app per l'autovalutazione e il monitoraggio dei disturbi cognitivi nelle persone con sclerosi multipla: DIGICOG-MS®
Design, development and usability of a mHealth app for self-assessment and monitoring of cognitive impairment in people with Multiple Sclerosis: DIGICOG-MS®

Andrea Tacchino 74
Riabilitazione delle funzioni cognitive e motorie al tempo della salute digitale: spunti di teleriabilitazione per persone con Sclerosi Multipla. (REMOTE-MS)
REhabilitation of cognitive and MOtor functions in the era of digital health: hints of TELerehabilitation for people with Multiple Sclerosis (REMOTE-MS)

Ludovico Pedullà 76
Interazioni virtuose tra riabilitazione ed esercizio fisico per affrontare il problema della fatica nella sclerosi multipla: un approccio neurofisiologico
Virtuous interactions between rehabilitation and exercise to address the problem of fatigue in multiple sclerosis: a neurophysiological approach

Valeria Prada 79
Biomarkers sierici e salivari nella Sclerosi Multipla: un nuovo modo di osservare gli effetti riabilitativi
Serum and salivary biomarkers in Multiple Sclerosis: a new way of observing the rehabilitation effects

PREVENZIONE / PREVENTION 82

Giovanni Ristori 83
Vaccino con bacillo di Calmette Guerin nella sindrome radiologicamente isolata
Bacille Calmette Guerin (BCG) vaccine in radiologically isolated syndrome (RIS)

Monica Ulivelli 85
Stato di immunizzazione verso le principali malattie trasmissibili - prevenibili da vaccino -, e sicurezza dei vaccini, in una coorte di pazienti con sclerosi multipla. Studio multicentrico italiano
Immunisation status against major communicable diseases preventable with vaccines, and safety of vaccines, in a cohort of multiple sclerosis patients. An Italian multicenter study

Angelo Ghezzi 89
Identificazione di fattori di rischio genetici e dell'interazione gene-ambiente nella sclerosi multipla pediatrica (PEDiatric Italian Genetic and enviRonment ExposurE) (PEDIGREE study)
Identification of genetic risk factors and interaction between genetic and nongenetic risk factors in pediatric multiple sclerosis (PEDiatric Italian Genetic and enviRonment ExposurE) (PEDIGREE study)

VERSO NUOVI TRATTAMENTI / TOWARDS NEW TREATMENTS 94

Francesco Cucca 95

Impatto dei fattori genetici e dei farmaci utilizzati nel trattamento della sclerosi multipla sulle risposte immunitarie cellulari e umorali dopo la vaccinazione contro il Sars-Cov-2

Impact of genetic factors and drugs used in the treatment of multiple sclerosis on cellular and humoral immune responses after vaccination against Sars-Cov-2

Giuseppe Matarese, Luca Battistini 99

Restrizione calorica come nuovo approccio terapeutico per manipolare l'immunità e per migliorare il potenziale terapeutico di farmaci di prima linea nella sclerosi multipla recidivante-remittente

Calorie restriction as a novel therapeutic tool to manipulate immunity and improve therapeutic potential of first line drug treatments during relapsing remitting multiple sclerosis

DATA SHARING / DATA SHARING 105

NETWORK ITALIANO DI NEUROIMAGING (INNI) 106

PER L'OTTIMIZZAZIONE DELL'UTILIZZO DI TECNICHE AVANZATE DI RISONANZA MAGNETICA IN PAZIENTI CON SCLEROSI MULTIPLA

THE ITALIAN NEUROIMAGING NETWORK INITIATIVE (INNI) TO OPTIMIZE THE USE OF ADVANCED MRI TECHNIQUES IN PATIENTS WITH MULTIPLE SCLEROSIS

Massimo Filippi 107

REGISTRO ITALIANO SCEROSI MULTIPLA 113

ITALIAN MULTIPLE SCLEROSIS AND RELATED DISORDERS REGISTER

Introduzione / Introduction 115

Progetti terminati / Ended projects 127

Paola Mosconi 127

Monitoraggio dei dati: l'esperienza del Registro Italiano Sclerosi Multipla & Patologie Correlate

Data monitoring roadmap. The experience of the Italian Multiple Sclerosis and Related Disorders Register

Paola Cavalla 130

La pandemia SARS-CoV-2 come modello per valutare la relazione tra infezioni virali intercorrenti e attività della malattia nella Sclerosi Multipla: uno studio caso-controllo con propensity score matching

SARS-CoV-2 pandemic as a model to assess the relationship between intercurrent viral infections and disease activity in Multiple Sclerosis: a propensity score matched case-control study

Francesco Patti 133

Studio retrospettivo multicentrico sulla valutazione dell'efficacia di ocrelizumab nei pazienti affetti da sclerosi multipla primariamente progressiva (OPPORTUNITY)

Effectiveness of Ocrelizumab in Primary Progressive Multiple sclerosis: a multicenter, retrospective, real-world study (OPPORTUNITY)

PROGETTI DI RICERCA E BORSE DI STUDIO FINANZIATI DA FISM 140
2023, 2022

FISM FUNDED RESEARCH PROJECTS AND FELLOWSHIPS
2023, 2022

Comitato scientifico FISM 2023, 2022 / FISM Scientific Committee 150
2023, 2022

PROGETTI BANDO FISM TERMINATI NEL 2023

FISM CALL PROJECTS
ENDED IN 2023



Cause della SM e fattori di rischio

MS causes
and risk factors

COVID-19 nelle persone con sclerosi multipla: impatto su attività, progressione, profili neuropsichiatrici e aspetti immunologici della malattia. Lo studio DISCERNING



Massimo Filippi

Unità di Neurologia, Unità di Neuroriabilitazione, Servizio di Neurofisiologia, IRCCS Ospedale San Raffaele; Milano; Università Vita-Salute San Raffaele, Milano, Italia

COLLABORATORI/COLLABORATORS

Maria A. Rocca, Vittorio Martinelli, Roberto Furlan, Paolo Preziosa, Chiara Zanetta, Agostino Nozzolillo, Federico Montini, Olga Marchesi, Alessandro Meani

PREMESSE E OBIETTIVI

La pandemia da coronavirus 2019 (COVID-19) ha sollevato preoccupazioni in relazione alla salute delle persone con sclerosi multipla, poiché sono state considerate a maggior rischio di contrarre l'infezione e di sviluppare una forma più severa di COVID-19. Nella popolazione generale, fattori demografici, ecologici, politico-economici e la presenza di comorbidità hanno influenzato la gravità di COVID-19. Nelle persone con sclerosi multipla, l'età avanzata, il sesso maschile, le comorbidità, una maggiore disabilità, il trattamento con terapie altamente efficaci e l'uso recente di steroidi sono stati associati ad un aumentato rischio di COVID-19 e ad una prognosi peggiore. L'identificazione di tali caratteristiche è utile per individuare i pazienti a rischio di COVID-19 grave, ma la loro utilità è limitata in termini di interventi preventivi poiché rappresentano tratti non modificabili. Al contrario, studi sulla popolazione generale hanno evidenziato come anche fattori modificabili come un maggiore indice di massa corporea, livelli elevati di glucosio nel sangue ed il fumo di sigaretta siano associati ad un'infezione più severa, aprendo la strada a strategie preventive personalizzate.

Sulla base delle conoscenze attuali, l'infezione da SARS-CoV-2 potrebbe influenzare diversi aspetti della sclerosi multipla, compresa l'attività di malattia, la necessità di un cambio terapeutico, la progressione della disabilità ed il peggioramento dei sintomi psicologici. Inoltre, la risposta immunitaria all'infezione da SARS-CoV-2 non è stata completamente caratterizzata nelle persone con sclerosi multipla.

Questo studio ha valutato un gruppo di pazienti con sclero-

rosi multipla che ha sviluppato la malattia da COVID-19 (COVID-19(+)) confrontandolo con un gruppo di pazienti senza COVID-19 (COVID-19(-)), identificando fattori demografici, biologici e dello stile di vita associati all'infezione da SARS-CoV-2. Abbiamo anche esplorato se la malattia da COVID-19 fosse correlata ad un aumentato rischio di attività infiammatoria di malattia, peggioramento della disabilità, modifiche del trattamento, deficit cognitivi e sintomi psicologici nei 18-24 mesi successivi all'infezione. Infine, abbiamo caratterizzato la risposta immunitaria verso SARS-CoV-2 nel gruppo di pazienti COVID-19(+), valutando il ruolo della vaccinazione.

RISULTATI

Nello studio sono stati inclusi pazienti afferenti presso il Centro Sclerosi Multipla dell'IRCCS Ospedale San Raffaele. I dati basali sono stati raccolti per 174 pazienti COVID-19(+) e 348 COVID-19(-), con caratteristiche simili in termini di età, sesso, disabilità, durata di malattia e trattamento. I dati di follow-up erano disponibili per 136 pazienti COVID-19(+) e 186 pazienti COVID-19(-).

Livelli più elevati di vitamina D e lo stato di fumatore attivo sono emersi come fattori protettivi nei confronti dell'infezione da SARS-CoV-2, mentre avere più conviventi e lavorare a stretto contatto con gli altri o nel settore sanitario aumentava il rischio di COVID-19.

Il nostro studio ha inoltre dimostrato che la malattia da COVID-19 non è correlata ad un aumentato rischio di attività infiammatoria di malattia, progressione della disabilità o modifiche al trattamento nei 18-24 mesi successivi all'infezione. La percentuale di pazienti con riacutizzazioni

(6.6% vs 5.4%), necessità di cambiamento del trattamento (7.4% vs 3.8%), presenza di lesioni nuove o ingrandite alla risonanza magnetica dell'encefalo (8.8% vs 10.2%) e presenza di lesioni captanti il mezzo di contrasto (6.7% vs 3.9%) sono infatti simili tra i due gruppi.

Inoltre, abbiamo riscontrato che la compromissione cognitiva ed i disturbi dell'umore, tra cui stanchezza, ansia, depressione, scarsa qualità del sonno e sintomi da disturbo da stress post-traumatico, sono simili nelle persone con sclerosi multipla con COVID-19 rispetto a quelle senza 18-24 mesi dopo l'infezione. Nello specifico, non abbiamo evidenziato differenze significative in termini di memoria, velocità di elaborazione delle informazioni, attenzione e fluency verbale tra i due gruppi. Infine, anche la risposta immunitaria all'infezione è comparabile tra persone con sclerosi multipla COVID-19(+) e COVID-19(-).

CONCLUSIONI

Diversi fattori modificabili possono favorire o contrastare l'infezione da SARS-CoV-2 nelle persone con sclerosi

multipla, agevolando l'identificazione dei pazienti più a rischio per COVID-19 grave. Un'azione educativa specifica, così come il mantenimento di misure personali e comportamenti protettivi, potrebbero proteggere dal rischio di infezione le persone con sclerosi multipla. Inoltre, questo studio rafforza l'importanza del monitoraggio attento e della supplementazione dei livelli di vitamina D nelle persone con sclerosi multipla.

Non abbiamo evidenziato alcuna differenza in termini di attività infiammatoria di malattia, progressione della disabilità e modifiche al trattamento tra i gruppi COVID-19(+) e COVID-19(-).

Sulla base di questi risultati, potrebbe essere opportuno suggerire che le persone con sclerosi multipla possano tornare alla loro vita normale con meno paura del COVID-19, alleviando misure protettive eccessive.

COVID-19 in people with multiple SCLEROSIS: impact on disease activity, progression, Neuropsychiatric profile and Immunological features. The DISCERNING study

INTRODUCTION AND AIMS

The pandemic of coronavirus disease 2019 (COVID-19) has raised several health concerns in people with multiple sclerosis (PwMS), since they have been considered at higher risk to develop infections and more severe COVID-19. Significant efforts were made to better understand how SARS-CoV-2 affects PwMS and identify risk factors for adverse outcomes with COVID-19. In the general population, demographic, ecological, and politico-economic factors together with comorbidities have influenced the severity of COVID-19 worldwide. In PwMS, older age, male sex, concomitant comorbidities, higher disability, ongoing treatment with highly effective therapies and recent steroids administration were associated with an increased risk of COVID-19 and worse prognosis. The definition of such features is helpful for the identification of those patients at high-risk of severe COVID-19, but still their utility is limited in terms of preventive interventions as they are non-modifiable traits. In contrast, studies on the general population have highlighted that also modifiable factors such as higher body mass index, higher glucose level in the blood and smoking, are associated with a worse outcome, opening the way to tailored preventive strategies.

Based on current knowledge, SARS-CoV-2 infection could influence different aspects of MS, including disease activity, treatment change, disability progression and worsening of psychological symptoms. Moreover, the immune response to SARS-CoV-2 infection has not been fully characterized yet among PwMS. Given these premises, this study evaluated a group of PwMS who developed COVID-19 (COVID-19(+)) in comparison with a group of patients without COVID-19 (COVID-19(-)), identifying demographic, biological and lifestyle factors associated with SARS-CoV-2 infection. We also explored whether COVID-19 was associated with an increased risk of inflammatory disease activity, disability worsening, treatment changes, cognitive dysfunction and neuropsychiatric manifestations during the 18–24 months after infection. Finally, we characterized immune response to SARS-CoV-2 in the COVID-19(+) group, evaluating the role of vaccination.

RESULTS

We enrolled patients afferent to the Multiple Sclerosis Center of the IRCCS San Raffaele Hospital. Baseline data were collected for 174 COVID-19(+) and 348 COV-

ID-19(-) PwMS, with similar characteristics in terms of age, sex, disability, disease duration and treatment. Follow-up data were available for 136 COVID-19(+) and 186 COVID-19(-) patients.

We found that higher vitamin D levels and active smoking status were protective factors against SARS-CoV-2 infection, while having more cohabitants and working in direct contact with others or in the healthcare sector increased the risk of COVID-19.

We demonstrated that COVID-19 did not increase the risk of inflammatory activity, disability progression, or treatment changes in PwMS during the 18-24 months after infection. Percentage of patients with relapses (6.6% vs 5.4%), need for treatment change (7.4% vs 3.8%), presence of new or enlarging brain lesions (8.8% vs 10.2%), and presence of lesions with contrast enhancement (6.7% vs 3.9%) were similar between the two groups.

We found that cognitive impairment and mood disturbances, including fatigue, anxiety, depression, poor sleep quality and post-traumatic stress disorder symptoms, were similar in PwMS with COVID-19 compared to those without COVID-19 at 18-24 months after the infection. Regarding cognitive function, there were no significant differences in terms of memory, information processing

speed, attention and verbal fluency, between the two groups.

Finally, also the immune response to SARS-CoV-2 infection was comparable between COVID-19(+) and COVID-19(-) PwMS.

CONCLUSIONS

Our study demonstrated that several modifiable factors could favor or contrast SARS-CoV-2 infection in PwMS and may help clinicians to protect those patients with *a priori* risk factors of severe COVID-19. Pursuing an educational policy towards employers and social importance of telework as well as the maintenance of protective personal measures and behaviors may prevent unnecessarily risk of infection in these patients. Moreover, this study reinforces the importance of careful monitoring and supplementation of vitamin D levels in PwMS.

We also found no significant differences in terms of inflammatory disease activity, disability progression, and treatment change between the COVID-19(+) and COVID-19(-) groups.

Based on these findings, it may be appropriate to suggest that PwMS can begin to return to their normal lives with less fear of COVID-19.



PUBBLICAZIONI E COMUNICAZIONI A CONGRESSI PUBLICATIONS AND CONGRESS PRESENTATIONS

Pubblicazioni/Publications

- Montini F, Nozzolillo A, Rancoita PMV, Zanetta C, Moiola L, Cugnata F, Esposito F, Rocca MA, Martinelli V, Filippi M. Modifiable risk factors of COVID-19 in patients with multiple sclerosis: a single-centre case-control study. *J Neurol* 2023; 270(4): 1835-1842 [Epub ahead of print 16 February 2023; doi: 10.1007/s00415-023-11618-0] IF: 6.0
- Montini F, Nozzolillo A, Tedone N, Mistri D, Rancoita PMV, Zanetta C, Mandelli A, Furlan R, Moiola L, Martinelli V, Rocca MA, Filippi M, for the Clinical SanRaf MS Study Group. COVID-19 has no impact on disease activity, progression, and cognitive performance in people with multiple sclerosis: a two-year study. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2024 (in press) doi: 10.1136/jnnp-2023-332073 IF: 11.0

Comunicazioni a Congressi/Congress Presentations

- Federico Montini, Agostino Nozzolillo, Nicolò Tedone, Damiano Mistri, Paola M.V. Rancoita, Chiara Zanetta, Lucia Moiola, 1Federica Esposito, Vittorio Martinelli, Maria A. Rocca, Massimo Filippi. COVID-19 has no impact on disease activity, progression, and cognitive performance in people with multiple sclerosis over two years. *Mult Scler J* 2023; 29 (3S): 174-175 (P051 ECTRIMS 2023)
- Federico Montini, Agostino Nozzolillo, Nicolò Tedone, Damiano Mistri, Paola M.V. Rancoita, Chiara Zanetta, Lucia Moiola, 1Federica Esposito, Vittorio Martinelli, Maria A. Rocca, Massimo Filippi. COVID-19 has no impact on disease activity, progression and cognitive performance in people with multiple sclerosis over two years. *Neurol Sci* 2023; 44 (Suppl 2): S442 (SIN 2023)

Progetto di ricerca finanziato con il Bando FISM 2021 per il periodo di 1 anno e l'ammontare di 100.000 €

Research project funded by FISM Grant 2021 for the period of 1 year and the amount of € 100,000

L'inquinamento Atmosferico come possibile trigger di Infiammazione nella sclerosi multipla



Roberto Bergamaschi

Centro Sclerosi Multipla, IRCCS Fondazione Mondino, Pavia, Italia

COLLABORATORI / COLLABORATORS

Eleonora Tavazzi, Giulia Mallucci, Anna Pichiecchio, Matteo Gastaldi

COLLABORAZIONI CON ALTRI GRUPPI / COLLABORATIONS WITH OTHER GROUPS

Cristina Montomoli, Asia Filosa, Unità di Biostatistica ed Epidemiologia Clinica, Dipartimento di Sanità Pubblica, Medicina Sperimentale e Forense, Università di Pavia, Italia

Riccardo Bellazzi, Arianna Dagliati, Pietro Bosoni, Mahin Vazifehdan,

Dipartimento di Ingegneria Industriale e dell'informazione e Ingegneria Biomedica, Università di Pavia, Italia

Filippo Martinelli Boneschi, Dipartimento di Neurologia e Centro Sclerosi Multipla, ASST San Paolo Milano, Italia

Alen Zollò, Andrea Corona, Alessandra Mingrone, Laboratorio di Medicina di Precisione delle Malattie Neurologiche, Università degli Studi di Milano, Italia

PREMESSE E OBIETTIVI

Alcuni fattori ambientali, come i livelli di vitamina D, il fumo di sigaretta, la dieta e, più recentemente, l'inquinamento atmosferico, sono stati associati ad un aumento del rischio di sclerosi multipla (SM). Minori conoscenze sono disponibili riguardo al ruolo degli stessi fattori ambientali come trigger di ricaduta infiammatoria; l'inquinamento atmosferico potrebbe essere uno di questi.

L'obiettivo del progetto è stato studiare in persone con SM (PcSM) la relazione tra l'inquinamento atmosferico (principalmente l'esposizione ai particolati, PM) e la presenza di attività infiammatoria dimostrata dalla presenza di lesioni captanti il gadolinio in risonanza magnetica nucleare (RMN) cerebrale, analizzando anche possibili fenomeni epigenetici e le relazioni con le citochine pro-infiammatorie. altre possibili varianti genomiche correlate con la SM.

RISULTATI

Abbiamo raccolto i parametri di qualità dell'aria (PM2.5, PM10, O3, NO2, SO2 e C6H6, temperatura, umidità) attraverso 40 sensori Purple Air distribuiti nella città di Pavia, e calcolato i valori di inquinamento atmosferico relativi alla residenza di 50 PcSM sottoposte a RMN cerebrale. Nel giorno della RMN abbiamo raccolto campioni di siero per analizzare il network delle citochine, i livelli della catena leggera dei neurofilamenti e di vitamina D, e di sangue intero per l'analisi epigenetica.

Inoltre, attraverso questionari *ad hoc*, abbiamo raccolto

informazioni sui fattori che potrebbero influenzare la relazione tra inquinamento atmosferico e l'attività infiammatoria: abitudine al fumo, esposizione alla luce solare.

La RMN ha mostrato lesioni con potenziamento contrastografico in 11 casi (22%). Dal confronto tra le PcSM che avevano RMN "attiva" rispetto a quelle stabili è emerso che il fumo di sigaretta era significativamente associato alla presenza di lesioni "attive", confermando i dati della letteratura che mostrano un'associazione tra abitudine al fumo e rischio di SM, nonché un decorso peggiore della malattia nei fumatori rispetto ai non fumatori. L'unico altro fattore significativamente associato alla presenza di attività di malattia sembra essere la quantità di tempo trascorso all'aperto (relazione inversa). Viceversa, i livelli di inquinamento atmosferico (sia in termini di concentrazione media che di numero di giorni in cui la quantità era superiore alla soglia OMS, nei 14 giorni precedenti la RMN) non hanno mostrato associazioni significative con evidenze RMN di attività di malattia.

CONCLUSIONI

In conclusione, lo studio non ha messo in evidenza relazioni significative tra i livelli di inquinanti e la presenza di lesioni infiammatoria "attive" alla RMN. Tuttavia, ulteriore luce sul ruolo dell'inquinamento atmosferico come trigger di ricaduta infiammatoria in corso di SM potrebbe derivare dalle analisi epigenetiche e sui marcatori biomolecolari, i cui risultati non sono ancora disponibili.

Air Pollution as a possible trigger of inflammation in multiple sclerosis (API)

INTRODUCTION AND AIMS

Some environmental factors, such as vitamin D levels, cigarette smoking, diet and, more recently, air pollution, have been associated with an increased risk of multiple sclerosis (MS). Less knowledge is available regarding the role of environmental factors themselves as triggers of inflammatory relapse; air pollution could be one of them.

The objective of the project was to study in persons with MS (PwMS) the relationship between air pollution (mainly exposure to particulate matter, PM) and the presence of inflammatory activity demonstrated by the presence of gadolinium-enhancing lesions on brain magnetic resonance imaging (MRI), also analyzing possible epigenetic phenomena and the relationships with pro-inflammatory cytokines.

RESULTS

We collected the air quality parameters (PM2.5, PM10, O3, NO2, SO2 and C6H6, temperature, humidity) through 40 Purple Air sensors distributed in the city of Pavia, and calculated the air pollution values relating to the residence of 50 PwMS underwent brain MRI. On the day of MRI, we collected serum samples to analyze the cytokine network, light chain neurofilament and vitamin D levels, and whole blood for epigenetic analysis. Furthermore, through ad hoc questionnaires, we collected information on the factors that could influence the relationship be-

tween air pollution and inflammatory activity: smoking habits, exposure to sunlight.

MRI showed contrast-enhancing lesions in 11 cases (22%). Comparing PwMS who had "active" MRI with the "stable" ones, we found that cigarette smoking was significantly associated with the presence of "active" lesions, confirming the literature data which show an association between smoking habits and the risk of MS, as well as a worse course of the disease in smokers compared to non-smokers. The only other factor significantly associated with the presence of disease activity appears to be the amount of time spent outdoors (inverse relationship). On the contrary, air pollution levels (both in terms of average concentration and number of days in which the value was above the WHO threshold, in the 14 days preceding the MRI) did not show significant associations with MRI evidence of disease activity.

CONCLUSIONS

In conclusion, the study did not highlight significant relationships between the levels of air pollutants and the presence of "active" inflammatory lesions on MRI. However, further light on the role of air pollution as a trigger of inflammatory relapse in MS could come from epigenetic and biohumoral markers analyzes, the results of which are not yet available.



Progetto di ricerca finanziato con il Bando FISM 2020 per il periodo di due anni e l'ammontare di 65.843,10 €

Research project funded by FISM Grant 2020 for the period of two years and the amount of € 65,843.10

Ruolo delle vescicole extracellulari nella regolazione dell'espressione del Foxp3 e della funzione soppressoria in cellule T regolatorie nella sclerosi multipla



Veronica De Rosa

Istituto per l'Endocrinologia e l'Oncologia Sperimentale "Gaetano Salvatore" (IEOS),
Consiglio Nazionale delle Ricerche (CNR) Napoli, Italia

COLLABORATORI / COLLABORATORS

Alessandra Colamatteo, Anne Lise Ferrara, Clorinda Fusco, Università di Napoli "Federico II",
Napoli, Italia

Antonietta Liotti, Salvatore De Simone, IEOS-CNR, Napoli, Italia

Giorgia Teresa Maniscalco, Ospedale "A. Cardarelli", Napoli, Italia

COLLABORAZIONI CON ALTRI GRUPPI / COLLABORATIONS WITH OTHER GROUPS

Paola de Candia, co-PI, Università di Napoli "Federico II", Napoli, Italia

Valentina Bollati, Università degli Studi di Milano, Milano, Italia

Donatella Carpi, Joint Research Centre, Ispra, Varese, Italia

PREMESSE E OBIETTIVI

La sclerosi multipla (SM) è una malattia autoimmune cronica che colpisce il sistema nervoso centrale. È caratterizzata da un'alterata capacità di una popolazione linfocitaria di "cellule sentinella" (chiamate cellule T regolatorie) di crescere e controllare l'infiammazione che distrugge la guaina mielinica. Nonostante i grandi avanzamenti nella comprensione delle cause della SM, il meccanismo alla base della perdita della tolleranza immunologica non è ancora completamente chiarito. La funzione delle citochine nella regolazione di questo processo è ben caratterizzata, mentre il ruolo delle vescicole extracellulari (VE) prodotte dai linfociti, contenenti numerose molecole regolatrici della risposta immunitaria, non è ancora delucidato. Ci siamo dunque proposti di valutare se le VE rilasciate dai linfociti T abbiano un ruolo patogenetico attraverso il rilascio di specifiche molecole (incluso i microRNA) capaci di inibire la funzione soppressoria delle T regolatorie, con l'obiettivo di identificare un nuovo meccanismo patogenetico della SM ed eventuali nuovi bersagli terapeutici atti a ripristinare la tolleranza immunologica.

RISULTATI

In accordo con gli obiettivi proposti nel nostro progetto, il primo passo è stato quello di caratterizzare il contenuto delle VE prodotte dai linfociti T convenzionali provenienti sia da soggetti sani che da pazienti SM. I risultati hanno

mostrato che le VE prodotte dai linfociti T di pazienti SM presentavano un alterato contenuto di molte citochine immuno-regolatrici insieme ad uno specifico gruppo di microRNA principalmente coinvolti nella modulazione della risposta immunitaria. Per testare l'ipotesi che il contenuto vescicolare associato ai pazienti SM abbia uno specifico effetto biologico sui linfociti T regolatori abbiamo eseguito una quantizzazione dei trascritti di queste ultime cellule trattate con VE di pazienti SM. L'analisi di questi dati ha evidenziato che i linfociti T regolatori trattati con vescicole SM presentano un'alterata espressione genica associata a una specifica risposta citochinica e ai processi metabolici rilevanti per l'attivazione cellulare. Infine, abbiamo valutato se le VE di SM potessero modulare a livello epigenetico la funzione delle cellule T regolatorie. I dati hanno mostrato l'induzione di specifici pathway associati ad un probabile circuito pro-infiammatorio nei pazienti con SM.

CONCLUSIONI

In conclusione, le nostre analisi supportano l'ipotesi di lavoro, suggerendo un ruolo biologico delle VE derivate da linfociti T nella regolazione epigenetica del fattore trascrizionale Foxp3, il gene chiave delle cellule T regolatorie. Questo apre la strada allo sviluppo di nuovi approcci terapeutici volti a bloccare la funzione patogenetica delle VE derivate dai linfociti T, ripristinando la tolleranza periferica nella SM.

Elucidating the extracellular vesicle-associated determinants modulating Foxp3 expression and suppressive function of T regulatory cells in multiple sclerosis

INTRODUCTION AND AIMS

Multiple sclerosis (MS) is a chronic autoimmune disease affecting the central nervous system characterized by an impaired ability of a lymphocyte population (called regulatory T cells - Tregs) to grow and control inflammation that destroys the myelin sheath. Despite great advances in understanding the causes of MS, the mechanism underlying the loss of immunological tolerance is not yet fully understood. While the function of cytokines in regulating this process is well characterized, the role of extracellular vesicles (EVs), produced by lymphocytes and containing numerous immune-regulatory molecules (including microRNAs), is still not clear. We aimed to evaluate whether the EVs released by T lymphocytes may have a pathogenetic role through the release of microRNAs able to inhibit the suppressor function of regulatory T cells, to identify a novel pathogenetic mechanism of MS and possible new therapeutic targets to restore immunological tolerance.

RESULTS

According to our objectives, the first step was to characterize the EV content associated to T lymphocytes from both healthy subjects and MS patients. The results showed that EVs produced by T cells of MS patients pre-

sented an altered content of many immuno-regulatory cytokines together with a distinct set of microRNAs mainly involved in the regulation of the immune response. To test the hypothesis that the EV content associated with MS patients could affect Tregs, we performed a transcriptomic analysis of those cells treated with EVs released from T cells of MS patients. A careful analysis of these data has highlighted that Tregs treated with MS-derived EVs show a significantly modified gene expression profile associated with specific cytokine responses and with metabolic processes linked to cell activation. Finally, we evaluated whether T cell-EVs from MS could modulate Treg function at the epigenetic level. Our data showed the induction of specific pathways associated with a predominant pro-inflammatory circuit in MS patients.

CONCLUSIONS

In conclusion, our analyses support the working hypothesis, suggesting a biological effect of T cell-derived EVs in the epigenetic regulation of Foxp3, the master gene of Tregs. This may pave the way for novel therapeutic approaches to specifically target the pathogenic role of T cell-derived EVs and restore T cell tolerance in MS.



PUBBLICAZIONI E COMUNICAZIONI A CONGRESSI PUBLICATIONS AND CONGRESS PRESENTATIONS

Pubblicazioni/Publications

- Maniscalco GT*, Liotti A*, Ferrara AL, Prestipino E, Salvatore S, Di Battista ME, Moreggia O, Di Giulio Cesare D, Vastano R, Belardo M, Napolitano M, Ranieri A, Longo K, Andreone V, De Rosa V. Humoral efficacy of the third SARS-CoV-2 vaccine dose in Multiple Sclerosis subjects undergoing different disease-modifying therapies. *Mult Scler Relat Disord.* 2022 Dec; 68:104371. doi: 10.1016/j.msard.2022.104371
- Liotti A*, Ferrara AL*, Loffredo S, Galdiero MR, Varricchi G, Di Rella F, Maniscalco GT, Belardo M, Vastano R, Principe R, Pignata L, Romano R, Spadaro G, de Candia P, Pezone A, De Rosa V. Epigenetics: An opportunity to shape innate and adaptive immune responses. *Immunology.* 2022 Dec;167(4):451-470. doi: 10.1111/imm.13571
- Ferrara AL*, Liotti A*, Pezone A, De Rosa V. Therapeutic opportunities to modulate immune tolerance through the metabolism-chromatin axis.



- Trends Endocrinol Metab. 2022 Jul;33(7):507-521. doi: 10.1016/j.tem.2022.04.002
- Maniscalco GT, Ferrara AL*, Liotti A, Manzo V, Di Battista ME, Salvatore S, Graziano D, Viola A, Amato G, Moreggia O, Di Giulio Cesare D, Alfieri G, Di Iorio W, Della Rocca G, Andreone V, De Rosa V. Long term persistence of SARS-CoV-2 humoral response in multiple sclerosis subjects. *Mult Scler Relat Disord*. 2022 Jun;62:103800. doi: 10.1016/j.msard.2022.103800. Maniscalco GT, Manzo V, Ferrara AL, Perrella A, Di Battista M, Salvatore S, Graziano D, Viola A
 - Amato G, Moreggia O, Di Giulio Cesare D, Barbatto S, Servillo G, Longo K, Di Giovanni M, Scarpati B, Muggianu SM, Longo G, Russo G, Andreone V, De Rosa V. Interferon Beta-1^o treatment promotes SARS-CoV-2 mRNA vaccine response in multiple sclerosis subjects. *Mult Scler Relat Disord*. 2022 Feb;58:103455. doi: 10.1016/j.msard.2021.103455
 - Procaccini C, de Candia P, Russo C, De Rosa G, Lepore MT, Colamatteo A, Matarese G. Caloric restriction for the immunometabolic control of human health. *Cardiovasc Res*. 2023 Feb 27;cvad035. doi: 10.1093/cvr/cvad035. Epub ahead of print
 - de Candia P, Procaccini C, Russo C, Lepore MT, Matarese G. Regulatory T cells as metabolic sensors. *Immunity*. 2022 Nov 8;55(11):1981-1992. doi: 10.1016/j.immuni.2022.10.006
 - Romano A, Zuchegna C, Zannini G, Messina S, Fusco C, Pezone A, Grillo R, de Candia P, Matarese G, Porcellini A. A rapid and inexpensive genotyping method using dried blood spots for mutational analysis in a mutant mouse model: an update. *Mol Biol Rep*. 2022 Sep;49(9):9071-9077 doi: 10.1007/s11033-022-07649-x
 - Bruzzaniti S, Piemonte E, Mozzillo E, Bruzzese D, Lepore MT, Carbone F, de Candia P, Strollo R, Porcellini A, Marigliano M, Maffeis C, Bifulco M, Ludvigsson J, Franzese A, Matarese G, Galgani M. High levels of blood circulating immune checkpoint molecules in children with newonset type 1 diabetes are associated with the risk of developing an additional autoimmune disease. *Diabetologia*. 2022 Aug;65(8):1390-1397. doi: 10.1007/s00125-022-05724-3
 - de Candia P, Matarese G. The folate way to T cell fate. *Immunity*. 2022 Jan 11;55(1):1-3. doi: 10.1016/j.immuni.2021.12.009
 - Di Silvestre D, Garavelli S, Procaccini C, Prattichizzo F, Passignani G, De Rosa V, Mauri P, Matarese G, de Candia P. CD4+ T-Cell Activation Prompts Suppressive Function by Extracellular Vesicle-Associated MicroRNAs. *Front Cell Dev Biol*. 2021 Oct 27;9:753884. doi: 10.3389/fcell.2021.753884
 - de Candia P, Matarese G. Reimagining an immunological dogma. *Nat Immunol*. 2021 Nov;22(11):1355-1358. doi: 10.1038/s41590-021-01046-5
 - Garavelli S, Prattichizzo F, Ceriello A, Galgani M, de Candia P. Type 1 Diabetes and Associated Cardiovascular Damage: Contribution of Extracellular Vesicles in Tissue Crosstalk. *Antioxid Redox Signal*. 2022 Apr;36(10-12):631-651. doi: 10.1089/ars.2021.0053
 - Procaccini C, Garavelli S, Carbone F, Di Silvestre D, La Rocca C, Greco D, Colamatteo A, Lepore MT, Russo C, De Rosa G, Faicchia D, Prattichizzo F, Grossi S, Campomenosi P, Buttari F, Mauri P, Uccelli A, Salvetti M, Brescia Morra V, Vella D, Galgani M, Mottola M, Zuccarelli B, Lanzillo R, Maniscalco GT, Centonze D, de Candia P, Matarese G. Signals of pseudo-starvation unveil the amino acid transporter SLC7A11 as key determinant in the control of Treg cell proliferative potential. *Immunity*. 2021 Jul 13;54(7):1543-1560.e6. doi: 10.1016/j.immuni.2021.04.014
 - de Candia P, Prattichizzo F, Garavelli S, Alviggi C, La Cava A, Matarese G. The pleiotropic roles of leptin in metabolism, immunity, and cancer. *J Exp Med*. 2021 May 3;218(5):e20191593. doi: 10.1084/jem.20191593
 - Palma C, La Rocca C, Gigantino V, Aquino G, Piccaro G, Di Silvestre D, Brambilla F, Rossi R, Bonacina F, Lepore MT, Audano M, Mitro N, Botti G, Bruzzaniti S, Fusco C, Procaccini C, De Rosa V, Galgani M, Alviggi C, Puca A, Grassi F, Rezzonico-Jost T, Norata GD, Mauri P, Netea MG, de Candia P, Matarese G. Caloric Restriction Promotes Immunometabolic Reprogramming Leading to Protection from Tuberculosis. *Cell Metab*. 2021 Feb 2;33(2):300-318.e12. doi: 10.1016/j.cmet.2020.12.016
 - de Candia P, Prattichizzo F, Garavelli S, Matarese G. T Cells: Warriors of SARS-CoV-2 Infection. *Trends Immunol*. 2021 Jan;42(1):18-30. doi: 10.1016/j.it.2020.11.002. Epub 2020 Nov 13
 - Galgani M, Bruzzaniti S, La Rocca C, Micillo T, de Candia P, Bifulco M, Matarese G. Immunometabolism of regulatory T cells in cancer. *Mol Aspects Med*. 2021 Feb;77:100936. doi: 10.1016/j.mam.2020.100936. Epub 2020 Nov 26
 - Prattichizzo F, De Nigris V, Sabbatinelli J, Giuliani A, Castaño C, Párrizas M, Crespo I, Grimaldi A, Baranzini N, Spiga R, Mancuso E, Rippo MR, Procopio AD, Novials A, Bonfigli AR, Garavelli S, La Sala L, Matarese G, de Candia P, Olivieri F, Ceriello A. CD31+ Extracellular Vesicles From Patients With Type 2 Diabetes Shuttle a miRNA Signature Associated With Cardiovascular Complications. *Diabetes*. 2021 Jan;70(1):240-254. doi: 10.2337/db20-0199
 - Garavelli S, Bruzzaniti S, Tagliabue E, Di Silvestre D, Prattichizzo F, Mozzillo E, Fattorusso V, La Sala L, Ceriello A, Puca AA, Mauri P, Strollo R, Marigliano M, Maffeis C, Petrelli A, Bosi E, Franzese A, Galgani M, Matarese G, de Candia P. Plasma circulating miR-23~27~24 clusters correlate with the immunometabolic derangement and predict



- C-peptide loss in children with type 1 diabetes. *Diabetologia*. 2020 Dec;63(12):2699-2712. doi: 10.1007/s00125-020-05237-x
- Terrazzano G, Bruzzaniti S, Rubino V, Santopao-
lo M, Palatucci AT, Giovazzino A, La Rocca C, de
Candia P, Puca A, Perna F, Procaccini C, De Rosa V,
Porcellini C, De Simone S, Fattorusso V, Porcellini
A, Mozzillo E, Troncone R, Franzese A, Ludvigsson
J, Matarese G, Ruggiero G, Galgani M. T1D pro-
gression is associated with loss of CD3+CD56+
regulatory T cells that control CD8+ T cell effector
functions. *Nat Metab*. 2020 Feb;2(2):142-152.
doi: 10.1038/s42255-020-0173-1
 - Garavelli S, Bruzzaniti S, Tagliabue E, Prattichiz-
zo F, Di Silvestre D, Perna F, La Sala L, Ceriello A,
Mozzillo E, Fattorusso V, Mauri P, Puca AA, Franz-
ese A, Matarese G, Galgani M, de Candia P. Blood
Co-Circulating Extracellular microRNAs and Im-
mune Cell Subsets Associate with Type 1 Diabetes
Severity. *Int J Mol Sci*. 2020 Jan 11;21(2):477.
doi: 10.3390/ijms21020477
 - Colamatteo A, Carbone F, Bruzzaniti S, Galgani
M, Fusco C, Maniscalco GT, Di Rella F, de Candia
P, De Rosa V. Molecular Mechanisms Controlling
Foxp3 Expression in Health and Autoimmunity:
From Epigenetic to Post-translational Regula-
tion. *Front Immunol*. 2020 Feb 3;10:3136. doi:
10.3389/fimmu.2019.03136
 - Colamatteo A, Micillo T, Bruzzaniti S, Fusco C,
Garavelli S, De Rosa V, Galgani M, Spagnuolo
MI, Di Rella F, Puca AA, de Candia P, Matarese
G. Metabolism and Autoimmune Responses: The
microRNA Connection. *Front Immunol*. 2019 Aug
28;10:1969. doi: 10.3389/fimmu.2019.01969
 - de Candia P, Prattichizzo F, Garavelli S, De Rosa V,
Galgani M, Di Rella F, Spagnuolo MI, Colamatteo
A, Fusco C, Micillo T, Bruzzaniti S, Ceriello A, Puca
AA, Matarese G. Type 2 Diabetes: How Much of
an Autoimmune Disease? *Front Endocrinol (Lau-
sanne)*. 2019 Jul 4;10:451. doi: 10.3389/fen-
do.2019.00451
- Comunicazioni a Congressi/Congress Presentations
- SIICA 2023 (Società Italiana di Immunologia, Im-
munologia Clinica ed Allergologia), 22-25 Maggio
2023, Verona, Italia
 - Congresso Scientifico Annuale Associazione Ita-
liana Sclerosi Multipla e la sua Fondazione, 24-26
Ottobre 2022, Roma, Italia
 - SIICA 2022 (Società Italiana di Immunologia, Im-
munologia Clinica ed Allergologia), 23-26 Maggio
2022, Napoli, Italia
 - SIICA 2021 (Società Italiana di Immunologia, Im-
munologia Clinica ed Allergologia), 26-28 Maggio
2021, Congresso Virtuale
 - Congresso Scientifico Annuale Associazione Ita-
liana Sclerosi Multipla e la sua Fondazione, 26-27
Novembre 2020, Congresso Virtuale

Progetto di ricerca finanziato con il Bando FISM 2018 per il periodo di 3 anni (prorogato di 12 mesi) e l'ammontare di 270.000 €

Research project funded by FISM Grant 2018 for the period of 3 years (extended by 12 months) and the amount of € 270,000

Analisi dei meccanismi attraverso i quali la variante genetica Gly307Ser associata alla sclerosi multipla influenza la funzione dei linfociti T



Elena Morandi

INSERM, Infinity, Toulouse Institute for Infectious and Inflammatory Diseases, Toulouse, France

MENTORE / MENTOR
Abdelhadi Saoudi

PREMESSE E OBIETTIVI

Un fattore di rischio identificato per diverse malattie autoimmuni, compresa la sclerosi multipla (SM), è una variante genetica in CD226. CD226 (DNAM-1) è un recettore transmembrana espresso dalla maggior parte delle cellule immunitarie ed è fondamentale per l'adesione e l'attivazione delle cellule T. Il polimorfismo a singolo nucleotide (SNP) associato alla SM è localizzato nella regione di coding e genera uno scambio di aminoacido (da glicina a serina in posizione 307) nella parte citoplasmatica del recettore, con la potenziale conseguenza di alterare la segnalazione cellulare. Quali siano le conseguenze dell'attivazione di CD226 è ancora argomento di discussione e il suo ruolo nel contesto autoimmune è da chiarire. L'obiettivo dello studio è di investigare i meccanismi immunitari che portano all'infiammazione del sistema nervoso centrale (SNC) attraverso l'analisi della funzione del fattore di rischio presente in CD226.

RISULTATI

In primo luogo abbiamo analizzato l'impatto del polimorfismo CD226 Gly307Ser sulle funzioni biologiche e molecolari delle cellule T CD8: sopravvivenza, proliferazione, funzioni effettrici e polarizzazione. A questo scopo, abbiamo selezionato 16 donatori sani di uguale età e sesso per ogni allele. Attivando le cellule CD8 tramite il recettore delle cellule T (TCR), il fenotipo tra quelle che presentano l'allele di CD226 protettivo e quello a rischio è simile. Nonostante ciò a livello del trascrittoma le cellule T CD8 dei donatori a rischio presentano un aumento della trascrizione dei geni presenti nei pathway molecolari del TCR, di JAK/STAT e di IFN- γ . In accordo, l'allele di rischio CD226 dimostra un aumento selettivo della fosforilazione delle chinasi proteiche mitogeno-attivate (MAPKs) le chinasi segnale-regolate extracellulari 1 e 2 (ERK1/2) in associazione con la fosforilazione di STAT4 e la produzione di IFN- γ .

Inoltre utilizzando la spettrometria di massa abbiamo esplorato i meccanismi molecolari coinvolti investigando se la sostituzione di una glicina con una serina nella coda citoplasmatica di CD226 nelle cellule jurkat possa influenzarne l'interattoma. Dopo l'attivazione con pervanadato non abbiamo trovato differenze rilevanti.

Infine abbiamo valutato l'effetto del polimorfismo CD226 Gly307Ser sulla risposta clinica ai farmaci in pazienti con SM. Abbiamo quindi analizzato se il polimorfismo Gly307Ser in CD226 abbia la capacità di influenzare la risposta a natalizumab, glatiramer acetato, e IFN β . I nostri risultati hanno rivelato un'associazione fra la variante protettiva CD226 e la risposta positiva al trattamento con il glatiramer acetato.

CONCLUSIONI

Lo scopo del progetto era quello di capire i meccanismi attraverso i quali CD226 possa indurre una disfunzione nelle cellule T nei pazienti con SM. Abbiamo dimostrato che le cellule T CD8 provenienti da donatori portatori della variante a rischio di CD226 producono livelli più elevati di IFN γ e questo meccanismo potrebbe essere parte della disregolazione immunitaria che contribuisce alla patogenesi della SM. Questi studi permettano di chiarire in dettaglio il ruolo di CD226 nella SM e costituiscano un passo avanti verso la medicina personalizzata.

Investigation of the mechanisms by which the multiple sclerosis associated genetic variant CD226 Gly307Ser influences T cell function

INTRODUCTION AND AIMS

The transmembrane receptor CD226 (DNAM-1) is fundamental for T cell adhesion and activation. Importantly, a CD226 allelic variant (Gly307Ser) has been defined as a genetic risk for several autoimmune diseases including multiple sclerosis (MS). This polymorphism is located in the coding region and generates an amino acid change Gly307Ser in the cytoplasmic tail of the receptor and could alter CD226 signaling. The downstream signaling of CD226 is still controversial and its integration in the context of autoimmunity remains to be addressed. In particular the impact of the CD226 Gly307Ser polymorphism on CD8 T cell function and the molecular mechanism by which this genetic variant predisposes to the central nervous system (CNS) autoimmunity remains enigmatic. The general aim of the proposal was to gain further insight on the immune mechanisms that lead to CNS inflammation by dissecting the function of the MS risk gene, CD226.

RESULTS

First, we analyzed the impact of the CD226 Gly307Ser polymorphism on CD8 T cell biological and molecular functions: survival, proliferation, effector functions and polarization. For this purpose, we selected 16 age- and sex-matched healthy donors homozygote for each allele. Upon T-cell receptor (TCR) engagement, the phenotype of ex-vivo CD8 T cells bearing the CD226 protective or risk allele was similar but at the transcriptomic levels, the CD8 T cells from the donors carrying the risk allele presented an enriched transcriptomic signature of TCR, JAK/STAT

and IFN- γ signaling pathways. In agreement, the CD226 risk allele led to a selective increase in the phosphorylation of the mitogen-activated protein kinases (MAPKs) extracellular signal-regulated kinases 1 and 2 (ERK1/2) associated with enhanced phosphorylation of STAT4 and increased production of IFN- γ upon TCR stimulation.

We explored the mechanisms involved by investigating whether the replacement of a Glycine by a Serine in the CD226 cytoplasmic tail could affect CD226 interactome in transfected Jurkat cells using mass spectrometry and immunoprecipitation assay, but we did not find relevant differences. Finally, we assessed the effect of the CD226 Gly307Ser polymorphism on MS clinical response to treatment by analyzing whether CD226 Gly307Ser polymorphism could impact the response to natalizumab, glatiramer acetate, and IFN β . Our results revealed an association between the CD226 protective variant and the response to glatiramer acetate treatment.

CONCLUSIONS

The aim of the project was to help to understand the mechanisms by which CD226 drives T cell dysfunctions in MS patients. We found that CD8 T cells from donors carrying the CD226 risk variant show an increased Th1-signalling and produce higher levels of IFN γ . Patients carrying the risk allele have an increased probability to respond to glatiramer acetate treatment, suggesting that this mechanism could be part of the immune dysregulation that contributes to the pathogenesis of MS.



PUBBLICAZIONI E COMUNICAZIONI A CONGRESSI PUBLICATIONS AND CONGRESS PRESENTATIONS

Pubblicazioni/Publications

- Morandi E, Bernard I, Terskikh E, Nunez N, Becher B, Astier A, Saoudi A. Investigation of the mechanisms by which the Multiple Sclerosis associated genetic variant CD226 Gly307Ser influences T cell function. Conference Abstract ECI 2021
- Morandi E, Bernard I, Terskikh E, Nunez N, Becher B, Astier A, Saoudi A. Investigation of the mechanisms by which the Multiple Sclerosis associated

genetic variant CD226 Gly307Ser influences T cell function. Conference Abstract SFI 2021

- Morandi E, Bernard I, Terskikh E, Nunez N, Becher B, Astier A, Saoudi A. The CD226 risk variant Gly307Ser associated with autoimmune diseases increases IFN- γ production by CD8 T cells. Manuscript submitted

Borsa di studio finanziata con il Bando FISM 2019 per il periodo di 3 anni e l'ammontare di 142.800 €
Research Fellowship funded by FISM Grant 2019 for the period of 3 years and the amount of € 142,800

Diagnosi e monitoraggio della malattia

Diagnosis and monitoring
of the disease

I microRNA circolanti nel liquido cerebrospinale come potenziali biomarkers della progressione della malattia mediata dalla sinaptopatia nella sclerosi multipla



Francesca De Vito

Istituto: IRCCS INM-Neuromed, Pozzilli (Isernia), Italia

MENTORE / MENTOR
Diego Centonze

PREMESSE E OBIETTIVI

La quantificazione dei microRNA (miR) nei fluidi biologici è oggetto di grande attenzione nel campo della ricerca sulla sclerosi multipla (SM) per scopi diagnostici, prognostici e di monitoraggio terapeutico. I miR rappresentano una nuova classe di importanti regolatori dei diversi processi patologici che avvengono durante il corso della SM, compresa la sinaptopatia, ovvero l'insieme di alterazioni sinaptiche strutturali e funzionali. Studi condotti sia nella SM che nel suo modello murino, l'encefalomielite autoimmune sperimentale (EAS), hanno rivelato che la sinaptopatia può causare danni eccitotossici attraverso un'eccessiva eccitazione sinaptica protratta nel tempo, guidando una progressione silente della malattia e portando a deficit motori e cognitivi. L'insorgenza precoce e la potenziale reversibilità rendono la sinaptopatia un bersaglio terapeutico attraente nella SM, nonostante la mancanza di biomarcatori affidabili. Di particolare interesse in questo contesto è stata la rilevazione del miR-142-3p nel cervello EAS e nel *liquor* dei pazienti con SM, dove innesca la sinaptopatia glutammatergica.

L'obiettivo principale di questo progetto è stato accrescere le nostre conoscenze sull'eccitossicità mediata dal miR-142-3p ed identificare eventuali altri miR come potenziali biomarcatori per la progressione della SM guidata dalla sinaptopatia. A questo scopo, i livelli di specifici miR sono stati analizzati nel *liquor* di una vasta coorte di pazienti con SM e correlati con vari parametri clinicamente rilevanti. Date l'eterogeneità e la complessità della malattia, sono stati esaminati parametri motori, cognitivi, neurofisiologici e genetici per poter capire il contributo di ciascun miR studiato nei diversi aspetti legati alla sinaptopatia che influenzano il decorso della SM. I prelievi di *liquor* sono stati eseguiti alla diagnosi (T0), secondo la buona pratica clinica insieme alle valutazioni cliniche e neuroradiologiche.

RISULTATI

Lo *screening* di campioni di *liquor* prelevati da 250 pazienti con SM e da 60 persone di controllo ha evidenziato due miR tra i 24 studiati, attivati dalla neuroinfiammazione ma con effetti opposti nella prognosi della SM. Il miR let-7b-5p è emerso come un potenziale fattore protettivo per il decorso della SM fin dalle prime fasi della malattia. I livelli liquorali di let-7b-5p sono ridotti nella SM progressiva, mostrando una correlazione negativa con la gravità della malattia a T0 e al *follow-up* di 1 anno. Le analisi statistiche e bioinformatiche hanno indicato che let-7b-5p è una possibile molecola antiinfiammatoria e neuroprotettiva, attivata dall'infiammazione per spegnere la risposta infiammatoria, senza un apparente contributo diretto alla sinaptopatia nella SM.

Al contrario, il miR-142-3p è emerso come un biomarcatore negativo della progressione della malattia guidata dalla sinaptopatia e uno strumento promettente per identificare terapie personalizzate nella SM e nell'EAS. Abbiamo dimostrato che i livelli liquorali di miR-142-3p correlano direttamente con la progressione della SM. Inoltre, la combinazione di alti livelli di miR-142-3p con alti livelli delle citochine proinfiammatorie interleuchina-1beta (IL-1 β) o *Tumor Necrosis Factor* (TNF) indica un decorso più grave della malattia. Il miR-142-3p si è dimostrato anche un effettore del IL-1 β e del TNF nell'induzione delle alterazioni sinaptiche, mentre bassi livelli di miR-142-3p sono associati a una risposta più efficace al dimetil fumarato, un trattamento consolidato per la SM. Infine, è stata considerata l'influenza del *background* genetico sugli effetti dannosi del miR-142-3p, rivelando un'interazione con la variante a singolo nucleotide Val66Met del gene del *Brain-Derived Neurotrophic Factor* (BDNF). La produzione della proteina Met-BDNF, che è ridotta alle sinapsi rispetto alla proteina

Val-BDNF, sembra disaccoppiare l'associazione tra IL1 β e miR-142-3p, così come gli effetti dannosi di miR-142-3p sul decorso della SM, fornendo nuovi elementi per la progettazione di trattamenti sempre più personalizzati.

CONCLUSIONI

Complessivamente, i nostri risultati rafforzano il ruolo di miR-142-3p come biomarcatore negativo della progressione della SM guidata dalla sinaptopatia per ottimizzare le scelte terapeutiche e indicano let-7b-5p come un fattore protettivo con caratteristiche antiinfiammatorie e

neuroprotettive. Questa ricerca getta le basi per possibili avanzamenti nella diagnosi e nella prognosi della SM, aggiungendo nuovi elementi alla valutazione degli esiti dannosi della sinaptopatia. I miR-142-3p e let-7b-5p si sono anche rivelati dei possibili bersagli terapeutici per la SM. Considerando l'evolversi del panorama delle terapie anti-miR, c'è la possibilità che in futuro tali interventi vengano testati e alla fine approvati come trattamenti per la SM. La possibilità di sviluppare strategie terapeutiche personalizzate basate sui livelli dei miR sottolinea l'importanza della ricerca continua in questo promettente campo.

MicroRNAs in cerebrospinal fluid as potential biomarkers for synaptopathy-driven disease progression in multiple sclerosis

INTRODUCTION AND AIMS

The exploration of microRNAs (miRs) in biological fluids is receiving great attention in the field of multiple sclerosis (MS) research for diagnostic, prognostic and therapeutic monitoring purposes. They represent a new class of critical regulators involved in different pathological processes during MS course, including synaptopathy, a collective term for structural and functional synaptic alterations. Studies conducted in both MS and its mouse model, the experimental autoimmune encephalomyelitis (EAE), have revealed that synaptopathy can cause excitotoxic damage by long-lasting excessive synaptic excitation, driving silent disease progression and leading to motor and cognitive deficits. The precocious occurrence and the potential reversibility make synaptopathy an attractive therapeutic target in MS, although reliable biomarkers are still missing. Of particular interest in this context is the presence of the inflammatory miR-142-3p in the EAE brain and in the cerebrospinal fluids (CSF) of patients with MS, where we recently demonstrated its role as a crucial regulator of glutamatergic synaptopathy.

The primary goal of this project was to improve our understanding of circulating miR-142-3p and other miRs as potential biomarkers for MS synaptopathy-driven disease progression. To this aim, the levels of specific miRs were analyzed in CSF of a large cohort of patients with MS and correlated with various clinically relevant variables. Given the heterogeneity and complexity of MS disease, motor, cognitive, neurophysiological and genetic parameters were examined to dissect single miR contribution to MS course influenced by synaptopathy. CSF withdrawal along with clinical and neuroradiological assessments were performed at the diagnosis (T0), according to standard clinical practice.

RESULTS

Screening CSF samples withdrawn from 250 patients with MS and 60 control persons, revealed two main miRs, among the 24 studied miRs. Both were triggered by neuroinflammation but had opposite effects on MS prognosis. Let-7b-5p emerged as a potential protective factor for MS course, with anti-inflammatory and neuroprotective properties from the early stages of the disease. CSF let-7b-5p levels were reduced in progressive MS displaying a negative correlation with disease severity at T0 and 1-year follow-up. Statistical and bioinformatic analysis indicated that let-7b-5p is a possible anti-inflammatory and neuroprotective molecule, activated by inflammation to extinguish the inflammatory response, with no apparent direct contribution to MS synaptopathy.

On the contrary, miR-142-3p emerged as an adverse biomarker of the synaptopathy-driven disease progression and a promising tool for identifying personalized therapies in MS and in EAE. We demonstrated that CSF miR-142-3p levels directly correlated with disease progression and severity. Moreover, the combination of high miR-142-3p in the CSF with high levels of the proinflammatory cytokines interleukin-1 β (IL-1 β) or tumor necrosis factor (TNF) indicated a more severe disease course. Importantly, we also revealed that miR-142-3p was an essential effector of synaptic alterations induced by IL-1 β and TNF, while low miR-142-3p levels associated with a more effective response to dimethyl fumarate, an established MS treatment. The impact of genetic background on miR-142-3p detrimental effects was finally considered, revealing an interaction with the single-nucleotide variant Val66Met of the Brain-Derived Neurotrophic Factor (BDNF) gene. The production of the protein Met-BDNF, reduced at synapse compared to the protein Val-BDNF, seemed to uncouple

the association between IL1 β and miR-142-3p as well as the detrimental effects of miR-142-3p on MS course, providing new insights for the designing of increasingly personalized treatments.

CONCLUSIONS

All together our findings further strengthen the role of miR-142-3p as adverse biomarker of synaptopathy-driven disease progression to optimize therapeutic decision-making. In parallel, let-7b-5p emerges as a protective factor with anti-inflammatory and neuroprotective characteristics.

This research establishes the foundation for possible advancements in MS diagnosis and prognosis, giving additional dimensions in the assessment of synaptopathy-driven detrimental outcomes.

Simultaneously, miR-142-3p and let-7b-5p unveil their potential as a therapeutic target for MS.

Considering the evolving landscape of anti-miR therapy, there is potential for these interventions to undergo testing and eventually gain approval treatments for MS in the future. The prospect of developing personalized treatments based on miR profiles, emphasizes the importance of continued research in this promising field.



PUBBLICAZIONI E COMUNICAZIONI A CONGRESSI PUBLICATIONS AND CONGRESS PRESENTATIONS

Pubblicazioni/Publications

- De Vito F, Balletta S, Caioli S, Musella A, Guadalupi L, Vanni V, Fresegna D, Rizzo FR, Stampanoni Bassi M, Gilio L, Sanna K, Gentile A, Bruno A, Dolcetti E, Buttari F, Pavone L, Furlan R, Finardi A, Perlas E, Hornstein E, Centonze D and Mandolesi G. MiR-142-3p is a critical modulator of TNF-mediated neuronal toxicity in multiple sclerosis. *Curr Neuropharmacol.* 2023 Apr 5
- Dolcetti E, Bruno A, Azzolini F, Gilio L, Pavone L, Iezzi E, Galifi G, Gambardella S, Ferese R, Buttari F, De Vito F, Colantuono P, Furlan R, Finardi A, Musella A, Mandolesi G, Centonze D, Stampanoni Bassi M. Genetic regulation of IL-8 influences disease presentation of multiple sclerosis. *Mult Scler.* 2023 Apr;29(4-5):512-520
- Bruno A, Dolcetti E, Azzolini F, Buttari F, Gilio L, Iezzi E, Galifi G, Borrelli A, Furlan R, Finardi A, Carbone F, De Vito F, Musella A, Guadalupi L, Mandolesi G, Matarese G, Centonze D, Stampanoni Bassi M. BACE1 influences clinical manifestations and central inflammation in relapsing remitting multiple sclerosis. *Mult Scler Relat Disord.* 2023 Mar;71:104528
- Gilio L, Fresegna D, Gentile A, Guadalupi L, Sanna K, De Vito F, Balletta S, Caioli S, Rizzo FR, Musella A, Iezzi E, Moscatelli A, Galifi G, Fantozzi R, Bel-lantonio P, Furlan R, Finardi A, Vanni V, Dolcetti E, Bruno A, Buttari F, Mandolesi G, Centonze D, Stampanoni Bassi M. Preventive exercise attenuates IL-2-driven mood disorders in multiple sclerosis. *Neurobiol Dis.* 2022 Oct 1;172:105817
- Bruno A, Dolcetti E, Azzolini F, Moscatelli A, Gambardella S, Ferese R, Rizzo FR, Gilio L, Iezzi E, Galifi G, Borrelli A, Buttari F, Furlan R, Finardi A, De Vito F, Musella A, Guadalupi L, Mandolesi G, Centonze D, Stampanoni Bassi M. Interleukin 6 SNP rs1818879 Regulates Radiological and Inflammatory Activity in Multiple Sclerosis. *Genes (Basel).* 2022 May 17;13(5):897
- Dolcetti E, Bruno A, Azzolini F, Gilio L, Moscatelli A, De Vito F, Pavone L, Iezzi E, Gambardella S, Giardina E, Ferese R, Buttari F, Rizzo FR, Furlan R, Finardi A, Musella A, Mandolesi G, Guadalupi L, Centonze D, Stampanoni Bassi M. The BDNF Val66Met Polymorphism (rs6265) Modulates Inflammation and Neurodegeneration in the Early Phases of Multiple Sclerosis. *Genes (Basel).* 2022 Feb 10;13(2):332
- De Vito F, Musella A, Fresegna D, Rizzo FR, Gentile A, Bassi MS, Gilio L, Buttari F, Procaccini C, Colammatteo A, Bullitta S, Guadalupi L, Caioli S, Vanni V, Balletta S, Sanna K, Bruno A, Dolcetti E, Furlan R, Finardi A, Licursi V, Drulovic J, Pekmezovic T, Fusco C, Bruzzaniti S, Hornstein E, Uccelli A, Salvetti M, Matarese G, Centonze D, Mandolesi G. MiR-142-3p regulates synaptopathy-driven disease progression in multiple sclerosis. *Neuropathol Appl Neurobiol.* 2021 Sep 7
- Rizzo FR, Guadalupi L, Sanna K, Vanni V, Fresegna D, De Vito F, Musella A, Caioli S, Balletta S, Bruno A, Dolcetti E, Stampanoni Bassi M, Buttari F, Gilio L, Mandolesi G, Centonze D, Gentile A. Exercise protects from hippocampal inflammation and neurodegeneration in experimental autoimmune encephalomyelitis. *Brain Behav Immun.* 2021 Aug 12;98:13-27
- Mandolesi G, Rizzo FR, Balletta S, Stampanoni Bassi M, Gilio L, Guadalupi L, Nencini M, Moscatelli A, Ryan CP, Licursi V, Dolcetti E, Musella A, Gentile A, Fresegna D, Bullitta S, Caioli S, Vanni V, Sanna K, Bruno A, Buttari F, Castelli C, Presutti C, De Santa F, Finardi A, Furlan R, Centonze D, De Vito F. The microRNA let-7b-5p Is Negatively Associated with Inflammation and Disease Severity in Multiple Sclerosis. *Cells.* 2021 Feb 5;10(2):330
- Fresegna D, Bullitta S, Musella A, Rizzo FR, De Vito F, Guadalupi L, Caioli S, Balletta S, Sanna K, Dolcetti E, Vanni V, Bruno A, Buttari F, Stampanoni Bassi M, Mandolesi G, Centonze D, Gentile A.



Re-Examining the Role of TNF in MS Pathogenesis and Therapy. *Cells*. 2020 Oct 14;9(10):2290

- Dolcetti E, Bruno A, Guadalupi L, Rizzo FR, Musella A, Gentile A, De Vito F, Caioli S, Bullitta S, Fresegna D, Vanni V, Balletta S, Sanna K, Buttari F, Stampanoni Bassi M, Centonze D, Mandolesi G. Emerging Role of Extracellular Vesicles in the Pathophysiology of Multiple Sclerosis. *Int J Mol Sci*. 2020 Oct 4;21(19):7336
- Stampanoni Bassi M, Buttari F, Simonelli I, Gilio L, Furlan R, Finardi A, Marfia GA, Visconti A, Paolillo A, Storto M, Gambardella S, Ferese R, Salvetti M, Uccelli A, Matarese G, Centonze D, De Vito F. A Single Nucleotide ADA Genetic Variant Is Associated to Central Inflammation and Clinical Presentation in MS: Implications for Cladribine Treatment. *Genes (Basel)*. 2020 Sep 30;11(10):1152
- Musella A, Gentile A, Guadalupi L, Rizzo FR, De Vito F, Fresegna D, Bruno A, Dolcetti E, Vanni V, Vitiello L, Bullitta S, Sanna K, Caioli S, Balletta S, Nencini M, Buttari F, Stampanoni Bassi M, Centonze D, Mandolesi G. Central Modulation of Selective Sphingosine-1-Phosphate Receptor 1 Ameliorates Experimental Multiple Sclerosis. *Cells*. 2020 May 22;9(5):1290
- Gentile A, Musella A, De Vito F, Rizzo FR, Fresegna D, Bullitta S, Vanni V, Guadalupi L, Stampanoni Bassi M, Buttari F, Centonze D, Mandolesi G. Immunomodulatory Effects of Exercise in Experimental Multiple Sclerosis. *Front Immunol*. 2019 Sep 13;10:2197

Oral presentation at international conferences

- De Vito F, Musella A, Rizzo FR, Balletta S, Fresegna D, Gentile A, Guadalupi L, Stampanoni Bassi M, Gilio L, Licursi V, Moscatelli A, Ryan CP, Buttari F, Procaccini C, Colamatteo A, Bullitta S, Caioli S, Vanni V, Sanna K, Bruno A, Dolcetti E, Finardi A, Furlan R, Matarese G, Centonze D, Mandolesi G. The emerging role of microRNAs in experimental and clinical multiple sclerosis: implications for inflammation-driven synaptic dysfunctions and disease course. 5th BRAYN Conference, September 28th-30th 2022 Rome, Italy
- De Vito F, Musella A, Rizzo FR, Balletta S, Fresegna D, Gentile A, Guadalupi L, Stampanoni Bassi M, Gilio L, Licursi V, Moscatelli A, Ryan CP, Buttari F, Procaccini C, Colamatteo A, Bullitta S, Caioli S, Vanni V, Sanna K, Bruno A, Dolcetti E, Finardi A, Furlan R, Matarese G, Centonze D, Mandolesi G. MicroRNAs are crucial regulators of inflammatory-driven synaptic dysfunction and disease course in multiple sclerosis. XIX SINS Virtual Congress, UNDER-40 SYMPOSIUM "The emerging role of microRNAs in experimental and clinical multiple sclerosis". September 9th-11th 2021 Brescia, Italy
- De Vito F, Fresegna D, Musella A, Gentile A, Bullitta S, Rizzo FR, Vanni V, Guadalupi L, Dolcetti E, Bruno A, Colamatteo A, Procaccini C, Matarese G, Uccelli

A, Salvetti M, Centonze D, Mandolesi G. MiR-142-3p as a new molecular target of DMF to prevent inflammation-driven synaptopathy and motor disability in experimental MS. XXVIII AINI Congress. May 6th-9th 2019, Camogli (Genoa), Italy

Poster presentation at national and international conferences

- De Vito F, Centonze D. MicroRNAs in cerebrospinal fluid as potential biomarkers for synaptopathy-driven disease progression in multiple sclerosis. Annual Scientific Congress Italian MS Society and its Foundation. Rome (Italy), May 30th- June 1st 2023
- De Vito F, Musella A, Rizzo FR, Balletta S, Fresegna D, Gentile A, Guadalupi L, Stampanoni Bassi M, Gilio L, Licursi V, Moscatelli A, Ryan CP, Buttari F, Procaccini C, Colamatteo A, Bullitta S, Caioli S, Vanni V, Sanna K, Bruno A, Dolcetti E, Finardi A, Furlan R, Matarese G, Centonze D, Mandolesi G. The emerging role of microRNAs in experimental and clinical multiple sclerosis: implications for inflammation-driven synaptic dysfunctions and disease course. Rome (Italy), XX Congresso Nazionale AIBG, September 23rd-24th 2022
- De Vito F, Musella A, Rizzo FR, Balletta S, Fresegna D, Gentile A, Guadalupi L, Stampanoni Bassi M, Gilio L, Licursi V, Moscatelli A, Ryan CP, Buttari F, Procaccini C, Colamatteo A, Bullitta S, Caioli S, Vanni V, Sanna K, Bruno A, Dolcetti E, Finardi A, Furlan R, Matarese G, Centonze D, Mandolesi G. The emerging role of microRNAs in experimental and clinical multiple sclerosis: implications for inflammation-driven synaptic dysfunctions and disease course. Paris (France) FENS Forum 2022, July 9th-13th 2022
- De Vito F, Centonze D. MicroRNAs in cerebrospinal fluid as potential biomarkers for synaptopathy-driven disease progression in multiple sclerosis. Annual Scientific Congress Italian MS Society and its Foundation. Rome (Italy) May 24th-26th 2022- Winner of best poster prize for young researcher
- Caioli S, Balletta S, De Vito F, Musella A, Fresegna D, Vanni V, Guadalupi L, Rizzo FR, Sanna K, Gentile A, Centonze D, Mandolesi G. MiR-142-3p is a critical modulator of TNF-mediated neuronal toxicity in multiple sclerosis". Pisa (Italy) 4th BRAYN Conference, October 20th-22nd, 2021
- De Vito F, Fresegna D, Musella A, Gentile A, Bullitta S, Rizzo FR, Vanni V, Guadalupi L, Dolcetti E, Bruno A, Colamatteo A, Procaccini C, Matarese G, Uccelli A, Salvetti M, Puma E, Centonze D, Mandolesi G. New insights into DMF mechanism of action in experimental MS: miR-142-3p as key molecular target against inflammatory synaptopathy and motor disability. 2nd BRAYN. Milan (Italy), November 14th-16th 2019

**Borsa di studio finanziata con il Bando FISM 2018 per il periodo di 2 anni e l'ammontare di 52.000 €
Estesa con il Bando FISM 2020 per il periodo di 2 anni e l'ammontare di 68.000 €**

Research Fellowship funded by FISM Grant 2018 for the period of 2 years and the amount of € 52,000
Extended by FISM Grant 2020 for the period of 2 years and the amount of € 68,000

Identificazione di singoli loci HERV-W espressi differenzialmente nei pazienti affetti da sclerosi multipla come biomarcatori specifici e bersagli terapeutici innovativi



Enzo Tramontano

Laboratorio di Virologia Molecolare, Dipartimento di Scienze della Vita e dell'Ambiente, Università di Cagliari, Cagliari, Italia

COLLABORATORI/COLLABORATORS
Nicole Grandi

COLLABORAZIONI CON ALTRI GRUPPI / COLLABORATIONS WITH OTHER GROUPS
Eleonora Cocco, Dipartimento di Scienze mediche e sanità pubblica, Università di Cagliari, Cagliari, Italia
Jessica Frau, Centro sclerosi multipla, AOU Binaghi, Università di Cagliari, Cagliari, Italia

PREMESSE E OBIETTIVI

A causa di un'etiologia poco chiara, la sclerosi multipla (SM) manca ancora di biomarcatori e terapie specifici. Fra i fattori potenzialmente coinvolti nella malattia, numerosi studi hanno proposto un collegamento tra infezioni virali e la SM. Oltre ai virus in grado di infettare l'uomo, oggi grande attenzione è stata dedicata al possibile ruolo dei retrovirus endogeni umani (HERV), sequenze stabilmente integrate nel nostro DNA a seguito di infezioni avvenute milioni di anni fa nei nostri antenati primati, da parte di virus ormai estinti. In particolare, il gruppo HERV-W è quello maggiormente studiato per la possibile correlazione con la SM, tanto che un anticorpo diretto contro una sua proteina è attualmente in sperimentazione clinica come terapia innovativa per la SM. Nonostante gli HERV-W rappresentino una promettente prospettiva diagnostico-terapeutica, il loro effettivo utilizzo come marcatori e bersagli specifici è stato prevenuto dalla scarsa conoscenza dei singoli membri presenti nel genoma umano.

Il nostro laboratorio ha caratterizzato nel dettaglio tutte le 213 sequenze HERV-W integrate nel DNA umano, più un set di altre 3200 sequenze HERV conservate. Questo database è stato utilizzato per studiare specificamente l'espressione di queste sequenze nelle persone con SM, e compararla con gli individui sani. Tale confronto, effettuato con tecniche innovative, era mirato a identificare finalmente le singole sequenze HERV espresse maggiormente o esclusivamente in presenza della SM, e quindi meritevoli

di essere validate come biomarcatori specifici per la diagnosi ed il monitoraggio della malattia.

RISULTATI

Il progetto ha coinvolto 80 persone con SM e 40 controlli sani (CS) reclutati presso il Centro SM dell'Ospedale Binaghi di Cagliari. Entrambi i gruppi hanno fornito un campione di sangue dal quale sono state isolate le cellule mononucleate (PBMC), ovvero i principali effettori della risposta immunitaria e infiammatoria (fra cui linfociti, monociti e granulociti). Una parte di campioni (32 SM e 23 HC) è stata inoltre usata per purificare la sola popolazione dei monociti, direttamente coinvolta nell'etiologia della SM. Le popolazioni cellulari ottenute sono state utilizzate per l'estrazione e il sequenziamento dell'RNA, che rappresenta l'insieme di tutti i geni e gli altri elementi espressi dal DNA di ogni cellula, ovvero il trascrittoma. I profili trascrittomici ottenuti sono quindi stati analizzati, per ricondurre ogni sequenza di RNA alla sua origine nel genoma e compararne i livelli di espressione nella malattia con quelli degli individui sani, allo scopo di individuare specifici HERV espressi maggiormente o esclusivamente nel sangue delle persone con SM.

L'analisi, condotta separatamente per PBMC e monociti, ha consentito di individuare rispettivamente 159 e 8 specifici HERV la cui espressione era significativamente diversa in presenza della malattia. Inoltre, alla luce della diversa incidenza della patologia tra individui di sesso femminile e

maschile (in rapporto di circa 2:1), la stessa analisi è stata ripetuta separatamente in base al genere rivelando anche in questo caso un'azione specifica della SM. In particolare, le donne con SM hanno mostrato una modulazione degli HERV molto superiore, con 122 elementi espressi differenzialmente rispetto ai controlli contro i 19 individuati nella popolazione maschile. Tra i diversi elementi HERV modulati in presenza della malattia, 12 erano riconducibili al gruppo HERV-W e quindi degni di particolare attenzione per il loro possibile ruolo nella SM. Uno in particolare, situato nel locus 2q13, era già stato individuato come promettente indicatore di presenza della malattia ed è attualmente in corso di ulteriore valutazione come potenziale biomarcatore per la diagnosi della SM.

CONCLUSIONI

Il nostro studio ha permesso di raggiungere una conoscenza senza precedenti del trascrittoma retrovirale nei PBMC e monociti di persone con SM, rivelando che la patologia

innesca variazioni specifiche in base al tipo cellulare e - soprattutto - al genere. In particolare, la modulazione più forte nell'espressione degli HERV è stata osservata nei PBMC delle donne con SM, un dato di forte interesse poiché potrebbe chiarire alcune motivazioni alla base dell'incidenza aumentata fra gli individui di sesso femminile. Lo studio ha individuato diverse sequenze HERV espresse differenzialmente nelle persone con SM, meritevoli di ulteriori studi per chiarirne l'eventuale contributo patologico. L'analisi ha infine consentito di selezionare un elemento HERV-W di particolare interesse, in corso di ulteriore validazione per la sua applicazione come biomarcatore precoce per la diagnosi di SM, e in fase di studio per valutarne anche il potenziale come biomarcatore predittivo, prognostico e di andamento terapeutico.

Identification of individual HERV-W loci differentially expressed in multiple sclerosis patients as specific biomarkers and innovative therapeutic targets

INTRODUCTION AND AIMS

Due to an unclear etiology, multiple sclerosis (MS) still lacks specific biomarkers and therapies. Among the factors potentially involved in the disease, several studies have proposed a link between viral infections and MS. Particularly, in addition to viruses capable of infecting humans, today great attention has been devoted to the possible role of human endogenous retroviruses (HERV), sequences that are stably integrated into our DNA following infections that occurred millions of years ago in our primate ancestors, by viruses now extinct. In particular, the HERV-W group is the most studied for the possible correlation with MS, and an antibody directed against one of its proteins is currently in clinical trial as an innovative therapy for MS. Although HERV-W represent a promising diagnostic and/or therapeutic perspective, their effective use as specific markers and targets has been prevented by the lack of knowledge of the various individual members present in the human genome. To this purpose, our laboratory has characterized in detail all the 213 HERV-W sequences integrated in the human DNA, plus a set of 3,200 other preserved HERV sequences. This database has been used to specifically study the expression of these sequences in people living with MS and compare it with healthy individuals. This comparison, carried out with innovative techniques, was aimed at finally identifying the individual

HERV sequences expressed more or only in the presence of MS, and therefore worthy of being validated as specific biomarkers for disease diagnosis and monitoring.

RESULTS

The project involved 80 people with MS and 40 healthy controls (HC) recruited at the MS Clinical Center of Binaghi Hospital, Cagliari. Both groups provided a blood sample from which mononucleate cells (PBMC) were isolated, being the main effectors of the immune and inflammatory responses (including lymphocytes, monocytes and granulocytes). A portion of samples (32 MS and 23 CS) was also used to purify the monocyte population, directly involved in the etiology of MS. The obtained cell populations have been used for the extraction and sequencing of RNA, which represents the set of all genes and other elements expressed by the DNA of each cell, namely the transcriptome. The obtained transcriptomic profiles were then analyzed to link each RNA sequence to its origin in the genome and compare its level of expression in the disease with the one of healthy individuals, to detect specific HERV expressed more or exclusively in the blood of people with MS. The analysis, conducted separately for PBMC and monocytes, made it possible to identify 159 and 8 specific HERVs, respectively, whose expression was significantly different in the presence of the disease. Moreover,

in the light of the different incidence of pathology between females and males (in ratio of about 2:1), the same analysis was repeated separately on a gender basis, revealing also in this case a specific action of MS. Women with MS showed in fact a much higher modulation of HERVs, with 122 elements that were differentially expressed against the 19 detected in the male population. Among the different HERV elements modulated in the presence of the disease, 12 were attributable to the HERV-W group and therefore worthy of particular attention for their possible role in MS. One in particular, at locus 2q13, had already been identified as a promising indicator of the presence of the disease and is currently being further evaluated as a potential biomarker for the diagnosis of MS.

CONCLUSIONS

Our study has allowed to reach an unprecedented knowledge of the retroviral transcriptome in PBMC and monocytes of people affected by MS, revealing that the pathol-

ogy triggers specific variations according to cell type and - above all - to gender. In particular, the strongest modulation in the expression of HERV was observed in the PBMC of women with MS, a fact of great interest as it could clarify some of the reasons behind the increased incidence of the disease for this gender. The study identified several differentially expressed HERV sequences in people with MS, deserving further studies to clarify their possible pathological contribution.

Finally, the analysis allowed to select a HERV-W element of particular interest, which is being further validated for its application as an early biomarker for the diagnosis of MS, and in phase of study to also assess its potential as a predictive, prognostic, and therapeutic biomarker.



PUBBLICAZIONI E COMUNICAZIONI A CONGRESSI PUBLICATIONS AND CONGRESS PRESENTATIONS

Comunicazioni a Congressi/Congress Presentations

- Grandi N, Frau J, Cabiddu C, Cocco E, Tramontano E. Identificazione di singoli loci HERV-W espressi differenzialmente nei pazienti affetti da Sclerosi Multipla come biomarcatori specifici e bersagli terapeutici innovativi. Congresso Scientifico Annuale della Società Italiana SM e la sua Fondazione, Roma, 30 maggio-1 giugno 2023
- Grandi N, Frau J, Cocco E, Tramontano E. Identificazione di singoli loci HERVW espressi differenzialmente nei pazienti affetti da Sclerosi Multipla come biomarcatori specifici e bersagli terapeutici innovativi. Congresso Scientifico Annuale della Società Italiana SM e la sua Fondazione, Roma, 24-26 maggio 2022

Progetto di ricerca finanziato con il Bando FISM 2020 per il periodo di 1 anno (prorogato di 12 mesi) e l'ammontare di 30.000 €

Research project funded by FISM Grant 2020 for the period of 1 year (extended by 12 months) and the amount of € 30,000

Tutto in una goccia: studio dei correlati immunitari di efficacia, meccanismo ed effetti collaterali delle terapie contro la SM in citometria ad alta dimensionalità su prelievo capillare



Mario Picozza

Unità di Neuroimmunologia, Fondazione Santa Lucia IRCCS, Roma, Italia

MENTORE / MENTOR
Giovanna Borsellino

PREMESSE E OBIETTIVI

Lo studio di malattie immunomediate complesse come la sclerosi multipla (SM) implica un'ampia comprensione delle dinamiche del sistema immunitario, essenziale per sviluppare e valutare terapie efficaci. L'instabilità dei servizi sanitari dovuta alle fluttuazioni epidemiche può indurre variazioni nella frequenza dei prelievi di sangue per la creazione di profili immunologici che permettano il confronto tra diverse terapie. Inoltre, il prelievo di sangue venoso richiede l'impiego di personale sanitario e talvolta comporta complicazioni. Per risolvere questi problemi, lo studio ha analizzato piccoli campioni di sangue ottenibili tramite puntura del dito e ha monitorato i cambiamenti nel sistema immunitario periferico durante la somministrazione di dimetil fumarato (DMF), cladribina (CLA) e ocrelizumab (OCR).

RISULTATI

Abbiamo eseguito un monitoraggio approfondito utilizzando la citometria a flusso ad alta dimensionalità per analizzare un gran numero di parametri per ogni cellula, fornendo una visione dettagliata della composizione del sistema immunitario e della risposta ai trattamenti. 254 campioni, provenienti da persone con SM prima e durante CLA, DMF e OCR, sono stati analizzati con il nostro metodo ottenendo un ampio set di dati.

Il nostro metodo avanzato di citometria a flusso ha identificato 110 caratteristiche immunitarie, altamente correlate tra i campioni di sangue venoso e quelli ottenuti con finger prick, provando l'affidabilità di questi ultimi. Tutti i trattamenti hanno portato a una riduzione dei livelli di neurofilamenti nel sangue, un biomarcatore del danno neuronale, indicando un'attenuazione nella neurodegenerazione. L'analisi delle componenti principali, un metodo utilizzato

per semplificare la complessità dei dati ad alta dimensionalità, è stata applicata all'intero set di dati. Questa prima analisi ha evidenziato variazioni significative influenzate da OCR, separandolo dagli altri trattamenti. Escludendo i campioni OCR, è emersa una maggiore separazione tra i profili immunitari dei soggetti trattati con CLA, DMF e non trattati, dimostrando gli effetti specifici del trattamento sul sistema immunitario anche per questi farmaci.

Abbiamo anche impiegato l'intelligenza artificiale per esplorare le modificazioni immunitarie. Dopo aver classificato le variabili immunologiche in base alla loro rilevanza per i diversi tipi di cellule immunitarie, abbiamo osservato che le caratteristiche legate alle cellule B erano altamente indicative in tutti i trattamenti, in particolare per OCR. Le caratteristiche legate alle cellule T hanno contraddistinto principalmente le persone trattate con CLA. In particolare, le caratteristiche legate alle cellule NK, ILC e HSC sono risultate classificatori con una potenza moderata, in particolare nel gruppo DMF.

Abbiamo validato questi risultati anche con un'analisi statistica formale. Con criteri statistici stringenti, il CLA ha influenzato 12 caratteristiche legate alle cellule B e 7 alle cellule T, il DMF ha influenzato 5 caratteristiche legate alle cellule B e 10 alle cellule T, mentre l'OCR ha influenzato 21 caratteristiche legate alle cellule B. Sorprendentemente, usando criteri meno rigidi, sono emersi ulteriori cambiamenti allineati con le analisi dell'intelligenza artificiale. Questi risultati forniscono indicazioni sugli effetti di ciascun trattamento su specifiche componenti immunitarie, contribuendo allo sviluppo di approcci personalizzati per la SM. Abbiamo anche studiato la cinetica immunitaria in modo longitudinale. Sia il CLA che il DMF hanno ridotto le cellule B di memoria unswitched e aumentato le cellule B di transizione, ma se il DMF ha portato a cambiamenti continui,

il CLA ha indotto cambiamenti repentini. Esaminando le cellule T, il DMF ha causato una diminuzione significativa delle cellule T helper infiammatorie, mentre il CLA ha indotto un aumento delle cellule T helper di tipo 2 e delle cellule T regolatorie, due popolazioni di linfociti note per il loro ruolo antinfiammatorio. Questi risultati, tra gli altri, hanno confermato le alterazioni osservate nell'analisi cross-sectional, fornendo una conoscenza più completa degli effetti del trattamento nel tempo.

Abbiamo anche cercato di identificare i fattori immunitari legati a eventi avversi durante i trattamenti modificanti la malattia per la SM, comprese le infezioni opportunistiche. In un caso, un paziente in trattamento con DMF ha mostrato un improvviso aumento delle cellule T CD8 senescenti, seguito da un'elevata frequenza di cellule T CD4 e gd senescenti, da un'inversione del rapporto tra cellule T CD4 e CD8 e dall'attivazione di vari tipi di cellule T in seguito a un episodio febbrile. Un'indagine approfondita ha rivelato un'infezione primaria da CMV, confermata da cellule T CD8 senescenti specifiche per CMV e dalla sieroconversione. Anche un altro paziente con alterazioni immunitarie

simili ha dimostrato una sieroconversione, evidenziando l'importanza di monitorare le risposte immunitarie per anticipare e gestire potenziali eventi avversi.

CONCLUSIONI

Il nostro studio ha rivelato che farmaci diversi hanno effetti distinti ma anche sovrapposti sul sistema immunitario delle persone con SM. Il DMF influisce principalmente sulle caratteristiche legate alle cellule T, mentre il CLA ha un effetto leggermente più forte sulle sottopopolazioni di cellule B. L'OCR influenza principalmente le cellule B, con conseguenze sulle cellule T helper follicolari. Lo studio ha inoltre evidenziato l'affidabilità della nostra tecnica avanzata di citometria a flusso e dei metodi di campionamento, che consentono di monitorare in tempo reale le fluttuazioni immunologiche. Questi risultati forniscono preziose indicazioni sulle complesse risposte immunitarie nei soggetti sottoposti a varie terapie, offrendo una migliore comprensione del loro impatto sulla sclerosi multipla, dei loro meccanismi d'azione e di come intervengono nel modificare le reazioni immunitarie contro eventuali infezioni.

Every Drop is Sacred (EDSS): searching for immune correlates of efficacy, mode-of-action and side effects of MS drugs by high-dimensional cytometry on finger prick-derived capillary blood

INTRODUCTION AND AIMS

Studying complex diseases like multiple sclerosis (MS) involves a broad understanding of the immune system's dynamics, essential for developing and examining effective therapies. Instability of Health Care (HC) services due to epidemic fluctuations also brings variations in the frequency of blood sampling for observational immunological profiling that compare various therapies. Moreover, venous blood sampling requires HC personnel and occasionally leads to complications. To address these issues, the study analyzed small blood samples obtainable through finger pricks and tracked changes in the peripheral immune system during the administration of Dimethyl Fumarate (DMF), Cladribine (CLA), and Ocrelizumab (OCR).

RESULTS

We performed a thorough monitoring using high-dimensional flow cytometry to analyze a large number of parameters or features for each cell, providing a detailed view of the immune system's composition and response to treatments. 254 samples, coming from persons with MS (pwMS) before and during CLA, DMF, and OCR were analyzed by our improved method, giving large dataset.

Our advanced flow cytometry method identified 110 immune features, highly correlated between finger-prick and venous blood samples, indicating reliable results from finger-prick. All treatments led to a reduction in blood neurofilament levels, a biomarker of axonal damage, indicating blunted neurodegeneration.

Principal Component Analysis, a method used for simplifying the complexity in high-dimensional data, was applied to the complete dataset. This first analysis highlighted significant variations influenced by OCR, separating it from the other treatments. Upon excluding OCR samples, separation between immune profiles of CLA, DMF, and untreated individuals became evident, demonstrating treatment-specific effects on the immune system also for these drugs.

We also employed artificial intelligence to explore immune changes. After categorizing immune features based on their relevance to different immune cell types, we observed that B cell-related features were highly indicative across all treatments, particularly for OCR. T cell-related features mainly distinguished pwMS treated with CLA. Notably, NK, ILC, and HSC-related features were classifiers with moderate power, specifically in the DMF group. We validated these findings also by formal statistical anal-

ysis. With stringent statistical criteria, CLA affected 12 B cell- and 7 T cell-related features, DMF impacted 5 B cell- and 10 T cell-related features, and OCR influenced 21 B cell-related features. Surprisingly, when considering less strict criteria, additional unexpected changes emerged aligned with the artificial intelligence analyses. These findings provide insights into the nuanced effects of each treatment on specific immune components, contributing to a comprehensive understanding of personalized approaches for pwMS. We also investigated immune kinetics in a longitudinal fashion. CLA and DMF both reduced Unswitched Memory B cells and increased Transitional B cells, but with notable differences. DMF led to continuous changes, while CLA induced rapid shifts in the initial 6 months that later stabilized. Examining T cells, DMF caused a significant decrease in inflammatory T helper cells, whereas CLA induced an increase in Type-2 Helper T and Regulatory T cells, two lymphocyte populations known for their anti-inflammatory roles. These findings, among others, confirmed the alterations observed in the cross-sectional analysis, providing a more complete knowledge of the treatment effects with time. We also tried to identify immune factors linked to adverse events during disease-modifying treatments for MS, including opportunistic infections. In one case, a patient on

DMF showed sudden increase in senescent CD8 T cells, followed by elevated frequencies of senescent CD4 and gd T cells, a reversed CD4/CD8 T cell ratio, and activation of various T cell types following self-resolving fever. A thorough investigation revealed a primary CMV infection, confirmed by senescent CMV-specific CD8 T cells and seroconversion. Another patient with similar immune changes also demonstrated unequivocal seroconversion, highlighting the importance of monitoring immune responses to anticipate and manage potential adverse events.

CONCLUSIONS

Our study revealed that different drugs have distinct and overlapping effects on the immune system in pwMS. DMF primarily impacts T cell-related features, while CLA has a slightly stronger effect on B cell subsets. OCR chiefly influences B cells with aftermaths on follicular T helper cells. The study also highlighted the reliable nature of our advanced flow cytometric technique and sampling methods, allowing real-time monitoring of immune changes. These findings provide valuable insights into the complex immune responses in individuals undergoing various DMTs, offering a better understanding of the impacts on multiple sclerosis and the potential weight of infections on disease progression.



PUBBLICAZIONI E COMUNICAZIONI A CONGRESSI PUBLICATIONS AND CONGRESS PRESENTATIONS

Pubblicazioni/Publications

- Gargano F, Guerrera G, Piras E, Serafini B, Di Paola M, Rizzetto L, Buscarinu MC, Annibali V, Vuoto C, De Bardi M, D'Orso S, Ruggieri S, Gasperini C, Pavarini L, Ristori G, Picozza M, Rosicarelli B, Ballerini C, Mechelli R, Vitali F, Cavalieri D, Salvetti M, Angelini DF, Borsellino G, De Filippo C, Battistini L. Proinflammatory mucosal-associated invariant CD8+ T cells react to gut flora yeasts and infiltrate multiple sclerosis brain. *Front Immunol.* 2022 Jul 28;13:890298. doi: 10.3389/fimmu.2022.890298
- Guerrera G, Mandelli A, Finardi A, Orrico M, D'Orso S, Picozza M, Noviello M, Beretta V, Bonetti B, Calabrese M, Marastoni D, De Rossi N, Capra R, Salvetti M, Buscarinu MC, Inglese M, Uccelli A, Moiola L, Raposo C, Muros-Le Rouzic E, Pedotti R, Filippi M, Bonini C, Battistini L, Borsellino G, Furlan R. Anti-SARSCoV- 2 T-stem cell memory persists in ocrelizumab-treated MS patients. *Mult Scler.* 2022 Oct;28(12):1937-1943. doi: 10.1177/13524585221102158

Comunicazioni a Congressi/Congress Presentations

- Till the last microliter: development of a 29-antibody/30-reagent/21-fluorochrome panel to dive into capillary blood phenotyping. Oral Presentation, V ISCCA (Società Italiana per l'Analisi Citometrica Cellulare) 2021 Congress, May, 20th 2021, Online
- Deployment of comprehensive high-parameter cytometry to contrast immune changes in PwMS under DMF, Ocrelizumab and Cladribine. Oral Presentation, XXX AINI (Associazione Italiana di Neuroimmunologia) Congress, Riccione, May, 18th 2022
- Deciphering immune changes in PwMS under DMF, Ocrelizumab and Cladribine by high-dimensional flow cytometry. Oral Presentation, XXXI AINI (Associazione Italiana di Neuroimmunologia) Congress, Palermo, May, 5th 2023
- Every Drop is Sacred (EDSS): searching for immune correlates of efficacy, mode-of-action and side effects of MS drugs by high-dimensional cytometry on finger prick-derived capillary blood. Poster



presentation, Congresso Scientifico Annuale Associazione Italiana Sclerosi Multipla e la sua Fondazione, Roma, May, 24-26th 2022

- *Every Drop is Sacred (EDSS): searching for immune correlates of efficacy, mode-of-action and side*

effects of MS drugs by high-dimensional cytometry on finger prick-derived capillary blood. Poster presentation, Congresso Scientifico Annuale Associazione Italiana Sclerosi Multipla e la sua Fondazione, Roma, 30th May-01st June 2023

Borsa di studio finanziata con il Bando FISM 2020 per il periodo di 2 anni e l'ammontare di 62.000 €
Research Fellowship funded by FISM Grant 2020 for the period of 2 years and the amount of € 62,000

Verso nuovi trattamenti

Towards new
treatments

Comprendere il controllo neurale della linfopoiesi nell'Encefalite Autoimmune Sperimentale per designare nuove terapie e monitorare l'attivazione del sistema immunitario nella sclerosi multipla



Antonio Uccelli

IRCCS Ospedale Policlinico San Martino, Genova, Italia

COLLABORATORI/COLLABORATORS

Tiziana Vigo, Alice Laroni

COLLABORAZIONI CON ALTRI GRUPPI / COLLABORATIONS WITH OTHER GROUPS

Gabriele Zoppoli, IRCCS Ospedale Policlinico San Martino, Genova, Italia

Fabio Benfenati, Istituto Italiano di Tecnologia, Genova, Italia

PREMESSE E OBIETTIVI

La sclerosi multipla è causata da alcune cellule del sangue che entrano nel cervello e lo danneggiano. Le cellule del sangue sono prodotte nel midollo osseo, che si trova all'interno delle ossa. Il cervello comunica con il midollo osseo attraverso i nervi, che trasmettono sotto forma di segnali neurali le istruzioni sul tipo di cellule di sangue che devono essere prodotte. Il primo obiettivo di questo studio era capire se il cervello manda dei segnali anomali al midollo osseo e lo istruisce a produrre le cellule del sangue che causano la malattia nel modello sperimentale della sclerosi multipla (encefalite sperimentale autoimmune, ESA). Il secondo obiettivo era individuare nel modello ESA la regione del cervello che manda i segnali anomali al midollo osseo. Il terzo obiettivo era cercare dei marcatori che potessero indicare se anche nelle persone con sclerosi multipla il cervello manda segnali anomali al midollo osseo.

RISULTATI

I risultati del nostro studio hanno permesso di dimostrare che nel modello ESA i nervi istruiscono il midollo osseo ad aumentare la produzione delle cellule del sangue. Ciò avviene attraverso il rilascio da parte dei nervi di una sostanza, la norepinefrina, che modifica la maturazione delle cellule del sangue perché è capace di legarsi ad uno specifico recettore (recettore adrenergico di tipo 3). Infatti, quando abbiamo trattato i topi con una molecola che impedisce alla norepinefrina di legarsi a questo recettore, abbiamo osservato che la maturazione delle cellule immunitarie

nel midollo osseo ritornava normale e i topi avevano una malattia molto più lieve. Abbiamo scoperto che i messaggi anomali trasmessi al midollo osseo sono generati in una particolare regione del cervello da dei neuroni che sono chiamati neuroni AgRP perché producono il fattore AgRP. Questi neuroni sono alterati nei topi con ESA. Infine abbiamo scoperto che anche nelle persone con sclerosi multipla il midollo osseo produce cellule del sangue in maniera diversa rispetto ai soggetti sani e che i neuroni AgRP sono alterati e producono maggiori quantità del fattore AgRP.

CONCLUSIONI

Questo studio ha permesso di caratterizzare un nuovo possibile meccanismo di malattia nella sclerosi multipla, evidenziando il contributo del cervello e dei nervi nel controllo della produzione di cellule immunitarie. Inoltre, i risultati di questo studio hanno fornito dei marcatori che possono essere usati per monitorare la produzione di cellule immunitarie nel midollo osseo e l'attivazione dei neuroni AgRP nelle persone con sclerosi multipla. Questi marcatori potrebbero costituire dei nuovi indicatori dello stato di malattia. Infine questo studio ha dimostrato che una molecola che blocca il legame della norepinefrina con i recettori adrenergici di tipo 3 è efficace nel curare l'ESA nel topo. Questa scoperta potrebbe portare in futuro alla messa a punto di una nuova terapia per le persone con sclerosi multipla.

Exploiting a neural reflex to reduce generation of T cells in Experimental Autoimmune Encephalomyelitis and monitor immune system activation in multiple sclerosis

INTRODUCTION AND AIMS

Multiple sclerosis is caused by certain blood cells entering the brain and damaging it. Blood cells are produced in the bone marrow, which is located inside the bones. The brain communicates with the bone marrow through nerves, which transmit instructions, in the form of neural signals, about the type of blood cells that need to be produced. The first aim of this study was to understand whether the brain sends abnormal signals to the bone marrow and instructs it to produce the blood cells that cause disease in the experimental model of multiple sclerosis (experimental autoimmune encephalitis, ESA). The second goal was to identify in the ESA model the region of the brain that sends the abnormal signals to the bone marrow. The third goal was to look for markers that could indicate whether the brain also sends abnormal signals to the bone marrow in people with multiple sclerosis.

RESULTS

The results of our study showed that in the ESA model, nerves instruct the bone marrow to increase the production of blood cells. This is done through the nerves' release of a substance, norepinephrine, which modifies blood cell maturation because it is able to bind to a specific receptor (type 3 adrenergic receptor). In fact, when we treated mice with a molecule that prevents norepinephrine from binding to this receptor, we observed that immune

cell maturation in the bone marrow returned to normal and the mice had much milder disease. We found that the abnormal messages transmitted to the bone marrow are generated in a particular region of the brain by neurons that are called AgRP neurons because they produce AgRP factor. These neurons are altered in mice with ESA than in healthy mice. Finally, we found that even in people with multiple sclerosis, the bone marrow produces blood cells differently than in healthy individuals and that AgRP neurons are altered than normal and produce greater amounts of the AgRP factor.

CONCLUSIONS

This study made it possible to characterize a possible new disease mechanism in multiple sclerosis, highlighting the contribution the brain and nerves in controlling the production of immune cells. In addition, the results of this study provided markers that can be used to monitor immune cell production in the bone marrow and activation of AgRP neurons in people with multiple sclerosis. These markers could be new indicators of disease status. Finally, this study showed that a molecule that blocks the binding of norepinephrine to type 3 adrenergic receptors is effective in treating ESA in mice. This finding could lead to the development of a new therapy for people with multiple sclerosis in the future.



PUBBLICAZIONI E COMUNICAZIONI A CONGRESSI PUBLICATIONS AND CONGRESS PRESENTATIONS

Comunicazioni a Congressi/Congress Presentations

- XXVII Congress Italian association of Neuroimmunology, Camogli, May 6-9, 2019
- XXIX Congress Italian association of Neuroimmunology, Verona, September 16-19, 2021
- XXX Congress Italian association of Neuroimmunology, Riccione, May 16-19, 2022
- II BraYn Conference, Milan, November 14-16, 2019
- III BraYn Conference, virtual, November 25-26, 2020
- IV BraYn Conference, Pisa October 20-22, 2021
- V BraYn Conference, Rome September 28-30, 2022
- VI BraYn Conference, Naples, September 27-29, 2023
- XIV International Congress of Neuroimmunology, virtual, November 8-12, 2021
- I Congress Italian Neuroscience Network, Rome, March 2019
- III Congress Italian Neuroscience Network, Rome, November 30-December 1, 2023

Progetto di ricerca finanziato con il Bando FISM 2019 per il periodo di 3 anni e l'ammontare di 240.000 €
Research project funded by FISM Grant 2019 for the period of 3 years and the amount of € 240.000

Effetti dei farmaci anti-CD20 sull'eccitotossicità sinaptica dipendente dalle cellule T nella sclerosi multipla



Mario Stampanoni Bassi

UOC Neurologia, IRCCS Neuromed, Pozzilli (Is), Italia

COLLABORATORI/COLLABORATORS

Ennio Iezzi, IRCCS Neuromed, Pozzilli (Is), Italia

Roberta Fantozzi, IRCCS Neuromed, Pozzilli (Is), Italia

COLLABORAZIONI CON ALTRI GRUPPI / COLLABORATIONS WITH OTHER GROUPS

Francesca Romana Rizzo, Laboratorio di Immunopatologia Sinaptica, Dipartimento di Medicina dei Sistemi, Università degli Studi di Roma Tor Vergata, Roma, Italia

Livia Guadalupi, Laboratorio di Immunopatologia Sinaptica, Dipartimento di Medicina dei Sistemi, Università degli Studi di Roma Tor Vergata, Roma, Italia

Krizia Sanna, Laboratorio di Immunopatologia Sinaptica, Dipartimento di Medicina dei Sistemi, Università degli Studi di Roma Tor Vergata, Roma, Italia

PREMESSE E OBIETTIVI

I linfociti T e B svolgono un ruolo importante nella patogenesi della sclerosi multipla (SM). Le cellule B sono coinvolte nella presentazione dell'antigene, nella produzione di autoanticorpi e nell'attivazione delle cellule T. Studi preclinici e clinici hanno inoltre evidenziato che nella SM l'infiammazione induce una disfunzione sinaptica (sinaptopatia infiammatoria) che ha un ruolo importante nella progressione della malattia. Nei modelli sperimentali di SM (encefalomielite sperimentale autoimmune, ESA) è stato dimostrato che specifiche citochine proinfiammatorie possono alterare la trasmissione e la plasticità sinaptica, inducendo ipereccitabilità neuronale e danno eccitotossico. Anche nei pazienti con SM, studi condotti con la stimolazione magnetica transcranica (TMS) hanno dimostrato una correlazione fra livelli liquorali di specifiche molecole infiammatorie e i parametri che misurano la trasmissione eccitatoria e inibitoria intracorticale. Infine, utilizzando un modello chimerico *ex vivo*, abbiamo recentemente dimostrato che le cellule T periferiche prelevate da pazienti con SM recidivante-remittente (RR) in fase attiva inducono eccitotossicità quando vengono incubate su neuroni murini, riproducendo le alterazioni osservate nella ESA. Recentemente gli anticorpi monoclonali anti-CD20, che hanno come bersaglio i linfociti B, sono stati approvati come terapia in diversi fenotipi di SM. Queste

terapie, modulando le interazioni tra linfociti B e T, potrebbero esercitare un effetto protettivo sulla sinaptopatia infiammatoria nella SM.

Nel presente progetto abbiamo utilizzato il modello chimerico basato sulle cellule T per valutare gli effetti del trattamento con farmaci anti-CD20 sulle disfunzioni sinaptiche nei pazienti con SM progressiva. I linfociti dei pazienti sono stati prelevati prima (T0) e dopo nove mesi di trattamento (T1). È stata effettuata un'analisi citofluorimetrica delle popolazioni di cellule T e delle citochine infiammatorie rilasciate dalle cellule T. Infine, abbiamo utilizzato la TMS per valutare l'efficienza della trasmissione sinaptica eccitatoria e inibitoria e della plasticità sinaptica prima e dopo il trattamento.

RISULTATI

Sono stati arruolati 15 pazienti con SM progressiva presso l'IRCCS Neuromed (Pozzilli). Tutti i pazienti hanno iniziato il trattamento con ocrelizumab. I risultati del modello chimerico *ex vivo* di SM hanno confermato che le cellule T isolate da campioni di sangue di pazienti a T0 alteravano la trasmissione sinaptica in linea con i nostri risultati precedenti ottenuti con linfociti T raccolti dai pazienti con SM attiva. Confrontando i dati ottenuti incubando i linfociti dei pazienti prima e dopo il trattamento abbiamo osservato una riduzione significativa delle alterazioni sinaptiche.

Analizzando i linfociti T prelevati prima e dopo il trattamento, non abbiamo evidenziato differenze significative nel profilo di citochine infiammatorie. Per valutare il ruolo delle citochine nella sinaptopatia mediata dai linfociti T abbiamo analizzato nello specifico l'azione del TNF (tumor necrosis factor). Questa molecola proinfiammatoria era stata infatti identificata come la principale responsabile delle alterazioni sinaptiche indotte dai linfociti T di pazienti con SM in fase attiva.

I risultati hanno mostrato che gli effetti negativi indotti dalle cellule T dei pazienti con SM progressiva sulla trasmissione sinaptica sono annullati bloccando l'attività del TNF. Questi dati suggeriscono un ruolo di questa molecola nella sinaptopatia T-mediata anche nei pazienti con SM progressiva. I risultati della valutazione con TMS hanno confermato una ridotta espressione della plasticità di tipo LTP (potenziamento a lungo termine) nei pazienti con SM progressiva rispetto ai controlli. I dati ottenuti dopo 9 mesi di terapia

hanno mostrato un aumento significativo della plasticità misurata con la TMS. Al basale, lo studio della trasmissione eccitatoria intracorticale ha evidenziato una riduzione della trasmissione inibitoria nei pazienti. Questi parametri non sono variati significativamente dopo il trattamento.

CONCLUSIONI

La sinaptopatia infiammatoria rappresenta un importante meccanismo di progressione della SM. Dati sperimentali indicano che si tratta di un fenomeno almeno in parte reversibile e potrebbe quindi rappresentare un importante bersaglio per le terapie. I risultati di questo progetto suggeriscono che il trattamento con farmaci anti-CD20 potrebbe avere un effetto protettivo sulla sinaptopatia infiammatoria, riducendo le alterazioni indotte dai linfociti T e dalle citochine infiammatorie, e migliorando l'espressione della plasticità sinaptica nei pazienti con SM progressiva.

Effects of anti-CD20 therapy on T lymphocyte-dependent synaptic excitotoxicity in multiple sclerosis

INTRODUCTION AND AIMS

T and B lymphocytes play an important role in the pathogenesis of multiple sclerosis (MS). B cells are involved in antigen presentation, autoantibody production, and T cell activation. Preclinical and clinical studies have also shown that in MS, inflammation induces synaptic dysfunction (inflammatory synaptopathy), which plays an important role in disease progression. In experimental models of MS (experimental autoimmune encephalomyelitis, EAE), it has been shown that specific proinflammatory cytokines can alter synaptic transmission and plasticity, inducing neuronal hyperexcitability and excitotoxic damage. Also, in patients with MS, studies using transcranial magnetic stimulation (TMS) have demonstrated a correlation between the cerebrospinal fluid levels of specific inflammatory molecules and parameters measuring excitatory and inhibitory intracortical transmission. Finally, using an ex vivo chimeric model, we have recently demonstrated that peripheral T cells collected from patients with active relapsing-remitting (RR)MS induce excitotoxicity when incubated on murine neurons, mimicking the alterations observed in EAE.

Recently, anti-CD20 monoclonal antibodies targeting B lymphocytes have been approved as therapy in different MS phenotypes. These therapies, by modulating B- and T-lymphocyte interactions, could exert a protective effect on inflammatory synaptopathy in MS.

In the present project, we used the chimeric T cell-based

model to evaluate the effects of anti-CD20 drug treatment on synaptic dysfunction in patients with progressive MS. Peripheral blood lymphocytes were collected before (T0) and after nine months of treatment (T1). The results will be supported by cytofluorimetric analysis of T cell populations and inflammatory cytokines released by T cells. Finally, we used TMS to evaluate the efficiency of excitatory and inhibitory synaptic transmission and synaptic plasticity before and after treatment.

RESULTS

Fifteen patients with progressive MS were enrolled at the IRCCS Neuromed (Pozzilli). All patients started treatment with ocrelizumab. Results from the ex-vivo chimeric model confirmed that T cells isolated from blood samples of MS patients at T0 altered synaptic transmission in line with our previous results obtained with T lymphocytes collected from patients with active MS. Comparing the data obtained by incubating lymphocytes collected before and after treatment, we observed a significant reduction of synaptic alterations. Analysing T lymphocytes collected before and after treatment, we found no significant differences in the profile of inflammatory cytokines. To evaluate the role of cytokines in T-cell-mediated synaptopathy, we therefore analysed the role of TNF (tumor necrosis factor). Accordingly, this proinflammatory molecule was previously identified as the responsible of T lymphocyte-induced synaptic alterations in MS patients with disease activity.

Our results confirmed that blocking TNF activity in vitro prevented the negative effects induced by T cells collected from untreated patients on synaptic transmission. These results suggest a role of this molecule in T cell-mediated synaptopathy also in progressive MS. The results of TMS evaluation confirmed reduced expression of long term potentiation (LTP)-like plasticity in patients with progressive MS compared with controls. Data obtained at T1 showed a significant increase in LTP-like effect after 9 months of therapy. At baseline, the study of intracortical excitatory transmission showed reduced inhibitory transmission in patients with progressive MS. These parameters were not significantly modified after treatment.

CONCLUSIONS

Inflammatory synaptopathy represents an important mechanism of MS progression. Experimental data indicate that this phenomenon is at least partly reversible and could therefore represent an important target for therapies. The results of this project suggest that treatment with anti-CD20 drugs could have a protective effect by reducing synaptic alterations induced by T lymphocytes and inflammatory cytokines, and improving the expression of synaptic plasticity in patients with progressive MS.



PUBBLICAZIONI E COMUNICAZIONI A CONGRESSI PUBLICATIONS AND CONGRESS PRESENTATIONS

Pubblicazioni/Publications

- Bruno A, Dolcetti E, Azzolini F, Buttari F, Gilio L, Iezzi E, Galifi G, Borrelli A, Furlan R, Finardi A, Carbone F, De Vito F, Musella A, Guadalupi L, Mandolesi G, Matarese G, Centonze D, Stamparoni Bassi M. BACE1 influences clinical manifestations and central inflammation in relapsing remitting multiple sclerosis. *Mult SclerRelat Disord.* 2023 Jan 24;71:104528. doi:10.1016/j.msard.2023.104528
- Stamparoni Bassi M, Buttari F, Gilio L, Iezzi E, Galifi G, Carbone F, Micillo T, Dolcetti E, Azzolini F, Bruno A, Borrelli A, Mandolesi G, Rovella V, Storto M, Finardi A, Furlan R, Centonze D, Matarese G. Osteopontin Is Associated with Multiple Sclerosis-Relapses. *Biomedicines.* 2023 Jan 11;11(1):178. doi:10.3390/biomedicines11010178
- Gilio L, Buttari F, Pavone L, Iezzi E, Galifi G, Dolcetti E, Azzolini F, Bruno A, Borrelli A, Storto M, Furlan R, Finardi A, Pekmezovic T, Drulovic J, Mandolesi G, Fresegna D, Vanni V, Centonze D, Stamparoni Bassi M. Fatigue in Multiple Sclerosis Is Associated with Reduced Expression of Interleukin-10 and Worse Prospective Disease Activity. *Biomedicines.* 2022 Aug 23;10(9):2058. doi:10.3390/biomedicines10092058
- Gilio L, Fresegna D, Gentile A, Guadalupi L, Sanna K, De Vito F, Balletta S, Caioli S, Rizzo FR, Musella A, Iezzi E, Moscatelli A, Galifi G, Fantozzi R, Bellantonio P, Furlan R, Finardi A, Vanni V, Dolcetti E, Bruno A, Buttari F, Mandolesi G, Centonze D, Stamparoni Bassi M. Preventive exercise attenuates IL-2-driven mood disorders in multiple sclerosis. *M.Neurobiol Dis.* 2022 Oct 1;172:105817. doi:10.1016/j.nbd.2022.105817
- Bruno A, Dolcetti E, Azzolini F, Moscatelli A, Gambardella S, Ferese R, Rizzo FR, Gilio L, Iezzi E, Galifi G, Borrelli A, Buttari F, Furlan R, Finardi A, Guadalupi L, Mandolesi G, Centonze D, Stamparoni Bassi M. Genetic regulation of IL-8 influences disease presentation of multiple sclerosis. *Mult Scler.* 2023 Apr;29(4-5):512-520. doi:10.1177/13524585231155049. Epub 2023 Feb 19
- Bruno A, Buttari F, Dolcetti E, Azzolini F, Borrelli A, Lauritano G, Di Caprio V, Rizzo FR, Gilio L, Galifi G, Furlan R, Finardi A, Guadalupi L, Musella A, Mandolesi G, Centonze D, Stamparoni Bassi M. Distinct intrathecal inflammatory signatures following relapse and anti-COVID-19 mRNA vaccination in multiple sclerosis. *Mult Scler.* 2023 Sep 12:13524585231197928. doi:10.1177/13524585231197928. Epub ahead of print
- Dolcetti E, Bruno A, Azzolini F, Gilio L, Moscatelli A, De Vito F, Pavone L, Iezzi E, Gambardella S, Giardina E, Ferese R, Buttari F, Rizzo FR, Furlan R, Finardi A, Musella A, Mandolesi G, Guadalupi L, Centonze D, Stamparoni Bassi M. The BDNF Val66Met Polymorphism (rs6265) Modulates Inflammation and Neurodegeneration in the Early Phases of Multiple Sclerosis. *Genes (Basel).* 2022 Feb 10;13(2):332. doi:10.3390/genes13020332
- E, Galifi G, Borrelli A, Buttari F, Furlan R, Finardi A, DeVito F, Musella A, Guadalupi L, Mandolesi G, Centonze D, Stamparoni Bassi M. Interleukin 6 SNPrs1818879 Regulates Radiological and Inflammatory Activity in Multiple Sclerosis. *Genes (Basel).* 2022 May 17;13(5):897. doi:10.3390/genes13050897

Progetto di ricerca finanziato con il Bando FISM 2020 per il periodo di 2 anni (prorogato di 12 mesi) e l'ammontare di 55.274,40 €

Research project funded by FISM Grant 2020 for the period of 2 year (extended by 12 months) for the amount of € 55,274.40

Nuove strategie terapeutiche di re-mielinizzazione: ruolo dei recettori A2B adenosinergici nella oligodendrogenesi e loro possibile interazione con la via di segnalazione di sfingosina-1-fosfato



Anna Maria Pugliese

Dipartimento NEUROFARBA, Università degli Studi di Firenze, Firenze, Italia

COLLABORATORI/ COLLABORATORS

Elisabetta Coppi, Felicita Pedata, Paola Bruni, Chiara Donati, Francesca Cencetti, Vittoria Colotta, Flavia Varano, Daniela Catarzi, Federica Cherchi, Giada Magni, Clara Ballerini, Francesca Rossi, Martina Venturini, Ilaria Dettori

PREMESSE E OBIETTIVI

Gli oligodendrociti svolgono la funzione essenziale di mielinizzazione delle fibre nervose dei neuroni del Sistema Nervoso Centrale (SNC). Essi originano dalle cellule precursori degli oligodendrociti parenchimali (OPC) non solo durante lo sviluppo, ma anche in età adulta. La conseguenza primaria della morte degli oligodendrociti è la demielinizzazione assonale, che ritarda o blocca completamente la conduzione dell'impulso nervoso nella regione interessata. La perdita di oligodendrociti e di OPCs è un aspetto comune a molte patologie del SNC, e tra queste la sclerosi multipla (SM) è la più diffusa. Adenosina è un importante modulatore endogeno nel SNC. È nota dalla letteratura un'interazione tra adenosina e OPC; adenosina infatti modula la loro proliferazione e differenziazione verso oligodendrociti maturi. Nelle cellule della linea oligodendrocitaria (dai precursori a quelle mature) sono presenti tutti e quattro i sottotipi recettoriali adenosinergici finora clonati e identificati (A1, A2A, A2B e A3). Il recettore A2B è definito come il più enigmatico tra i recettori adenosinergici sia per la scarsità di ligandi selettivi che per la bassa affinità verso il modulatore endogeno adenosina; ciò lascia presupporre che tale recettore venga attivato solo in condizioni di emergenza o di patologia. È importante ricordare infatti che le concentrazioni di adenosina aumentano significativamente in tutte le condizioni di stress e di patologia a livello cerebrale. In una prima parte del presente progetto abbiamo caratterizzato il ruolo dei recettori A2B (A2BR) su colture primarie di OPC, utilizzando agonisti e antagonisti selettivi per tale sottotipo recettoriale. Il fingolimod, un modulatore del recettore della

sfingosina-1-fosfato (S1P), è un farmaco ad azione immunosoppressiva, che ha aperto un nuovo e promettente approccio terapeutico nella SM. S1P è prodotto da sfingosina chinasi (SphK), un enzima coinvolto nella stimolazione e nella sopravvivenza degli oligodendrociti. In una seconda fase del progetto abbiamo studiato il ruolo di S1P e di SphK nei processi di oligodendrogenesi in colture di OPC e la possibile interazione con la via di segnalazione attivata dalla stimolazione dei A2BRs. Abbiamo valutato successivamente il ruolo dei A2BRs e il potenziale oligodendrogenetico legato alla loro attivazione in un altro modello *in vitro* mirato allo studio dei processi di mielinizzazione ed in un modello animale *in vivo* di de- e re-mielinizzazione.

RISULTATI

La stimolazione selettiva dei A2BRs inibisce la differenziazione degli OPC *in vitro* e riduce le correnti al K⁺ voltaggio-dipendenti necessarie alla maturazione dell'OPC, mentre l'inibizione specifica di SphK1 o SphK2 esercita l'effetto opposto. Durante la differenziazione degli OPC aumenta l'espressione dei A2BR, questo effetto viene impedito dal blocco di SphK1/2. Inoltre, il silenziamento selettivo dei A2BR nelle colture di OPC ne stimola la loro maturazione e, cosa interessante, migliora l'espressione della liasi di S1P, l'enzima responsabile del catabolismo irreversibile di S1P. Infine, è stata confermata l'esistenza di un'interazione tra la via di SphK1/S1P e dei A2BR negli OPC poiché la stimolazione acuta dei A2BR attiva SphK1 aumentandone la fosforilazione. Per approfondire il ruolo di questo sottotipo recettoriale nell'interazione neurone-oligodendrocita e nel processo di mielinizzazione,

abbiamo saggiato gli effetti di diversi ligandi dei A2BR in co-culture di OPC/neuroni del ganglio della radice dorsale (DRG), un test consolidato di mielinizzazione *in vitro*. L'agonista selettivo dei A2BR, BAY606583, ha ridotto significativamente i livelli di proteina basica della mielina (MBP), ma contemporaneamente ha aumentato l'indice di mielinizzazione nelle co-culture DRG/OPC, analizzate mediante microscopia confocale. L'ultimo effetto è stato prevenuto dagli antagonisti selettivi A2BR, PSB603 e MRS1706. Per chiarire al meglio questi dati inaspettati e controversi, ci siamo chiesti se i A2BRs potessero svolgere un ruolo funzionale sui neuroni DRG. In primo luogo abbiamo dimostrato, mediante immunocitochimica, che la monocultura primaria di DRG esprimeva i A2BR. La loro attivazione selettiva da parte di BAY606583 ha aumentato l'eccitabilità neuronale del DRG, come dimostrato dall'aumento del numero dei potenziali d'azione, dalla diminuzione della reobase e dal potenziale di membrana a riposo più depolarizzato. Tutti questi effetti sono stati prevenuti da PSB603. Durante questo aumento dell'attività neuronale dipendente dall'attivazione dei A2BRs, i neuroni DRG potrebbero rilasciare fattori in grado di facilitare

i processi di mielinizzazione. Infine, nel modello murino cuprizone, i nostri risultati hanno dimostrato che la stimolazione selettiva dei A2BRs non è coinvolta nei processi di re-mielinizzazione, mentre quella dei A2AR aumenta il tempo di latenza di recupero dei livelli di MBP rispetto agli animali trattati con veicolo, il che è indicativo di una ridotta rimielinizzazione. Gli esperimenti *in vivo* hanno subito un ritardo soprattutto per la pandemia. Visti i risultati promettenti essi sono ancora in corso.

CONCLUSIONI

I recettori A2B adenosinergici inibiscono le correnti al K⁺ e la differenziazione cellulare e modulano la sintesi di S1P negli OPC in coltura. I nostri dati ne suggeriscono inoltre un diverso ruolo durante l'oligodendrogliogenesi e la mielinizzazione, a seconda della loro attivazione sui neuroni o sulle cellule oligodendrogliali. I nostri risultati indicano una interazione tra i A2BRs e la segnalazione S1P suggerendo che possano rappresentare importanti ed innovativi bersagli molecolari utili per lo sviluppo di nuove terapie per il trattamento dei disturbi demielinizzanti.

New insights for remyelinating therapies: oligodendrogenic role of adenosine A2B receptors and their putative interplay with sphingosine-1-phosphate axis

INTRODUCTION AND AIMS

Oligodendrocytes (OLs) are the cells responsible to myelin production in the central nervous system (CNS). Rapid communication between neurons requires myelin enwrapping of nerve fibers to allow saltatory propagation of electrical impulses. In addition, OLs promote neuron metabolism, and stabilize axonal cytoskeleton. Differentiation of OL precursor cells (OPCs) into mature OLs is a key event for axonal myelination in the brain; this process fails during demyelinating pathologies, such as multiple sclerosis (MS). A number of pathways that may contribute to ameliorated/impaired remyelination in MS lesions have been identified, among them adenosinergic signaling and sphingosine kinase/sphingosine 1-phosphate signaling axis. As known from the literature, adenosine exerts a key role in OPC proliferation and maturation towards mature oligodendrocytes, with either stimulating or inhibitory effects described depending on the adenosine receptor subtype involved. In cells of the oligodendrocyte lineage (from precursors to mature cells), all four adenosine receptor subtypes cloned and identified so far are present (A1, A2A, A2B and A3). The A2B receptor (A2BR) is defined as the most enigmatic of

the adenosine receptors due to the paucity of selective ligands and the low affinity for the endogenous modulator adenosine suggesting that this receptor is only activated in emergency or pathological conditions. Extracellular adenosine concentrations significantly increase in all conditions of stress and pathology at the brain level. In the first part of the present project, we characterized the role of A2BRs on primary OPC cultures, using selective agonists and antagonists for this receptor subtype. Fingolimod, a modulator of sphingosine-1-phosphate analogue (S1P), is a drug with immunosuppressive action, which has opened a new and promising therapeutic approach in MS. S1P is produced by sphingosine kinase (SphK), an enzyme involved in the stimulation and survival of oligodendrocytes. In the second part of the project we studied the role of S1P and SphK in oligodendrogenesis in OPC cultures and a possible interplay with A2BR signalling. We subsequently evaluated the role of A2BRs and the oligodendrogenetic potential linked to their activation, in another *in vitro* model aimed at studying myelination processes and in an *in vivo* model of de- and re-myelination.

RESULTS

We demonstrated that the selective stimulation of A2BR inhibits OPC differentiation *in vitro* and reduces voltage-dependent outward K⁺ currents (IK and IA) necessary to OPC maturation, whereas specific SphK1 or SphK2 inhibition exerts the opposite effect. During OPC differentiation, A2BR expression increases, this effect being prevented by SphK1/2 blockade. Furthermore, selective silencing of A2BR in OPC cultures prompts maturation and, intriguingly, enhances the expression of S1P lyase, the enzyme responsible for irreversible S1P catabolism. Finally, the existence of an interplay between SphK1/S1P pathway and A2BRs in OPCs was confirmed since acute stimulation of A2BRs activates SphK1 by increasing its phosphorylation. To better characterize the role of this receptor subtype in neuron-OL interplay and in myelination process, we tested the effects of different A2BR ligands in a dorsal root ganglion (DRG) neuron/OPC co-cultures, a corroborated *in vitro* myelination assay. The selective A2BR agonist, BAY606583, significantly reduced myelin basic protein (MBP) levels but simultaneously increased myelination index in DRG/OPC co-cultures, analysed by confocal microscopy. The last effect was prevented by the selective A2BR antagonists, PSB603 and MRS1706. To clarify this unexpected data, we wondered whether A2BRs could play a functional role on DRG neurons. We firstly demonstrated,

by immunocytochemistry, that primary DRG monoculture expressed A2BRs. Their selective activation by BAY606583 enhanced DRG neuronal excitability, as demonstrated by increased action potential firing, decreased rheobase and depolarized resting membrane potential. All these effects were prevented by PSB603. Throughout this A2BR-dependent enhancement of neuronal activity, DRG neurons could release factors to facilitate myelination processes. Finally, in the cuprizone mouse model, we found that the selective stimulation of A2BRs did not modulate remyelination whereas selective stimulation of A2AR increases the latency time of MBP level recovery, compared to vehicle conditions, which is indicative of reduced remyelination. *In vivo* experiments were delayed mainly due to the pandemic. Given the promising results, they are still ongoing.

CONCLUSIONS

We conclude that A2BRs inhibit K⁺ currents and cell differentiation and modulate S1P synthesis in cultured OPCs. Our data further suggest a different role of A2BR during oligodendrogenesis and myelination, depending on their activation on neurons or oligodendroglial cells. Our results shed new light on the interaction between A2BRs and S1P signaling, as putative and innovative targets for the treatment of demyelinating disorders.



PUBBLICAZIONI E COMUNICAZIONI A CONGRESSI PUBLICATIONS AND CONGRESS PRESENTATIONS

Pubblicazioni/Publications

- Venturini M, Cherchi F, Santalmasi C, Frulloni L, Dettori I, Catarzi D, Pedata F, Colotta V, Varano F, Coppi E, Pugliese AM. Pharmacological Characterization of P626, a Novel Dual Adenosine A2A/A2B Receptor Antagonist, on Synaptic Plasticity and during an Ischemic-like Insult in CA1 Rat Hippocampus. *Biomolecules*. 2023 May 27;13(6):894. doi: 10.3390/biom13060894
- Cherchi F, Venturini M, Magni G, Scortichini M, Jacobson KA, Pugliese AM, Coppi E. Covalently Binding Adenosine A3 Receptor Agonist ICBM Irreversibly Reduces Voltage-Gated Ca²⁺ Currents in Dorsal Root Ganglion Neurons. *Purinergic Signal*. 2023 Mar 15. doi: 10.1007/s11302-023-09929-y
- Coppi E, Cherchi F, Venturini M, Lucarini E, Corradetti R, Di Cesare Mannelli L, Ghelardini C, Pedata F, Pugliese AM. Therapeutic Potential of Highly Selective A3 Adenosine Receptor Ligands in the Central and Peripheral Nervous System. *Molecules*. 2022 Mar 15;27(6):1890. doi: 10.3390/molecules27061890
- Coppi E, Cherchi F, Lucarini E, Ghelardini C, Pedata F, Jacobson KA, Di Cesare Mannelli L, Pugliese AM, Salvemini D. Uncovering the mechanisms of adenosine receptor-mediated pain control: focus on the A3 receptor subtype. *Int J Mol Sci*. 2021 Jul 26;22(15):7952. doi: 10.3390/ijms22157952
- Cherchi F, Bulli I, Venturini M, Pugliese AM and Coppi E. Ion channels as new attractive targets to improve re-myelination processes in the brain. *Int J Mol Sci* 2021 Jul 6;22(14):7277. doi: 10.3390/ijms22147277
- Coppi E, Cencetti F, Cherchi F, Venturini M, Donati C, Bruni P, Pedata F and Pugliese AM. A2B adenosine receptors and sphingosine 1-phosphate signalling cross-talk in oligodendroglial cells. *Front Neurosci*. 2021 May 26;15:677988. doi: 10.3389/fnins.2021.677988. eCollection 2021
- Coppi E, Dettori I, Cherchi F, Bulli I, Venturini M, Pedata F, Pugliese AM. New insight into the role of adenosine in demyelination, stroke and neuropathic pain. *Front Pharmacol* 2021 Jan 29;11:625662. doi: 10.3389/fphar.2020.625662
- Coppi E, Buonvicino D, Ranieri G, Cherchi F, Venturini M, Pugliese AM and Chiarugi A. Dexamipexole enhances K⁺ currents and inhibits cell excitability in the rat hippocampus *in vitro*. *Mol Neurobiol* 2021 Jun;58(6):2955-2962; doi: 10.1007/s12035-021-02300-5
- Cherchi F, Pugliese AM, Coppi E. Oligodendrocyte precursor cell maturation: role of adenosine receptors. *Neural Regeneration Res* 2021



Sep;16(9):1686-1692; doi: 10.4103/1673-5374.306058

- Coppi E, Dettori I, Cherchi F, Bulli I, Venturini M, Lana D, Giovannini MG, Pedata F, Pugliese AM. A2B adenosine receptors: when outsiders may become an attractive target to treat brain ischemia or demyelination. *Int J Mol Sci* 2020 Dec 18;21(24):9697; doi: 10.3390/ijms21249697
- Coppi E, Cherchi F, Fusco I, Dettori I, Gaviano L, Magni G, Catarzi D, Colotta V, Varano F, Rossi F, Bernacchioni C, Donati C, Bruni P, Pedata F, Cencetti F, Pugliese AM. Adenosine A2B receptors

inhibit K⁺ currents and cell differentiation in cultured oligodendrocyte precursor cells and modulate sphingosine-1-phosphate signaling pathway. *Biochem Pharmacol.* 2020 Jul;177:113956. doi: 10.1016/j.bcp.2020.113956

Manuscript under revision

- Cherchi F, Venturini M, Magni G, Frulloni L, Santalmasi C, Pedata F, Coppi E, Pugliese AM. "Adenosine A2B receptors differently modulate oligodendroglialogenesis and myelination depending on their cellular localization GLIA (under revision)

Progetto di ricerca finanziato con il Bando FISM 2019 per il periodo 2 anni (prorogato di 8 mesi) e l'ammontare di 110.000 €

Research project funded by FISM Grant 2019 for the period of 2 years (extended by 8 months) and the amount of € 110,000

PROGETTI SPECIALI

SPECIAL PROJECTS



Introduzione / Introduction

AISM, attraverso la sua Fondazione, sostiene, con le proprie risorse, anche la ricerca dedicata a progetti speciali, che coprono specifiche aree d'interesse e riguardano ricerche di ampio respiro, pluriennali che prevedono la compartecipazione e la collaborazione di diversi centri di eccellenza nazionali e/o internazionali. La distribuzione delle tematiche affrontate da tali progetti evidenzia l'impegno a finanziare e promuovere la ricerca e le infrastrutture per rispondere all'Agenda della Sclerosi Multipla e patologie correlate 2025.

Di seguito riportiamo un approfondimento sui principali progetti speciali di ricerca in corso suddivisi in ambiti di studio.

Through its Foundation, AISM also supports, with its own resources, research dedicated to special projects, which cover specific areas of interest and concern multi-year research involving the participation and collaboration of various national and international centers of excellence. The distribution of the research area addressed by these projects highlights the commitment to finance and promote research and infrastructure to respond to the Multiple Sclerosis and other related disorders Agenda 2025. The following is an in-depth analysis of the main special research projects in progress divided into research areas of study.

Advocacy

Advocacy

Il PDTA come strumento di umanizzazione e personalizzazione dei percorsi di cura e assistenziali presso la Rete della SM



Tommaso Manacorda, Paolo Bandiera

Affari Generali e relazioni istituzionali, Associazione Italiana Sclerosi Multipla, AISM, Genova, Italia

COLLABORATORI/COLLABORATORS

Piero Lamendola, Federica Terzuoli, Francesco Borzacchini, Giorgia Franzone, Grazia Rocca, Michela Ponzio, Paola Zaratini, Giampaolo Brichetto, Gianluca Pedicini

COLLABORAZIONI CON ALTRI GRUPPI / COLLABORATIONS WITH OTHER GROUPS

Matilde Inglese, IRCSS S. Martino, Genova, Italia
Daiana Bezzini, Università di Siena, Siena, Italia

PREMESSE E OBIETTIVI

I Percorsi Diagnostico Terapeutici Assistenziali (PDTA) sono uno strumento di management sanitario, in grado di tradurre le linee guida in processi e protocolli di gestione clinica e assistenziale, ma anche di soddisfare i bisogni individuali di ciascun paziente promuovendo la personalizzazione delle cure, massimizzando l'utilità delle risorse impegnate.

Anche in conseguenza della programmazione Ministeriale, che ne ha progressivamente enfatizzato il ruolo, negli ultimi anni 14 regioni e numerose aziende sanitarie hanno approvato PDTA per la sclerosi multipla (SM). L'Associazione Italiana Sclerosi Multipla (AISM) ha collaborato alla stesura di molti di questi PDTA, seppure con intensità e modalità diverse a seconda dei territori, sia in funzione del diverso livello di sviluppo delle proprie sezioni che, soprattutto, della capacità del sistema dei servizi. Spesso nei territori in cui AISM ha partecipato alla definizione dei percorsi sono nate buone pratiche e si sono sviluppate reti che seguono le persone con SM lungo tutto il percorso di cura.

Valorizzare e diffondere queste buone pratiche anche nel resto del Paese è uno degli obiettivi del progetto "Il PDTA come strumento di umanizzazione e personalizzazione dei percorsi di cura e assistenziali presso la Rete della SM" (per brevità "Progetto Umanizzazione"), avviato come progetto triennale nel 2020, e consolidatosi nel tempo come ricerca speciale di FISM.

Il progetto si articola su tre componenti:

1. La misurazione dei bisogni delle persone con SM e dell'efficacia dei servizi disponibili, dunque la raccolta

di dati che consentano di misurare le priorità assistenziali di persone e famiglie con SM e di valutare esistenza e la consistenza delle reti di presa in carico su ciascun territorio analizzando i PDTA dove esistenti e individuando le buone pratiche emergenti;

2. La repertorializzazione e disseminazione delle buone pratiche, mirata a offrire a quanti più contesti locali possibili protocolli e soluzioni organizzative che si siano dimostrate efficaci altrove, massimizzando la capacità di AISM di fungere da acceleratore dell'innovazione e supportandone l'adattamento;
3. Il supporto alla formalizzazione dei PDTA, dunque all'apertura di tavoli territoriali per i PDTA nei quali far confluire buone pratiche già esistenti sui territori insieme alle eccellenze identificate grazie al progetto dalla rete nazionale di AISM. Le attività di ingaggio degli stakeholder e di accompagnamento al processo politico locale sono essenziali in questa componente per assicurare che i modelli individuati dal progetto informino i sistemi di presa in carico locali.

L'obiettivo a lungo termine del Progetto Umanizzazione consiste nell'assicurare che il processo politico e programmatico che genera, implementa e valuta i PDTA coinvolga attivamente persone con SM, caregiver e professionisti, assicurando una integrazione delle cure sostenibile e centrata sulle persone.

RISULTATI

Grazie al progetto sono stati individuati, repertorializzati e messi a disposizione di decisori e programmatori territoriali e regionali numerosi modelli e protocolli innovativi.

Tra questi emergono come particolarmente qualificanti del percorso quelli relativi alla presa in carico riabilitativa, al case-management transmurale, a fertilità e gravidanza, alla comunicazione della diagnosi, al supporto psicologico, ad informazione ed empowerment delle persone con SM e delle loro famiglie.

Nel corso dell'ultimo anno di progetto tre soluzioni organizzative per l'implementazione del PDTA si sono diffuse in contesti diversi: l'allocazione di slot nell'agenda degli altri specialisti coinvolti nella presa in carico delle persone con SM, in previsione del loro bisogno di approfondimenti e follow-up, la diffusione del PDTA tra il personale delle aziende coinvolte tramite corsi ECM inclusi nei Piani Formativi delle Aziende e l'istituzione di un tavolo di valutazione partecipato che, attraverso l'adozione di PROMs e PREMs, valuta i processi ed esiti del PDTA secondo le metodologie del miglioramento continuo della qualità.

Dal 2020 sono confluiti nel progetto 16 contesti in cui sono in discussione PDTA aziendali e interaziendali per la SM, per un totale di 22 aziende e 25 Centri clinici SM coinvolti. In 7 di questi contesti i PDTA sono stati già deliberati, in 2 casi si sta procedendo ad una revisione del percorso già definito. Nei restanti 9 contesti si sta procedendo alla costruzione del tavolo o alla definizione del PDTA per la prima volta.

Tutti questi percorsi incorporano materiali e indicazioni prodotti da AISM. Nella larga maggioranza dei casi le

Sezioni di AISM hanno partecipato attivamente alla progettazione e stesura dei PDTA, in alcuni casi di eccellenza AISM partecipa alla governance del percorso, inclusa la sua valutazione.

I modelli basati sulle buone pratiche identificate nel progetto sono confluiti anche in 5 PDTA tavoli regionali. In Piemonte e in Campania i materiali del progetto hanno fornito un supporto decisivo all'avanzamento dei lavori, che in Campania hanno portato nel 2024 alla approvazione del PDTA per la SM per la prima volta. In Calabria, Sardegna e in Sicilia i materiali del progetto supportano la revisione dei PDTA regionali già approvati.

CONCLUSIONI

Il Progetto Umanizzazione è diventato un elemento portante della collaborazione tra AISM e il sistema delle cure a livello territoriale, regionale e nazionale. Le manifestazioni di interesse raccolte da AISM per il progetto e la relativa rapidità con cui si sono diffuse alcune soluzioni organizzative suggeriscono che AISM possa accelerare la diffusione dell'innovazione e facilitarne l'adozione nella programmazione delle cure per la SM. Il Progetto Umanizzazione combina la capacità di AISM di ingaggiare gli stakeholder, legata alla propria attività continua e capillare sul territorio, con quella di identificare soluzioni replicabili grazie alle attività di ricerca sociale e sanitaria del livello centrale dell'Associazione.

The Integrated Care Pathway as a tool for humanization and personalization of care and assistance paths within the MS Network

INTRODUCTION AND AIMS

The Integrated Care Pathways (ICPs) are a healthcare management tool, capable of translating the guidelines into clinical and healthcare management processes and protocols, but also of satisfying the individual needs of each patient by promoting the personalization of care, maximizing the usefulness of the resources used.

Also as a result of ministerial planning, which has progressively emphasized its role, in recent years 14 regions and numerous local health authorities have approved ICPs for multiple sclerosis (MS). The Italian Multiple Sclerosis Society (AISM) has collaborated in the drafting of many of these ICPs, albeit with different intensity and modalities depending on the territories, both as a function of the different levels of development of its Chapter and, above all, of the capacity of the supply system. Often in the territories in which AISM has participated in the definition of the care pathway, good practices have arisen and networks have developed that follow people with MS throughout

the treatment process.

Valuing and disseminating these good practices also in the rest of the country is one of the objectives of the project "The Integrated Care Pathway as a tool for humanization and personalization of care and assistance paths within the MS Network" (for brevity "Humanization Project"), started as a three-year project in 2020, and consolidated over time as a special FISM research.

The project is divided into three components:

1. The measurement of the needs of people with MS and the effectiveness of available services, therefore the collection of data that allows AISM to measure the care priorities of people and families with MS and to evaluate the existence and consistency of the care networks on each territory by analyzing the ICPs where they exist and identifying emerging good practices;
2. The assembling of a repertoire and dissemination of good practices, aimed at offering to as many local contexts as possible organizational protocols and solu-

tions that have proven effective elsewhere, maximizing AISM's ability to act as an accelerator of innovation and supporting its adaptation;

3. Support for the formalization of ICPs, therefore for the opening of territorial tables for ICPs to bring together good practices already existing elsewhere together with the excellence identified thanks to the project by the national AISM network. Stakeholder engagement and accompaniment activities in the local political process are essential in this component to ensure that the models identified by the project inform local management systems.

The long-term goal of the Humanization Project is to ensure that the policy and planning process that generates, implements, and evaluates ICPs actively involves people with MS, caregivers, and professionals, ensuring sustainable and people-centered integration of care.

RESULTS

Thanks to the project, numerous innovative models and protocols have been identified, cataloged, and made available to territorial and regional decision-makers and planners. Among these, those relating to rehabilitation care, transmurals case management, fertility and pregnancy, communication of the diagnosis, psychological support, information, and empowerment of people with MS and their families emerge as particularly qualifying of the path. During the last year of the project, three organizational solutions for the implementation of the ICP have spread in different contexts: the allocation of slots in the agenda of the other specialists involved in taking care of people with MS, in anticipation of their needs of specialist follow-up, the dissemination of the ICP among the staff of the providers involved through CME courses included in the healthcare organizations training plans and the establishment of a participatory evaluation table which, through the adoption of PROMs and PREMs, evaluates the processes and

outcomes of the ICP according to continuous quality improvement methodologies.

Since 2020, 16 contexts in single-authority or multi-authority ICPs for MS are being discussed have joined the project, for a total of 22 local health authorities and 25 MS clinical centers involved. In 7 of these contexts, the ICPs have already been approved, in 2 cases a review of the existing ICP is underway. In the remaining 9 contexts we are proceeding with the construction of the table or the definition of the ICP for the first time.

All these routes incorporate materials and guidance produced by AISM. In the large majority of cases, the AISM Chapter actively participated in the design and drafting of the ICPs, in some cases of excellence AISM participates in the governance of the path, including its evaluation.

The models based on the good practices identified in the project were also included in 5 regional ICP discussion tables. In Piemonte and Campania, the project materials provided decisive support to the progress of the work, which in Campania led to the approval of the ICP for MS for the first time in 2024. In Calabria, Sardinia, and Sicily the project materials support the revision of the already approved regional ICPs.

CONCLUSIONS

The Humanization Project has become a cornerstone of the collaboration between AISM and the healthcare system at a territorial, regional, and national level. The expressions of interest collected by AISM for the project and the relative speed with which some organizational solutions have spread suggest that AISM can accelerate the diffusion of innovation and facilitate its adoption in MS treatment planning. The Humanization Project combines AISM's ability to engage stakeholders, linked to its continuous and widespread activity in the territory, with that of identifying replicable solutions thanks to the social and health research activities of the central level of the Society.



PUBBLICAZIONI E COMUNICAZIONI A CONGRESSI PUBLICATIONS AND CONGRESS PRESENTATIONS

- Manacorda, T., Ponzio, M., Terzuoli, F., Lamendola, P., Bezzini, D., & Battaglia, M. A. (2023). Transforming multiple sclerosis care in Italy through Integrated Care Pathways and local networks of service providers. A survey on clinical centers. *Population Medicine*, 5 (Supplement)
- Manacorda T, Ponzio M, Terzuoli F, Lamendola P, Bezzini D., Battaglia M A Transforming multiple sclerosis care in Italy through Integrated Care Pathways and local networks of service providers. A survey on clinical centres. *Population Medicine*, 5, 2023(Supplement)

Descrizione dell'aderenza alle principali campagne di medicina preventiva nelle persone con sclerosi multipla



Daiana Bezzini

Dipartimento di Scienze della Vita, Università di Siena, Siena, Italia

COLLABORATORI/COLLABORATORS

Monica Ulivelli

COLLABORAZIONI CON ALTRI GRUPPI / COLLABORATIONS WITH OTHER GROUPS

Centri/Centres

Stefano De Biase, *Aulss3- Ospedale dell'Angelo, Mestre, Italia*

Monica Ulivelli, *Università degli Studi di Siena, Italia*

Marco Salvetti, *Sapienza Università di Roma, Roma, Italia*

Antonella Conte, *Sapienza Università di Roma, Roma, Italia*

Girolama Alessandra Marfia, *Policlinico Tor Vergata Roma, Italia*

Eugenio Pucci, *Ospedale Augusto Murri, Fermo, Italia*

Franca Deriu, *Università degli Studi di Sassari, Sassari, Italia*

Eleonora Cocco, *Università degli Studi di Cagliari, Cagliari, Italia*

Giampaolo Brichetto, *Unità di riabilitazione, FISM, Genova, Italia*

Sezioni Regionali AISM

PREMESSE E OBIETTIVI

Le persone con sclerosi multipla (SM) potrebbero essere più suscettibili alle infezioni, al cancro e a patologie croniche rispetto alla popolazione generale non per la presenza della patologia in sé, ma in relazione all'utilizzo di alcune specifiche terapie o al grado di disabilità. In base alle conoscenze al momento disponibili, l'uso di molti farmaci modificanti la malattia (DMD) richiede un'attenzione particolare sulla possibilità di eventi infettivi o insorgenza di tumori o malattie croniche. In questa prospettiva, tra i bisogni clinici ancora insoddisfatti nelle persone con SM, si pone l'acquisizione di un quadro completo sullo stato di immunizzazione contro le principali malattie infettive e sul rischio di cancro e patologie croniche. Nonostante la rilevanza della medicina preventiva nel processo decisionale clinico, non ci sono studi in letteratura sull'aderenza di questi pazienti alle campagne di screening e vaccinazione in Italia. Lo scopo dello studio sarà quello di descrivere l'adesione alla medicina preventiva da parte delle persone con SM, indagando possibili differenze tra persone con e senza SM nell'accesso a vaccinazioni e screening. Inoltre, cercheremo di identificare, in entrambi i gruppi, le potenziali variabili correlate all'aderenza alla medicina preventi-

va, compresa l'influenza della pandemia Covid-19. Questo progetto di 1 anno è concepito come uno studio multicentrico, osservazionale e retrospettivo, diviso in due parti. La prima è concepita come uno studio trasversale che arruolerà circa 1.250 pazienti dai database di Centri clinici, Unità di Riabilitazione e sedi locali dell'Associazione Italiana Sclerosi Multipla del Nord, Centro e Sud Italia. Saranno arruolati pazienti di età superiore ai 25 anni con diagnosi confermata di SM. I dati saranno raccolti attraverso un questionario somministrato per telefono, previo consenso informato scritto. La seconda parte è concepita come uno studio caso-controllo, all'interno dello studio trasversale, che arruolerà un sottogruppo di 300 persone con SM (gruppo casi) e 300 senza SM, appaiate per sesso, età e area di residenza (gruppo controllo) per analizzare l'impatto della malattia e/o disabilità sull'accesso/aderenza alla medicina preventiva. La conoscenza dello stato di immunizzazione e del rischio di cancro e patologie croniche è fondamentale per la pratica clinica nella gestione dei nuovi DMD ma anche per la salute pubblica nel determinare l'eventuale necessità di percorsi di cura integrati mirati alle persone con SM.

RISULTATI

Al momento il progetto è nella fase di arruolamento pazienti e raccolta dati tramite interviste telefoniche. Vista la difficoltà nel reperire controlli senza SM, stiamo arruolando nuovi Centri clinici SM e nuove Sezioni AISM.

Finora i casi arruolati sono 346, di cui il 73% sono donne, con un'età mediana pari a 49 anni (range 27-77) e uno stato di salute generale medio pari a 7 (range 0-10). Riguardo la sclerosi multipla, il campione presenta una disabilità lieve ed il 55% ha una forma recidivante remittente. Considerando lo stile di vita, il 58% dei casi arruolati non ha mai fumato e il 52% non beve sostanze alcoliche, mentre solo il 49% dichiara di fare un'attività fisica sufficiente o più che sufficiente e il 30% è sovrappeso/obeso. Considerando gli screening oncologici programmati, nei soggetti con età superiore i 50 anni, meno del 50% dichiara di eseguire lo screening coloretale, mentre la percentuale di donne che esegue la mammografia raggiunge l'88%. Fra le donne con età fra 25 e 64 anni, invece, il 94% di queste effettua il

PAP test. Analizzando le vaccinazioni, solo il 24% dei casi arruolati dichiara di effettuare la dose di richiamo antitetanica, mentre fra i soggetti con età superiore ai 65 anni, il 55% dichiara di effettuare la vaccinazione antinfluenzale e solo il 21% quella anti-pneumococcica.

CONCLUSIONI

La scarsa presenza di casi con disabilità grave non ci permette di valutare l'adesione alla medicina preventiva nei soggetti più fragili, per questo motivo nei prossimi mesi sarà necessario incrementare l'arruolamento di casi con forme progressive e disabilità più grave. Inoltre, il basso numero di controlli finora arruolati, non ci permette ancora di confrontare i dati dei casi con i rispettivi controlli. I dati ottenuti finora sono abbastanza in linea con i dati in letteratura per la popolazione italiana, mostrando ancora una bassa aderenza allo screening per il tumore del colon retto e alle vaccinazioni raccomandate in età adulta/anziana.

Description of adherence to the main preventive health campaigns of persons with multiple sclerosis

INTRODUCTION AND AIMS

Persons with multiple sclerosis (PwMS) might be more susceptible to infections and cancers and chronic diseases than general population, not because of the presence of the disease itself, but to some specific therapies used or the degree of disability. Based on the currently available knowledge, the use of many disease-modifying drugs (DMDs) requires special attention to the possibility of infectious events or the onset of cancer. In this perspective, a still unmet clinical need in PwMS is the acquisition of a complete picture of the immunization status against the main infectious diseases and the risk of cancer and other chronic diseases. Adherence to preventive pathways can reduce screening time for access to specific treatments, increase safety within complex therapies, and reduce the risk of comorbidities. Despite of the relevance of preventive medicine in clinical decision-making, there are no studies in the literature on the adherence of these patients to screening and vaccination campaigns in Italy. The purpose of the study will be to describe the adherence to preventive medicine by PwMS, investigating possible differences between PwMS and people without MS (PwoMS) in access to vaccinations and screenings. In addition, we will try to identify, in both groups, the potential variables correlated to preventive medicine adherence, including the influence of the Covid-19 pandemic. This 1-year project is conceived as a multicentre, observational, and retrospective study, divided in two parts. The first one is conceived as a cross-sectional study that will enrol approximately

1,250 patients from databases of Clinical Centers, Rehabilitation Units, and local branches of the Italian MS Society in Northern, Central, and Southern Italy. Patients over 25 years of age with a confirmed diagnosis of MS will be enrolled. Data will be collected through a questionnaire administered by telephone, upon written informed consent. The second part is designed as a case-control study, that will enrol a subgroup of 300 PwMS (case group) and 300 PwoMS, matched by gender, age, and residence area (control group) to analyse the impact of disease and/or disability to access/adherence to preventive medicine. Knowledge of immunization status and chronic disease risk is critical for clinical practice in the management of new DMDs but also for public health in determining the possible need for integrated care pathways targeted to PwMS.

RESULTS

Actually, we are enrolling cases and controls from several MS clinical centers and local branches of AISM. Due to the difficulty of finding controls, we are involved in the study of other MS clinical centers, and we are promoting the project among local branches of AISM to increase the number of participants.

At the moment, we have analysed 346 cases of which 73% were females, with a median age of 49 years (range 27-77) and a median general health status of 7 (range 0-10). Concerning MS, 55% with a relapsing-retting form and mostly with a mild disability. Regarding lifestyle, 58% of enrolled

cases never smoked and 52% did not drink alcohol, whereas only 49% of subjects reported doing enough or more than enough physical activity and 30% is overweight or obese. Considering programmed cancer screening, in subjects aged more than 50 years, less than 50% declared to do colorectal screening, whereas the percentage of women reporting to do mammography reached 88%. Among women aged less than 64 years, 94% declared to do PAP test. Regarding vaccinations, only 24% declared to do booster dose against tetanus and, among subjects aged more than 65 years, 55% of them did flu vaccines and only 21% did vaccine against pneumococcus.

CONCLUSIONS

The scarce presence of cases with severe disabilities does not allow us to evaluate the adherence to preventive medicine in the most fragile subjects, so in the coming months, it will be necessary to increase the enrolment of cases with certain characteristics. Furthermore, the low number of controls enrolled so far does not yet allow us to compare cases with their respective controls. The data obtained so far are quite in line with literature for the Italian population, showing a low adherence to colorectal cancer screening and the recommended vaccinations in adults/elderly age.



Progetto speciale di ricerca FISM finanziato nel 2021 e l'ammontare di 45.000 €
FISM Research special project funded in 2021 and the amount of € 45,000

Medicina personalizzata

Personalized
Medicine

ENACT. Impiegare soluzioni neuroergonomiche per attenuare il tremore cerebellare

www.enactproject.eu



Giacinto Barresi

Rehab Technologies Lab, Istituto Italiano di Tecnologia (IIT), Genova, Italia

COLLABORATORI / COLLABORATORS

Giampaolo Brichetto, Jessica Podda, Erica Grange, Andrea Tacchino, Ludovico Pedullà, *Associazione e Fondazione Italiana Sclerosi Multipla, Genova, Genova, Italia*
Lorenzo De Michieli, Marco Crepaldi, Jacopo Zenzeri, Alessio Del Bue, Nicolò Boccardo, Claudio Lorini, Andrea Lucaroni, Chiara Galletti, Anna Bucchieri, Yelena Tonoyan, Giulia Aurora Albanese, Chiara Storchi, Mirco Di Salvo, Andrea Ferrari, Laura Salatino *Istituto Italiano di Tecnologia (IIT), Genova, Italia*

COLLABORAZIONI CON ALTRI GRUPPI / COLLABORATIONS WITH OTHER GROUPS

Fabrizio Lamberti, Andrea Bottino, *Politecnico di Torino, Italia*
Manish Chahuan, *University of York, Regno Unito*
Michael Holmes, *Brock University, St. Catharines, ON, Canada*
Massimiliano de Zambotti, *SRI International, Menlo Park, California, USA*
Vineet Vashista, *Indian Institute of Technology, Gandhinagar, India*
Claudio Pacchierotti, *CNRS, IRISA, Université de Rennes, INRIA, Rennes, Francia*
Satoshi Muraki, *Faculty of Design, Kyushu University, Fukuoka, Giappone*
Marta Bertolaso, *Unità di Ricerca di Filosofia della Scienza e dello Sviluppo Umano, Campus Bio-Medico di Roma, Roma, Italia*
Ana Lucia Faria, *Università di Madeira, Madeira, Portogallo*

PREMESSE E OBIETTIVI

Il progetto ENACT (impiegare soluzioni neuroergonomiche per attenuare il tremore cerebellare) mira a studiare il tremore cerebellare negli arti superiori in persone con sclerosi multipla (SM) al fine di realizzare soluzioni indossabili per mitigarlo durante le attività quotidiane e la riabilitazione. Contestualmente, il progetto mira ad utilizzare ambienti interattivi di realtà virtuale e mista sia per investigare il tremore cerebellare, sia per realizzare exergame motorio-cognitivi atti a promuovere l'attività riabilitativa a livello degli arti superiori, coinvolgendo le persone con SM durante l'esecuzione dei compiti previsti a livello clinico. I dati a livello motorio e fisiologico saranno inoltre esplorati anche a scopo diagnostico e prognostico. Per raggiungere tali risultati, ENACT adotta l'approccio della neuroergonomia: l'indagine neuroscientifica delle interazioni uomo-macchina per progettare tecnologie centrate sull'utente.

RISULTATI

Il progetto è iniziato nell'ottobre 2021. Dopo un primo anno focalizzato sullo sviluppo tecnologico per la raccolta di dati sperimentali, il team del progetto ENACT è passato all'utilizzo di exergame sviluppati in collaborazione con il Politecnico di Torino. Tali exergame, caratterizzati da paradigmi di doppio compito a livello motorio e cognitivo in realtà virtuale e mista, sono tesi all'indagine di soluzioni per indagare e mitigare il tremore cerebellare e per testare soluzioni atte a coinvolgere gli utenti durante l'attività riabilitativa. Sono stati sviluppati diversi giochi per piattaforme di realtà virtuale e mista dai costi contenuti, in modo da facilitarne diffusione ed impiego. L'attività di design e test, con soggetti con e senza SM, si è alternata a momenti di re-design, anche basati su focus group, per rendere le soluzioni quanto più vicine possibile ai bisogni clinici definiti dagli esperti di AISM insieme alle persone con SM coinvolte nello studio. Lo sviluppo del prototipo di sistema

indossabile per la mitigazione del tremore è andato avanti secondo i tempi previsti. Tutte le attività elencate si sono sviluppate in sinergia con RAISE, l'ecosistema per l'innovazione supportato dal PNRR in Liguria (in particolare a livello di Spoke 2, specificamente nella sua attività NRTWIN, della quale il PI di ENACT è co-coordinatore e tramite la quale proseguirà lo sviluppo e il test delle piattaforme interattive e computazionali del progetto ENACT). Le prime pubblicazioni sui risultati del progetto sono arrivate nel corso del 2023 grazie all'attivazione del protocollo clinico ENACT01. Inoltre, il PI ha dedicato parte delle sue attività alla divulgazione e all'impegno pubblico per promuovere il progetto in eventi nazionali ed internazionali (come la conferenza RIMS 2023 a Genova, la summer school ECTRIMS 2023 a Gdansk, la conferenza RehabWeek 2023 a Singapore), instaurando collaborazioni con esperti in ambito sia clinico che tecnologico a livello internazionale (anche ricevendo l'onore di insegnare all'Università del Kyushu come docente ospite, presentando metodologie e risultati di ENACT).

CONCLUSIONI

L'ambiente interattivo a basso costo e il sistema indossabile di ENACT per indagare e mitigare il tremore cerebellare negli arti superiori sono progettati (e saranno ulteriormente riprogettati in base a dati sperimentali) per essere utilizzati da persone con SM. Rispettivamente, l'ambiente interattivo è progettato per essere utilizzato durante la riabilitazione e il sistema indossabile durante le attività della vita quotidiana, consentendo (nella sua versione finale) a studenti e lavoratori di essere attivi senza utilizzare dispositivi ingombranti e poco confortevoli per attenuare il sintomo. Un prototipo avanzato verrà rilasciato e validato con dimostrazioni sul campo entro il 3° anno di progetto. Queste soluzioni dovrebbero anche raccogliere nuovi dati sul progresso della SM (in particolare per prevedere

l'eventuale transizione alla forma progressiva) e l'esito dei protocolli riabilitativi: ENACT mira a identificare nuovi marcatori della SM in termini di firma motoria e fisiologica del tremore cerebellare. Tali dati saranno analizzati da una piattaforma computazionale (correlandoli con questionari soggettivi e test clinici quantitativi, profili genetici e test di imaging) al fine di valutare le condizioni individuali e personalizzare gli interventi clinici. La rilevanza di ENACT per la ricerca dei meccanismi patogenetici della SM deriverà inizialmente dalle indagini sugli indici motori e fisiologici del tremore cerebellare in funzione dell'esplorazione di nuovi aspetti dei processi sensomotori alla base del sintomo. Particolare attenzione è rivolta alle metriche di coordinazione occhio-mano che contribuiranno, insieme ad altri indici motori e fisiologici, alle indagini neuroscientifiche in setting interattivi e alla calibrazione in tempo reale delle stimolazioni multimodali che sopprimono il tremore. L'indagine sui meccanismi patogenetici della SM è inoltre arricchita dall'integrazione di tecnologie non invasive (sensori motori e fisiologici, stimolatori multimodali) all'interno di sistemi indossabili e portatili: consentiranno di raccogliere dati nei contesti della vita quotidiana dei soggetti, facilitando la correlazione della progressione dei sintomi della SM con i marcatori. ENACT mira a facilitare le procedure riabilitative attraverso l'adozione delle tecnologie coinvolgenti della sua piattaforma interattiva, basata sulla realtà virtuale e mista per migliorare la compliance sperimentale e clinica dei pazienti. Pertanto, queste funzioni coadiuveranno gli interventi riabilitativi. I dati raccolti durante gli esercizi saranno utilizzati per esplorare eventuali strategie per mitigare il tremore cerebellare. In ogni caso, i modelli della piattaforma computazionale potrebbero consentire l'impiego di biomarcatori del tremore cerebellare per valutare l'esito di trattamenti invasivi e modularli nel tempo.

ENACT. Employing Neuroergonomic solutions to Attenuate the Cerebellar Tremor

www.enactproject.eu

INTRODUCTION AND AIMS

The ENACT (Employing Neuroergonomic Solutions to Attenuate the Cerebellar Tremor) project aims to investigate the cerebellar tremor in upper limbs in people with multiple sclerosis (MS) to devise wearable technologies for mitigating it during daily activities and rehabilitation. Simultaneously, the project aims to use interactive environments in virtual and mixed reality for investigating the cerebellar tremor and for implementing motor-cog-

nitive exergames designed to promote individual compliance to upper limb rehabilitation procedures, engaging people with MS during clinical tasks. Furthermore, the motor and physiological data collected during this project will be explored in terms of diagnostic and prognostic applications. To achieve such results, ENACT adopts the approach of neuroergonomics: the neuroscientific investigation of human-machine interactions to design user-centered technologies.

RESULTS

The project began in October 2021. After an initial year focused on technological development for the collection of experimental data, the ENACT project team switched to using exergames developed in collaboration with the Polytechnic of Turin. These exergames, characterized by dual-task paradigms at the motor and cognitive levels in virtual and mixed reality, are aimed at investigating solutions for examining and mitigating cerebellar tremor and for testing solutions to engage users during rehabilitative activities. Various games for cost-effective virtual and mixed-reality platforms have been developed to make them affordable and easy to use. The design and testing activities, with subjects with and without MS, alternated with moments of re-design, also based on focus groups, to make the solutions as close as possible to the clinical needs defined by the AISM experts together with the people with MS involved in the study. The development of the wearable system prototype for tremor mitigation continued as scheduled. All the activities listed developed in synergy with RAISE, the innovation ecosystem supported by the PNRR in Liguria (particularly at the level of Spoke 2, specifically in its NRTWIN activity, of which the ENACT PI is co-coordinator and through which the development and testing of the interactive and computational platforms of the ENACT project will continue). The first publications on the project's results arrived in the course of 2023 thanks to the activation of the ENACT01 clinical protocol. Furthermore, the PI has dedicated part of his activities to dissemination and public engagement to promote the project at national and international events (such as the RIMS conference 2023 in Genoa, the ECTRIMS Summer School 2023 in Gdansk, the RehabWeek conference 2023 in Singapore), establishing collaborations with experts in both clinical and technological fields internationally (also receiving the honor of teaching at Kyushu University as a guest lecturer, presenting methodologies and results of ENACT).

CONCLUSIONS

The low-cost interactive environment and wearable system of ENACT to investigate and to mitigate the cerebellar tremor in upper limbs are designed (and they will be further re-designed according to experimental data) to be used by people with MS. Respectively, the interactive environment is designed for being used during rehabili-

tation and the wearable system during activities of daily living, enabling (in its final version) students and workers to be active without using cumbersome and awkward devices to attenuate the symptom. An advanced prototype will be released and validated with field demonstrations by the 3rd year of the project. These solutions should also collect novel data on the MS progress (especially in order to predict the transition to the progressive form) and the outcome of rehabilitative protocols: ENACT aims to identify novel markers of MS within the motor and physiological signature of the cerebellar tremor. Such data will be analyzed by a computational platform (correlating them with subjective questionnaires and clinical quantitative tests, genetic profiles, and imaging tests) in order to assess the individual conditions and personalize the clinical interventions.

The relevance of ENACT for the research of MS pathogenic mechanisms will derive initially from the investigations on the motor and physiological indices of cerebellar tremor according to novel aspects of the sensorimotor processes underlying the symptom. Particular attention is paid to metrics of eye-hand coordination that will contribute, alongside with other motor and physiological indices, to the neuroscientific investigations in interactive settings and to the real-time calibration of the multimodal stimulations suppressing the tremor. Additionally, the investigation of the pathogenic mechanisms of MS is enriched by the integration of non-invasive technologies (motor and physiological sensors, multimodal stimulators) within wearable and portable systems: they will allow to collect data outside the laboratory or the clinical settings, along days and weeks in the contexts of daily living of the subjects, easing the correlation of MS symptoms progression with biological markers.

ENACT aims at facilitating the rehabilitative procedures through the adoption of the engaging technologies of the interactive platform, based on virtual and mixed reality for improving the experimental and clinical compliance of the patients. Thus, these functions will assist the rehabilitative interventions. As in the main goals of the project, the data collected during the exercises will be used to explore potential new strategies to mitigate of the cerebellar tremor. On the other hand, the models of the computational platform could allow to exploit the cerebellar tremor biomarkers to evaluate the outcome of invasive treatments and modulate them over time.



PUBBLICAZIONI E COMUNICAZIONI A CONGRESSI PUBLICATIONS AND CONGRESS PRESENTATIONS

- Ameri K, Battegazzorre E, Galletti C, Bottino A, Podda J, Tacchino A, Brichetto G, De Michieli L, and Barresi, G. (2023). *Effects of Social Conditions in a Virtual Exergame for Cognitive Rehabilitation in Multiple Sclerosis*. 2023 IEEE 13th International Conference on Consumer Electronics - Berlin (ICCE-Berlin), Berlin, Germany, 2023, pp. 117-122, doi: 10.1109/ICCE-Berlin58801.2023.10375657
- Galletti C, Parente C, Bottino A, Lamberti F, Laura S, de Zambotti M, Podda J, Tacchino A, Brichetto G, De Michieli L, and Barresi G. *A biofeedback-enhanced virtual exergame for upper limb repetitive motor tasks*. 2023 IEEE International Conference on Systems, Man, and Cybernetics (SMC), Honolulu, Oahu, HI, USA, 2023, pp. 1561-1566, doi: 10.1109/SMC53992.2023.10394416
- Parente C, Galletti C, Bottino A, Lamberti F, Podda J, Tacchino A, Brichetto G, De Michieli L, and Barresi G. *A biofeedback-enhanced virtual exergame for upper limb motor-cognitive rehabilitation*. 2023 IEEE 11th International Conference on Serious Games and Applications for Health (SeGAH), Athens, Greece, 2023, pp. 1-8, doi: 10.1109/SeGAH57547.2023.10253757
- Barresi G, Parente C, Macaluso A, Ameri K, Podda J, Salatino L, Tonoyan Y, Mariani G, Galletti C, Storchi C, Boccardo N, Tacchino A, Pedullà L, De Michieli L, Brichetto G, Bottino A, Lamberti F. *User-Centered Design and Evaluation of Motor Cognitive Exergames in Virtual and Mixed Reality for People with Multiple Sclerosis*. 28th RIMS Annual Conference, May 4-6 2023, Genoa, Italy
- Salatino L, Storchi C, Ferrari A, Boccardo N, Podda J, Pedullà L, Tacchino A, De Michieli L, Brichetto G, Barresi G. *ENACT-VR: A Virtual Reality Setting for Investigating Eye-Hand Coordination in Multiple Sclerosis*. 28th RIMS Annual Conference, May 4-6 2023, Genoa, Italy

Progetto speciale di ricerca FISM finanziato nel 2021 e l'ammontare di 228.000 €
FISM Research special project funded in 2021 and the amount of € 228,000

Allestimento italiano del programma “REsilience and Activity every DaY for MS”, degli outcomes, e valutazione pilota di efficacia mediante impiego di metodologia mista (READY- It-MS)



Ambra Mara Giovannetti

Unità di Neuroepidemiologia, Fondazione IRCCS Istituto Neurologico Carlo Besta, Milano, Italia
Unità di Neuroimmunologia e Malattie Neuromuscolari, Fondazione IRCCS Istituto Neurologico Carlo Besta, Milano, Italia
School of Psychology, Faculty of Health and Behavioural Sciences, University of Queensland, Brisbane QLD, Australia

COLLABORATORI/COLLABORATORS

Alessandra Solari, Andrea Giordano, *Unità di Neuroepidemiologia, Fondazione IRCCS Istituto Neurologico Carlo Besta, Milano, Italia*
Paolo Confalonieri, Rui Quintas, *Unità di Neuroimmunologia e Malattie Neuromuscolari, Fondazione IRCCS Istituto Neurologico Carlo Besta, Milano, Italia*
Milda Cerniauskaite, *Dipartimento Gestionale di Ricerca e Sviluppo Clinico, Fondazione IRCCS Istituto Neurologico Carlo Besta, Milano, Italia*
Kenneth Pakenham, *School of Psychology, Faculty of Health and Behavioural Sciences, University of Queensland, Brisbane QLD, Australia*

COLLABORAZIONI CON ALTRI GRUPPI / COLLABORATIONS WITH OTHER GROUPS

Irene Tramacere, *Dipartimento di Ricerca e Sviluppo Clinico, Fondazione IRCCS Istituto Neurologico Carlo Besta, Milano, Italia*
Michele Messmer Uccelli, *Associazione Italiana Sclerosi Multipla, Genova, Italia*

COLLABORATORI STUDIO MULTICENTRICO READY/ MULTI_READY FOR MS TRIAL STEERING COMMITTEE

Ambra Mara Giovannetti, Alessandra Solari, Kenneth Ian Pakenham, Giovambattista Presti, *Kore University Behavioral Lab, Faculty of Human and Social Sciences, Università degli Studi di Enna 'Kore', Enna, Italia*
Paola Kruger, *Patient Expert, EUPATI Fellow, European Patients Academy for Therapeutic Innovation, Roma, Italia*

Independent Data and Safety Monitoring Committee

Stefan Gold, *Institut für Neuroimmunologie und Multiple Sklerose (INIMS), Zentrum für Molekulare Neurobiologie Hamburg (ZMNH), Universitätsklinikum Hamburg Eppendorf, Hamburg, Germany; Charité Universitätsmedizin Berlin, Klinik für Psychiatrie und Psychotherapie, Campus Benjamin Franklin, Berlin, Germany; Charité Universitätsmedizin Berlin, Medizinische Klinik m.S. Psychosomatik, Campus Benjamin Franklin, Berlin, Germany*
Marta Bassi, *Department of Biomedical and Clinical Sciences L. Sacco, Università di Milano, Milano, Italia*
Maria Pia Sormani, *Biostatistics Unit, Department of Health Sciences, University degli Studi di Genova, Genova, Italia*



Data Management and Analysis Committee

Massimo Copetti, Unit of Biostatistics, Fondazione IRCCS Casa Sollievo della Sofferenza, San Giovanni Rotondo, Foggia, Italia

Andrea Giordano, Ambra Mara Giovannetti, Alessandra Solari

Clinical Psychology Expert Panel

Ambra Mara Giovannetti, Kenneth Ian Pakenham, Giovambattista Presti, Jana Pöttgen, Institut für Neuroimmunologie und Multiple Sklerose (INIMS), Zentrum für Molekulare Neurobiologie Hamburg (ZMNH), Universitätsklinikum Hamburg Eppendorf, Hamburg, Germany

Simone Napolitano, "Qui e Ora" - Centro per la promozione del benessere psicologico, Catanzaro, Italia

Centri partecipanti/ Participating centres

Paolo Confalonieri, Rui Quintas, Milda Černiauskaitė Fondazione IRCCS Istituto Neurologico Carlo Besta, Unità di Neuroimmunologia e Malattie Neuromuscolari, Centro Sclerosi Multipla, Milano, Italia

Carla Tortorella, Maria Esmeralda Quartuccio, Ilaria Rossi Ospedale San Camillo-Forlanini, Roma, Italia

Giampaolo Brichetto, Miranda Giuntoli, Annalisa Garaventa Centro di Riabilitazione AISM di Genova AISM, Genova, Italia

Lariana: Monica Grobberio, Samuela Turati Laboratorio di neuropsicologia, UOSD psicologia clinica e UOC neurologia, ASST, Como, Italia

Roberto Bergamaschi, Eleonora Tavazzi, Ambrogia Ornella Riolo, Marta Picascia Centro Sclerosi Multipla, Divisione di Neurologia Generale, IRCCS Fondazione Istituto Neurologico Nazionale C. Mondino di Pavia, Pavia, Italia

Mary Micheli, Serena De Bigontina Dipartimento Riabilitazione ASL Umbria2, Foligno, Italia

Massimiliano Di Filippo, Elena Di Sabatino, Giuliana Costantini, Eleonora Maltempi Centro Malattie Demyelinizzanti e Laboratori di Neurologia Sperimentale, Clinica Neurologica, Università degli Studi di Perugia, Perugia, Italia

PREMESSE E OBIETTIVI

Il processo di adattamento alla sclerosi multipla (MS) può essere impegnativo e la malattia può rappresentare un'importante fonte di stress. La resilienza è una risorsa interna che ci permette di alleviare gli effetti avversi dello stress e mantenere un buon livello di salute mentale mentre affrontiamo le avversità. Interventi in grado di rinforzare la resilienza in persone con SM sono quindi fondamentali.

Pakenham e colleghi, Università del Queensland, hanno creato un breve intervento di gruppo per promuovere la resilienza, The REsilience and Activities for every DaY (READY), e sviluppato una versione specifica per persone con SM (READY for MS). Il programma si basa sull'Acceptance and Commitment Therapy (ACT) e ha dato prova di essere efficace nel migliorare il funzionamento psicologico in persone con SM. Purtroppo, è raro che interventi psicologici scientificamente supportati siano adeguatamente disseminati e integrati nei servizi nel lungo termine. Un modo per contrastare questa tendenza è quello di formare al loro utilizzo gli operatori dislocati nei servizi territoriali, con la potenzialità non soltanto di arricchire le loro competenze professionali, ma anche di promuovere il loro benessere. Il progetto *READY-It-MS* valuta l'efficacia del pro-

gramma READY for MS in Italia (Studio 1 e 3, 4) e l'effetto del training sugli operatori (Studio 2).

RISULTATI

Lo Studio 1 è uno studio pilota randomizzato controllato che valuta la fattibilità e l'efficacia della versione Italiana del programma READY for MS, confrontandolo con un intervento di controllo attivo (rilassamento). Trentasette persone con SM sono state assegnate casualmente a uno dei due interventi (1:1 ratio). La maggior parte dei partecipanti (indipendentemente dal tipo di intervento a cui sono stati assegnati) hanno riportato miglioramenti significativi ($p < 0.01$) nella qualità di vita (QoL), nel tono dell'umore, nella resilienza e nella flessibilità psicologica. Il 65% ha avuto un miglioramento clinicamente rilevante nella QoL a tre mesi dalla fine del programma.

La maggior parte dei partecipanti ha mostrato un ottimo livello di coinvolgimento e aderenza al programma. Tutti i partecipanti hanno dichiarato che il programma READY for MS ha migliorato la loro resilienza, avuto un effetto positivo sulla loro vita, permesso loro di affrontare meglio la SM. Tutti i partecipanti raccomanderebbero il programma READY for MS a altre persone con SM, alcuni suggerisco-

no di estenderlo a altre condizioni di salute e ai familiari. A livello quantitativo però, il programma READY for MS non è risultato più efficace del rilassamento. Questo risultato è in contrasto con i dati qualitativi che dimostrano la sua superiorità rispetto al rilassamento per l'impatto sulla vita quotidiana, la quantità di strategie che fornisce e l'interesse che suscita. È possibile che i dati quantitativi non siano risultati significativi per via della bassa numerosità del campione.

Lo Studio 2 è uno studio longitudinale con un singolo intervento, che valuta l'*effectiveness* di un training per formare gli psicologi della rete AISM alla conduzione di gruppi READY for MS. Il training comprende tre fasi: 1) un workshop; 2) la partecipazione a un gruppo READY; 3) la conduzione di un gruppo READY con persone con SM. Le valutazioni sono state effettuate prima del training, prima della partecipazione al gruppo READY, immediatamente dopo e a 3 e 15 mesi dalla fine del gruppo READY rivolto agli psicologi. Quarantaquattro psicologi hanno partecipato e completato con successo le prime due fasi del training, 40 hanno condotto il gruppo con persone con SM. I partecipanti hanno riportato miglioramenti in tutte le misure di esito: resilienza, benessere, tono dell'umore e flessibilità psicologica ($p < 0.001$). I miglioramenti sono emersi subito dopo la partecipazione al gruppo READY a loro dedicato e si sono mantenuti a tre e a 15 mesi dalla fine del gruppo. La flessibilità psicologica media questi miglioramenti. Tutti i partecipanti hanno superato con successo l'esame sulle competenze e si sono detti estremamente soddisfatti dell'esperienza. Lo Studio 3 valuta l'*effectiveness* del programma READY for MS quando condotto nei normali servizi territoriali (Sezione AISM o Centro SM). Le persone con SM che hanno preso parte al gruppo hanno compilato un set di questionari al basale, subito dopo l'intervento e a tre mesi. Sono stati condotti 33 gruppi (237 partecipanti). I partecipanti hanno mostrato miglioramenti significativi nel livello di resilienza (outcome primario), ansia, depressione, stress, QoL e flessibilità psicologica. I miglioramenti sono avvenuti principalmente immediatamente al termine del gruppo READY e si sono mantenuti a 3 mesi, indipen-

dentemente da caratteristiche demografiche o di malattia. La flessibilità psicologica è risultata mediare i miglioramenti in tutte le variabili di outcome. I dati qualitativi hanno confermato la fattibilità dell'intervento e l'efficacia del programma.

I risultati dei tre precedenti studi sono stati discussi in due riunioni dedicate (gennaio 2020), le riflessioni emerse hanno contribuito alla definizione del protocollo dello studio multicentrico randomizzato controllato (Studio 4). Lo studio ha completato la fase di raccolta dati e sono attualmente in corso le analisi dei dati.

CONCLUSIONI

Il programma READY for MS è stato in grado di migliorare resilienza, ansia, depressione, stress e flessibilità psicologica nei partecipanti, indipendentemente da caratteristiche demografiche o di malattia dei partecipanti. Questo risultato è particolarmente prezioso perché evidenzia come il programma sia estremamente inclusivo e di facile implementazione. A riprova di questo i risultati dello studio 2 e 3 mostrano come il programma READY for MS sia facilmente implementabile nei servizi territoriali italiani dedicati alle persone con SM, indipendentemente dall'area geografica o dalla grandezza del centro/Sezione AISM. Inoltre, i risultati dello Studio 2 suggeriscono che il training rivolto agli psicologi abbia avuto un impatto positivo, sia a livello professionale che personale con un mantenimento dei benefici a lungo termine. Lo studio multicentrico in corso chiarirà definitivamente se, come indicato dai dati qualitativi dello studio pilota (studio 1) il programma READY for MS sia superiore a altri intervento standard come il training autogeno. In conclusione questo progetto ha permesso di testare l'efficacia e l'*"effectiveness"* del programma READY for MS, di formare decine di colleghi nella conduzione di questi gruppi e di offrire altrettanti gruppi READY for MS a persone con SM seguite nei centri SM o Sezioni AISM in Italia, rivelandosi un programma efficace e inclusivo. AISM ha anche firmato un accordo con l'Università del Queensland per continuare a offrire questi gruppi alle persone con SM afferenti alle proprie sezioni.

Italian set up of the program “REsilience and Activity every DaY for MS”, of outcomes, and pilot assessment of efficacy using a mixed methodology (READY-It-MS)

INTRODUCTION AND AIMS

Adjusting to multiple sclerosis (MS) can be highly demanding, and the disease can be a consistent source of stress. Resilience is an internal resource for alleviating the ad-

verse effects of stress and sustaining good mental health through adversity. Therefore, targeted interventions aimed at fostering resilience are crucial in helping people with MS deal with their illness-related stressors and im-

prove their quality of life (QoL).

Pakenham and colleagues - University of Queensland- developed a brief resilience group intervention called “The REsilience and Activities for every DaY” (READY) and they adapted it to people with MS (READY for MS). READY is an Acceptance and Commitment (ACT)-based group intervention able to improve resilience, QoL, depression, stress and psychological flexibility in people with MS.

Unfortunately, empirically supported psychological interventions are often not adequately disseminated and are seldom integrated into frontline services in the longer term. One way to optimize the uptake of such interventions is to train relevant health professionals in their delivery, with also personal benefits for the trainees (e.g. increased psychological flexibility).

The READY-It-MS project consists of four studies, which address two broad aims: 1. to evaluate READY for MS in Italy (Studies 1, 3 and 4); 2. To evaluate a READY for MS health practitioner training program (Study 2).

RESULTS

Study 1 was a pilot randomized controlled trial to assess Italian READY for MS efficacy when compared to an active control intervention (group relaxation). Thirty-seven people with MS participated and were randomly allocated to READY for MS or control intervention (1:1 ratio). The whole sample reported significant improvements in several psychological dimensions (QoL, mood, resilience, psychological flexibility, $p < 0.01$) three months after program completion, with 65% reaching a clinically significant improvement in the mental component of QoL (primary outcome).

READY was well accepted by MS patients with varied socio-demographic and clinical characteristics. All READY for MS participants stated that it increased their resilience and positively affected their life, and the majority declared it helped them in dealing better with MS. All participants said that they would recommend the READY for MS program to others with MS, and some suggested it should be offered to people with other medical conditions and carers. However, READY for MS did not result more efficacious than relaxation at a quantitative level but this was a pilot study, with only the power to detect large differences. Instead, qualitative data provided evidence in favour of READY for MS which was considered more engaging and superior to relaxation in terms of impact on daily life and variety of strategies provided.

Study 2 is a single-arm longitudinal study (with a nested qualitative study) that evaluates the effectiveness of a program for training psychologists in delivering READY for MS. The training encompassed three phases: 1) training workshop; 2) READY participation; 3) READY delivery to people with MS (PwMS). Self-report data were collected immediately before the workshop, before and after the participation in READY, and at three and 15-month follow-ups. Forty-four psychologists successfully completed Phases 1 and 2, 40 Phase 3. Both quantitative and qualitative results showed the training was effective in fostering

the acquisition of knowledge and skills for effective delivery of READY to PwMS. Growth curve modelling showed that participants improved over the course of training in resilience, positive affect, wellbeing, psychological flexibility and associated processes. These improvements peaked during the participation in READY phase and continued to accrue at a slower rate three months later. Psychological flexibility mediated the improvements in resilience, positive affect and wellbeing. Qualitative data confirmed the personal, professional and community level positive training impacts. Study 3 aims to evaluate the effectiveness of READY for MS delivered to PwMS via frontline Italian services. This is a single-arm longitudinal study (with a nested qualitative study). Data were collected immediately before the beginning of the program, after the booster session and at 3-months follow-up. Thirty-three READY groups (237 participants) were run. Participants improved in resilience (primary outcome), anxiety, depression, stress, health-related quality of life (HRQoL), and psychological flexibility and associated processes (acceptance, defusion, and values). Improvements in most outcomes occurred at post-intervention and were maintained at a 3-month follow-up. No demographic or illness variables predicted these improvements. Psychological flexibility mediated improvements in resilience, anxiety, depression, stress, and HRQoL. Qualitative data confirmed READY feasibility and the positive psychological impacts on participants. Results of the previous studies were discussed in two dedicated meetings (January 2020). The panel discussion informed the design of the multi-centre RCT (Study 4). The data collection is completed and we are currently performing the data analyses.

CONCLUSIONS

The Italian READY for MS is well accepted by MS patients with varied socio-demographic and clinical characteristics. It improves participants' resilience, mood and psychological flexibility. No demographic or illness variables predicted these improvements. This result is particularly important as it indicates that the program is highly accessible and easy to implement in different settings (MS or AISM centre, different geographical areas or centre size). Study 2 results suggested that the training was personally and professionally helpful for the MS psychologists (with long-term maintenance of the subjective gains) and the integration of program delivery within patients' association branches and MS Centres was effective.

The multicentre RCT will provide additional information on the possible superiority of READY for MS over relaxation observed during the pilot study (qualitative data).

In conclusion, we reached different goals: 1) to test the efficacy and effectiveness of the READY for MS; to train dozens of psychologists in successfully running a READY for MS group; 3) to offer hundreds of PwMS from all Italy to participate in a READY for MS group, with great results in terms of effectiveness and accessibility. Moreover, AISM signed a copyright agreement to ensure the ongoing delivery of READY for MS.



PUBBLICAZIONI E COMUNICAZIONI A CONGRESSI PUBLICATIONS AND CONGRESS PRESENTATIONS

Pubblicazioni/Publications

- Giovannetti AM, Quintas R, Tramacere I, Giordano A, Confalonieri P, Messmer Uccelli M, Solari A, Pakenham KI. A resilience group training program for people with multiple sclerosis: Results of a pilot single-blind randomized controlled trial and nested qualitative study. *PLoS One*. 2020 Apr 9;15(4):e0231380. doi: 10.1371/journal.pone.0231380. eCollection 2020
- Giovannetti AM, Solari A, Pakenham KI. Effectiveness of a group resilience intervention for people with multiple sclerosis delivered via frontline services. *Disabil Rehabil*. 2022 Nov;44(22):6582-6592. doi: 10.1080/09638288.2021.1960441
- Giovannetti AM, Messmer Uccelli M, Solari A, Pakenham KI. Evaluation of a program for training psychologists in an acceptance and commitment therapy resilience intervention for people with multiple sclerosis: a single-arm longitudinal design with a nested qualitative study. *Disabil Rehabil*. 2022 Nov;44(22):6926-6938. doi: 10.1080/09638288.2022.2025926
- Giovannetti AM, Pakenham KI, Presti G, Quartuccio ME, Confalonieri P, Bergamaschi R, Grobberio M, Di Filippo M, Micheli M, Brichetto G, Patti F, Copetti M, Kruger P, Solari A. A group resilience training program for people with multiple sclerosis: Study protocol of a multi-centre cluster-randomized controlled trial (multi-READY for MS). *PLoS One*. 2022 May 2;17(5):e0267245. doi: 10.1371/journal.pone.0267245. eCollection 2022
- Giovannetti AM, Rosato R, Galán I, Toscano A, Anglada E, Menendez R, Hoyer J, Confalonieri P, Giordano A, Pakenham KI, Pöttgen J, Solari A. Cross-cultural validity and reliability of the comprehensive assessment of acceptance and commitment therapy processes (CompACT) in people with multiple sclerosis. *Qual Life Res*. 2024 Feb 24. doi: 10.1007/s11136-024-03609-z. Online ahead of print. <https://doi.org/10.1007/s11136-024-03609-z>

Conference abstracts published in international peer reviewed journals

- Giovannetti AM, Quintas R, Giordano A, Messmer Uccelli M, Solari A, Pakenham K. (2018). READY for MS, a group intervention to promote resilience in people with multiple sclerosis: a single blind RCT with a nested qualitative study. *Multiple Sclerosis Journal*, 24(6), 853-853
- Giovannetti AM, Quintas R, Matarozzi K, Giordano A, Solari A, Pakenham K. (2018). Individualized quality of life in people with MS: advantages of using the SEIQOL-DW. *Multiple Sclerosis Journal*, 24(6), 848-848

Comunicazioni a Congressi/Congress presentations

- Giovannetti AM, Quintas R, Giordano A, Messmer Uccelli M, Solari A, Progetto READY per pazienti con sclerosi multipla (MS): protocollo e dati preliminari dello studio. Oral presentation at the "GIS ACT for HEALTH", Italian conference, Rome, March 25th, 2018
- Giovannetti AM, Solari A, Quintas R, Giordano A, Tramacere I, Messmer Uccelli M, Pakenham K. Pilot mixed method study protocol for evaluating the efficacy of the Italian version of a resilience training program (READY-It-MS). Poster presentation at the Annual Scientific Congress Italian MS Society and its Foundation Rome, May 28 - 30th 2018
- Giovannetti AM. The READY It MS project": uno studio multicentrico per promuovere il benessere di persone con sclerosi multipla. Oral presentation at the 9th Annual Conference of the "RETE PSICOLOGI AISM", Rome, Italy, October 18-19th 2018
- Giovannetti AM. The Italian READY for MS project: from a pilot to a multi-centre RCT. Improving resilience in people with MS. Oral presentation at The Multiple Sclerosis International Federation (MSIF) World Conference, Rome, Italy, October 24-26th 2018
- Giovannetti AM, The Italian READY for MS project: Improving resilience in people with MS. Oral presentation at the 2nd Annual Conference of the Italian Congress of third wave therapies, Milan, Italy, November 14-16th 2018
- Giovannetti AM, Quintas R, Tramacere I, Giordano A, Confalonieri P, Messmer Uccelli M, Solari A, Pakenham K. Single-blinded, mixed methods, randomized controlled trial on a resilience training for people with MS. Oral presentation at the ACBS World Conference 17 - Dublin, Ireland, June 25-30th 2019
- Giovannetti AM, Quintas R, Tramacere I, Giordano A, Confalonieri P, Messmer Uccelli M, Solari A, Pakenham K. Single-blinded, mixed methods, randomized controlled trial on a resilience training for people with MS. Oral presentation at the Annual Conference of RIMS 'Crossing the Interface to Explore New Possibilities', Ljubljana, Slovenia, June 20 - 22nd 2019
- Giovannetti AM. Promoting resilience in people with MS: towards a "values-driven" life. Oral presentation at the 6th Annual Conference of the "Interclinical Symposium on Multiple Sclerosis", Athens, Greece, October 18-20th 2019
- Giovannetti AM. Evaluation of Acceptance and Commitment Training for psychologists working with people with multiple sclerosis. Oral presentation was scheduled in June 2020, but the conference was postponed due to the COVID-19 pandemic. I will present it during the RIMS Digital Conference, December 4-5, 2020

Progetto speciale di ricerca FISM finanziato nel 2016 e l'ammontare di 213.000 €
FISM Research special project funded in 2016 and the amount of € 213,000

Un nuovo profilo funzionale per monitorare la progressione della disabilità nella sclerosi multipla (PROMOPRO-MS)



Giampaolo Brichetto

Associazione Italiana Sclerosi Multipla (AISM), Genova, Italia

COLLABORATORI/COLLABORATORS

Margherita Monti Bragadin, Federica di Antonio, Mario Alberto Battaglia, Michela Ponzio, Ludovico Pedullà, Andrea Tacchino

PREMESSE E OBIETTIVI

La sclerosi multipla (SM) è classificata principalmente in tre decorsi di malattia: recidivante remittente (RR), caratterizzato da attacchi definiti di peggioramento della funzione neurologica seguita da periodi di recupero parziali o completi; secondariamente progressiva (SP), che segue il decorso della RR ed è caratterizzato da un progresso più costante; primariamente progressiva (PP), caratterizzato da costante peggioramento della funzione neurologica fin dall'esordio. In particolare, l'identificazione del punto di transizione tra RR e SP è estremamente complessa, anche se cruciale per migliorare il processo decisionale del piano terapeutico e l'impatto sulle strategie farmacologiche e riabilitative. Attualmente, le linee guida per la gestione della SM richiedono l'esecuzione di almeno un esame di risonanza magnetica (RM) all'anno, mentre una valutazione meno frequente è richiesta nella fase progressiva della malattia. Infatti, la RM è essenziale nel processo diagnostico e nella valutazione prognostica della malattia. Il pattern di lesioni RM è attualmente integrato nei criteri diagnostici, ma il gap clinico-radiologico non è stato ancora colmato. Nel recente passato, la ricerca in SM si è soffermata sullo studio dei Patient-Centered Outcome (PCO) per monitorare la progressione delle malattie neurodegenerative e prendere decisioni tempestive. I PCO consistono in questionari e scale cliniche con valori sia ordinali che categorici, somministrati da medici o autosomministrati dal paziente. I PCO sono ampiamente utilizzati per valutare lo stato generale di salute, per aiutare la diagnosi, monitorare il progresso della malattia e per quantificare la percezione dei pazienti dell'efficacia di una data terapia o procedura.

Il progetto speciale FISM attivo 'PROMOPRO-MS' ha lo scopo di identificare un set di PCO legati a mobilità, fatica, performance cognitive, stato emotivo, continenza vescicale, qualità di vita, validare un profilo funzionale della SM

basato su variabili e misure significative per l'SM, migliorare la detezione del decorso di malattia, predire la progressione della malattia e identificare i migliori predittori di malattia.

RISULTATI

Dal 2013 PROMOPRO-MS costituisce una coorte di persone con SM (PcSM) in continua crescita. Ad oggi, abbiamo eseguito più di 5.000 valutazioni da circa 1.200 pazienti tra quelli seguiti dai Servizi di Riabilitazione dell'Associazione Italiana Sclerosi Multipla (AISM) di Genova, Padova, Vicenza. In questa coorte, ogni paziente è valutato ogni quattro mesi attraverso vari PCOs che ricoprono domini significativi per la SM. Il database ottenuto, oltre ai PCO, contiene anche informazioni aggiuntive quali: i) numero di ricadute negli ultimi quattro mesi (NR), ii) il livello educativo espresso in termini di anni totali di educazione (EDU), iii) altezza (A), iv) peso (P) a v) decorso di malattia. Basandosi su questi dati è stato sviluppato un modello temporale predittivo dell'evoluzione della malattia con particolare focalizzazione sulla detezione della transizione da forma RR a forma SP. Il modello è stato sviluppato utilizzando tecniche di machine learning ed è capace di predire il futuro decorso di patologia delle PcSM con un'accuratezza di circa l'85%, dimostrando al contempo che i PCO possono essere di grande valore come predittori dell'andamento della SM. L'analisi dati ha avuto un ulteriore sviluppo e, con tecniche avanzate di machine learning, i ricercatori stanno sviluppando un algoritmo di predizione della malattia a 10 anni.

CONCLUSIONI

Lo sviluppo di PROMOPRO-MS Digital Edition è in fase avanzata e si prevede l'avvio dei lavori a giugno 2024 con la possibilità di incrementare ulteriormente le capacità predittive.

A new functional profile to monitor the progression of disability in MS (PROMOPRO-MS)

INTRODUCTION AND AIMS

Multiple sclerosis (MS) is mainly classified into three disease courses: Relapsing-Remitting (RR), characterized by clearly defined attacks of worsening neurologic function followed by partial or complete recovery periods; Secondary-Progressive (SP), which follows the RR course and is characterized by steadier progress; Primary-Progressive (PP), characterized by steadily worsening neurologic function from the beginning. In particular, the identification of the transition point when RR converts to SP is extremely challenging, although crucial in order to improve therapeutic options decision-making and impact on pharmacological and rehabilitative strategies.

Nowadays, best practice for MS management requires the performance of at least one Magnetic Resonance Imaging (MRI) examination per year, while a less frequent assessment is required in the progressive phase of the disease. Indeed, MRI is now essential in the diagnostic process and prognostic evaluation of the disease. MRI lesion pattern is currently integrated into the diagnostic criteria, but the clinical-radiological gap has not been filled yet.

In the recent past, researchers explored the potential role of Patient-Centered Outcomes (PCO) to follow the progression of neurodegenerative diseases and to take timely decisions. PCOs comprise self- and physician-administered tests, questionnaires, and clinical scales consisting of either ordinal or categorical scaled answers. To date, PCOs are extensively used to assess general health status, to support diagnosis and monitor progress of disease, and to quantify the patients' perception of the effectiveness of a given therapy or procedure.

The ongoing FISM special project "A new functional profile to monitor the progression of disability in MS" (PROMOPRO-MS), aims at identifying a set of PCO related to mobility, fatigue, cognitive performances, emotional status, bladder continence, quality of life, validating a "functional profile" of MS based on meaningful variables and measures, improving the disease course detection, predicting the disease progression and identifying the best disease predictors.

RESULTS

Since 2013 PROMOPRO-MS constitutes a growing cohort of people with MS (PwMS). To date, we collected more than 5,000 evaluations from about 1,200 patients among those followed by the Rehabilitation Services of the Italian Multiple Sclerosis Society (AISM) of Genoa, Padua, Vicenza. In this cohort, each patient is evaluated every four months through several PCOs covering meaningful domains for MS. The collected PCO data set comprises additional information such as: i) number of relapses in

the last four months (NR), ii) educational level expressed in terms of total years of education (EDU), iii) height (H), iv) weight (W) and v) disease course. Based on this data a predictive temporal model of the disease evolution was developed with a particular focus on the detection of the RR to SP transition. The model has been developed by using machine learning techniques and is able to foresee the future disease course of PwMS with an accuracy of about 85%, demonstrating that PCO are valuable to be used as MS disease course predictor. Data analysis has undergone further development and, with advanced machine learning techniques, researchers are developing a 10-year disease prediction algorithm.

CONCLUSIONS

The development of PROMOPRO-MS Digital Edition is in an advanced stage, and the start of work is expected in June 2024 with the possibility of further increasing predictive capabilities.



PUBBLICAZIONI E COMUNICAZIONI A CONGRESSI

PUBLICATIONS AND CONGRESS PRESENTATIONS

- Brichetto G, Monti Bragadin M, Fiorini S, Battaglia MA, Konrad G, Ponzio M, Pedullà L, Verri A, Barla A, Tacchino A. The hidden information in patient-reported outcomes and clinician-assessed outcomes: multiple sclerosis as a proof of concept of a machine learning approach. *Neurol Sci.* 2020 Feb;41(2):459-462. doi: 10.1007/s10072-019-04093-x. Epub 2019 Oct 28
- Prada V, Tacchino A, Podda J, Pedullà L, Konrad G, Battaglia MA, Brichetto G, Monti Bragadin M. *Mam36 and Abilhand as outcome measures of multiple sclerosis hand disability: an observational study.* *Eur J Phys Rehabil Med.* 2020 Dec 11. doi: 10.23736/S1973-9087.20.06446-1. Epub ahead of print. PMID: 33305546
- Tacchino A, Ponzio M, Pedullà L, Podda J, Bragadin MM, Pedrazzoli E, Konrad G, Battaglia MA, Mokkink L, Brichetto G. Italian validation of the Arm Function in Multiple Sclerosis Questionnaire (AMSQ). *Neurol Sci.* 2020 Nov;41(11):3273-3281. doi: 10.1007/s10072-020-04363-z. Epub 2020 May 12
- Brichetto G, Zaratini P. Measuring outcomes that matter most to people with multiple sclerosis: the role of patient-reported outcomes. *Curr Opin Neurol.* 2020 Jun;33(3):295-299. doi: 10.1097/WCO.0000000000000821

Progetto speciale di ricerca FISM finanziato nel 2013 e l'ammontare di 380.000 €

FISM Research special project funded in 2013 and the amount of € 380,000

Design, sviluppo e test di usabilità di un'app per l'autovalutazione e il monitoraggio dei disturbi cognitivi nelle persone con sclerosi multipla: DIGICOG-MS®



Jessica Podda

Area Ricerca Scientifica, Fondazione Italiana Sclerosi Multipla (FISM), Genova, Italia

COLLABORATORI / COLLABORATORS

Giampaolo Brichetto, Andrea Tacchino, Michela Ponzio, Federica Di Antonio, Ludovico Pedullà

PREMESSE E OBIETTIVI

I disturbi cognitivi colpiscono circa il 40-70% delle persone con sclerosi multipla (SM). Documentati in tutte le forme di malattia, le funzioni cognitive maggiormente interessate sono attenzione e concentrazione, velocità nell'elaborazione delle informazioni, memoria e apprendimento, funzioni esecutive e linguaggio. Considerato l'impatto negativo sull'autonomia e sulla vita quotidiana, la gestione dei sintomi cognitivi è certamente una priorità nella cura delle persone con SM. Sebbene per il clinico siano disponibili batterie neuropsicologiche valide e affidabili, come la Brief Repeatable Battery of Neuropsychological tests e la Minimal Assessment of Cognitive Function in MS, difficilmente l'assessment cognitivo rappresenta ad oggi una pratica clinica routinaria nella presa in carico delle persone con SM per diverse ragioni: si tratta di un processo spesso oneroso in termini di tempo ed energie per operatore e paziente, non esente dal rischio di errori in fase di somministrazione e scoring dovuti all'ineliminabile soggettività del clinico, e non sempre in grado di cogliere cambiamenti anche minimi occorsi nel tempo a livello del funzionamento cognitivo. Tuttavia, questi ostacoli possono essere superati dall'utilizzo di soluzioni digitali, come app e software computerizzati, sviluppate per lo screening ed il monitoraggio dei disturbi cognitivi.

Sebbene i risultati nell'utilizzo delle nuove tecnologie siano piuttosto promettenti, risultano essere scarse invece le evidenze relative all'usabilità e all'apprezzamento da parte degli utenti finali. Lo studio si propone quindi di misurare la validità e l'usabilità di DIGICOG-MS® (DIGItal assessment of COGNitive impairment in Multiple Sclerosis), nuova app di autovalutazione delle funzioni cognitive per le persone con SM, realizzata dalla Fondazione Italiana Sclerosi Multipla (FISM).

RISULTATI

La fase di design e sviluppo dell'app è iniziata ad aprile 2022 e terminata a gennaio 2023, mentre la raccolta dati è avvenuta da gennaio 2023 a novembre 2023. DIGICOG-MS® include quattro test digitali, sviluppati con l'obiettivo di valutare le funzioni più frequentemente interessate dalla SM come memoria visuo-spaziale ("Ricorda e posiziona"), memoria verbale ("Ascolta e ripeti"), fluency semantica ("Genera le parole") e velocità di elaborazione delle informazioni ("Associa i numeri"). Questi test prendono ispirazione dalle rispettive versioni cartacee tradizionali come il 10/36 Spatial Recall Test, Rey Auditory Verbal Learning test, Word List Generation, e Symbol Digit Modalities Test. Le persone con SM reclutate nello studio hanno effettuato due valutazioni, digitale e cartacea, in sessioni separate a distanza di una settimana. Per investigare l'associazione tra i punteggi ottenuti ai test digitali e a quelli cartacei, è stato calcolato il coefficiente di correlazione lineare r di Pearson. Il coefficiente di correlazione intraclasse (ICC) è stato invece determinato per misurare la consistenza dell'app in due valutazioni diverse a distanza di due settimane. Infine, l'usabilità dell'app è stata misurata attraverso i questionari System Usability Scale (SUS) e la mHealth App Usability Questionnaire (MAUQ) (versione paziente). Novantadue persone con SM (femmine: 60) con età media di 51.38 ± 11.36 anni, livello di istruzione di 13.07 ± 2.74 anni, durata di malattia di 12.91 ± 9.51 anni e livello di disabilità di 3.58 ± 1.75 come indicato dal punteggio alla Expanded Disability Status Scale, seguite presso il Servizio di Riabilitazione AISM Liguria, hanno partecipato allo studio. I risultati rivelano forti correlazioni tra i test digitali e quelli cartacei per tutti i domini cognitivi indagati ($ps < .001$), con valori di r tra .58 e .78. L'affidabilità test-retest dell'app è apparsa eccellente (ICCs $> .90$) per memoria verbale e velocità

di elaborazione delle informazioni, e buona per memoria visuo-spaziale e fluency semantica (ICCs > .80). I punteggi totali ottenuti alla SUS e alla MAUQ (84.5 ± 13.34 e 104.02 ± 17.69 , rispettivamente) suggeriscono che l'app DIGICOG-MS® è stata valutata positivamente in termini di usabilità e soddisfazione nell'uso.

CONCLUSIONI

Rilevanza per la SM. I risultati ottenuti suggeriscono che DIGICOG-MS® potrebbe essere considerata un'alternativa valida per l'autovalutazione del funzionamento cognitivo a distanza per le persone con SM. DIGICOG-MS® consentirebbe di effettuare una valutazione cognitiva ritenuta essenziale, considerata la frequenza dei disturbi cognitivi e il loro impatto nella vita delle persone con SM, che rischierebbe invece di essere precluso nei casi in cui le persone si trovino impossibilitate a recarsi al centro clinico a causa di molteplici condizioni critiche (e.g., restrizioni

di guida, costi economici, dipendenza dal caregiver o amici, eccessiva distanza centro clinico-domicilio, fatica e disturbi motori). Inoltre, i benefici sono estesi anche ai professionisti sanitari in quanto DIGICOG-MS® semplificherebbe la somministrazione dei test, migliorando l'accuratezza e riducendo la percentuale di errori in fase di valutazione e punteggio. Lo studio fornirebbe dunque evidenze a sostegno di una futura implementazione del nuovo strumento digitale nella pratica clinica per le persone con SM.

Impatto sulle persone. Il monitoraggio continuo nel tempo permetterebbe al clinico in primo luogo di individuare un trattamento riabilitativo cognitivo personalizzato sulle caratteristiche e i bisogni di ciascuna persona con SM. Inoltre, i dati raccolti attraverso DIGICOG-MS® consentirebbero di identificare la presenza di fenotipi cognitivi persistenti nella SM, di predire l'insorgenza di eventuali disturbi cognitivi e monitorarne l'evoluzione nel tempo, grazie a sofisticati algoritmi di machine learning.

Design, development and usability of a mHealth app for self-assessment and monitoring of cognitive impairment in people with Multiple Sclerosis: DIGICOG-MS®

INTRODUCTION AND AIMS

Cognitive impairment (CI) affects about 40-70% of people with Multiple Sclerosis (PwMS). Attention, information processing speed, memory, executive functions, and language are the most cognitive domains impaired in MS. Documented in all MS courses, with more severe deficits in progressive forms, both secondary progressive and primary progressive, compared to relapsing-remitting MS, CI is recognized as one of the most disturbing disorders in MS. Although addressing CI is recognised as a key priority in MS care, leading to more timely and targeted treatment interventions, highly reliable and validated traditional paper-and-pencil tests as the Brief Repeatable Battery of Neuropsychological tests and the Minimal Assessment of Cognitive Function in MS are still not widely and routinely used in clinical practice due to various reasons: systematic cognitive assessments are somewhat time-consuming, require specialized examiners, and could not timely collect subtle cognitive changes. Thus, these limitations may be overcome by alternative easy-to-use digital solutions. However, while technology offers PwMS alternative methods for tracking and managing cognitive symptoms, it is unclear if available digital tools are usable and appreciated by end-users. Given the need to understand in more depth the potentiality of mobile Health (mHealth) apps in the assessment of CI in MS, we designed and de-

veloped DIGICOG-MS® (DIGITAL assessment of COGNITIVE impairment in Multiple Sclerosis), a smartphone and tablet-based app for self-assessment of CI in PwMS. Aims of our study were to test validity and usability of the novel mHealth app in a sample of PwMS.

RESULTS

The first step that consists of the design and development of DIGICOG-MS® has been carried out between April 2022 and January 2023. Data were collected from January 2023 to November 2023. DIGICOG-MS® includes four digital tests assumed to evaluate the most affected cognitive domains in MS as visuospatial memory, verbal memory, semantic fluency, and information processing speed. These digital tests took inspiration from traditional paper-based tests known to assess the same cognitive functions, as 10/36 Spatial Recall Test, Rey Verbal Learning Test, Word List Generation, Symbol Digit Modalities Test. Participants were asked to complete both traditional and digital assessments in two separate sessions. Convergent validity was analysed using the Pearson correlation coefficient (r) to determine the strength of the association between traditional and digital tests. To test reliability of the app, the agreement between two repeated measurements was addressed with use of the intraclass correlation coefficients (ICC). System Usability Scale (SUS) and

mHealth App Usability Questionnaire (MAUQ) were thus administered at end of DIGICOG-MS[®] evaluation to test usability of the mHealth app.

The final sample consisted in ninety-two PwMS (female: 60), followed as outpatients at the AISM Rehabilitation Service of Genoa (Italy). They had a mean age of 51.38 ± 11.36 , an education of 13.07 ± 2.74 years, a disease duration of 12.91 ± 9.51 and a disability level as measured by the Expanded Disability Status Scale of 3.58 ± 1.75 . Pearson correlation analyses indicated significantly strong correlations for visuospatial memory, verbal memory, semantic fluency, and information processing speed (all $p < .001$), with r values ranging from .58 to .78. Test-retest reliability of the mHealth app was excellent (ICCs $> .90$) for verbal memory and information processing speed, and good for visuospatial memory and semantic fluency (ICCs $> .80$). Moreover, SUS score averaged 84.5 (13.34), and total score from MAUQ was 104.02 (17.69), suggesting that DIGICOG-MS[®] was significant usable and well appreciated by PwMS.

CONCLUSIONS

Relevance for MS. Although preliminary, findings indicated that DIGICOG-MS[®] is highly usable and accepted by PwMS. DIGICOG-MS[®] could allow a continuous self-evaluation and monitoring of cognitive functioning that otherwise could be prevented for PwMS due to various critical conditions (e.g., driving restrictions, reliance on caregivers and friends for assistance, restricted income, hospital-home distance, weakness and motor impairment). The use of DIGICOG-MS[®] would also be beneficial for health professionals who can take advantage of a digital tool able to reduce time and errors in administration and scoring procedures.

Proximity to cure. A continuous monitoring of cognitive functions would help health professionals to plan a cognitive intervention tailored on personal and clinical characteristics of PwMS. In addition, data acquired through DIGICOG-MS[®] will permit to identify cognitive phenotypes in MS and to predict cognitive decline over time thanks to sophisticated machine learning algorithms.



PUBBLICAZIONI E COMUNICAZIONI A CONGRESSI PUBLICATIONS AND CONGRESS PRESENTATIONS

- Podda J, Tacchino A, Pedullà L, Bergamaschi V, Ponzio M, Battaglia MA, Brichetto G. A new mHealth app for monitoring and self-assessment of cognitive impairment in people with Multiple Sclerosis: DIGICOG-MS. Best oral presentation RIMS 2023 in euRIMS Annual Congress, May 2023, Genoa, Italy
- Podda J, Tacchino A, Pedullà L, Bergamaschi V, Ponzio M, Battaglia MA, Brichetto G. Digitale o cartaceo? Usabilità di nuova app di autovalutazione delle funzioni cognitive per le persone con sclerosi multipla e correlazione con test cognitivi tradizionali. Oral Presentation, 22nd Congresso Nazionale Società italiana di Riabilitazione Neurologica, April, 2023, Riva Del Garda, Italy
- Podda J, Pedullà L, Brichetto G, Tacchino A. Evaluating Cognitive-Motor Interference in Multiple Sclerosis: A Technology-Based Approach. *Bioengineering* 2024, 11, 277. <https://doi.org/10.3390/bioengineering11030277>

Progetto speciale di ricerca FISM finanziato nel 2021 e l'ammontare di 90.660 €

FISM Research special project funded in 2021 and the amount of € 90,660

Riabilitazione delle funzioni cognitive e motorie al tempo della salute digitale: spunti di teleriabilitazione per persone con Sclerosi Multipla. (REMOTE-MS)



Andrea Tacchino

Area Ricerca Scientifica in Riabilitazione, Fondazione Italiana Sclerosi Multipla (FISM),
Genova, Italia

COLLABORATORI / COLLABORATORS

Giampaolo Brichetto, Jessica Podda, Giulia Piovani, Alessia Susini, Valentina Guidotti, Valeria Prada, Ludovico Pedullà, Margherita Monti Bragadin, Michela Ponzio, Maria Madera, Elisabetta Pedrazzoli

PREMESSE E OBIETTIVI

La sclerosi multipla (SM) peggiora progressivamente con il tempo con accumulo di disabilità sia motoria che cognitiva. Per questa ragione, i programmi riabilitativi dovrebbero iniziare prima possibile, essere intensivi e prolungati, e continuare attraverso le varie fasi della malattia.

I progressi della telemedicina hanno permesso di raggiungere facilmente lunghe distanze, soprattutto in campo riabilitativo. Infatti, la teleriabilitazione consente di integrare il tradizionale approccio interattivo in presenza tra paziente e riabilitatore. Copre situazioni nelle quali è complicato per il paziente raggiungere le tradizionali strutture riabilitative, spesso dislocate lontano rispetto alla propria residenza. Inoltre, riduce eventuali tempi di ospedalizzazione e costi sia per il paziente che per il sistema sanitario. Numerosi studi hanno dimostrato l'efficacia della teleriabilitazione nella SM. Internet, realtà virtuale (RV), e gamification sembrano essere strumenti efficaci, tollerati e sicuri per il trattamento delle funzioni motorie e cognitive di persone con SM (PcSM). Per questo, la teleriabilitazione è un'opzione da considerare per le PcSM quando la riabilitazione tradizionale è meno accessibile o inaccessibile. Nonostante gli effetti positivi dimostrati dalla letteratura scientifica, ci sono ancora molte sfide da affrontare per un suo completo uso nella SM. Ad esempio, disabilità differenti o necessità individuali potrebbero essere meglio affrontate attraverso approcci basati su interventi supervisionati in modalità sincrona. Infatti, ad oggi, la maggior parte delle esperienze di teleriabilitazione nella SM sono asincrone, ossia l'informazione medica viene raccolta e salvata per un invio successivo ad uno specialista.

Il principale vantaggio di un approccio sincrono è la maggiore efficienza dovuta alla possibilità di adeguare i dettagli di trattamento e di prendere decisioni cliniche nella sessione in itinere, aspetto decisivo nella SM. Tuttavia,

l'efficacia della teleriabilitazione sincrona rispetto a quella standard nella SM è ancora materia di studio. Nel presente progetto, valuteremo l'efficacia della teleriabilitazione sincrona rispetto ad un intervento convenzionale. Lo faremo attraverso uno studio randomizzato e controllato focalizzato sul dominio cognitivo. Poiché non ci sono evidenze scientifiche relative a modificazioni nelle reti neurali dovute ad un intervento in teleriabilitazione sincrona nella SM, studieremo anche gli effetti di neuroplasticità strutturale e funzionale attraverso tecniche di risonanza magnetica. Inoltre, con uno sguardo a scenari futuri, esploreremo la fattibilità dell'utilizzo di dispositivi di RV immersiva per la teleriabilitazione motoria e in dual-task nella SM. Attraverso una survey online, mapperemo anche l'utilizzo della teleriabilitazione in Italia. Infine, dai risultati ottenuti e dal confronto con la letteratura scientifica proporrò linee guida per un utilizzo pratico dei sistemi di teleriabilitazione.

RISULTATI

Durante il primo anno del progetto abbiamo ricevuto l'approvazione etica da parte del Comitato Etico Territoriale relativa alle attività del working package 2 (WP2) dal titolo "Studio RCT sull'intervento di teleriabilitazione cognitiva". Prima di iniziare il reclutamento e l'erogazione dell'intervento, abbiamo dedicato sei mesi alla valutazione dei requisiti tecnici e di privacy della piattaforma di teleriabilitazione utilizzata, ovvero la Suite Medico Amico (Gruppo Khymeia). I primi quattro soggetti hanno iniziato il trattamento nel novembre 2023 e sono in fase di conclusione.

CONCLUSIONI

L'obiettivo di questo progetto non è cercare di trovare una cura per la malattia ma testare l'efficacia degli interventi riabilitativi erogati attraverso la teleriabilitazione sincrona.

I risultati di questo progetto potrebbero rappresentare un passo avanti nel dimostrare come la teleriabilitazione sincrona potrebbe essere una valida opportunità e un'alternativa

alla riabilitazione convenzionale per fornire trattamenti per la SM (ad esempio quando le persone con SM sono limitate a raggiungere facilmente il centro di riabilitazione).

REhabilitation of cognitive and MOtor functions in the era of digital health: hints of TELerehabilitation for people with Multiple Sclerosis (REMOTE-MS)

INTRODUCTION AND AIMS

Multiple sclerosis (MS) progressively worsens over time, leading to cumulative physical and cognitive disability. Thus, MS rehabilitation programs should start as soon as possible, be intensive and prolonged, and continue during the different phases of the disease. The advancement of telehealth applications allowed easier achieving long-distance communication, especially in the field of rehabilitation. Indeed, telerehabilitation allows for disease treatment and clinical evaluation by integrating the traditional in-presence patient-rehabilitator interactive approach, covering situations in which it is complicated for patients to reach traditional rehabilitation infrastructures located far away from where they live, and, finally, reducing hospitalization times and costs to both patients and healthcare providers. Overall, numerous MS studies have proven telerehabilitation effectiveness, especially during the Covid-19 pandemic. Internet and teleconferences formats, virtual reality (VR), and gamification seem to be effective, tolerated, and safe tools for MS treatment aimed at improving both motor and cognitive functions. Thus, remote communication technologies are options to be considered for people with MS as traditional rehabilitation is less accessible or inaccessible. However, despite the positive effects unveiled by the scientific literature, some aspects need to be addressed in MS telerehabilitation. One main challenge is the definition of a tailored treatment due to the diverse disability levels and personal needs that could be better defined through approaches based on synchronous (i.e. real-time health information delivery during a remote live discussion) supervised individualized interventions. Indeed, most of MS telerehabilitation experiences are asynchronously (i.e. store-and-forward of medical information to a specialist) delivered. The major advantage of a synchronous approach is the efficiency gained by having the opportunity to refine details pertinent to the care episode during the session, by seeking additional information, and in many cases provid-

ing a clinical decision or advice within the session, a crucial aspect in MS rehabilitation. The effectiveness of synchronous telerehabilitation services compared to standard care is still under debate. Here, we will assess the effectiveness of synchronous tele vs. conventional rehabilitation. Specifically, we will conduct an RCT study focused on the cognitive domain. As no scientific evidence about neural network changes due to a synchronous telerehabilitation intervention are present, we will also evaluate the structural and functional neuroplasticity through magnetic resonance imaging. Moreover, by looking to the future, we will explore the feasibility of new immersive VR tools as an option for motor and dual-task telerehabilitation. In addition, through a survey, we will map the telerehabilitation use in the Italian rehabilitation services. Finally, based on our results and scientific evidence we will propose practical guidelines for MS telerehabilitation.

RESULTS

During the first year of the project, we received Ethics approval by the Comitato Etico Territoriale related to the activities in the working package 2 (WP2) on "RCT study on cognitive telerehabilitation intervention". Before starting the recruitment and delivering the intervention, we dedicated six months to the evaluation of the technical and privacy requirements of the used telerehabilitation platform, i.e. the Suite Medico Amico (Khymeia Group). The first four subjects started the treatment in November 2023.

CONCLUSIONS

The goal of this project is not attempting to find a cure for the disease but to test the effectiveness of rehabilitative interventions delivered through synchronous telerehabilitation. The results of this project might be a step forward in demonstrating how synchronous telerehabilitation could be a valid opportunity and alternative to conventional rehabilitation to deliver MS treatments (e.g. when PwMS are limited to easily reach their rehabilitation center).



Progetto speciale di ricerca FISM finanziato nel 2022 e l'ammontare di 220.000 €
FISM Research special project funded in 2022 and the amount of € 220,000

Interazioni virtuose tra riabilitazione ed esercizio fisico per affrontare il problema della fatica nella sclerosi multipla: un approccio neurofisiologico



Ludovico Pedullà

Area Ricerca Scientifica, Fondazione Italiana Sclerosi Multipla (FISM), Genova, Italia

COLLABORATORI / COLLABORATORS

Giampaolo Brichetto, Andrea Tacchino, Jessica Podda, Valeria Prada, Andrea Polidori, Valentina Guidotti, Federica Di Antonio, Alice Bollini

COLLABORAZIONI CON ALTRI GRUPPI / COLLABORATIONS WITH OTHER GROUPS

Alice Bellostà, Dipartimento di Neuroscienze, riabilitazione, oftalmologia, genetica e scienze materno-infantili, Università degli Studi di Genova, Italia

Marco Bove, Dipartimento di Medicina Sperimentale, Sezione di Fisiologia Umana, Università degli Studi di Genova, Italia

Marco Panasci, Dipartimento di Medicina Sperimentale, Sezione di Fisiologia Umana, Università degli Studi di Genova

Ambra Bisio, Dipartimento di Medicina Sperimentale, Sezione di Fisiologia Umana, Università degli Studi di Genova, Italia

Monica Biggio, Dipartimento di Neuroscienze, riabilitazione, oftalmologia, genetica e scienze materno-infantili, Università degli Studi di Genova, Italia

Costanza Iester, Dipartimento di Neuroscienze, riabilitazione, oftalmologia, genetica e scienze materno-infantili, Università degli Studi di Genova, Italia

Laura Bonzano, Dipartimento di Neuroscienze, riabilitazione, oftalmologia, genetica e scienze materno-infantili, Università degli Studi di Genova, Italia

PREMESSE E OBIETTIVI

La fatica è uno dei sintomi debilitanti più comuni nella sclerosi multipla (SM) sin dalle prime fasi della malattia e in tutti i fenotipi. Non è semplice trattare la fatica nella SM a causa della sua componente multifattoriale che comprende diversi meccanismi fisiopatologici e diversi adattamenti neurologici. Partendo dalle definizioni di fatica e affaticabilità si possono ricercare nuove strategie per affrontare questo problema. La fatica riflette uno stato di stanchezza, mancanza di energia, scarsa motivazione e difficoltà di concentrazione. Può essere misurato in un preciso istante nel tempo come percezione dello stato fisiologico dell'organismo che nasce dalle reti enterocettive coinvolte nella regolazione dell'omeostasi e dallo stato psicologico dell'individuo. È stato dimostrato che l'esercizio fisico può influenzare questi meccanismi migliorando la capacità del corpo di correggere le deviazioni da uno stato omeostatico equilibrato. Al contrario, l'affaticamento è quantificato in termini di capacità di lavoro, che può essere stimato (affaticamento percepito) o misurato durante compiti fisici o

cognitivi (affaticamento oggettivo). In relazione alla funzione motoria, il livello di affaticabilità oggettiva dipende dalle capacità contrattili dei muscoli coinvolti e dal livello di attivazione volontaria fornita dal sistema nervoso. A causa del danno della sostanza bianca e grigia tipico della SM, l'affaticamento potrebbe avere origine da una ridotta attivazione dei target centrali o periferici delle connessioni sinaptiche. Comprendere i fattori interdipendenti che contribuiscono a fatica e affaticamento nella SM potrebbe essere fondamentale per lo sviluppo di strategie efficaci per ridurre l'impatto di questi sintomi nelle persone con SM (PcSM). In particolare, un intervento volto a ridurre l'affaticamento muscolare precoce (ad esempio la riabilitazione) può servire come trattamento preparatorio per aumentare l'efficacia dell'allenamento successivo (ad esempio l'esercizio aerobico).

RISULTATI

Nella prima fase del progetto, abbiamo studiato l'efficacia di un programma di riabilitazione per affrontare i distur-

bi motori legati alla fatica che influiscono sulla capacità di camminare nelle PcSM.

24 PcSM (età=57.8±9.8 anni, tutti con EDSS=6) sono state sottoposte ad un programma riabilitativo di 20 sessioni incentrato su cammino, equilibrio e uso corretto dei dispositivi di assistenza. Il gruppo sperimentale (FB group) ha utilizzato una stampella con feedback in tempo reale basato sul supporto dell'utente, mentre il gruppo di controllo (NOFB_group) ha utilizzato una stampella standard. I partecipanti sono stati inoltre classificati in base al precedente utilizzo degli ausili: bastone (PRE_cane) o stampella (PRE_crutch). La valutazione includeva i test Timed 25 Foot Walk (T25FW) e Timed Up and Go (TUG) e la scala Modified Fatigue Impact Scale (MFIS). In un sottogruppo di 14 PcSM sono stati registrati i parametri dell'andatura (numero di passi-STEPS e tempo di contatto-CT) su un percorso lineare utilizzando solette sensorizzate.

Al basale, il gruppo PRE_crutch ha riportato un affaticamento maggiore rispetto a PRE_cane. Solo in questo gruppo è stata riscontrata un'associazione positiva tra affaticamento e prestazione motoria, misurata dalle solette sensorizzate sia negli arti affetti (aff) che in quelli non affetti (noaff) (STEP_aff: $r=0,857$, $p=0,014$; STEP_noaff: $r=0,964$, $p<0,01$; CT_aff: $r=-0,893$, $p=0,007$; CT_noaff: $r=0,857$, $p=0,014$).

Dopo la riabilitazione, abbiamo osservato un miglioramento della fatica indipendentemente dall'ausilio precedente e dal gruppo di riabilitazione ($F=4,90$, $p=0,038$). Il gruppo FB_group ha ottenuto risultati migliori rispetto a NOFB_group nei test T25FW e TUG ($U=34$, $p=0,028$ e $U=36$, $p=0,038$, rispettivamente). Inoltre, l'associazione fatica-prestazioni ha cambiato trend: in entrambi i gruppi abbiamo trovato un'associazione positiva tra CT e il dominio fisico dell'MFIS (PRE_crutch: $r=0,821$, $p=0,08$; PRE_cane: $r=0,90$, $p=0,037$) e una associazione negativa tra STEP e il dominio fisico (PRE_crutch: $r=-0,821$, $p=0,08$) o cognitivo della MFIS (PRE_cane: $r=-0,943$, $p=0,005$).

Successivamente, abbiamo disegnato una valutazione neurofisiologica per distinguere il contributo di meccanismi specifici, i.e., circuiti mediati da GABAa e GABAb, alla fatica e all'affaticabilità. La stimolazione magnetica transcranica (TMS) viene utilizzata per valutare il potenziale evocato motorio (MEP) e il periodo di silenzio controlaterale (cSP) a diversa intensità di stimolo, cioè durante una curva di reclutamento (RC). Le risposte a una bassa intensità di TMS riflettono l'attività del GABAa, mentre le risposte ad un'elevata intensità di TMS sono indici dell'attività del GABAb. Un gruppo di controlli sani (HC) e di PcSM sarà valutato prima e dopo un test da sforzo cardiopolmonare (CPET) per indurre il massimo esaurimento. Le misure neurofisiologiche e quelle cardiopolmonari saranno correlate ad outcome di fatica e affaticabilità. Ad oggi sono stati valutati 2 HC. I risultati preliminari mostrano un aumento della durata del cSP suggerendo il coinvolgimento dei meccanismi GABA nei processi di fatica indotti dall'esercizio aerobico. Ci aspettiamo risultati diversi nella PcSM, come risultato dei processi di fatica e affaticabilità. Nella fase finale del progetto, proporremo un intervento riabilitativo preparatorio prima dell'esercizio fisico a un gruppo di persone con SM.

CONCLUSIONI

Un programma riabilitativo basato sul cammino, sull'equilibrio e sull'uso corretto dei dispositivi di assistenza riduce efficacemente la fatica nelle PcSM. L'inversione nel trend della correlazione fatica-performance motoria suggerisce che è possibile ottenere buone prestazioni sperimentando meno fatica. Inoltre, una stampella con feedback in tempo reale sembra avere un impatto positivo sulla capacità di camminare a prescindere dal tipo di ausilio utilizzato in precedenza. Ulteriori risultati contribuiranno a far luce sui meccanismi di fatica e affaticabilità nella SM e sugli effetti di un trattamento specifico per ridurre questo sintomo.

Virtuous interactions between rehabilitation and exercise to address the problem of fatigue in multiple sclerosis: a neurophysiological approach

INTRODUCTION AND AIMS

Fatigue is one of the most common debilitating symptoms in multiple sclerosis (MS) since the early phases of the disease and in all phenotypes. Mitigation of fatigue is challenging in MS due to its multifactorial component including several pathophysiological mechanisms and different neurological adaptations. Starting from the definitions of fatigue and fatigability, new strategies can be sought to address this issue. Fatigue reflects feelings of tiredness, lack

of energy, low motivation, and difficulty in concentrating. It can be measured at a specific instant in time (state level of fatigue) as a perception of the physiological state of the body that arises from interoceptive networks involved in the regulation of homeostasis and from the psychological state of the individual. It has been shown that exercise may influence these mechanisms improving the ability of the body to correct deviations from a balanced homeostatic state. In contrast, fatigability is quantified in terms

of work capacity (trait level of fatigue), which can be either estimated (perceived fatigability) or measured during physical or cognitive tasks (objective fatigability). Related to the motor function, the level of objective fatigability depends on the contractile capabilities of the involved muscles and the level of voluntary activation provided by the nervous system. Due to the damage of white and grey matter typical of MS, fatigability might originate from reduced activation of the central or peripheral targets of synaptic connections. Understanding the interdependent attributes that contribute to the state and trait levels of fatigue in MS might be critical for the development of effective strategies to reduce the burden of these symptoms in people with MS (PwMS). In particular, an intervention aiming at reducing early muscular fatigability (e.g., rehabilitation) may serve as preparatory treatment to enhance the effectiveness of the following training (e.g., exercise).

RESULTS

In the first phase of the study, we investigated the efficacy of a technology-empowered rehabilitation program to address fatigue-related motor impairments affecting walking ability in PwMS. 24 PwMS (age=57.8±9.8 years, all EDSS=6) underwent a 20-session rehabilitation program focusing on gait, balance, and proper assistive device use. The experimental group (FB_group) used a crutch with real-time feedback based on user support, whilst the control group (NOFB_group) used a standard crutch. Participants were also categorized based on prior aid usage: PRE_cane and PRE_crutch. Assessment included Timed 25 Foot Walk (T25FW), Timed Up and Go (TUG) and Modified Fatigue Impact Scale (MFIS). In a subgroup of 14 PwMS, gait parameters (number of steps-STEPS and contact time-CT) were recorded on a linear course using sensorized insoles. At baseline, PRE_crutch reported higher fatigue than PRE_cane. Only in PRE_crutch there was a positive association between fatigue and motor performance, measured by the sensorized insoles in both affected (aff) and non-affected (noaff) limbs (STEP_aff: $r=0.857$, $p=0.014$; STEP_noaff: $r=0.964$, $p<0.01$; CT_aff: $r=-0.893$, $p=0.007$; CT_noaff: $r=-0.857$, $p=0.014$).

Following rehabilitation, we observed an improvement in fatigue regardless of the previous aid and the rehabilita-

tion group ($F=4.90$, $p=0.038$). FB_group better performed than NOFB_group in T25FW and TUG ($U=34$, $p=0.028$ and $U=36$, $p=0.038$, respectively). In addition, the fatigue-performance association changed trend: in both groups we found a positive association between CT and MFIS-physical domain (PRE_crutch: $r=0.821$, $p=0.08$; PRE_cane: $r=0.90$, $p=0.037$) and a negative association between STEP and MFIS-physical (PRE_crutch: $r=-0.821$, $p=0.08$) or cognitive domain (PRE_cane: $r=-0.943$, $p=0.005$).

Thereafter, we devised a neurophysiological assessment to disentangle the contribution of specific mechanisms, namely GABA_A- and GABA_B-mediated networks, to fatigue and fatigability. Transcranial Magnetic Stimulation (TMS) is used to evaluate Motor Evoked Potential (MEP) and contralateral Silent Period (cSP) at different stimuli intensity, i.e., during a recruitment curve (RC). Responses to low TMS intensity reflects GABA_A activity, whilst responses to high TMS intensity are index of GABA_B activity. A group of healthy controls (HC) and PwMS will be assessed before and after a cardiopulmonary exercise test (CPET) to induce maximal exhaustion. Both neurophysiological and cardiopulmonary features will be correlated to fatigue and fatigability outcomes. Up-to-date, 2 HC have been assessed. Preliminary results show an increase of cSP duration suggesting the involvement of GABA mechanisms in the fatigue processes induced by aerobic exercise.

We expect different results in PwMS, as a result of fatigue and fatigability processes.

In the final step of the project, we will propose a preparatory rehabilitative intervention prior to the exercise training to a group of PwMS.

CONCLUSIONS

A rehabilitation program based on gait, balance, and proper assistive device use effectively reduces fatigue among PwMS. The shift in fatigue-performance trend suggests that good performance can be achieved experiencing less fatigue. Moreover, a real-time feedback crutch seems to have a positive impact on walking ability despite the prior aid used. Further results will contribute to shed light on the mechanisms of fatigue and fatigability in PwMS and the effects of specific treatment to reduce this symptom.



PUBBLICAZIONI E COMUNICAZIONI A CONGRESSI PUBLICATIONS AND CONGRESS PRESENTATIONS

- Bellosta A, Iester C, Biggio M, Tacchino A, Brichetto, Bove M, Bonzano L, Pedullà L. Sensorized insoles as a tool for assessment of balance deficits in

people with Multiple Sclerosis. 28th RIMS Annual Conference - 4-6 maggio 2023 - Genova

Progetto speciale di ricerca FISM finanziato nel 2022 e l'ammontare di 180.000 €
FISM Research special project funded in 2022 and the amount of € 180,000

Biomarkers sierici e salivari nella Sclerosi Multipla: un nuovo modo di osservare gli effetti riabilitativi



Valeria Prada

Fondazione italiana Sclerosi Multipla (FISM), Genova, Italia

COLLABORATORI / COLLABORATORS

Elisa Piccardo, Margherita Monti Bragadin, Giulia Mennella, Ilaria Larosa, Giampaolo Bricchetto

COLLABORAZIONI CON ALTRI GRUPPI / COLLABORATIONS WITH OTHER GROUPS

Eleonora Cornacchia, Tiziana Vigo, Laboratorio di Neuroscienze Sperimentali, IRCCS Policlinico Ospedale San Martino, Genova, Italia

Matilde Inglese, Dipartimento di Neuroscienze, Oftalmologia, Genetica e Scienze Materno Infantili, Università degli Studi di Genova; IRCCS Policlinico Ospedale San Martino, Genova, Italia

PREMESSE E OBIETTIVI

La sclerosi multipla (SM) è una malattia infiammatoria e degenerativa cronica del sistema nervoso centrale di probabile eziologia autoimmune. La riabilitazione è al momento estremamente efficace nel mantenimento e nel recupero dei deficit provocati dalle ricadute della malattia e le misure di outcome sono fondamentali per valutare l'efficacia dell'intervento riabilitativo.

Inoltre, la conoscenza di alcuni biomarcatori sierici e salivari si sta espandendo negli ultimi anni, ma solo pochi studi sono focalizzati sull'effetto della riabilitazione su alcune di queste molecole. In questo studio abbiamo considerato il dosaggio dei neurofilamenti catena leggera (sNfL), dell'interleuchina 6 (IL-6) e del fattore neurotrofico derivato dal cervello (BDNF).

Il BDNF appartiene a una famiglia di neurotrofine che hanno un ruolo cruciale nella neuroplasticità cerebrale. I sNfL sono presenti nel sangue a seguito del turnover fisiologico e/o del danno neuronale. Di conseguenza, esiste un consenso emergente sul fatto che il ruolo primario del sNfL nella pratica clinica potrebbe essere quello di uno strumento di monitoraggio seriale dell'attività subclinica della malattia.

Un'altra molecola dibattuta per la SM è la citochina IL-6 che è significativamente più alta nella SM. Inoltre, un VO₂max più elevato era fortemente associato a uno spostamento del rapporto BDNF/IL-6 da infiammazione a riparazione quando si consideravano entrambi i gruppi insieme. È stato dimostrato che la forma fisica e l'esercizio fisico indicano uno spostamento nell'equilibrio dei biomarcatori del sangue verso un fenotipo di riparazione anche tra le

persone che hanno accumulato una disabilità significativa correlata alla SM.

In letteratura sono presenti solo pochi lavori sulla misurazione di questi biomarcatori e nessuno di essi è stato confrontato con l'esito funzionale dei pazienti. Sarebbe molto interessante capire come i livelli dei biomarcatori possono cambiare durante la riabilitazione e usarli per cambiare la direzione della riabilitazione in base ad essi. Inoltre, i biomarcatori della saliva rappresentano un metodo innovativo e non invasivo.

Gli obiettivi dello studio sono:

1. Confrontare i livelli dei biomarcatori ematici e salivari prima e dopo la riabilitazione nelle persone con SM (pcSM)
2. Confrontare l'effetto di due diversi trattamenti riabilitativi (realtà virtuale rispetto ad un approccio più tradizionale senza tecnologia) sul livello dei biomarcatori del sangue e della saliva
3. Valutare i livelli dei biomarcatori nel sangue e nella saliva in pazienti con diverso decorso della malattia
4. Confrontare i livelli dei biomarcatori con le misure di esito funzionale relative alla SM
5. Confrontare i livelli dei biomarcatori con i risultati della risonanza magnetica.

RISULTATI

Sono stati raccolti sangue e saliva di 30 persone sane, di cui sono stati analizzati BDNF, IL-6 e sNfL tramite lo strumento Ella (Bio-techne, Minneapolis, USA), in grado di eseguire un saggio immunologico (ELISA) automatizzato. Attraverso questo sistema, IL-6 e sNfL sono stati individuati

sia nel sangue che nella saliva, mentre il BDNF è stato dosato solo nel sangue, mentre sembra non essere presente, o presente in esigua quantità, nella saliva.

I pazienti che hanno partecipato, o stanno partecipando, allo studio sono valutati da un operatore in cieco ogni due mesi e in queste occasioni il sangue e la saliva sono raccolti. Dopo i primi due mesi i pazienti hanno iniziato un trattamento riabilitativo, randomizzato in “tradizionale” (senza tecnologie) e “virtuale” (con Khymeia VRRS, Padova, Italia) della durata di due mesi.

Al momento, 27 pazienti con SM sono stati reclutati per lo studio, di cui tre hanno abbandonato lo studio per motivi personali e 15 hanno ad oggi terminato lo studio. Nove di essi non hanno ancora terminato lo studio, mentre 33 devono essere ancora iniziati lo studio. Il cieco non è stato ancora svolto, anche se sono stati esaminati le valutazioni alla baseline e comparate con i controlli sani.

Alla *baseline* sNfL sierico nei pazienti con SM era superiore rispetto ai controlli sani. Le IL-6 presenti nel siero dei soggetti con SM era molto simile ai controlli e il siero dei pazienti con SM era superiore alla media dei controlli. Dopo la riabilitazione, i livelli sierici di NFL hanno mostrato un trend in aumento; nel frattempo non è stata riportata al-

cuna significatività statistica per la saliva. IL-6 non sembra essere cambiato nel siero; ha avuto un andamento decrescente nella saliva. Il BDNF ha mostrato un trend in aumento. La riabilitazione ha mostrato effetti positivi negli indicatori motori utilizzati.

CONCLUSIONI

Anche se lo studio è ancora in corso e abbiamo bisogno di più dati per mostrare risultati più significativi, il siero si è dimostrato adeguato per lo studio dei biomarcatori, mentre la saliva non appare adeguata per la valutazione del BDNF, anche se è molto interessante la differenziazione tra sNfL nella saliva e nel sangue in quanto potrebbero evidenziare differenti risultati discriminando sistema nervoso centrale da sistema nervoso periferico. Poiché è possibile rilevare al momento una tendenza in queste molecole dopo la riabilitazione, questa potrebbe essere una tecnica promettente per valutare gli effetti della fisioterapia nelle persone con SM durante la loro riabilitazione e nel mantenimento dei benefici derivati dai trattamenti riabilitativi. Con lo svolgimento del cieco al termine del progetto e l'aumento delle pcSM coinvolte sarà possibile avere maggiori informazioni.

Serum and salivary biomarkers in Multiple Sclerosis: a new way of observing the rehabilitation effects

INTRODUCTION AND AIMS

Multiple sclerosis (MS) is a chronic inflammatory and degenerative disease of the central nervous system of probable autoimmune etiology. Rehabilitation is currently extremely effective in maintaining and recovering the deficits caused by the relapses of the disease and outcome measures are fundamental to evaluate the effectiveness of the rehabilitation intervention.

Furthermore, the knowledge of some serum and salivary biomarkers is expanding in recent years, but only a few studies focused on the effects of rehabilitation on some of these molecules. In this study, we considered the dosage of neurofilament light chain (sNfL), interleukin 6 (IL-6) and brain-derived neurotrophic factor (BDNF).

BDNF belongs to a family of neurotrophins that play a crucial role in brain neuroplasticity. sNfL are present in the blood following the physiological turnover and/or neuronal damage. Consequently, there is an emerging consensus that the primary role of sNfL in clinical practice may be as a serial monitoring tool for subclinical disease activity. Another debated molecule in MS is the cytokine IL-6 which is significantly higher in MS. Furthermore, higher VO₂max was strongly associated with a shift in the BDNF/IL-6 ratio from inflammation to repair when considering both groups together. Fitness and exercises have been

shown to indicate a shift in the balance of blood biomarkers towards a repair phenotype even among people who have accumulated significant MS-related disability.

There are only a few works in the literature on the measurement of these biomarkers and none of them has been compared with the functional outcome of patients. It would be very interesting to understand how biomarker levels can change during rehabilitation and use them to change the direction of rehabilitation based on them. Furthermore, saliva biomarkers represent an innovative and non-invasive method.

The objectives of the study are:

1. To compare blood and salivary biomarkers levels before and after rehabilitation in persons with SM (pwMS)
2. Compare the effect of two different rehabilitation treatments (virtual reality versus a more traditional approach without technology) on the level of blood and saliva biomarkers
3. Evaluate the levels of biomarkers in blood and saliva in patients with different disease courses
4. Compare biomarkers levels with MS-related functional outcome measures
5. Compare biomarkers levels with MRI findings.

RESULTS

Blood and saliva from 30 healthy people were collected and BDNF, IL-6 and sNfL were analyzed using the Ella instrument (Bio-techne, Minneapolis, USA), performing an automated immunoassay (ELISA). Through this system, IL-6 and sNfL were detected in both blood and saliva, while BDNF was measured only in blood, while it appears not to be present, or present in small and non-detectable amounts, in saliva.

Patients who have participated, or are participating, in the study are assessed by a blinded operator every two months and during the evaluations, blood and saliva are collected. After the first two months, the patients began a rehabilitation treatment, randomized into "traditional" (without technologies) and "virtual" (with Khymeia VRRS, Padua, Italy) lasting two months.

At the moment, 27 MS patients have been recruited for the study, of which three dropped out of the study for personal reasons and 15 have completed the study to date. Nine of them have not yet finished the study, while 33 have yet to start the study. Blinding has not yet been performed, although baseline assessments were examined and compared with healthy controls.

At the baseline, serum sNfL in MS patients was higher than in healthy controls. IL-6 in the serum of MS subjects

was very similar to controls, and the serum of MS patients was higher than the average of the controls. After rehabilitation, serum sNfL levels showed an increasing trend; meanwhile, no statistical significance was reported for saliva. IL-6 does not appear to be changed in serum; had a decreasing trend in saliva. BDNF showed an increasing trend. Rehabilitation showed positive effects in the motor indicators used.

CONCLUSIONS

Although the study is still ongoing and we need more data to show more significant results, serum has proven to be adequate for the study of biomarkers, while saliva does not appear adequate for the evaluation of BDNF, even if the difference between sNfL in saliva and blood as they could highlight different results discriminating central nervous system from the peripheral nervous system. Since it is possible to currently detect a trend in these molecules after rehabilitation, this could be a promising technique for evaluating the effects of physiotherapy in people with MS during their rehabilitation and in maintaining the benefits derived from rehabilitation treatments.

With the completion of the blind at the end of the project and the increase in the number of pwMS involved, it will be possible to have more information.



PUBBLICAZIONI E COMUNICAZIONI A CONGRESSI PUBLICATIONS AND CONGRESS PRESENTATIONS

- Prada V. Serum and salivary biomarkers in MS: a new way to observe the rehabilitation effects. *Sig Mobility* 16-20 April 2023, Bilbao, Spain

Progetto speciale di ricerca FISM finanziato nel 2021 e l'ammontare di 144.000 €
FISM Research special project funded in 2021 and the amount of € 144,000

Prevenzione

Prevention

Vaccino con bacillo di Calmette Guerin nella sindrome radiologicamente isolata



Giovanni Ristori

CENTERS, Ospedale S. Andrea, Dipartimento NESMOS, Sapienza Università di Roma, Roma, Italia

COLLABORAZIONI CON ALTRI GRUPPI / COLLABORATIONS WITH OTHER GROUPS

Marco Salvetti, CENTERS, Ospedale S. Andrea, Dipartimento NESMOS, Sapienza Università di Roma, Roma, Italia

Maria Pia Amato, Dipartimento NEUROFARBA, Università degli Studi di Firenze, Firenze, Italia

Giuseppe Matarese, (IEOS-CNR) c/o Dipartimento di Medicina Molecolare e Biotecnologie Mediche, Università degli Studi di Napoli Federico II, Napoli IEOS - CNR, Napoli, Italia

Nicola De Stefano, Laboratorio di Neuroimmagini Quantitative, Università degli Studi di Siena, Siena, Italia

Maria Pia Sormani, Dipartimento di Scienze della Salute, Università degli Studi di Genova, Genova, Italia

Con la collaborazione di Maria Trojano, Università degli Studi Aldo Moro, Bari, Italia, per conto del Registro Sclerosi Multipla e Patologie correlate

With the collaboration of Maria Trojano. Università degli Studi Aldo Moro, Bari, Italy, on behalf of the Italian Multiple Sclerosis and Related Disorders Register

Oltre a questi Istituti sono stati individuati e coinvolti nel processo di reclutamento altri 23 Centri SM

Besides the proposing institutions other 23 MS Centers were identified and involved in recruitment process

PREMESSE E OBIETTIVI

Nell'ultima decade si è assistito ad un importante progresso nella disponibilità di farmaci capaci di modificare il decorso della sclerosi multipla (SM). Nonostante ciò, problemi legati alla qualità della vita e al rischio di super trattamento rimangono per i pazienti. Approcci sicuri che possono essere utilizzati dall'inizio (biologico) della malattia, senza importanti rischi di effetti collaterali, non sono ancora alla nostra portata. Il vaccino contenente Bacille Calmette-Guérin (BCG) può avere queste caratteristiche poiché è risultato avere un effetto benefico in pazienti con SM precoce e primo episodio demielinizzante.

Essendo sicuro, economico e di facile utilizzo, noi proponiamo il suo uso per prevenire la progressione del processo demielinizzante in soggetti con sindrome radiologicamente isolata (RIS: persone asintomatiche con quadro di risonanza magnetica del sistema nevoso centrale suggestiva di SM). Sarà condotto uno studio multicentrico, in doppio cieco, controllato con placebo. Cento persone con RIS saranno randomizzate in due gruppi: 50 riceveranno una singola dose di BCG and 50 una singola dose di placebo. I due gruppi saranno sottoposti alle seguenti procedure alla baseline a differenti punti di tempo:

- Status clinico, scale MSFC, e "symbol digit modality test", ogni sei mesi durante i 3 anni di follow-up.
- Risonanza magnetica dell'encefalo con gadolinio ai mesi 6, 12, 24, 36.
- Profilo immuno-metabolico, come descritto dal gruppo

di Matarese, ai mesi 6, 12, 24, 36.

L'obiettivo primario dello studio sarà il numero di lesioni "attive" in risonanza durante il follow-up. I dati neuro-radiologici saranno analizzati presso il Quantitative Neuroimaging Lab, responsabile il Prof. Nicola De Stefano dell'Università di Siena. L'obiettivo secondario sarà il tempo di occorrenza del primo evento clinico durante i 3 anni di follow-up. Saranno anche ottenuti altri obiettivi secondari di risonanza magnetica dell'encefalo. Un'analisi multi-parametrica sarà applicata per monitorare le variazioni nel profilo immuno-metabolico dei partecipanti allo studio prima e dopo vaccinazione con BCG. Saranno valutati la sicurezza e la fattibilità di questo approccio.

RISULTATI

Attualmente 21 Centri sono stati identificati in tutto il Paese e il Registro Italiano SM e patologie correlate è stato coinvolto nel processo di identificazione dei casi RIS. Questa acquisizione è stata importante data la rarità della condizione oggetto dello studio. Lo stato attuale dello studio e l'andamento del reclutamento è riassunto come segue:

- 18 Centri aperti, 5 centri hanno reclutato e 2 centri in sottomissione,
- 20 soggetti sono stati randomizzati e 3 soggetti hanno completato lo studio, uno è uscito prematuramente dallo studio.
- Una persona ha avuto progressione di malattia, nessun altro evento avverso.

Bacille Calmette Guerin (BCG) vaccine in radiologically isolated syndrome (RIS)

INTRODUCTION AND AIMS

Multiple sclerosis (MS) witnessed relevant therapeutic progress in the last decade. This notwithstanding, safety, quality of life, and overtreatment remain elements of strong patient concern. Safe and manageable therapies that can be used since the (biological) onset of the disease, without risk of overtreatment, are important unmet needs in MS.

Bacille Calmette-Guérin (BCG) vaccine may have these characteristics since it's resulted beneficial in early MS and first demyelinating episodes. Being safe, cheap, and handy, we propose to investigate its use to prevent the progression of the demyelinating process in radiologically isolated syndrome (RIS: asymptomatic persons with brain MRI highly suggestive of MS).

A multicentric, double-blind, placebo-controlled trial will be conducted in the context of the activity of the Center for Experimental Neurological Therapies. We will randomize 100 persons with RIS according to Okuda criteria (Neurology 2009): 50 to receive a single dose of BCG and 50 to a single dose of placebo. The two groups will undergo the following procedures at baseline and different time points:

- Clinical status, including multiple sclerosis functional composite scale and symbol digit modality test, every 6 months for the 3-year follow-up.
- MRI brain scan with gadolinium at months 6, 12, 24, 36.
- Immune-metabolic profiling, as recently described by Matarese's group at months 6, 12, 24, 36.

The primary endpoint of the study will be the number of active lesions at MRI developed over one year. The MRI data analysis will be carried out at the Quantitative Neuroimaging Lab, headed by Prof. Nicola De Stefano of the University of Siena. The secondary endpoint will be the time to the first clinical event over the 3 years. Exploratory MRI-based endpoints (cortical lesions, brain volume changes, and magnetization transfer ratios) will be also considered for the 3-year follow-up. A multiple-parameter analysis will be applied to monitor changes in the immune-metabolic profiling before and after BCG. The safety and feasibility of this approach will be assessed.

RESULTS

Currently, twenty-one Centers have been identified all over Italy, and the Italian MS Register has been involved in the identification process of RIS condition. That was an important step given the rarity of the condition under study. The current state-of-art of the project is summarized below (CRO updating).

- 18 centers open, 5 centers have recruited, and 2 centers are under submission
- 20 subjects were randomized and 3 subjects completed the study, one dropped out of the study prematurely.
- One person had disease progression, no other adverse events.



PUBBLICAZIONI E COMUNICAZIONI A CONGRESSI PUBLICATIONS AND CONGRESS PRESENTATIONS

- *Bridging the gap between vaccination with Bacille Calmette-Guérin (BCG) and immunological tolerance: the cases of type 1 diabetes and multiple sclerosis.* Ristori G, Faustman D, Matarese G, Romano S, Salvetti M. *Curr Opin Immunol.* 2018 Dec;55:89-96. doi: 10.1016/j.coi.2018.09.016
- *Amato MP, De Stefano N, Inglese M, Morena E, Ristori G, Salvetti M, Trojano M. Secondary Prevention in Radiologically Isolated Syndromes and Prodromal Stages of Multiple Sclerosis. Front Neurol.* 2022 Mar 14;13:787160

Progetto speciale di ricerca FISM finanziato nel 2016 e l'ammontare di 387.160 €
FISM Research special project funded in 2016 and the amount of € 387,160

Stato di immunizzazione verso le principali malattie trasmissibili - prevenibili da vaccino -, e sicurezza dei vaccini, in una coorte di pazienti con sclerosi multipla. Studio multicentrico italiano



Monica Ulivelli

Dipartimento di Scienze Mediche, Chirurgiche e Neuroscienze, Università di Siena, Siena, Italia

COLLABORATORI/ COLLABORATORS

Daiana Bezzini

COLLABORAZIONI CON ALTRI GRUPPI/ COLLABORATION WITH OTHER GROUPS

Centri/ Centres

Alessia Di Sapio, SCDO neurologia, AOUS San Luigi, Orbassano (TO), Italia

Marco Salvetti, Sapienza Università di Roma, Roma, Italia

Francesco Patti, Università degli Studi di Catania, Catania, Italia

Alice Laroni, Università degli Studi di Genova, Genova Italia

Claudio Gasperini, Azienda Ospedaliera San Camillo - Forlanini, Roma, Italia

Viviana Nociti, Fondazione Policlinico Universitario 'A. Gemelli' Roma, Italia

Maria Pia Amato, Università di Firenze, Firenze, Italia

Diego Centonze, IRCCS Istituto Neurologico Mediterraneo (INM) NEUROMED Pozzilli (IS), Italia

Luca Massacesi, Divisione Neurologia II, Ospedale Universitario Careggi, Università di Firenze, Firenze, Italia

Alessandra Lugaesi, UOSI Riabilitazione Sclerosi Multipla - Ospedale Bellaria - Bologna, Italia

Roberta Lanzillo, Università Federico II Napoli, Napoli, Italia

Benedetta Calchetti, Ospedale San Donato, Arezzo, Italia

Maria Letizia Bartolozzi, Struttura ospedaliera complessa neurologia Ospedale San Giuseppe, Empoli, Italia

Cristina Fioretti, Gianluca Moscato, Presidio ospedaliero di Livorno, Livorno, Italia

Mario Falcini, Ospedale Misericordia e Dolce, Prato, Italia

Katrin Plewnia, Ospedale della Misericordia, Grosseto, Italia

Gino Volpi, Ospedale San Jacopo di Pistoia, Pistoia, Italia

Nicola De Stefano, Dipartimento Di Scienze Mediche, Chirurgiche e di Neuroscienze, Università degli Studi di Siena, c/o Policlinico Le Scotte, Siena, Italia

Cristina Frittelli, Ospedale Felice Lotti, Pontedera, PI, Italia

Fioravante Capone, Università Campus Bio-Medico, Roma, Italia

Maura Pugliatti, Unità di Neurologia Clinica Dipartimento di Scienze Biomediche e Chirurgico - Specialistiche Università degli Studi di Ferrara, Ferrara, Italia

Livia Pasquali, Dipartimento di Medicina Sperimentale, Università degli Studi di Pisa, Pisa, Italia

Roberto Zarbo Medicina, Chirurgia e Farmacia, Università degli Studi di Sassari, Sassari, Italia

Eleonora Cocco, Università degli Studi di Cagliari, Cagliari, Italia

Stefano De Biase, Aulss3 - Ospedale dell'Angelo, Mestre, Italia

Sara Montepietra, Azienda USL - IRCCS, Reggio Emilia, Italia

Simone Lorenzut, Azienda sanitaria universitaria Friuli Centrale (ASU FC) di Udine, Udine, Italia

Antonella Conte, Dipartimento Neuroscienze Umane, Sapienza Università di Roma, Roma, Italia

Girolama Alessandra Marfia, Policlinico Tor Vergata, Roma, Italia

Maria Luisa Piras, Presidio Ospedaliero San Francesco, Nuoro, Italia

PREMESSE E OBIETTIVI

Le persone con SM possono avere una maggiore suscettibilità alle infezioni rispetto alla popolazione generale correlata al grado di disabilità o all'uso di farmaci ad attività immunosoppressiva. L'uso di questi farmaci richiede una certa attenzione sulla possibilità di eventi infettivi. Per questo motivo, la conoscenza dello stato di suscettibilità alle infezioni dei pazienti è necessaria ai fini di una corretta scelta terapeutica ma anche per stimolare i decisori politici in campo sanitario a valutare la necessità o meno di una campagna di vaccinazioni diretta alle persone con SM. Risulta inoltre essenziale per stabilire una corretta programmazione delle vaccinazioni, che andrebbero effettuate prima di una terapia immunosoppressiva. Nonostante queste considerazioni, non ci sono dati disponibili sulla prevalenza dei pazienti suscettibili alle infezioni considerando sia le persone non vaccinate sia quelle mai esposte all'infezione naturale. La sicurezza di molti vaccini nelle persone con SM è stata solo in parte investigata e i dati sulla loro correlazione con un aumentato rischio di ricadute sono discordanti e non disponibili per tutte le vaccinazioni. In aggiunta, i pochi studi che suggeriscono una possibile correlazione sono stati spesso condotti su campioni di piccole dimensioni o su sottogruppi con caratteristiche specifiche. La carenza di dati informativi riguardanti la sicurezza dei vaccini nella popolazione di persone con SM preclude la possibilità di offrire nette raccomandazioni sul loro utilizzo in questi pazienti, nonostante l'importanza nella pratica clinica.

Gli scopi di questo studio sono:

- 1) valutare lo stato di immunizzazione, indotto dalla malattia naturale o dalla vaccinazione, contro i principali agenti infettivi prevenibili dai vaccini disponibili;
- 2) valutare la sicurezza della maggior parte dei vaccini utilizzati nella pratica clinica tramite la registrazione delle ricadute o della progressione della malattia come evento avverso del vaccino nel periodo di rischio definito, e confrontando il tasso di ricadute annuo prima e dopo vaccinazione.

Lo studio, con durata di 3 anni, è concepito come multicentrico, osservazionale, retrospettivo e prospettico. È previsto l'arruolamento di una coorte di 3.000 persone con SM attraverso l'utilizzo di database di 25 centri clinici dislocati nell'Italia settentrionale, centrale e meridionale. Saranno arruolati tutti i pazienti con nuova diagnosi di SM recidivante remittente, secondo i criteri di Polman del 2010/17, da gennaio 2011 a dicembre 2024. I dati sull'immunizzazione naturale, e cioè il titolo degli anticorpi sierici specifici, saranno raccolti dalle cartelle cliniche dei centri, mentre i dati sui vaccini effettuati saranno recuperati dal libretto vaccinale.

Per studiare l'impatto dei vaccini sul rischio di ricaduta, saranno analizzati i dati sui pazienti vaccinati durante la malattia. Sarà monitorato un periodo da 2 fino a 6 mesi dopo il vaccino: il periodo di 2 mesi è considerato come periodo di massimo rischio clinico, mentre quello di 6 è l'estensione massima del periodo di rischio. Inoltre, in caso di recidiva, sarà quantificata la disabilità con la scala EDSS, confer-

mata a 6 mesi dal vaccino. Questi dati potrebbero far luce sulla relazione tra vaccinazione e SM, aggiungendo nuove informazioni sulla loro sicurezza.

Il comitato scientifico del Registro Italiano SM ha approvato la richiesta di estrazione di dati riguardanti le caratteristiche anagrafiche e di malattia dei pazienti arruolati nello studio e già inseriti nel Registro.

RISULTATI

Lo studio ha subito un rallentamento a causa della difficoltà di arruolare pazienti durante la situazione pandemica. Inoltre, in alcune Regioni, si è riscontrata una difficoltà nell'acquisizione dei libretti vaccinali, talvolta registrati nella sola versione cartacea che rende il reperimento non immediato e spesso impossibile. Alcuni Centri clinici SM inclusi dall'inizio nello studio hanno cominciato ad arruolare in ritardo per motivi logistici e di tipo amministrativo. Preso atto di queste difficoltà, sono stati arruolati ulteriori Centri clinici SM che arricchiscono lo studio anche dal punto di vista della distribuzione territoriale.

Ad oggi, sono state comunque completate le schede di raccolta dati di circa 1000 persone con SM.

È in corso un controllo di qualità dei database finora pervenuti. Il campione provvisorio è composto da circa 800 soggetti, 71% di sesso femminile, 92% Italiani, con un'età media di 42,4 anni ($\pm 11,12$ DS) e una durata di malattia media pari a 9 anni ($\pm 6,2$ DS). Più del 40% del campione è stato vaccinato dopo la diagnosi di SM, in particolare più del 30% contro tetano e difterite, circa il 25% contro influenza e pertosse, circa il 10% contro meningococco ACWY e C, 8% contro HBV, meningococco B e VZV, 7% contro morbillo e rosolia.

Riguardo la sierologia, l'85% dei pazienti era immunizzato per il morbillo, e il 90% per la varicella (dato disponibile rispettivamente per 188 e 360 persone). Considerando i virus epatotropici, il 39% dei pazienti non era immunizzato per l'HBV (dato disponibile rispettivamente per 289) e il 99% era negativo per l'HCV (su 322 persone).

Il 29% dei soggetti era negativo all'HSV-1 e il 39% all'HSV-2 (dato disponibile rispettivamente per 282 e 292 persone), mentre solo il 17% era negativo per l'EBV (su 186 pazienti). In aggiunta, il 39% del campione era negativo al CMV (su 251 pazienti), mentre nessuno era positivo all'HIV (su 314 pazienti).

CONCLUSIONI

Dai dati, anche se parziali, risulta evidente come ancora molti pazienti, in percentuali diverse, siano suscettibili ad alcune malattie infettive prevenibili da vaccino.

Dall'esperienza di questo studio risulta chiara la difficoltà nel reperire i dati a riguardo dello stato vaccinale, ma lo sforzo si rende necessario vista l'importanza della conoscenza dello stato di immunizzazione e della prevenzione in questo ambito, sia nella gestione della malattia stessa che delle terapie modificanti il decorso.

Immunisation status against major communicable diseases preventable with vaccines, and safety of vaccines, in a cohort of multiple sclerosis patients. An Italian multicenter study

INTRODUCTION AND AIMS

Multiple sclerosis (MS) patients maybe more susceptible to infections than the general population in relation to increasing disability or some specific therapies. The use of immunosuppressant or immunomodulatory drugs requires particular attention concerning the possibility of the occurrence of infectious events. So, the knowledge of overall susceptibility to infections in patients is necessary for therapeutic decision-making and to help policymakers to assess the need of a vaccine campaign targeted to MS patients. In addition, it is essential to establish a correct timetable of vaccination in MS patients, especially before starting therapies with immunosuppressant drugs.

Despite these considerations, there are no available data about the prevalence of MS patients susceptible to infections, considering those unvaccinated or never exposed to natural infections.

The safety of most of vaccines in MS patients has been partly investigated, and data on correlation between vaccination and increasing risk of relapses are still discordant or not available for some vaccines. In addition, the few studies that suggest a possible correlation are mostly carried out on small samples or subgroups of patients with particular features. The deficiency of data regarding the vaccine safety in MS population precludes the possibility to offer clear-cut recommendations, despite the relevance of vaccinations in the clinical practice.

The aim of the current project on MS patients is twofold:

- 1) to assess immunisation status, due to past exposure to natural infectious diseases or vaccines, against major infectious agents preventable by available vaccines;
- 2) to assess the safety of most utilized vaccines in the clinical practice by recording relapses or disease progression as adverse event in the considered risk period after vaccination and using the annual relapse rate and its trend during the study period.

The 3-year project is conceived as a multicenter, observational, both retro- and prospective study. A cohort of about 3,000 people with MS will be enrolled among databases of 25 clinical Centers in Northern, Central and Southern Italy. All patients diagnosed with relapsing remitting (RR) MS according to the 2010/2017 Polman's diagnostic criteria from January 2011 to December 2024 will be enrolled. Available data on natural immunization, expressed as specific serum antibody titer, will be collected from the historical clinical records of Centers, whereas available data on vaccinations will be collected from vaccination records.

To study the impact of vaccines on the risk of relapse, data about patients receiving a vaccination during the disease course will be analyzed. The study follow-up period will range between 2-6 months after vaccination: the 2-month period is considered the maximum clinical risk, whereas the 6 month-period as the maximal extension of risk in time. In addition, in the case of a clinical relapse, the variation of disability will be evaluated with EDSS scale confirmed at 6 months. These data might shed light on the relationship between vaccination and MS, adding new insights into their safety.

The Scientific Committee of the Italian MS Registry approved the request for extraction of data regarding the personal and disease characteristics of patients enrolled in the study and already included in the Registry.

RESULTS

The study has slowed down due to the difficulty of enrolling patients during the pandemic situation. In addition, in some regions, there was difficulty in acquiring vaccination schedule, sometimes recorded in paper version only, making their retrieval not immediate and often impossible. Some MS Clinical Centers included ab initio in the study began enrolling late for logistical and administrative reasons. Taking note of these difficulties, additional MS Clinical Centers were enrolled, which also enriches the study in terms of territorial distribution.

To date, however, data collection forms of about 1000 people with MS have been completed.

A quality check of the databases received so far is ongoing. The provisional sample consists of about 800 subjects, 71.2% female; 92.2% Italians; with a mean age 42.4 years (± 11.12 SD) and a mean duration of MS of 9 years (± 6.2 SD). More than 40% of subjects were vaccinated after diagnosis of MS, in particular, more than 30% were vaccinated against tetanus and diphtheria, around 25% against flu and pertussis, around 10% against meningococcus ACWY and meningococcus C, 8% against HBV, meningococcus B and VZV; 7% against measles and rubella.

Regarding serology, 85% of patients (data available for 188 subjects) were immunized against measles, and 90% against zoster virus (data available for 360 subjects). Considering hepatitis viruses, 39% of patients was not immunized against HBV (data available for 289 subjects) and 99% were negative for HCV (data available for 322 subjects).

Twenty-nine percent of subjects were negative to HSV-1

and 39% to HSV-2 (data available for 282 and 292 subjects, respectively), whereas only 17% of patients were negative for EBV (data available for 186 subjects). In addition, 39% of patients were negative to CMV (data available for 251 subjects), whereas no one was positive to HIV (data available for 314 subjects).

CONCLUSIONS

From the data, although partial, it is evident that many patients, in varying percentages, are still susceptible to

certain vaccine-preventable infectious diseases. It is clear from the experience of this study that it is difficult to find data regarding vaccinations in MS, but the effort is necessary given the relevance of knowledge of immunization status and prevention in this area, both for the management of the disease itself and of disease-modifying therapies.



PUBBLICAZIONI E COMUNICAZIONI A CONGRESSI PUBLICATIONS AND CONGRESS PRESENTATIONS

- *Bezzini D, Battaglia MA, Ulivelli M. Immunisation status against major diseases preventable with vaccines in multiple sclerosis patients. 16th World Congress on Public Health, Rome, 12-17 October 2020*

Progetto speciale di ricerca FISM finanziato nel 2019 e l'ammontare di 80.570 €
FISM Research special project funded in 2019 and the amount of € 80,570

Identificazione di fattori di rischio genetici e dell'interazione gene-ambiente nella sclerosi multipla pediatrica (PEDiatric Italian Genetic and enviRonment ExposurE) (PEDIGREE study)



Angelo Ghezzi

Dipartimento di Scienze della Salute, Università degli Studi del Piemonte Orientale
"Amedeo Avogadro," Novara, Italia

COLLABORATORI/ COLLABORATORS

Sandra D'Alfonso, Filippo Martinelli Boneschi, Maura Pugliatti, Roberto Bergamaschi, Eleonora Cocco, Maria Pia Amato, Maria Trojano

COLLABORAZIONI CON ALTRI GRUPPI/ COLLABORATION WITH OTHER GROUPS

Martina Tosi, Nicola Pomella, Nadia Barizzone, Dipartimento di Scienze della Salute, Università Piemonte Orientale, Novara, Italia

Maurizio Viri, Amanda Papa, Fabio Brustia, Neuropsichiatria Infantile, Ospedale Maggiore, Novara, Italia

Roberto Cantello, Domizia Vecchio, Neurologia, Università del Piemonte Orientale, Novara, Italia

Eleonora Cocco, Silvy Pilotto, Gabriella Spinicci, Maria Fronza, Maria Rita Murru,

Valentina Fadda, Centro SM, Cagliari, Italia

Filippo Martinelli Boneschi, Alen Zollo, Andrea Corona, Alessandra Mingione,

Università di Milano, ASST Santi Paolo e Carlo, Milano, Italia

Maria Trojano, School of Medicine, Università di Bari "Aldo Moro" Bari, Italia

Pietro Iaffaldano, Damiano Paolicelli, Alessia Manni, Centro SM, Bari

Marta Simone, UOC Neuropsichiatria Infantile, Dip. Biomedicina Traslazionale e Neuroscienze, UNIBA, Bari, Italia

Maria Pia Amato, Emilio Portaccio, Angelo Bellinva, Clinica Neurologica Firenze, Firenze, Italia

Giuseppe Santangelo, Antonio Marino, Andrea Santangelo, NPI A.R.N.A.S.

Civico di C. Benfratelli, Palermo, Italia

Ruggero Capra & Sara Rasia, Centro SM Montichiari, Brescia, Italia

Lucia Moiola, Chiara Zanetta, Federica, Esposito, Massimo Filippi, Istituto Scientifico San Raffaele, Milano, Italia

Vincenzo Brescia Morra, Roberta Lanzillo, Università Federico II, Napoli, Italia

Simona Malucchi, Martina Borghi, Paola Valentino, Centro di riferimento Regionale Sclerosi Multipla (CReSM), SCDO Neurologia, AOU San Luigi Gonzaga, Orbassano (Torino), Italia

Gioacchino Tedeschi, Antonio Gallo, Alvino Biseco, Dipartimento di Scienze Mediche e Chirurgiche Avanzate, Università della Campania Luigi Vanvitelli, Napoli, Italia

Roberto Bergamaschi, Sara Fusco, IRCCS Fondazione Mondino, Pavia, Italia

Mauro Zaffaroni, Francesca Sassi, Pietro Annovazzi, Neurologia ad indirizzo Neuroimmunologico - Centro Sclerosi Multipla, ASST Valle Olona, Osp. Gallarate, Italia

Agnese Suppei, Unità Operativa Neuropsichiatria Psicologia Infanzia Adolescenza, Ferrara, Italia

Alessandra Tozzo, Valentina Liliana Adriana Torri Clerici, Istituto Neurologico Besta, Milano, Italia

Alessandra Protti, Lorenzo Saraceno, Dipartimento di Neurologia, Grande Ospedale Metropolitano Niguarda, Dipartimento di Neuroscienze Testa Collo, Milano, Italia

Carlo Pozzilli, Viola Baione, Giorgia D'Ambrosi, Azienda Ospedaliera Universitaria, S. Andrea, Roma, Italia

Stefano Sotgiu, Alessandra Carta, Neuropsichiatria Infantile, AOU Sassari, Italia



Marta Zaffira Conti, Marta Radaelli, *Neurologia, Bergamo, Italia*

Stefania Maria Bova, *Neurologia Pediatrica Buzzi, ASST, Fatebenefratelli, Sacco, Milano, Italia*

Ylenia Vaia, Iliana Serati, Germana Lomonaco, *Dipartimento di Scienza Biomedica e Clinica, Università di Milano, Italia*

Giovanna De Luca, Valentina Tomassini, *Clinica Neurologica, Chieti, Italia*

Luigi Maria Edoardo Grimaldi, Oscar Oddo, *Fondazione Istituto G. Giglio, Pisciotto, Cefalù, Palermo, Italia*

Francesco Patti, Luca Maria, Chisari Clara, Toscano Simona, Finocchiaro Chiara, *DGF Ingrassia Università degli Studi di Catania, UOS Sclerosi Multipla AOU Policlinico G. Rodolico San Marco, Catania, Italia*

Giacomo Lus, Marcella Coletta, *Centro SM, II Università, Napoli, Italia*

Carlotta Canavese, *Neuropsichiatria Infantile, Azienda Sanitaria Locale "Città di Torino" Torino, Italia*

Angela Berardinelli, Stefano Parravicini, *U.O. Neuropsichiatria infantile IRCCS Fondazione Istituto Neurologico Nazionale C. Mondino Pavia, Italia*

Girolama Alessandra Marfia, Carolina Gabri Nicoletti, Dorian Landi, *UOSD Sclerosi Multipla, Policlinico Tor Vergata, Roma, Italia*

Salvatore Cottone, *Neurologia, A.R.N.A.S. Civico di C. Benfratelli, Palermo, Italia*

PREMESSE E OBIETTIVI

La SM pediatrica (SM-ped) rappresenta una condizione privilegiata per esplorare i meccanismi coinvolti nello sviluppo della malattia in quanto l'esordio avviene in stretta vicinanza con i possibili fattori eziologici. Nel 2016 è stato finanziato da FISM il progetto "Identificazione di fattori di rischio genetici e interazione tra fattori di rischio genetici e non genetici nella SM pediatrica". Obiettivi dello studio attuale sono:

1. identificare i fattori genetici di rischio associati alla sclerosi multipla, in particolare: i) misurando il carico genetico dell'esordio pediatrico sulla base delle 233 varianti associate alla SM adulta; ii) identificando varianti genetiche associate al rischio di SM mediante studio di associazione caso-controllo (GWAS); iii) valutando il rischio familiare della malattia;
2. analizzare i risultati del questionario ambientale somministrato ai soggetti con SM-ped e controlli sani, per identificare i fattori ambientali che agiscono nelle prime fasi della vita sul rischio di SM;
3. esplorare le interazioni gene-ambiente;
4. identificare il contributo del profilo epigenetico nella SM-ped rispetto a controlli sani mediante la tecnologia di array Illumina su tutto il genoma;
5. esplorare il ruolo della flora microbica intestinale;
6. valutare l'esposizione ad agenti virali mediante determinazione di anticorpi serici, e valutare i dosaggi di vit.D.

RISULTATI

1. reclutamento dei soggetti

Abbiamo finora reclutato:

- 153 pazienti con SM-ped (età d'esordio < 18 anni, durata di malattia < 4 anni)

- 115 soggetti di controllo, di cui 39 provenienti dallo studio di validazione del questionario

- 360 pazienti adulti con SM ed esordio in età pediatrica.

2. studio del microbiota intestinale

lo studio è stato condotto su 109 pazienti SM-ped e 64 controlli sani. È stata osservata una composizione simile a livello di phylum tra i gruppi, con Firmicutes (44%) e Bacteroidetes (33%) che sono i phyla più abbondanti. Il metodo di classificazione ad albero decisionale ha rilevato una differenza significativa ($p < 0,05$) a diversi livelli tassonomici: Blautia, Firmicutes e Lachnospiraceae, sono arricchiti in PedMS, mentre Bacteroides uniformis, Faecalibacterium prausnitzii e Alistipes sono diminuiti. La diversità alfa, misurata mediante l'indice di osservazione, indica che i controlli sono più arricchiti in termini di specie rispetto ai PedMS; anche la beta diversità calcolata con Bray-Curits dissimilarity matrix risulta statisticamente significativa ($p=0,046$), sottolineando una differenza tra i due gruppi. Per riassumere, abbiamo riscontrato differenze significative in termini di abbondanza a livello di specie, alcune delle quali confermate nella letteratura pediatrica e adulta.

3. studio sui fattori ambientali: dati preliminari su esposizione a fumo di sigaretta

Dati preliminari sono stati ottenuti su 88 bambini (58 con SM-ped/30 controlli) età media $14,7 \pm 2,8$ anni, età media all'esordio $12,1 \pm 3,3$ anni, durata media di malattia $2,6 \pm 2,0$ anni. Un numero maggiore di casi (14,3%) rispetto ai controlli (3,6%) è stato esposto al fumo di sigaretta in casa, con associazione significativa con l'attuale stato di fumatore del padre (76,5% nei casi contro 41,4% nei controlli, $p=0,002$; OR=4,60) così come con lo stato di fumatore prima della gravidanza (58,0% nei casi contro 26,7% nei controlli, $p=0,010$, OR=3,80). Non è stata osservata alcuna as-

sociazione con lo stato di fumatrice della madre ($p=0,274$), né durante né prima della gravidanza.

4. dati preliminari su esposizione al sole

Associazioni dirette crude tra condizione di ped-SM e bassa esposizione alla luce solare sono preliminarmente state osservate per la fascia di età 0-5 anni in estate (OR più alta tra 1 e 2 anni=3,05, IC95% 1,23, 7,60; $p=0,020$) e fino ai 10 anni in inverno (OR più alta tra 0 e 1 anno=3,76, IC95% 2,03, 6,99; $p=0,000019$).

5. analisi genetica

Nel progetto PEDIGREE sono stati raccolti i campioni di DNA di un totale di 483 individui comprendenti 129 pazienti con SM-ped, 281 pazienti adulti con SM ad esordio pediatrico e 73 controlli sani.

Abbiamo eseguito i seguenti test genetici:

- la genotipizzazione con Illumina GSA (Global Screening Array), un array con un contenuto di SNP (polimorfismi a singola base nucleotidica) a copertura dell'intero genoma (700.000 SNP), è stata eseguita sull'intera casistica di 483 persone. L'analisi genetica è stata eseguita combinando i dati di questi campioni con quelli di 210 pazienti con SM adulta ad esordio pediatrico e 1620 controlli derivati da precedenti progetti di ricerca, ottenendo una casistica di 2313 persone (620 persone con MS ad esordio pediatrico e 1693 controlli sani); Abbiamo condotto un'imputazione con il pannello HRC (Haplotype Reference Consortium, r1.1) che ha permesso di ottenere oltre 5 milioni di SNP. Da una preliminare analisi di associazione sono oltre alla conferma dell'associazione con la regione del sistema maggiore di istocompatibilità ($p<10^{-8}$) sono emersi 342 SNPs con significatività $p<1e^{-5}$ (compresi 2 loci MS identificati nella casistica adulta internazionale) e tra cui 16 che superano la soglia di significatività statistica genome wide ($p<10^{-8}$).
- profilo di metilazione dell'intero genoma utilizzando l'ar-

ray Illumina Infinium EPIC v.2.0 (900.000 siti CpG) su 118 soggetti pediatrici con SM e 54 controlli sani. Da un'analisi preliminare sono emerse 1916 probe e 10 regioni differenzialmente metilate, tra cui alcune già descritte in letteratura in casi di SM adulta. Ulteriori analisi sono in corso.

CONCLUSIONI

L'elaborazione dei dati è tuttora in corso e sono solo disponibili i risultati sul microbiota intestinale e dati preliminari sull'esposizione a fattori ambientali. Possiamo comunque sottolineare come la casistica oggetto del nostro studio sia di grande interesse per la numerosità dei casi reclutati, una delle più rappresentative a livello internazionale. La popolazione con SM-ped è di particolare interesse per meglio indagare il ruolo dei fattori ambientali nel favorire lo sviluppo della malattia, assieme alla predisposizione genetica: l'entità del carico genetico, rispetto alla popolazione adulta, se confermato nella casistica attuale, potrebbe contribuire a spiegare i meccanismi di sviluppo più precoce della malattia nella popolazione pediatrica e la maggiore suscettibilità a sviluppare la malattia in relazione a fattori ambientali.

Dati preliminari della nostra ricerca confermano il ruolo favorente dell'esposizione al fumo e della ridotta esposizione solare. È in corso l'elaborazione dei risultati su numerosi altri fattori ambientali e perinatali che, nel loro insieme, possono aprire la strada a individuare possibili strategie di intervento, volte a modulare positivamente lo sviluppo e l'evoluzione della malattie, con evidenti finalità preventive. Emergono inoltre delle associazioni significative con marcatori genetici ed epigenetici che saranno utili per una ulteriore stratificazione della popolazione e per l'analisi di interazione con fattori ambientali.

Identification of genetic risk factors and interaction between genetic and nongenetic risk factors in pediatric multiple sclerosis (PEDIatric Italian Genetic and enviRonment ExposurE) (PEDIGREE study)

INTRODUCTION AND AIMS

Pediatric MS (ped-MS) represents a privileged condition for exploring the mechanisms involved in the development of the disease as its onset occurs in close temporal proximity to possible etiological factors. In 2016, the project "Identification of genetic risk factors and interaction between genetic and non-genetic risk factors in pediatric MS" was funded by FISM. Objectives of the present study are:

1. identify the genetic risk factors associated with mul-

tiple sclerosis, in particular: i) measuring the genetic burden of pediatric onset based on the 233 variants associated with adult MS; ii) identifying genetic variants associated with MS risk using a case-control association study (GWAS); iii) assessing the family risk of the disease;

2. analyze the results of the environmental questionnaire administered to subjects with ped-MS and healthy controls, to identify the environmental factors that act in the early stages of life on the risk of MS;

3. explore gene-environment interactions;
4. compare epigenetic profiling of ped-MS versus healthy controls using Illumina genome-wide array technology;
5. explore the role of intestinal microbial flora;
6. evaluate exposure to viral agents by determining serum antibodies, and evaluate vitamin D levels.

RESULTS

1. recruitment of subjects

We have so far recruited:

- 154 patients with ped-MS (age at onset < 18 years, disease duration < 4 years)
- 115 control subjects, of whom 39 derived from the questionnaire validation study
- 364 adult patients with MS and onset in childhood.

2. study of gut microbiota

A total of 109 PedMS and 64 HC have been analyzed. A similar composition at phylum level has been observed between groups, with Firmicutes (44%) and Baciteroidetes (33%) being the most abundant phyla. The heat tree method revealed a significant different abundance ($p < 0.05$) at species level: unclassified Blautia, Firmicutes e Lachnospiraceae were enriched in PedMS, while Bacteroides uniformis, Faecalibacterium_prausnitzii e Alistipes were decreased. Alpha-diversity, measured by Observed index, highlighted that HC are more enriched in terms of species than PedMS; beta diversity according to Bray-Curtis dissimilarity matrix ($p = 0,046$) confirmed differences between the two groups. To summarize, we found significant differences in abundance at the species level, some of which were confirmed in the pediatric and adult literature.

3. study on environmental factors: preliminary data on exposure to cigarette smoking

Preliminary data were obtained on 88 children (58 with ped-MS/30 controls) mean age 14.7 ± 2.8 years, mean age at onset 12.1 ± 3.3 years, mean duration of disease 2.6 ± 2.0 years. A greater number of cases (14.3%) compared to controls (3.6%) were exposed to cigarette smoke at home, with a significant association with the father's current smoking status (76.5% in cases versus 41.4% in controls, $p = 0.002$; OR=4.60) as well as with smoking status before pregnancy (58.0% in cases versus 26.7% in controls, $p = 0.010$, OR=3, 80). No association was observed with the mother's smoking status ($p = 0.274$), neither during nor before pregnancy.

4. sun exposure

A crude direct association was preliminarily found between MS status and low sun exposure at age 0-5 years in summer (highest OR at 1-2 years=3.05, 95%IC 1.23, 7.60; $p = 0.020$) and up to 10 years in winter (highest OR at 0-1years=3.76, 95%IC 2.03, 6.99; $p = 0.000019$).

5. genetic analysis

The PEDIGREE project collected whole blood DNA samples from a total of 483 individuals (129 pediatric MS, 281 MS adult patients with pediatric onset and 73 healthy controls. We have performed the following genetic tests:

a) genotyping with the Illumina GSA (Global Screening Array), an array with a genome-wide SNPs (Single Nucle-

otide Polymorphisms) content (700.000 SNPs), has been performed on all collected MS patients and controls (483 samples).

The genetic analysis has been performed combining the data of these samples with those of 210 MS patients (adult MS with pediatric onset) and 1620 controls derived from previous projects of the Partner project, and consisting of SNPs genotyping with genome-wide content, for a total of 2313 individuals (620 MS and 1693 controls). We performed a genotype imputation against the Haplotype Reference Consortium (HRC) r1.1 panel, obtaining a total of 5 578 473 markers after quality controls filter; Preliminary analysis, confirmed the association with the HLA region ($p < 10^{-8}$) and identified additional 342 markers ($p < 1e^{-5}$, including 2 known MS loci) and 16 markers reaching the genome-wide threshold ($p < 10^{-8}$).

b) Genome-wide methylation profile using Illumina Infinium EPIC v.2.0 array (900 000 CpG sites) on 118 pediatric MS patients and 5 age-matched healthy controls. Preliminary analysis showed 1916 differentially methylated probes and 10 differentially methylated regions, some of them already described in adult MS literature.

CONCLUSIONS

Data processing is still ongoing and at present only results on gut microbiota and preliminary data on exposure to environmental factors are available. However, we can emphasize how the present cohorts included in our study present a great scientific interest due to the large number of cases recruited, making it one of the most representative at an international level. The population with ped-MS is of particular interest for the possibility of better investigating the role of environmental factors in MS development, together with the genetic predisposition factors: the extent of the genetic load, compared to the adult population, if confirmed in the current case series, could explain the mechanisms of early development of the disease in the pediatric population and the possible greater susceptibility to develop the disease in relation to environmental factors.

Preliminary data from our research confirm the facilitating role of exposure to smoking and reduced sun exposure. The processing of results on other numerous environmental factors is ongoing, which together may pave the way to identify possible intervention strategies, aimed at positively modulating the development and evolution of diseases, with well-defined preventive initiatives. Furthermore, significant associations emerge with genetic and epigenetic markers which will be useful for further stratification of the population and for the analysis of interaction with environmental factors.



PUBBLICAZIONI E COMUNICAZIONI A CONGRESSI PUBLICATIONS AND CONGRESS PRESENTATIONS

- Pilotto S, Gencarelli J, Bova S, Gerosa L, Baroncini D, Olivotto S, Alfei E, Zaffaroni M, Suppiej A, Cocco E, Trojano M, Amato MP, D'Alfonso S, Martinelli-Boneschi F, Waubant E, Ghezzi A, Bergamaschi R, Pugliatti M. Etiological research in pediatric multiple sclerosis: A tool to assess environmental exposures (PEDiatric Italian Genetic and enviRonment ExposurE Questionnaire). *Mult Scler J Exp Transl Clin.* 2021 Dec 1;7(4):20552173211059048. doi: 10.1177/20552173211059048
- Pilotto S, Fronza M, Simone M, Vaia Y, Bova SM, Gallo A, Tedeschi G, Lanzillo R, Brescia-Morra V, Amato MP, Cocco E, Trojano M, Martinelli-Boneschi F, D'Alfonso S, Ghezzi A, Bergamaschi R, Pugliatti M, and the PEDIGREE Study Group. Pediatric onset multiple sclerosis is associated to father's smoking status and to father having smoked prior to pregnancy of study children: the PEDIGREE study. Abstract, 53° congresso Società Italiana di Neurologia - Napoli, 21-24 Ottobre 2023
- Tosi M, Mellai M, Zollo A, Allesina M, Corona A, Simone M, Protti A, Berardinelli A, Gallo A, Canavese C, Vecchio D, Moiola L, Conti M, Borghi M, Viri M, Zaffaroni M, Oddo O, Lanzillo R, Rasia R, Bova S, Sotgiu S, Trojano M, Amato M, Cocco E, Bergamaschi R, Pugliatti M, Ghezzi A, Martinelli Boneschi F, D'Alfonso S. Interaction between genetic and non-genetic risk factors in paediatric Multiple Sclerosis (Pedigree Study Group): the role of gut microbiota, Abstract, 39° ECTRIMS 2023, Milan, 11-13 October 2023
- Martina Tosi, Marta Mellai, Alen Zollo, Marta Allesina, Andrea Corona, Marta Simone, Alessandra Protti, Angela Berardinelli, Antonio Gallo, Carlotta Canavese, Domizia Vecchio, Eleonora Cocco, Lucia Moiola, Marta Zaffira Conti, Martina Borghi, Maurizio Viri¹, Mauro Zaffaroni, Oscar Oddo, Roberta Lanzillo, Sarah Rasia, Stefania Bova, Stefano Sotgiu, Maria Trojano, Maria Pia Amato, Roberto Giuseppe Ernesto Bergamaschi, Maura Pugliatti, Martinelli Boneschi Filippo Giovanni, Angelo Ghezzi, Sandra D'Alfonso. Interaction between genetic and non-genetic risk factors in pediatric Multiple Sclerosis (Pedigree): the role of gut microbiota. Abstract ESHG Congress 2023, Glasgow, 10-13 June 2023
- Tosi M, Mellai M, Zollo A, Allesina M, Corona A, Simone M, Protti A, Berardinelli A, Gallo A, Canavese C, Vecchio D, Moiola L, Conti M, Borghi M, Viri M, Zaffaroni M, Oddo O, Lanzillo R, Rasia R, Bova S, Sotgiu S, Trojano M, Amato M, Cocco E, Bergamaschi R, Pugliatti M, Ghezzi A, Martinelli Boneschi F, D'Alfonso S. Unravelling the interplay between genetic and non-genetic risk factors in paediatric Multiple Sclerosis (Pedigree Study Group): focus on the role of gut microbiota, Abstract, XXVI CONGRESSO NAZIONALE SIGU 2023, Rimini, 4-6 October 2023
- Tosi M, Mellai M, Zollo A, Allesina M, Corona A, Simone M, Protti A, Berardinelli A, Gallo A, Canavese C, Vecchio D, Moiola L, Conti M, Borghi M, Viri M, Zaffaroni M, Oddo O, Lanzillo R, Rasia R, Bova S, Sotgiu S, Trojano M, Amato M, Cocco E, Bergamaschi R, Pugliatti M, Ghezzi A, Martinelli Boneschi F, D'Alfonso S. Unravelling the interplay between genetic and non-genetic risk factors in paediatric Multiple Sclerosis (Pedigree Study Group): focus on the role of gut microbiota, Abstract, 53° Congresso Società Italiana di Neurologia SIN 2023 (oral presentation), Napoli, 21-24 October 2023

Progetto speciale di ricerca FISM finanziato nel 2022 per l'ammontare di 309.500 €

FISM Research special project funded in 2022, and the amount of € 309,500

**Verso
nuovi trattamenti**

Towards
new treatments

Impatto dei fattori genetici e dei farmaci utilizzati nel trattamento della sclerosi multipla sulle risposte immunitarie cellulari e umorali dopo la vaccinazione contro il Sars-Cov-2



Francesco Cucca

Dipartimento di Scienze Biomediche Università degli Studi di Sassari, Sassari; I'Istituto di Ricerche Genetiche e Biomediche del Consiglio Nazionale delle Ricerche, Monserrato (CA), Italia

COLLABORATORI/COLLABORATORS

Maristella Pitzalis, M. Laura Idda, Valeria Orrù, Maristella Steri, Marco Masala, Magdalena Zoledziewska, Francesca Virdis, Maria Giuseppina Marini, Maura Mingoia, Annalisa Loizedda, Maria Grazia Piras, Monia Lobina, Sandra Lai, Antonella Mulas, Edoardo Fiorillo, Valentina Serra, Marcella Devoto, Valeria Lodde, Giuseppe Delogu, Matteo Floris

COLLABORAZIONI CON ALTRI GRUPPI / COLLABORATIONS WITH OTHER GROUPS

Roberto Zarbo, Gabriele Farina, Silvy Pilotto, Paolo Castiglia, Paola Chessa, Paolo Solla, *Unità di Neurologia, Azienda Ospedaliera Universitaria (AOU) and Dipartimento di Scienze Mediche, Chirurgiche e Sperimentali, Università degli Studi di Sassari, Sassari, Italia*
Eleonora Cocco, Jessica Frau, Lorena Lorefice, Marzia Fronza, Daniele Carmagnini, Elisa Carta *Dipartimento di Scienze Mediche e Salute Pubblica, Università degli Studi di Cagliari; Centro Regionale Sclerosi Multipla, Cagliari, Italia*

PREMESSE E OBIETTIVI

La malattia da coronavirus 2019 (COVID-19) è una malattia infettiva che ha colpito oltre 700 milioni di persone in tutto il mondo e ha causato oltre 6 milioni di morti (23.01.2024). Il 27 dicembre 2020 è iniziata la campagna di vaccinazione europea contro il coronavirus; tuttavia, l'efficacia dei vaccini è ancora in studio in coorti con un rischio più elevato di infezione o sottoposte a terapie immunomodulanti, tra cui i gli individui affetti da Sclerosi Multipla (SM). Diversi studi, tra cui nostre precedenti pubblicazioni, indicano che le terapie anti-CD20 e il fingolimod (FTY) portano a una risposta anticorpale (umorale) attenuata dopo la vaccinazione contro il SARS-CoV-2. Gli obiettivi del progetto riguardano: la valutazione dello sviluppo e del declino della risposta umorale e cellulare specifica dopo vaccinazione contro Sars-Cov-2, in persone con SM trattate con regimi terapeutici differenti; l'identificazione di fattori genetici e ambientali nell'influenza dello sviluppo, durata e declino della risposta immunitaria cellulare e umorale contro il vaccino in pazienti con SM stratificati per terapia.

RISULTATI

Abbiamo analizzato i livelli degli anticorpi circolanti anti-proteina Spike (anti-S) e anticorpi anti-Nucleocapside (anti-N) in 1307 individui con SM, in diversi momenti dopo vaccinazione anti-Covid19 ad mRNA (BNT162b2): 1 mese dopo la seconda dose (T1), 6 mesi dopo la seconda dose (T2) e 1 mese dopo la terza dose (T3, primo richiamo). I dati sono stati analizzati includendo variabili quali: età, sesso, fumo, la scala di Invalidità Espansa (EDSS) e precedente infezione da SARS-CoV-2.

Abbiamo osservato che 1 mese dopo la seconda dose, gli individui SM trattati con natalizumab (NAT), teriflunomide (TER), azatioprina (AZA), fingolimod (FTY), ocrelizumab (OCR) e rituximab (RTX) mostravano una riduzione significativa delle risposte umorali, rispetto agli individui con SM non trattati (UNT). Inoltre, l'età avanzata, il sesso maschile, l'EDSS e il fumo attivo erano significativamente associati a titoli anticorpali più bassi contro SARS-CoV-2. Sei mesi dopo la seconda dose abbiamo osservato una riduzione dei livelli di anti-S al T2 di 3 volte rispetto a T1. Mentre dopo un mese dalla terza dose (T3) l'osservazio-

ne più importante ha riguardato l'aumento generalizzato degli anticorpi anti-S in tutte le categorie di individui SM, rispetto al T1.

Dopo aver valutato gli anticorpi abbiamo indagato sulla risposta delle cellule del sistema immune (incluse quelle che li producono, cellule B), indotta dalla vaccinazione. Sono stati inclusi 79 individui con SM (in terapia con FTY, DMF, NAT, e non trattati) e 32 soggetti sani (CT), e diversi punti temporali della vaccinazione e prima della stessa (T0).

Mediante citometria a flusso, abbiamo studiato la composizione dei linfociti T e B. Negli individui SM trattati con FTY abbiamo osservato una riduzione significativa di tutte le cellule linfocitarie considerate, accompagnata da un'alterazione delle loro proporzioni relative, come ad esempio la riduzione delle cellule naïve e Th2 e l'aumento delle cellule T CD4 effettrici di memoria. Le differenze osservate in individui con SM trattati con DMF e NAT sono meno significative e diverse da quelle osservate nel FTY; infatti, abbiamo osservato un aumento delle frequenze di CD8 e Th2 naïve nei campioni trattati con DMF, mentre un aumento delle cellule B nelle persone con SM trattate con NAT rispetto ai controlli.

Queste differenze sono presenti anche quando si confrontano le persone SM trattate con ciascuno dei tre trattamenti con quelle non sottoposte a terapia; concludendo che queste osservazioni sono dovute principalmente al trattamento farmacologico piuttosto che alla patologia stessa.

Concentrandoci sull'analisi dei linfociti B specifici per la proteina Spike del SarsCov2 (cellule B spike) nelle persone con SM e CT è stato osservato un generale aumento della frequenza di questi linfociti con l'aumentare dei richiami vaccinali.

Al tempo T1 gli individui con SM hanno mostrato livelli più bassi di cellule B spike, rispetto ai CT e questo è stato particolarmente evidente negli individui SM trattati (FTY, DMF e NAT). Nell'analisi ai tempi T2 e T3, non sono invece emerse differenze significative nella frequenza di questi linfociti tra persone con SM e CT. Ciò suggerisce che i richiami vaccinali possano sviluppare negli individui con SM una riserva di linfociti B specifici per la proteina Spike del

SarsCov2 simile a quella dei soggetti sani.

Confrontando l'andamento di queste cellule B spike nel tempo con l'andamento della risposta anticorpale abbiamo osservato che nonostante gli anticorpi anti-S tendono a diminuire con il tempo, la frequenza delle cellule B spike aumenta, suggerendo una maggiore persistenza delle cellule produttrici di anticorpi, quindi creando le condizioni di una risposta più pronta in seguito a stimoli successivi (vaccinazione o nuove infezioni da SARS-CoV-2).

Successivamente, abbiamo studiato la risposta dei linfociti B e T, mediante marcatori di attivazione espressi sulla superficie cellulare, a livello basale e in seguito allo stimolo con un pool di peptidi (molteplici frammenti) del virus SARS-CoV-2. Abbiamo osservato che le persone con SM avevano linfociti più attivi a livello basale rispetto ai controlli, ma meno reattivi agli stimoli specifici. Questa osservazione è stata confermata anche nell'analisi dei livelli di proteine prodotte dalle cellule e coinvolte nella risposta immune (citochine) misurate all'interno del liquido derivante dalle cellule in esame.

CONCLUSIONI

Il nostro lavoro dimostra che le persone con SM hanno un sistema immunitario caratterizzato da uno stato di attivazione e una condizione pro-infiammatoria basale. Tuttavia, sembrano essere meno reattivi a stimoli specifici, come quelli rappresentati dalla vaccinazione SARS-CoV-2. Il FTY mostra l'effetto più significativo sulla risposta immunitaria, riducendo il numero di anticorpi e dei diversi tipi di cellule immunitarie. Concludendo, i nostri dati suggeriscono che i richiami vaccinali, fondamentali per la popolazione, sono particolarmente utili a garantire una risposta immunitaria efficace negli individui SM in terapia; infatti, anche se la risposta iniziale potrebbe essere inferiore rispetto ai controlli sani, i richiami possono aiutare a ridurre queste differenze.

I dati sono rilevanti nel contesto della vaccinazione al SARS-CoV-2 e possono essere estremamente informativi per comprendere più in generale la risposta degli individui SM anche ad altri vaccini e infezioni.

Impact of genetic factors and drugs used in the treatment of multiple sclerosis on cellular and humoral immune responses after vaccination against Sars-Cov-2

INTRODUCTION AND AIMS

The coronavirus disease 2019 (COVID-19) is an infectious disease that has affected over 700 million people worldwide and has caused over 6 million deaths (23.01.2024).

On December 27, 2020, the European vaccination campaign against the coronavirus began; however, the efficacy of vaccines is still being studied in cohorts with a higher risk of infection or undergoing immunomodulatory ther-

apies, including individuals with Multiple Sclerosis (MS). Several studies, including our previous publications, indicate that anti-CD20 therapies and fingolimod (FTY) lead to an attenuated antibody response after vaccination against SARS-CoV-2. The project aims to: evaluate the development and decline of specific humoral and cellular responses after SARS-CoV-2 vaccination in people with MS treated with different therapeutic regimens; identify genetic and environmental factors influencing development, duration and decline of cellular and humoral immune response against Sars-Cov-2 vaccine in patients with MS stratified by disease therapy.

RESULTS

We analyzed the levels of circulating antibodies against Spike protein (anti-S) and Nucleocapsid protein (anti-N) in 1307 individuals with MS, at various time points after mRNA COVID-19 vaccination (BNT162b2): 1 month after the second dose (T1), 6 months after the second dose (T2), and 1 month after the third dose (T3, booster). Data were analyzed including variables such as age, sex, smoking, Expanded Disability Status Scale (EDSS), and previous SARS-CoV-2 infection.

We observed that 1 month after the second dose, MS individuals treated with natalizumab (NAT), teriflunomide (TER), azathioprine (AZA), fingolimod (FTY), ocrelizumab (OCR), and rituximab (RTX) showed a significant reduction in humoral responses compared to untreated individuals (UNT). Moreover, elderly, males, higher EDSS, and active smoking were significantly associated with lower antibody titers against SARS-CoV-2.

Six months after the second dose, we observed a 3-fold reduction in anti-S levels at T2 compared to T1. While one month after the third dose (T3), the most important observation was a generalized increase in anti-S antibodies in all categories of MS individuals compared to T1.

After evaluating antibodies, we investigated the response of immune cells (including antibody-producing cells, B cells) induced by vaccination. We included 79 MS individuals (treated with FTY, DMF, NAT, and untreated) and 32 healthy subjects (CT), at various vaccination time points and before vaccination (T0).

Using flow cytometry, we studied the composition of T and B lymphocytes. In MS individuals treated with FTY, we observed a significant reduction in all considered type of lymphocytes assessed, accompanied by an alteration in their relative proportions, such as a reduction in naive and Th2 cells and an increase of memory CD4 T cells. Differences observed in MS individuals treated with DMF and NAT were less significant and different from those observed in FTY-treated individuals; indeed, we observed an increase in the frequencies of naive CD8 and Th2 cells in samples treated with DMF, while an increase in B cells in MS individuals treated with NAT compared to controls.

These differences were also present when comparing MS individuals treated with each of the three treatments with those not undergoing therapy; thus, we concluded that these observations are mainly due to pharmacological

treatment rather than the disease itself.

Focusing on the analysis of Spike protein-specific B lymphocytes (spike B cells) in MS individuals and CT a general increase in the frequency of these lymphocytes following the increased vaccine boost was observed. At T1, MS individuals showed lower levels of spike B cells compared to CT, and this was particularly evident in treated MS individuals (FTY, DMF, and NAT). In the analysis at T2 and T3, no significant differences were observed in the frequency of these lymphocytes between MS individuals and CT. This suggests that vaccine boosters may develop in MS individuals a reserve of Spike protein-specific B lymphocytes similar to that of healthy subjects.

Comparing the trend of these spike B cells over time with the trend of the antibody response, we observed that despite anti-S antibodies tending to decrease over time, the frequency of spike B cells increases, suggesting greater persistence of antibody-producing cells, thus creating conditions for a more prompt response to subsequent stimuli (vaccination or new SARS-CoV-2 infections).

Subsequently, we studied the response of B and T lymphocytes, using surface-expressed activation markers, at baseline and following stimulation with a pool of peptides (multiple fragments) from the SARS-CoV-2 virus. We observed that MS individuals had more active lymphocytes at baseline compared to controls, but less reactive to specific stimuli. This observation was confirmed in the analysis of levels of proteins produced by cells and involved in the immune response (cytokines) measured within the supernatant of the cells under examination.

CONCLUSIONS

Our study demonstrates that MS patients have an immune system characterized by a state of activation and a pro-inflammatory condition even in the absence of external stimuli. However, they appear to be less responsive to specific stimuli, such as vaccination. FTY shows the most significant effect on the immune response, reducing the number of various types of immune cells and altering their balance. The differences in the immune system between treated and untreated patients are more likely due to the treatment rather than the disease itself. Finally, we observed that vaccine boosters are crucial to ensure an effective immune response in MS patients. Although the initial response may be lower compared to healthy controls, boosters can help mitigate these differences.



PUBBLICAZIONI E COMUNICAZIONI A CONGRESSI PUBLICATIONS AND CONGRESS PRESENTATIONS

- Pitzalis M, Idda ML, Lodde V, Loizedda A, Lobina M, Zoledziewska M, Viridis F, Delogu G, Pirinu F, Marini MG, Mingoia M, Frau J, Lorefice L, Fronza M, Carmagnini D, Carta E, Orrù V, Uz-zau S, Solla P, Loi F, Devoto M, Steri M, Fiorillo E, Floris M, Zarbo IR, Cocco E, Cucca F. Effect of Different Disease-Modifying Therapies on Humoral Response to BNT162b2 Vaccine in Sardinian Multiple Sclerosis Patients. *Front Immunol*. 2021 Dec 9;12:781843. doi:10.3389/fimmu.2021.781843
- Idda ML, Pitzalis M, Lodde V, Loizedda A, Frau J, Lobina M, Zoledziewska M, Viridis F, Delogu G, Marini MG, Mingoia M, Masala M, Lorefice L, Fronza M, Carmagnini D, Carta E, Pilotto S, Castiglia P, Chessa P, Sergio U, Farina, Solla P, Steri M, Devoto M, Fiorillo E, Floris M, Zarbo IR, Cocco E, Cucca F. Cross-sectional analysis of the humoral response after SARS-CoV-2 vaccination in Sardinian Multiple Sclerosis patients, a follow-up study. *Front Immunol* (2022). doi: 10.3389/fimmu.2022.946356. eCollection 2022
- Immune response profiling after SARS-CoV-2 vaccination predicts advantages and disadvantages of multiple sclerosis treatments. Manuscript in preparation

Progetto speciale di ricerca FISM finanziato nel 2021 con l'ammontare di 350.000 €
FISM Research special project funded in 2021 and the amount of € 350,000

Restrizione calorica come nuovo approccio terapeutico per manipolare l'immunità e per migliorare il potenziale terapeutico di farmaci di prima linea nella sclerosi multipla recidivante-remittente



Giuseppe Matarese* e Luca Battistini**

*Istituto per l'Endocrinologia e l'Oncologia Sperimentale-Consiglio Nazionale delle Ricerche (IEOS-CNR) c/o Dipartimento di Medicina Molecolare e Biotecnologie Mediche, Università degli Studi di Napoli Federico II, Napoli, Italia

**IRCCS Fondazione Santa Lucia, Roma, Italia

COLLABORAZIONI CON ALTRI GRUPPI/ COLLABORATION WITH OTHER GROUPS

Vincenzo Brescia Morra e Roberta Lanzillo, Dipartimento di Neuroscienze e Scienze Riproductive e Odontostomatologiche, Università degli Studi di Napoli Federico II, Napoli, Italia

Ciro Florio e Giorgia Teresa Maniscalco, Centro Regionale per la diagnosi e cura della Sclerosi Multipla - AOU "Antonio Cardarelli", Napoli, Italia

Diego Centonze, Istituto Neurologico Mediterraneo, Neuromed, Pozzilli, Italia

Marco Salvetti, Dipartimento di Neuroscienze, Ospedale S. Camillo-Forlanini, Roma, Italia

Marco Salvetti, Centro Neurologico Terapie Sperimentali (CENTERS), Dipartimento di Neuroscienze, Salute Mentale e Organi di Senso NESMOS, Sapienza Università di Roma, Roma, Italia

Giacomo Lus, Centro Sclerosi Multipla, II Clinica Neurologica, Dipartimento di Scienze Mediche e Chirurgiche Avanzate, Università della Campania Luigi Vanvitelli, Napoli, Italia

PREMESSE E OBIETTIVI

Diversi risultati sperimentali hanno mostrato che la tolleranza immunologica verso gli antigeni self è un processo regolato da diversi fattori, tra cui lo stato nutritivo/energetico delle cellule del sistema immunitario. Infatti, è stato evidenziato che la restrizione calorica e il digiuno acuto sono in grado di migliorare l'encefalomielite sperimentale autoimmune (ESA), il modello murino di SM. Partendo da queste evidenze, l'obiettivo di questo studio è quello di valutare l'effetto di una lieve restrizione calorica sull'andamento clinico delle SM. Inoltre, poiché è stato dimostrato che la rimozione dalla dieta di alcuni alimenti "pro-infiammatori" come il latte vaccino e il glutine è associata alla riduzione dell'infiammazione in alcune malattie autoimmunitarie, lo scopo di questo progetto è anche valutare l'effetto della restrizione calorica associata alla rimozione di alimenti specifici come il latte vaccino e il glutine sulla progressione della malattia.

RISULTATI

Considerato che l'obiettivo principale di questo studio è quello di valutare l'effetto della restrizione calorica sulla progressione della SM, al momento dell'arruolamento, a tutti i pazienti con SM è stata effettuata una visita nutrizionale ed è stato sviluppato un profilo nutrizionale specifico e personalizzato al fine di ridurre l'apporto calorico del paziente (restrizione calorica del 15-20% rispetto alle calorie medie normalmente consumate) con o senza l'eliminazione di cibi altamente infiammatori (glutine e latte vaccino). Un gruppo di pazienti con SM è stato assegnato al gruppo di controllo che continua a seguire la normale alimentazione. Dopo l'arruolamento, è stato anche effettuato un prelievo di sangue da tutti i pazienti con SM inclusi nello studio per valutare la composizione e la percentuale delle diverse popolazioni del sistema immunitario e il numero e la funzione delle cellule T regolatorie, una sottopopolazione cellulare coinvolta nei meccanismi

di tolleranza immunologica. I pazienti con SM vengono periodicamente monitorati dai nutrizionisti mediante impedenziometria per verificare l'aderenza al protocollo nutrizionale e ogni 6 mesi viene effettuato un prelievo di sangue per la valutazione degli effetti della restrizione calorica sull'assetto immuno-metabolico. Una volta arruolati, i pazienti saranno poi seguiti per 24 mesi per le successive visite di follow up. Al termine del periodo di follow up saranno analizzati gli andamenti sia dei dati clinici (EDSS, ricadute, numero di lesioni, etc) che molecolari e cellulari per la valutazione dell'effetto dei diversi trattamenti sulla progressione della malattia. Risultati preliminari hanno mostrato che la restrizione calorica è associata sia con riduzione della percentuale di subset cellulari che esprimono marker di attivazione sia con la riduzione del numero di cellule proinfiammatorie (Th1 e Th17). Questi dati suggeriscono che il cambiamento delle abitudini alimentari e

la restrizione calorica possono avere un ruolo sulle cellule del sistema immunitario riducendo lo stato infiammatorio. Questo studio fa anche parte del progetto Multiact per il coinvolgimento attivo dei pazienti con SM e del personale coinvolto nello studio (nutrizionisti, neurologi, ricercatori, psicologi, ecc.) nella ricerca connessa al progetto.

CONCLUSIONI

L'obiettivo di questo studio è quello di sviluppare nuovi protocolli terapeutici che associano trattamenti farmacologici di prima linea con interventi nutrizionali volti a ridurre l'introito calorico con o senza rimozione di specifici alimenti quali il glutine, il latte e i suoi derivati. Inoltre, i dati ottenuti da questo studio potrebbero anche contribuire ad ottenere maggiori conoscenze sulla patogenesi della malattia e sulla sua crescente prevalenza nei paesi più sviluppati.

Calorie restriction as a novel therapeutic tool to manipulate immunity and improve therapeutic potential of first line drug treatments during relapsing remitting multiple sclerosis

INTRODUCTION AND AIMS

Several experimental results have shown that immunological self-tolerance is a process finely regulated by several factors, including the nutritional/energetic status of immune system cells. Indeed, calorie restriction and acute fasting can improve experimental autoimmune encephalomyelitis (EAE), the mouse model of MS. Based on these findings, the present study aims to evaluate the effect of mild calorie restriction on the clinical course of MS. Furthermore, as the removal of specific 'pro-inflammatory' foods such as cow's milk and gluten from the diet has been shown to be associated with a reduction in inflammation in different autoimmune diseases, the aim of this project is also to evaluate the effect of calorie restriction associated with the removal of specific foods such as cow's milk and gluten on disease progression.

RESULTS

Since that, the main objective of this study is to evaluate the effect of calorie restriction on MS progression, at enrolment, the nutritionists performed a nutritional visit, and a specific and personalized nutritional profile was developed in order to reduce the patient's caloric intake (calorie restriction of 15-20% compared to the average calories normally consumed) with or without the elimination of highly inflammatory foods (gluten and cow's milk). A group of MS patients was assigned to the control

group who continued to follow the normal diet. After enrolment, it has been also performed blood sampling from all MS patients included in the study to assess the composition and percentage of different immune system cell populations and the number and function of regulatory T cells, a cellular subpopulation involved in the mechanisms of immunological self-tolerance. MS patients are periodically monitored by nutritionists by impedencemetry to verify adherence to the nutritional protocol and every 6 months a blood sampling is performed to evaluate the effects of caloric restriction on the immune-metabolic asset. After enrollment of all patients, they will be followed up for 24 months. At the end of the follow-up period, both clinical (EDSS, relapses, number of lesions, etc.) and molecular and cellular data will be analyzed to evaluate the effect of different treatments on the course of the disease. Preliminary results showed that calorie restriction is associated with both reduced percentages of cell subsets expressing activation markers and decreased numbers of proinflammatory cells (Th1 and Th17). These data suggest that dietary intervention and calorie restriction may influence immune cells by reducing the inflammatory state.

This study is also part of the Multiact project for the active involvement of MS patients and of personnel involved in the study (nutritionists, neurologists, researchers, psychologists, etc.) in research related to the project.

CONCLUSIONS

This study aims to develop new therapeutic protocols that combine first-line pharmacological treatments with dietary interventions aimed at reducing caloric intake, with or without the removal of specific foods such as gluten,

milk, and its derivatives. In addition, the data obtained from this study may contribute to a better understanding of the pathogenesis of the disease and of its increasing prevalence in more developed countries.



PUBBLICAZIONI E COMUNICAZIONI A CONGRESSI PUBLICATIONS AND CONGRESS PRESENTATIONS

- Colamatteo A, Fusco C, Micillo T, D'Hooghe T, de Candia P, Alviggi C, Longobardi S, Matarese G. Immunobiology of pregnancy: from basic science to translational medicine. *Trends Mol Med.* 2023 Sep;29(9):711-725. doi: 10.1016/j.molmed.2023.05.009
- Auricchio R, Galatola M, Cielo D, Rotondo R, Carbone F, Mandile R, Carpinelli M, Vitale S, Matarese G, Gianfrani C, Troncione R, Auricchio S, Greco L. Antibody Profile, Gene Expression and Serum Cytokines in At-Risk Infants before the Onset of Celiac Disease. *Int J Mol Sci.* 2023 Apr 6;24(7):6836. doi: 10.3390/ijms24076836
- Matarese G. The link between obesity and autoimmunity. *Science.* 2023 Mar 31;379(6639):1298-1300. doi: 10.1126/science.ade0113
- Procaccini C, de Candia P, Russo C, De Rosa G, Lepore MT, Colamatteo A, Matarese G. Caloric restriction for the immunometabolic control of human health. *Cardiovasc Res.* 2023 Feb 27;cvad035. doi: 10.1093/cvr/cvad035
- Stampanoni Bassi M, Buttari F, Gilio L, Iezzi E, Galifi G, Carbone F, Micillo T, Dolcetti E, Azzolini F, Bruno A, Borrelli A, Mandolesi G, Rovella V, Storto M, Finardi A, Furlan R, Centonze D, Matarese G. Osteopontin Is Associated with Multiple Sclerosis Relapses. *Biomedicines.* 2023 Jan 11;11(1):178
- Alhamar G, Briganti S, Maggi D, Viola V, Faraj M, Zannella C, Galdiero M, Franci G, Fusco C, Isgrò C, Leanza G, Malandrucchio I, Spinelli A, Tramontana F, Iaria D, Tortoriello R, Pieralice S, Rosati M, Matarese G, Pozzilli P, Galgani M, Strollo R. Pre-vaccination glucose time in range correlates with antibody response to SARS-CoV-2 vaccine in type 1 diabetes. *J Clin Endocrinol Metab.* 2023 Jan 6;dgad001
- de Candia P, Procaccini C, Russo C, Lepore MT, Matarese G. Regulatory T cells as metabolic sensors. *Immunity.* 2022 Nov 8;55(11):1981-1992
- Romano A, Zuchegna C, Zannini G, Messina S, Fusco C, Pezone A, Grillo R, de Candia P, Matarese G, Porcellini A. A rapid and inexpensive genotyping method using dried blood spots for mutational analysis in a mutant mouse model: an update. *Mol Biol Rep.* 2022 Sep;49(9):9071-9077
- Bruzzaniti S, Piemonte E, Mozzillo E, Bruzzese D, Lepore MT, Carbone F, de Candia P, Strollo R, Porcellini A, Marigliano M, Maffei C, Bifulco M, Ludvigsson J, Franzese A, Matarese G, Galgani M. High levels of blood circulating immune checkpoint molecules in children with new-onset type 1 diabetes are associated with the risk of developing an additional autoimmune disease. *Diabetologia.* 2022 Aug;65(8):1390-1397
- Azzolini F, Gilio L, Pavone L, Iezzi E, Dolcetti E, Bruno A, Buttari F, Musella A, Mandolesi G, Guadalupi L, Furlan R, Finardi A, Micillo T, Carbone F, Matarese G, Centonze D, Stampanoni Bassi M. Neuroinflammation Is Associated with GFAP and sTREM2 Levels in Multiple Sclerosis. *Biomolecules.* 2022 Jan 27;12(2):222
- de Candia P, Matarese G. The folate way to T cell fate. *Immunity.* 2022 Jan 11;55(1):1-3
- Di Silvestre D, Garavelli S, Procaccini C, Prattichizzo F, Passignani G, De Rosa V, Mauri P, Matarese G, de Candia P. CD4 + T-Cell Activation Prompts Suppressive Function by Extracellular Vesicle-Associated MicroRNAs. *Front Cell Dev Biol.* 2021 Oct 27;9:753884
- Feizi N, Focaccetti C, Pacella I, Tucci G, Rossi A, Costanza M, Pedotti R, Sidney J, Sette A, La Rocca C, Procaccini C, Matarese G, Barnaba V, Piconese S. CD8+ T cells specific for cryptic apoptosis-associated epitopes exacerbate experimental autoimmune encephalomyelitis. *Cell Death Dis.* 2021 Oct 29;12(11):1026
- de Candia P, Matarese G. Reimagining an immunological dogma. *Nat Immunol.* 2021 Oct 18
- Nardelli C, Granata I, Nunziato M, Setaro M, Carbone F, Zulli C, Pilone V, Capoluongo ED, De Palma GD, Corcione F, Matarese G, Salvatore F, Sacchetti L. 16S rRNA of Mucosal Colon Microbiome and CCL2 Circulating Levels Are Potential Biomarkers in Colorectal Cancer. *Int J Mol Sci.* 2021 Oct 4;22(19):10747
- Simula L, Antonucci Y, Scarpelli G, Cancila V, Colamatteo A, Manni S, De Angelis B, Quintarelli C, Procaccini C, Matarese G, Tripodo C, Campello S. PD-1-induced T cell exhaustion is controlled by a Drp1-dependent mechanism: Drp1-dependent mechanism. *Mol Oncol.* 2021 Sep 17
- De Vito F, Musella A, Fresegna D, Rizzo FR, Gentile A, Stampanoni Bassi M, Gilio L, Buttari F, Procaccini C, Colamatteo A, Bullitta S, Guadalupi L, Caioli S, Vanni V, Balletta S, Sanna K, Bruno A, Dolcetti E, Furlan R, Finardi A, Licursi V, Drulovic J, Pekme-



zovic T, Fusco C, Bruzzaniti S, Hornstein E, Uccelli A, Salvetti M, Matarese G, Centonze D, Mandolesi G. MiR-142-3p regulates synaptopathy-driven disease progression in multiple sclerosis. *Neuro-pathol Appl Neurobiol*. 2021 Sep 7

- Procaccini C, Garavelli S, Carbone F, Di Silvestre D, La Rocca C, Greco D, Colamatteo A, Lepore MT, Russo C, De Rosa G, Faicchia D, Prattichizzo F, Grossi S, Campomenosi P, Buttari F, Mauri P, Uccelli A, Salvetti M, Brescia Morra V, Vella D, Galgani M, Mottola M, Zuccarelli B, Lanzillo R, Mascalco GT, Centonze D, de Candia P, Matarese G. Signals of pseudo-starvation unveil the amino acid transporter SLC7A11 as key determinant in the control of Treg cell proliferative potential. *Immunity*. 2021 May 11:S1074-7613(21)00176-X
- Carbone F, Bruzzaniti S, Fusco C, Colamatteo A, Micillo T, De Candia P, Bonacina F, Norata GD, Matarese G. Metabolomics, Lipidomics, and Immunometabolism. *Methods Mol Biol*. 2021;2285:319-328
- de Candia P, Prattichizzo F, Garavelli S, Alviggi C, La Cava A, Matarese G. The pleiotropic roles of leptin in metabolism, immunity, and cancer. *J Exp Med*. 2021 May 3;218(5):e20191593
- Perna F, Bruzzaniti S, Piemonte E, Maddaloni V, Atripaldi L, Sale S, Sanduzzi A, Nicastro C, Pepe N, Bifulco M, Matarese G, Galgani M, Atripaldi L. Serum levels of SARS-CoV-2 nucleocapsid antigen associate with inflammatory status and disease severity in COVID-19 patients. *Clin Immunol*. 2021 Apr 2:108720
- Norata G, Matarese G. Novel acquisitions in cell immunometabolism. *Mol Aspects Med*. 2021 Feb 4:100945
- Palma C, La Rocca C, Gigantino V, Aquino G, Piccaro G, Di Silvestre D, Brambilla F, Rossi R, Bonacina F, Lepore MT, Audano M, Mitro N, Botti G, Bruzzaniti S, Fusco C, Procaccini C, De Rosa V, Galgani M, Alviggi C, Puca A, Grassi F, Rezzonico-Jost T, Norata GD, Mauri P, Netea MG, de Candia P, Matarese G. Caloric Restriction Promotes Immunometabolic Reprogramming Leading to Protection from Tuberculosis. *Cell Metab*. 2021 Jan 4:S1550-4131(20)30671-9
- de Candia P, Prattichizzo F, Garavelli S, Matarese G. T Cells: Warriors of SARS-CoV-2 Infection. *Trends Immunol*. 2021 Jan;42(1):18-30
- Prattichizzo F, De Nigris V, Sabbatinelli J, Giuliani A, Castaño C, Párrizas M, Crespo I, Grimaldi A, Baranzini N, Spiga R, Mancuso E, Rippo MR, Procopio AD, Novials A, Bonfigli AR, Garavelli S, La Sala L, Matarese G, de Candia P, Olivieri F, Ceriello A. CD31 Positive-Extracellular Vesicles from Patients with Type 2 Diabetes Shuttle a miRNA Signature Associated with Cardiovascular Complications. *Diabetes*. 2021 Jan;70(1):240-254
- Horwitz DA, Liu A, Bickerton S, Castaldo G, Matarese G, Fahmy TM, La Cava A. Anti-CD2 Antibody-Coated Nanoparticles Containing IL-2 Induce NK Cells That Protect Lupus Mice via a TGF- β -Dependent Mechanism. *Front Immunol*. 2020 Dec 16;11:583338
- Galgani M, Bruzzaniti S, La Rocca C, Micillo T, de Candia P, Bifulco M, Matarese G. Immunometabolism of regulatory T cells in cancer. *Mol Aspects Med*. 2020 Nov 26:100936
- Bruzzaniti S, Cirillo E, Prencipe R, Giardino G, Lepore MT, Garziano F, Perna F, Procaccini C, Mascio L, Pagano C, Fattorusso V, Mozzillo E, Bifulco M, Matarese G, Franzese A, Pignata C, Galgani M. CD4+ T Cell Defects in a Mulibrey Patient With Specific TRIM37 Mutations. *Front Immunol*. 2020 Sep 18;11:1742
- Procaccini C, Matarese G. Where Mitochondria Meet Autoimmunity: The Treg Cell Link. *Cell Metab*. 2020 Oct 6;32(4):507-509
- Stampanoni Bassi M, Buttari F, Simonelli I, Gilio L, Furlan R, Finardi A, Marfia GA, Visconti A, Paolillo A, Storto M, Gambardella S, Ferese R, Salvetti M, Uccelli A, Matarese G, Centonze D, De Vito F. A Single Nucleotide ADA Genetic Variant Is Associated to Central Inflammation and Clinical Presentation in MS: Implications for Cladribine Treatment. *Genes (Basel)*. 2020 Sep 30;11(10):E1152
- Galgani M, Bruzzaniti S, Matarese G. Immunometabolism and autoimmunity. *Curr Opin Immunol*. 2020 Aug 8;67:10-17
- Li X, Colamatteo A, Kalafati L, Kajikawa T, Wang H, Lim JH, Bdeir K, Chung KJ, Yu X, Fusco C, Porcellini A, De Simone S, Matarese G, Chavakis T, De Rosa V, Hajishengallis G. The DEL-1- β 3 integrin axis promotes regulatory T cell responses during inflammation resolution. *J Clin Invest*. 2020 Aug 20:137530
- Garavelli S, Bruzzaniti S, Tagliabue E, Di Silvestre D, Prattichizzo F, Mozzillo E, Fattorusso V, La Sala L, Ceriello A, Puca AA, Mauri P, Strollo R, Mariagliano M, Maffei C, Petrelli A, Bosi E, Franzese A, Galgani M, Matarese G, de Candia P. Plasma circulating miR-23~27~24 clusters correlate with the immunometabolic derangement and predict C-peptide loss in children with type 1 diabetes. *Diabetologia*. 2020 Jul 29
- Vuotto C, Battistini L, Caltagirone C, Borsellino G. Neuroscientist. Gut Microbiota and Disorders of the Central Nervous System. 2020 Oct- Dec;26(5-6):487-502. doi: 10.1177/1073858420918826. Epub 2020 May 22
- Guerrero G, Ruggieri S, Picozza M, Piras E, Garzano F, Placido R, Gasperini C, Salvetti M, Buscarinu MC, Battistini L, Borsellino G, Angelini DF. EBV-specific CD8 T lymphocytes and B cells during glatiramer acetate therapy in patients with MS. *Neurol Neuroimmunol Neuroinflamm*. 2020 Aug 17;7(6):e876
- Kunkl M, Amormino C, Frascolla S, Sambucci M, De Bardi M, Caristi S, Arcieri S, Battistini L, Tuo-



- sto L. CD28 Autonomous Signaling Orchestrates IL-22 Expression and IL-22-Regulated Epithelial Barrier Functions in Human T Lymphocytes. *Front Immunol.* 2020 Oct 14;11:590964
- Di Rita A, Angelini DF, Maiorino T, Caputo V, Cascella R, Kumar M, Tiberti M, Lambrugh M, Wesch N, Löhr F, Dötsch V, Carinci M, D'Acunzo P, Chiurchiù V, Papaleo E, Rogov VV, Giardina E, Battistini L, Strappazzon F. Characterization of a natural variant of human NDP52 and its functional consequences on mitophagy. *Cell Death Differ.* 2021 Mar 15. doi: 10.1038/s41418-021-00766-3. Epub ahead of print. PMID: 33723372
 - Capone A, Naro C, Bianco M, De Bardi M, Noël F, Macchi P, Battistini L, Soumelis V, Volpe E, Sette C. Systems analysis of human T helper17 cell differentiation uncovers distinct time-regulated transcriptional modules. *iScience.* 2021 Apr 30;24(5):102492. doi: 10.1016/j.isci.2021.102492
 - Guerrero G, Mandelli A, Finardi A, Orrico M, D'Orso S, Picozza M, Noviello M, Beretta V, Bonetti B, Calabrese M, Marastoni D, De Rossi N, Capra R, Salvetti M, Buscarinu MC, Inglese M, Uccelli A, Moiola L, Raposo C, Muros-Le Rouzic E, Pedotti R, Filippi M, Bonini C, Battistini L, Borsellino G, Furlan R. Anti-SARS-CoV-2 T-stem cell memory persists in ocrelizumab-treated MS patients. *Mult Scler.* 2022 Oct;28(12):1937-1943. doi: 10.1177/13524585221102158. Epub 2022 Jun 20. PMID: 35723265
 - Gargano F, Guerrero G, Piras E, Serafini B, Di Paola M, Rizzetto L, Buscarinu MC, Annibaldi V, Vuotto C, De Bardi M, D'Orso S, Ruggieri S, Gasperini C, Pavarini L, Ristori G, Picozza M, Rosicarelli B, Ballerini C, Mechelli R, Vitali F, Cavaliere D, Salvetti M, Angelini DF, Borsellino G, De Filippo C, Battistini L. Proinflammatory mucosal-associated invariant CD8+ T cells react to gut flora yeasts and infiltrate multiple sclerosis brain. *Front Immunol.* 2022 Jul 28;13:890298. doi: 10.3389/fimmu.2022.890298

Progetto speciale di ricerca FISM finanziato nel 2018 per l'ammontare di 254.582 €
FISM Research special project funded in 2018 for an amount of € 254,582

DATA SHARING

DATA SHARING



Network Italiano di neuroimaging (INNI)

The Italian Neuroimaging
Network Initiative (INNI)

Network Italiano di Neuroimaging (INNI) per l'ottimizzazione dell'utilizzo di tecniche avanzate di Risonanza Magnetica in pazienti con SM



Massimo Filippi

Neuroimaging Research Unit, Istituto Scientifico San Raffaele,
Università "Vita-Salute" San Raffaele, Milano, Italia

LISTA DEI CENTRI PARTECIPANTI COINVOLTI NEL PROGETTO/ LIST OF THE PARTICIPANTS CENTER INVOLVED IN THE PROJECT

Massimo Filippi, Neuroimaging Research Unit, Istituto Scientifico San Raffaele,
Università "Vita-Salute" San Raffaele, Milano, Italia

Patrizia Pantano, Dipartimento di Neuroscienze Umane, Sapienza Università di Roma, Roma, Italia

Nicola De Stefano, Dipartimento di Scienze Mediche, Chirurgiche, Neurologiche, Metaboliche e dell'Invecchiamento, Dipartimento Medicina, Chirurgia e Neuroscienze, Università di Siena, Siena, Italia

Gioacchino Tedeschi, Centro di Alti Studi di Risonanza Magnetica SUN-FISM,
Università degli studi della Campania 'Luigi Vanvitelli', Napoli, Italia

La risonanza magnetica è un importante strumento paraclinico per diagnosticare e monitorare la sclerosi multipla (SM). La definizione di metodi standardizzati per la raccolta e l'analisi di tecniche MRI avanzate è fondamentale non solo per migliorare la comprensione della fisiopatologia e dell'evoluzione della malattia, ma anche per generare ipotesi di ricerca, monitorare il trattamento, aumentare il rapporto costo-efficacia e la potenza delle sperimentazioni cliniche.

L'iniziativa INNI, che coinvolge centri e ricercatori con competenze riconosciute a livello internazionale, ha l'obiettivo principale di determinare e convalidare nuovi biomarcatori di risonanza magnetica (RM) da utilizzare come predittori e / o risultati in futuri studi sulla SM. Inoltre, INNI mira anche a guidare l'applicazione della risonanza magnetica per la SM a livello nazionale. La definizione di standard di RM e protocolli clinici per la valutazione dei pazienti con SM in Italia, consentirà di integrare i dati ottenuti da diversi centri, per testare specifiche ipotesi di ricerca sulla fisiopatologia della malattia e sugli effetti del trattamento che potrebbero infine promuovere la medicina personalizzata.

Il network INNI è guidato da un Comitato Scientifico i cui membri sono il Principal Investigator dello studio (Massimo Filippi di Milano), i leader degli altri centri coinvolti

nell'iniziativa (Patrizia Pantano di Roma, Nicola De Stefano di Siena, Gioacchino Tedeschi di Napoli e Maria Rocca di Milano) e rappresentanti della Fondazione Italiana Sclerosi Multipla (FISM), proprietaria del database. Il database INNI online è disponibile all'indirizzo: <https://database.inni-ms.org>.

Il contenuto del database è disponibile solo per gli utenti autorizzati, che hanno ricevuto login e password appropriati.

Nel corso del secondo finanziamento di 3 anni e della sua estensione del 4° anno, è proseguito in linea con i tempi proposti, l'aggiornamento sulla piattaforma online dei dati clinici, neuropsicologici e RMI, raccolti presso i quattro centri partecipanti, utilizzando protocolli di acquisizione standardizzati e scanner a 3 Tesla.

Durante la prima fase del progetto è stato realizzato un sistema web-based (<https://database.inni-ms.org>) in collaborazione con il consorzio GARR, il network Italiano per la ricerca e la formazione (www.garr.it). Questo consente la raccolta online di dati clinici, neuropsicologici e di risonanza magnetica dai centri partecipanti.

Durante il primo triennio, INNI ha agito su tre diverse linee strategiche di azione:

1. Manutenzione e espansione continua dell'infrastruttura.
2. Sviluppo di progetti di ricerca ad hoc basati sul contenuto di dati di INNI, finalizzati a convalidare a livello

multicentrico le tecniche di risonanza magnetica.

3. Promozione di un piano per la standardizzazione dell'uso della risonanza magnetica a livello nazionale, proponendo protocolli di acquisizione standardizzati da applicare per lo studio della malattia e aiutando i centri in tutta Italia alla messa a punto di questo protocollo, al fine di rendere omogeneo l'approccio per le persone con SM a livello nazionale.

Per quanto riguarda l'Azione 1, sono stati caricati dati di nuovi soggetti; questo ha portato all'inserimento di ulteriori 825 soggetti negli ultimi 4 anni e attualmente sono presenti nel database i dati di 2.535 soggetti, con l'aumento di 1742 scansioni RM durante l'ultimo anno (attualmente, 4762 esami MRI, rispetto a 3020 esami all'inizio del progetto). Il centro di coordinamento ha continuato a svolgere una revisione dettagliata dei dati RMI dei soggetti attualmente disponibili nel repository INNI, per verificarne la qualità e la conformità al protocollo, secondo le modalità descritte in dettaglio in una pubblicazione dedicata. Attualmente sono state completate le modifiche della piattaforma online (<https://database.inni-ms.org>) concordate con GARR.

Per quanto riguarda l'Azione 2, i quattro centri partecipanti hanno completato l'analisi dei loro progetti di ricerca, che sono descritti nel Compendio 2023, e in pubblicazioni scientifiche dedicate.

Per quanto riguarda l'Azione 3, i progetti di ricerca hanno contribuito a identificare gli approcci più appropriati per la gestione dei dati multicentrici nella SM, in particolare per quanto riguarda la stima dell'atrofia. Sono state esaminate anche le fonti di variabilità inter centro nell'analisi della risonanza magnetica funzionale a riposo. I risultati della ricerca hanno contribuito, inoltre, a determinare le linee di ricerca strategiche per i progetti futuri, che saranno incentrati sulla progressione della malattia della SM. Sono stati organizzati corsi online per la diffusione di linee guida sull'uso della risonanza magnetica per la gestione della SM. Infine, INNI ha iniziato a interagire con altri database nazionali strategici (ad esempio, il registro italiano SM e patologie correlate) per supportare il futuro scambio e integrazione dei dati.

The Italian Neuroimaging Network Initiative (INNI) to optimize the use of advanced MRI techniques in patients with MS

Magnetic resonance imaging (MRI) is an important para-clinical tool to diagnose and monitor multiple sclerosis (MS). The definition of standardized methods for the collection and analysis of advanced MRI techniques is central not only to improve the understanding of disease pathophysiology and evolution, but also to generate research hypotheses, monitor treatment, increase cost-effectiveness and power of clinical trials.

The Italian Neuroimaging Network Initiative (INNI), which involves centres and investigators with an International recognized expertise, has the major goal to determine and validate novel magnetic resonance imaging (MRI) biomarkers to be utilized as predictors and/or outcomes in future MS studies. In addition, INNI aims also to guide the application of MRI in MS at a national level. The definition of MRI standards and clinical protocols for the evaluation of MS patients in Italy will allow to integrate the data obtained from different centers to test specific hypotheses of research on the pathophysiology of the disease and on the effects of the treatment which might ultimately promote personalized medicine.

The INNI network is led by a Scientific Committee whose

members are the principal investigator of the initiative (Massimo Filippi from Milan), the leaders of the other four MS centres involved in the initiative (Patrizia Pantano from Rome, Nicola De Stefano from Siena, Gioacchino Tedeschi from Naples, and Maria Rocca of Milan) and representatives of the Italian Multiple Sclerosis Foundation (FISM), owner of the database, but will be open to additional members.

The online INNI database is available at: <https://database.inni-ms.org>. The database content is available for authorized users only, who received appropriate login and password.

During the 3-year second grant and of its 4th year extension, the upload on the online platform of clinical, neuropsychological and MRI data collected at the four participating centers using standardized acquisition protocols and 3 T scanners, continued in line with the proposed timeframes.

A systematic verification of data upload was performed by weekly shipment of queries by e-mail. The coordinating center continued to perform a detailed revision of the MRI data of subjects currently available in the INNI repository, to verify their quality and protocol compliance, according

to the procedures described in details in a dedicated publication.

During the first phase of the project, a web-based system was created (<https://database.inni-ms.org>) in collaboration with the GARR consortium, the Italian network for research and education (www.garr.it). It allows the online collection of clinical, neuropsychological and MRI data from the participating centers.

During this three-year period, INNI acts on three different aspects:

- 1) Maintenance and continuous expansion of the infrastructure, including upload of new data, verification and pre-processing of data uploaded in the database, and implementation of new platform features (Action 1);
- 2) Development of ad-hoc research projects based on INNI content, aimed at a multicenter validation of MRI techniques (Action 2);
- 3) Promotion of a plan for the standardization of the use of MRI at a national level, by proposing standardized acquisition protocols to be applied for the study of MS patients and helping peripheral centers in the set-up of this protocol, in order to homogenize the approach to MS patients at a national level (Action 3).

With regards to Action 1, the upload of data of subjects led to the additional inclusion of 825 subjects during the last 4 years (currently, 2535 subjects, compared to 1710 subjects at grant start) and of additional 1742 MRI exams

(currently, 4762 MRI exams, compared to 3020 exams at grant start). A systematic verification of data upload was performed by weekly shipment of queries by e-mail. The coordinating center (Neuroimaging Research Unit - NRU, Milan, PI: Prof. Massimo Filippi) continued to perform a detailed revision of the MRI data of subjects currently available in the INNI repository, to verify their quality and protocol compliance, according to the procedures described in details in a dedicated publication.

Modifications of the online platform (<https://database.inni-ms.org>) agreed with GARR have been completed.

With regards to Action 2, the four participating centres completed the analysis of their research projects, which are described in the Compendium 2023 and in dedicated scientific publications.

With regards to Action 3, research projects helped to identify the most appropriate approaches for handling multicenter data in MS, especially with regards to atrophy estimation. Sources of inter-centre variability in the analysis of resting state functional MRI have been also examined. Research findings helped to determine strategic research lines for future projects, which will be centered on MS disease progression. Online courses for dissemination of guidelines about the use of MRI for MS management have been organized. Finally, INNI started to interact with other strategic national databases (e.g., the Italian Multiple Sclerosis and Related Disorders Register) to support future data exchange and integration.



PUBBLICAZIONI E COMUNICAZIONI A CONGRESSI PUBLICATIONS AND CONGRESS PRESENTATIONS

Pubblicazioni/Publications

- Storelli L, Rocca MA, Pantano P, Pagani E, De Stefano N, Tedeschi G, Zaratini P, Filippi M, for the INNI Network. MRI quality control for the Italian Neuroimaging Network Initiative: moving towards big data in multiple sclerosis. *J Neurol* 2019; 266:2848-2858 [epub ahead of print 17 August 2019; doi: 10.1007/s00415-019-09509-4]
- Pagani E, Rocca MA, De Meo E, Horsfield MA, Colombo B, Rodegher M, Filippi M. Structural connectivity in multiple sclerosis and modelling of disconnection. *Mult Scler J* 2020; 26: 220-232 [epub ahead of print 9 January 2019; doi: 10.1177/1352458518820759]
- Cordani C, Meani A, Esposito F, Valsasina P, Colombo B, Pagani E, Preziosa P, Comi G, Filippi M, Rocca MA. Imaging correlates of hand motor performance in multiple sclerosis: a multiparametric structural and functional MRI study. *Mult Scler J* 2020; 26: 233-244 [epub ahead of print 18 January 2019; doi: 10.1177/1352458518822145]
- Riccitelli GC, Pagani E, Meani A, Valsasina P, Preziosa P, Filippi M, Rocca MA. Cognitive impairment in benign multiple sclerosis: a multiparametric structural and functional MRI study. *J Neurol* 2020; 267: 3508-3517 [epub ahead of print 2 July 2020. doi: 10.1007/s00415-020-10025-z]
- Cordani C, Hidalgo de la Cruz M, Meani A, Valsasina P, Esposito F, Pagani E, Filippi M, Rocca MA. MRI correlates of clinical disability and hand-motor performance in multiple sclerosis phenotypes. *Mult Scler J* 2021; 27: 1205-1221 [epub ahead of print 14 September 2020. doi: 10.1177/1352458520958356]
- Rocca MA, Valsasina P, Meani A, Pagani E, Cordani C, Cervellin C, Filippi M. Network damage predicts clinical worsening in multiple sclerosis: a 6.4-year



- study. *Neurology Neuroimmunol Neuroinflamm* 2021; 8:e1006 [Epub ahead of print 21 May 2021; doi: 10.1212/NXI.0000000000001006]
- Hidalgo de la Cruz M, Valsasina P, Sangalli F, Esposito F, Rocca MA, Filippi M. Dynamic functional connectivity in the main clinical phenotypes of multiple sclerosis. *Brain Connect* 2021; 11: 678-690 [Epub ahead of print 3 Apr 2021; doi: 10.1089/brain.2020.0920]
 - Storelli L, Azzimonti M, Gueye M, Tedeschi G, De Stefano N, Pantano P, Filippi M, Rocca MA. A deep-learning approach to predicting disease progression in multiple sclerosis using magnetic resonance imaging. *Invest Radiol* 2022; 57: 423-432 [Epub ahead of print 28 January 2022; doi: 10.1097/RLI.0000000000000854]
 - Tommasin S, Iakovleva V, Rocca MA, Gianni C, Tedeschi G, De Stefano N, Pozzilli C, Filippi M, Pantano P, and the INNI network. Relation of sensorimotor and cognitive cerebellum functional connectivity with brain structural damage in patients with multiple sclerosis and no disability. *Eur J Neurol* 2022; 29: 2036-2046 [Epub ahead of print 17 March 2022; doi: 10.1111/ene.15329]
 - Pagani E, Storelli L, Pantano P, Petsas N, Tedeschi G, Gallo A, De Stefano N, Battaglini M, Rocca MA, Filippi M, for the INNI Network. Multicenter data harmonization for regional brain atrophy and application to in multiple sclerosis. *J Neurol* 2022 (in press) [Epub ahead of print 24 September 2022; doi: 10.1007/s00415-022-11387-2]
 - Marzi C, d'Ambrosio A, Diciotti S, Bisecco A, Altieri M, Filippi M, Rocca MA, Storelli L, Pantano P, Tommasin S, Cortese R, De Stefano N, Tedeschi G, Gallo A, The Inni Network. Prediction of the information processing speed performance in multiple sclerosis using a machine learning approach in a large multicenter magnetic resonance imaging data set. *Hum Brain Mapp.* 2022 Oct 18. doi: 10.1002/hbm.26106. Online ahead of print. PMID: 36255155.
 - De Rosa AP, Esposito F, Valsasina P, d'Ambrosio A, Bisecco A, Rocca MA, Tommasin S, Marzi C, De Stefano N, Battaglini M, Pantano P, Cirillo M, Tedeschi G, Filippi M, Gallo A; INNI Network. Resting-state functional MRI in multicenter studies on multiple sclerosis: a report on raw data quality and functional connectivity features from the Italian Neuroimaging Network Initiative. *J Neurol* 2022 Nov 9. doi: 10.1007/s00415-022-11479-z. Online ahead of print. PMID: 36350401
- Comunicazioni a Congressi/Congress presentations
- Rocca MA, Riccitelli GC, Meani A, Preziosa P, Comi G, Filippi M. Cognitive impairment in benign MS: a multiparametric structural and functional MRI study. *Mult Scler J* 2018; 24 (S2): 239 (ECTRIMS 2018)
 - Rocca MA, Valsasina P, Colombo B, Martinelli V, Falini A, Comi G, Filippi M. Modulation of cortico-subcortical functional connectivity occurs after symptomatic treatment of fatigue in patients with multiple sclerosis. *Mult Scler J* 2018; 24 (S2): 317-318 (ECTRIMS 2018)
 - Cordani C, Meani A, Esposito F, Radaelli M, Colombo B, Comi G, Filippi M, Rocca MA. Mapping the imaging correlates of hand motor performance in multiple sclerosis: a combined structural and functional MRI study. *Mult Scler J* 2018; 24 (S2): 410-411 (ECTRIMS 2018)
 - Rocca MA, Riccitelli GC, Meani A, Preziosa P, Filippi M. Cognitive impairment in benign multiple sclerosis: a multiparametric structural and functional MRI study. *Neurol Sci* 2018; 39 (Suppl October): S20 (SIN 2018)
 - Rocca MA, Valsasina P, Colombo B, Martinelli V, Falini A, Comi G, Filippi M. Modulation of cortico-subcortical functional connectivity occurs after symptomatic treatment of fatigue in patients with multiple sclerosis. *Neurol Sci* 2018; 39 (Suppl October): S283-S284 (SIN 2018)
 - Cordani C, Meani A, Esposito F, Radaelli M, Colombo B, Filippi M, Rocca MA. Imaging correlates of hand motor performance in multiple sclerosis: a multiparametric structural and functional MRI study. *Neurol Sci* 2018; 39 (Suppl October): S296-S297 (SIN 2018)
 - Filippi M, Meani A, Cervellin C, Valsasina P, Cordani C, Pagani E, Preziosa P, Rocca MA. Structural and functional damage of the sensorimotor network contribute to predict disability progression and phenotype evolution in patients with multiple sclerosis: a 6.5-year follow-up study. *Neurology* 2019; 92 (15 Supplement): S49.004 (AAN 2019)
 - Storelli L, Rocca MA, Pagani P, Pantano P, De Stefano N, Tedeschi G, Zaratin P, Filippi M. Integration and characterization of brain MRI data from the Italian Neuroimaging Network Initiative (INNI) for the study of multiple sclerosis. *Neurology* 2019; 92 (15 Supplement): P5.2-034 (AAN 2019)
 - Storelli L, Pagani E, Pantano P, De Stefano N, Tedeschi G, Zaratin P, Filippi M, Rocca MA. Integration and Characterization of Brain MRI Data from the Italian Neuroimaging Network Initiative (INNI) for the Study of Multiple Sclerosis. *OSR Scientific Retreat, Baveno, 14-16 marzo 2019*
 - Filippi M, Storelli L, Meani A, Cervellin C, Valsasina P, Cordani C, Pagani E, Preziosa P, Rocca MA. Structural and functional damage of the sensorimotor network contribute to predict disability progression and phenotype evolution in patients with multiple sclerosis: a 6.5-year follow-up study. *Proc Intl Soc Mag Reson Med* 2019; 27: 3152
 - Preziosa P, Rocca MA, Riccitelli GC, Pagani E, Me-



- ani A, Valsasina P, Filippi M. Relationship between cognitive impairment and MRI brain abnormalities in benign multiple sclerosis: a multiparametric study. *IMSCOGS 2019*. Amsterdam, 6-7 June 2019
- Riccitelli GC, Rocca MA, Pagani E, Meani A, Preziosa P, Valsasina P, Filippi M. Relationship between cognitive impairment and MRI brain abnormalities in benign multiple sclerosis: a multiparametric study. *Eur J Neurol* 2019; 26 (Suppl 1): 288 (EAN 2019)
 - Storelli L, Rocca MA, Pagani E, Pantano P, De Stefano N, Tedeschi G, Zaratini P, Filippi M. Integration and Characterization of Brain MRI Data from the Italian Neuroimaging Network Initiative (INNI) for the Study of Multiple Sclerosis. Accepted as e-presentation at the 5th EAN Congress, Oslo, 29th June-2nd July 2019
 - Filippi M, Meani A, Cervellin C, Valsasina P, Cordani C, Pagani E, Preziosa P, Rocca MA. Structural and functional damage of the sensorimotor network contribute to predict disability progression and phenotype evolution in patients with multiple sclerosis: a 6.5-year follow-up study. *Mult Scler J* 2019; 25 (S2): 284-285 (ECTRIMS 2019)
 - Storelli L, Rocca MA, Pagani E, Pantano P, De Stefano N, Tedeschi G, Zaratini P, Filippi M. Integration and characterization of brain MRI data from the Italian neuroimaging network initiative (INNI) for the study of multiple sclerosis. *Mult Scler* 2019; 25 (S2): 480 (ECTRIMS 2019)
 - Storelli L, Rocca MA, Pagani E, Pantano P, De Stefano N, Tedeschi G, Zaratini P, Filippi M. Integration and characterization of brain MRI data from the Italian Neuroimaging Network Initiative (INNI) for the study of multiple sclerosis. *Neurol Sci* 2019; 40 (Suppl October 2019): S286-S287 (SIN 2019)
 - Rocca MA, Meani A, Cervellin C, Valsasina P, Cordani C, Pagani E, Preziosa P, Filippi M. Structural and functional damage of the sensorimotor network contribute to predict disability progression and phenotype evolution in patients with multiple sclerosis: a 6.5 follow-up study. *Neurol Sci* 2019; 40 (Suppl October 2019): S317-S318 (SIN 2019)
 - Hidalgo de la Cruz M, Valsasina P, Sangalli F, Espósito F, Filippi M, Rocca MA. Characterizing dynamic functional connectivity in the main clinical phenotypes of multiple sclerosis (1310). *Neurology* 2020; 94 (15 Supplement): P2.1-005 (AAN 2020)
 - Mistri D, Meani A, Tedeschi G, Pantano P, Zaratini P, De Stefano N, Preziosa P, Rocca MA, Filippi M. Impact of multiple sclerosis on cognitive aging: a multicenter study. *Mult Scler J* 2020; 26 (S3): 505-506 (ECTRIMS 2020)
 - Mistri D, Meani A, Tedeschi G, Pantano P, Zaratini P, De Stefano N, Preziosa P, Rocca MA. Impact of multiple sclerosis on cognitive aging: a multicenter study. *IX Congresso Società Italiana di Neuropsicologia*, 20-21 novembre 2020
 - Marzi C, Bisecco A, d'Ambrosio A, Diciotti S, Altieri M, Battaglini M, De Stefano N, Pagani E, Pantano P, Piervincenzi C, Rocca MA, Storelli L, Filippi M, Gallo A, Tedeschi G, and the Italian Neuroimaging Network Initiative. Structural MRI determinants of cognitive-radiological mismatch in MS patients. *Congresso Scientifico Annuale Associazione Italiana Sclerosi Multipla e la sua Fondazione*, Roma 26-27 novembre 2020
 - Mistri D, Meani A, Tedeschi G, Pantano P, Zaratini P, De Stefano N, Preziosa P, Rocca MA, Filippi M. Impact of multiple sclerosis on cognitive aging: a multicenter study. *Neurol Sci* 2020; 41 (Suppl 1): S279 (SIN 2020)
 - Mistri D, Meani A, Tedeschi G, Pantano P, Zaratini P, De Stefano N, Preziosa P, Rocca MA, Filippi M. Impact of multiple sclerosis on cognitive aging: a multicenter study. *Neurology* 2021; 96 (15 supplement): 2556 (AAN 2021)
 - Storelli L, Pagani E, Pantano P, Petsas N, Tedeschi G, Gallo A, De Stefano N, Battaglini M, Zaratini P, Rocca MA, Filippi M. Atrophy quantification in multiple sclerosis: application to the multicenter INNI dataset. *Eur J Neurol* 2021; 28 (Suppl 1): 418 (EAN 2021)
 - Storelli L, Pagani E, Pantano P, Petsas N, Tedeschi G, Gallo A, De Stefano N, Battaglini M, Zaratini P, Rocca MA, Filippi M. Atrophy quantification in multiple sclerosis: Application to the multicenter INNI dataset. *J Neurol Sci* 2021; 429: 96 (118291), doi:10.1016/j.jns.2021.118291 (WCN/SIN 2021)
 - d'Ambrosio A, Marzi C, Bisecco A, Diciotti S, Altieri M, Battaglini M, De Stefano N, Pagani E, Pantano P, Piervincenzi C, Rocca MA, Storelli L, Filippi M, Tedeschi G, Gallo A, Italian Neuroimaging Network Initiative. Selecting structural MRI predictors of cognitive status in MS patients through a machine learning approach applied to a large multicenter MS population. *Mult Scler J* 2021; 27 (2S): 85-86 (ECTRIMS 2021)
 - Storelli L, Pagani E, Pantano P, Petsas N, Tedeschi G, Gallo A, De Stefano N, Battaglini M, Zaratini P, Rocca MA, Filippi M. Atrophy quantification in multiple sclerosis: application to the multicenter INNI dataset. *Mult Scler J* 2021; 27 (2S): 398 (ECTRIMS 2021)
 - Luchetti L, Battaglini M, Leoncini M, Cortese R, Stromillo ML, Inderiyas M, Gentile G, Gallo A, Tedeschi G, Ruggieri S, Pantano P, Pagani E, Rocca MA, Filippi M, De Stefano N, INNI working group. Hippocampal atrophy is relevant to memory deficits in early Relapsing Remitting MS patients.



- MA, Filippi M, De Stefano N, INNI working group. Hippocampal atrophy is relevant to memory deficits in early Relapsing Remitting MS patients. *Mult Scler J* 2021; 27 (2S): 401-402 (ECTRIMS 2021)
- Pagani E, Storelli L, Pantano P, Petsas N, Tedeschi G, Gallo A, De Stefano N, Battaglini M, Zaratini P, Rocca MA, Filippi M. Regional analysis of atrophy in multiple sclerosis in a large multicenter dataset. *Mult Scler J* 2021; 27 (2S): 435-436 (ECTRIMS 2021)
- Storelli L, Pagani E, Meani A, Preziosa P, Filippi M, Rocca MA. Advanced diffusion-weighted imaging models better characterize white matter neurodegeneration and clinical outcomes in multiple sclerosis. *Neurology* 2022; 98 (18 Supplement): P1-1. *Virtual (AAN 2022)*
- Storelli L, Azzimonti M, Gueye M, Preziosa P, Tedeschi G, De Stefano N, Pantano P, Filippi M, Rocca MA. A deep-learning approach to predicting disease progression in multiple sclerosis using magnetic resonance imaging. *Neurology* 2022; 98 (18 Supplement): P1-1. *Virtual (AAN 2022)*
- Storelli L, Azzimonti M, Gueye M, Preziosa P, Vizzino C, Tedeschi G, De Stefano N, Pantano P, Filippi M, Rocca MA. A Deep-learning approach to predicting disease progression in multiple sclerosis using magnetic resonance imaging. *Proc Intl Soc Mag Reson* 2022; *Med* 30: 200 (ISMRM 2022)
- Storelli L, Azzimonti M, Gueye M, Vizzino C, Preziosa P, Tedeschi G, De Stefano N, Pantano P, Filippi M, Rocca MA. A deep-learning approach to predicting disease progression in multiple sclerosis using magnetic resonance imaging. *Eur J Neurol* 2022; 29 (Suppl 1): 118-119 (EAN 2022)
- Storelli L, Pagani E, Pantano P, Tedeschi G, De Stefano N, Rocca MA, Filippi M, INNI network. Quantification of thalamic volume in multiple sclerosis: from the multicenter INNI dataset towards the clinical application. *Mult Scler J* 2022; 28 (3S): 265-266 (P202) (ECTRIMS 2022)
- Storelli L, Pagani E, Pantano P, Tedeschi G, De Stefano N, Rocca MA, Filippi M. Quantification of thalamic volume in multiple sclerosis: from the multicenter INNI dataset towards the clinical application. *Neurol Sci* 2022; 43 (Suppl 1): S365 (SIN 2022)

Fondi assegnati: 865.790 € per il triennio (642.640 € per le infrastrutture; 223.150 € per progetti specifici) e 300.000 € per il 4° anno di estensione

Funds awarded: € 865,790 for three years (€ 642,640 for infrastructure; € 223,150 for specific projects) and € 300,000 for the 4th-year extension

**Registro Italiano
Sclerosi Multipla
e Patologie Correlate**

Italian Multiple
Sclerosis And Related
Disorders Register

Indice / Index

REGISTRO ITALIANO SCLEROSI MULTIPLA E PATOLOGIE CORRELATE ITALIAN MULTIPLE SCLEROSIS AND RELATED DISORDERS REGISTER

Introduzione / Introduction	115
Progetti terminati / Ended projects	127
Paola Mosconi Monitoraggio dei dati: l'esperienza del Registro Italiano Sclerosi Multipla & Patologie Correlate Data monitoring roadmap. The experience of the Italian Multiple Sclerosis and Related Disorders Register	127
Paola Cavalla La pandemia SARS-CoV-2 come modello per valutare la relazione tra infezioni virali intercorrenti e attività della malattia nella Sclerosi Multipla: uno studio caso-controllo con propensity score matching SARS-CoV-2 pandemic as a model to assess the relationship between intercurrent viral infections and disease activity in Multiple Sclerosis: a propensity score matched case-control study	130
Francesco Patti Studio retrospettivo multicentrico sulla valutazione dell'efficacia di ocrelizumab nei pazienti affetti da sclerosi multipla primariamente progressiva (OPPORTUNITY) Effectiveness of Ocrelizumab in Primary Progressive Multiple Sclerosis: a multicenter, retrospective, real-world study (OPPORTUNITY)	133

Il Registro Italiano Sclerosi Multipla e patologie correlate è realizzato con il contributo di FISM, 5permille e donazioni, e delle aziende:

The Italian Multiple Sclerosis Registry and related disorders is supported by the contribution of FISM, the Italian "5x1000" Income tax, donations, and the following companies:



Registro Italiano Sclerosi Multipla e Patologie Correlate

Il Registro Italiano Sclerosi Multipla e Patologie Correlate (RISM&PC, abbreviato in RISM) è uno dei Progetti Speciali di punta della ricerca sostenuta da AISM e dalla sua Fondazione ha **l'obiettivo di creare una infrastruttura organizzata multicentrica per raccogliere i dati di tutti i pazienti con sclerosi multipla seguiti nei diversi Centri sclerosi multipla (SM) italiani.**

Dal 2000 è iniziata la raccolta italiana di dati clinici sulla SM nei Centri clinici SM aderenti ad un progetto di ricerca su un database nazionale dedicato alla sclerosi multipla (the Italian MS Database Network).

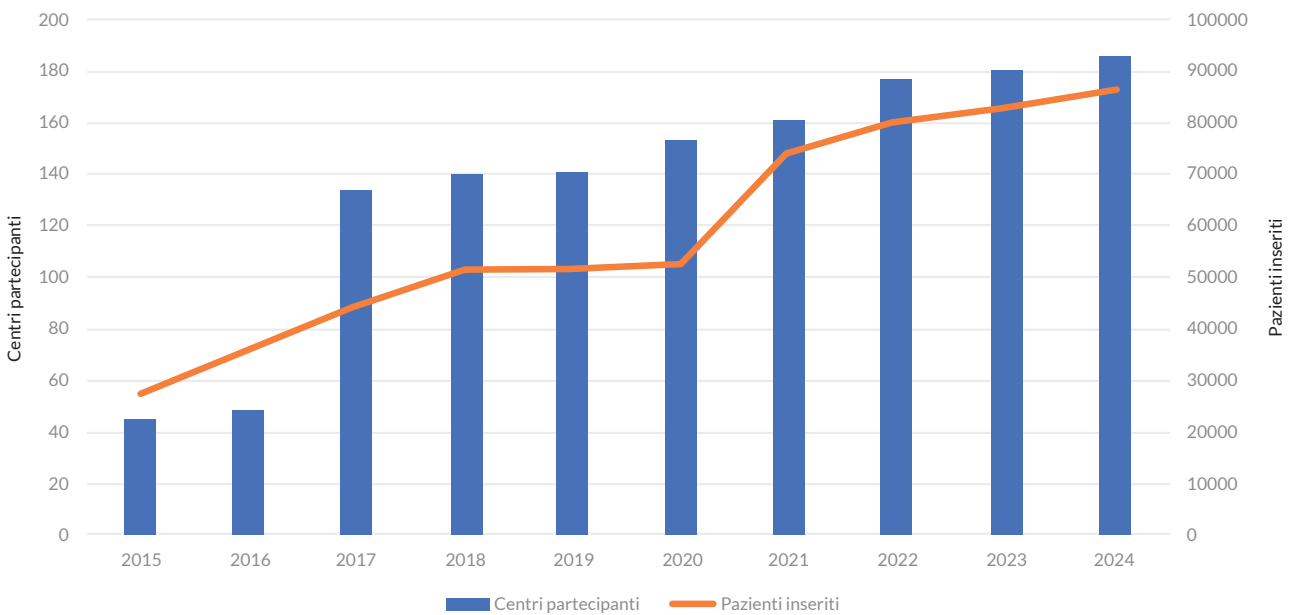
Dal 2014 FISM, in collaborazione con l'Università degli Studi di Bari e i Centri clinici italiani SM, ha promosso e finanziato la creazione del Registro Italiano SM.

Dal 2021, per una maggiore inclusività, la denominazione del Registro è stata modificata in: Registro Italiano Sclerosi Multipla e Patologie Correlate (RISM). A questo proposito è stato sviluppato un nuovo modulo per la raccolta di informazioni su forme rare di malattie demielinizzanti: malattie demielinizzanti e disturbi dello spettro della neuromielite ottica (NMOSD), come la neuromielite ottica e le patologie associate alla presenza di anticorpi anti-MOG (MOGAD).

Oltre 185 Centri clinici italiani hanno aderito al progetto e, ad oggi, il RISM raccoglie le storie cliniche di **circa 86.600 persone con SM** (dati aggiornati a gennaio 2024).

Il Registro è dunque pronto a diventare un vero strumento di ricerca scientifica utile per lo sviluppo di studi epidemiologici e clinici oltre a essere un valido strumento per la programmazione sanitaria.

Il RISM permetterà la promozione dell'equità di accesso alle cure per le persone con SM, attraverso il confronto delle pratiche assistenziali dei diversi Centri oltre all'analisi delle politiche assistenziali di carattere nazionale e locale.



AREE PRIORITARIE

Il Comitato Scientifico del progetto RISM ha individuato due aree prioritarie:

- **SANITÀ PUBBLICA.** Necessità di impostare un censimento delle persone con SM e patologie correlate, aggiornato in maniera sistematica e continuativa, allo scopo di ottenere stime precise di prevalenza e incidenza della malattia a livello regionale e nazionale per il perseguimento di finalità di prevenzione, diagnosi, cura, programmazione sanitaria, verifica della qualità delle cure, ottimizzazione dell'assistenza sanitaria, disponibilità di informazioni socio-assistenziali e valutazione dell'accesso a cure e servizi sanitari sul territorio italiano.
- **PROGETTI DI RICERCA.** Necessità di raccogliere informazioni utili per la pianificazione di studi di ricerca per specifiche progettualità. In particolare, studi sull'epidemiologia della malattia e sulla prognosi, sull'ottimizzazione del trattamento (efficacia e sicurezza), sul decorso della malattia, sugli stadi preclinici/subclinici della malattia (CIS e RIS).

INFRASTRUTTURE

LA GOVERNANCE

La governance del RISM comprende un Comitato Esecutivo (presieduto da FISM e dall'Università di Bari) con ruolo amministrativo e organizzativo e un Comitato Scientifico (comprendente clinici, statistici, rappresentanti dei centri SM e della Società Italiana di Neurologia) che sovrintende alle iniziative scientifiche, promuove specifici progetti strategici e approva le richieste di accesso ai dati centralizzati per ulteriori progetti di ricerca. L'attuale **Comitato Scientifico** è composto da:

Maria Trojano (rappresentante Università di Bari, Presidente)

Centro SM, Dipartimento di Scienze Mediche di Base, Neuroscienze ed Organi di Senso Università di Bari, Bari, Italia

Mario Alberto Battaglia (rappresentante FISM, Vicepresidente)

Fondazione Italiana Sclerosi Multipla - FISM, Genova, Italia

Paola Mosconi (rappresentante Istituto Mario Negri)

Istituto di Ricerche Farmacologiche Mario Negri, IRCCS, Milano, Italia

Claudio Gasperini (rappresentante Società Italiana di Neurologia, SIN)

Dipartimento di Neuroscienze, Azienda Ospedaliera San Camillo-Forlanini, Roma, Italia

Eleonora Cocco (rappresentante Centri clinici)

Centro Regionale per la diagnosi e la cura della Sclerosi Multipla ASL8 P.O. Binaghi, Cagliari, Italia

Matilde Inglese (rappresentante Centri clinici)

Centro per lo studio e la cura della Sclerosi Multipla e Malattie Demielinizzanti - Dipartimento di Neuroscienze, Riabilitazione, Oftalmologia, Genetica e Scienze Materno - Infantili, Clinica Neurologica - Ospedale Policlinico San Martino (DiNOGMI), Genova, Italia

Carla Tortorella (rappresentante Centri clinici)

Centro Sclerosi Multipla - Az. Osp. S. Camillo Forlanini, Roma, Italia

Marco Capobianco (segretario)

Centro Sclerosi Multipla, SC Neurologia, AO Santa Croce e Carle, Cuneo, Italia

Maria Pia Amato (esperto)

Dipartimento di NEUROFARBA, Università di Firenze, IRCCS Fondazione Don Carlo Gnocchi, Firenze, Italia

Giancarlo Comi (esperto)

Università Vita-Salute, San Raffaele, Istituto Scientifico San Raffaele, Milano, Italia

Massimo Filippi (esperto)

Centro Sclerosi Multipla - Ospedale San Raffaele, Milano, Italia

STRUTTURE OPERATIVE

Per il Registro operano due strutture operative: la Struttura Amministrativa e di Coordinamento (SAC), con sede presso la FISM di Genova e la Struttura Tecnico Operativa (STO), con sede presso l'Istituto di Ricerche Farmacologiche Mario Negri, IRCCS di Milano.

I NETWORK DEL REGISTRO

NETWORK DI CENTRI CLINICI PER LA SM

I Centri per la SM sono riconosciuti come componenti chiave per la cura della SM in Italia. Ci sono circa 240 centri per la SM di varie dimensioni e spesso si trovano all'interno di Dipartimenti di Neurologia degli ospedali pubblici. Attualmente circa il 75% dei centri italiani per la SM ha aderito al RISM.

NETWORK DEGLI ASSISTENTI DI RICERCA

Con l'obiettivo di aumentare la qualità della raccolta e dell'inserimento dei dati, è stata formata *ad hoc* una rete di giovani assistenti di ricerca. Attualmente 26 assistenti di ricerca sono attivi in 15 regioni italiane (oltre 130 centri) e sono assegnati a uno o più centri in base al loro contributo al progetto in termini di numero di pazienti registrati e distribuzione geografica. Le loro attività comprendono: supportare la fase di avvio del progetto e la sua attuazione puntuale presso i centri SM e garantire una raccolta e una gestione standardizzate dei dati.

Elenco degli assistenti di ricerca attivi

Fondazione Italiana Sclerosi Multipla, Genova

Senior staff: Beatrice Biolzi, Daniele Dell'Anna, Sonia Di Lemme, Chiara Di Tillio, Federica Martini, Ilaria Maietta, Ramona Piredda, Silvia Perugini, Chiara Raimondi, Antonino Rallo, Monica Romoli, Ilaria Rossi

Junior staff: Camilla Borgo, Antonella Carta, Paola Crida, Marco Delogu, Daniele Di Giulio Cesare, Teresa Fonsdituri, Agata Marchese, Martina Marciano, Silvia Marinetto, Chiara Monetti, Ludovica Roselli, Valentina Tallarico, Stefania Treccarichi, Eliana Zaccone

COMITATI CONSULTIVI DEGLI STAKEHOLDER

Per soddisfare le priorità strategiche del Registro, gli stakeholder comprese le industrie sono coinvolti attraverso un forum consultivo. Attualmente è attivo un Industry Advisory Board, che include le principali compagnie farmaceutiche che si occupano di SM.

SOFTWARE DEDICATO

Durante i primi anni, il Registro ha utilizzato un software di soluzione client-server, una cartella medica computerizzata offline che necessitava di un caricamento periodico da parte dei Centri clinici. A fine 2016 è stato sviluppato un nuovo software web-based, denominato RISM-App. Da aprile 2021, il Registro utilizza esclusivamente la RISM-App, attualmente alla versione 3.8. L'accesso al software avviene attraverso l'area riservata del sito web del progetto (<https://www.registroitalianosm.it/>).

COMPETENZE DELLA NUOVA PIATTAFORMA

- **Focalizzata sul paziente:** il paziente viene registrato una sola volta nella banca dati attraverso un codice fiscale (codice personale identificativo univoco). Questo è un punto cruciale perché l'unicità del soggetto SM registrato produce un miglioramento significativo nella messa in comune dei dati nella banca dati centrale. Nessun caso duplicato è presente nel database.
- **Pratica:** l'inserimento dei dati è possibile attraverso diversi dispositivi (PC, cellulare, tablet).
- **Sicura:** il sistema rispetta gli standard richiesti dal Regolamento Generale sulla Protezione dei Dati dell'Unione Europea (GDPR) 2016/679 e ogni centro inserisce i dati attraverso una password personalizzata.
- **Facilmente accessibile:** è sufficiente un accesso a Internet.
- **Standardizzata:** il database utilizza una codifica standardizzata.
- **Stampabile:** è possibile stampare un referto contenente le informazioni sul paziente.
- **Modulare:** è possibile aggiungere più moduli.

STRUTTURA DEL SOFTWARE

Il database del Registro raccoglie un set di dati essenziali per caratterizzare il profilo clinico delle persone con SM più altre variabili incluse in moduli specifici come:

Farmaci

Questa sezione è dedicata alla storia del trattamento del paziente. Questo modulo include il piano di gestione del rischio clinico per tutti i trattamenti modificanti la malattia. Inoltre gli eventi avversi e gli eventi avversi gravi sono codificati utilizzando il dizionario medico MedDRA, mentre le comorbidità sono codificate utilizzando la classificazione internazionale ICD9.

Risonanza magnetica

Questa sezione è dedicata alle misure di risonanza magnetica convenzionale (RMI) (numeri di lesioni cerebrali in T2 e in T1 e Gd+T1).

Strumentale

Questa sezione raccoglie informazioni su test di laboratorio (es. virologici, immunologici, di funzionalità tiroidea e altri test specifici), liquor, potenziali evocati, EEG, ECG.

Covid-19

Questa sezione raccoglie informazioni relative all'infezione da Covid-19 come: diagnosi, gravità, esito e correlazione con farmaci modificanti la malattia (DMT) e vaccinazioni.

NMOSD e MOGAD

Questa sezione è dedicata alle forme rare di malattie demielinizzanti e disturbi dello spettro della neuromielite ottica (NMOSD) come la neuromielite ottica e le patologie associate alla presenza di anticorpi anti-MOG (MOGAD).

Gravidanza

Questa sezione raccoglie informazioni riguardanti la gravidanza, gli outcome materni e fetali dei pazienti con SM e dei loro figli.

SM a esordio pediatrico

Questa sezione raccoglie informazioni sulla SM a esordio pediatrico. Questo modulo include informazioni quali: fattori di rischio ambientale, vaccinazioni, funzionamento cognitivo nel tempo e caratteristiche specifiche legate alla risonanza magnetica.

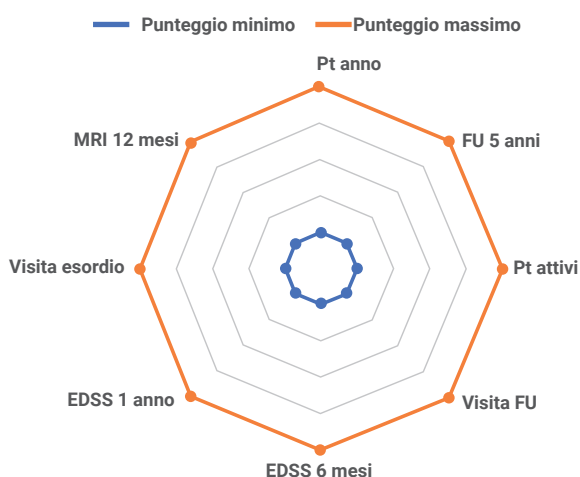
MONITORAGGIO DEI DATI

Per garantire un'elevata qualità delle informazioni raccolte i dati vengono monitorati centralmente. Sono stati implementati diversi strumenti di controllo al fine di aumentare la qualità e la generalizzazione dei dati raccolti. Periodicamente, tutti i centri vengono raggiunti con un report su tutti i dati raccolti e un report personalizzato con richieste sui dati mancanti o sulle incongruenze tra le variabili inserite. I controlli di qualità riguardano:

- **date:** presenza/assenza, completezza, anomalie e coerenza tra tutti i dati raccolti nel dataset
- **completezza:** valutazione complessiva del livello di completezza delle variabili incluse
- **accuratezza:** proporzione di variabili con valore corrispondente al loro range
- **consistenza:** congruenza con altre variabili.

Ogni 2 mesi gli assistenti di ricerca ricevono un aggiornamento dell'andamento dei centri che hanno in carico e lo condividono con il responsabile del centro partecipante. Quest'ultimo riceve mensilmente una comunicazione con aggiornamenti e chiarimenti riguardo l'inserimento di dati e le procedure inerenti il progetto.

Inoltre, è stato individuato e adottato un set di 8 indicatori di performance con l'obiettivo di migliorare la qualità, la completezza dell'indagine, la tempestività, la generalizzazione e la rappresentatività dei dati raccolti. Per ogni indicatore o dominio esaminato, a ciascun centro partecipante è stato assegnato un punteggio di cinque per la performance più alta, mentre sono stati attribuiti punteggi da 4 a 1 per la performance progressivamente inferiore. Ogni 6 mesi, ogni centro partecipante riceve un report in cui i dati e gli indicatori di performance del proprio centro vengono confrontati con l'intero campione: in questo modo ogni centro può valutare le prestazioni più critiche e il livello di miglioramento nel tempo. Di seguito gli 8 indicatori di performance e la loro rappresentazione grafica (grafico radar):



1. **Pt anno:** numero di pazienti annuo
2. **FU 5 anni:** % di pazienti con follow-up maggiore di 5 anni
3. **Pt attivi:** almeno 1 visita negli ultimi 2 anni
4. **Visita FU:** almeno 1 visita ogni 6 mesi/Follow-up
5. **EDSS 6 mesi:** almeno 1 valutazione EDSS ogni 6 mesi/ Follow-up
6. **EDSS 1 anno:** almeno 1 valutazione EDSS ogni 12 mesi/ Follow-up
7. **Visita esordio:** almeno 1 visita entro 1 anno dall'esordio
8. **MRI 12 mesi:** almeno 1 valutazione MRI ogni anno

L'INIZIATIVA EMA (EUROPEAN MEDICINES AGENCY) PER I REGISTRI DEI PAZIENTI

I dati real world sono importanti in quanto offrono una raccolta di dati a lungo termine e consentono di valutare la storia del trattamento del paziente durante il decorso della malattia.

L'uso dei registri di malattia può fornire una migliore comprensione degli effetti della comorbidità sull'efficacia e sicurezza dei trattamenti che modificano la malattia. L'EMA è interessata ai dati real world relativi alla valutazione della sicurezza dei farmaci post-marketing (ovvero, studio sulla sicurezza post-autorizzazione - PASS). L'iniziativa internazionale di condivisione dei dati "Big MS Data network", che include il RISM, è stata riconosciuta dall'EMA come un'iniziativa di alta qualità in grado di fornire dati per i progetti PASS.

Attualmente il RISM partecipa a quattro progetti PASS attivi:

1. Uno studio osservazionale che utilizza i dati del programma statunitense Tysabri TOUCH e seleziona i Registri SM Europei per stimare il rischio di leucoencefalopatia multifocale progressiva e altre gravi infezioni opportunistiche tra i pazienti che sono stati esposti a un trattamento che modifica la malattia della sclerosi multipla prima del trattamento con **Natalizumab (BIOGEN)**
2. Sorveglianza a lungo termine (studio MANUSCRIPT) di pazienti con sclerosi multipla trattati con **Ocrelizumab (ROCHE)**
3. Sorveglianza a lungo termine (studio CLARION) in pazienti con sclerosi multipla recidivante altamente attiva trattati con **Cladribina orale (MERCK)**
4. Studio retrospettivo di sicurezza a lungo termine sul farmaco **Ofatumumab** che utilizza dati reali provenienti da registri di sclerosi multipla esistenti e da database di diversi paesi (**NOVARTIS**)

PROGETTI DI RICERCA BASATI SUI DATI DEL REGISTRO ITALIANO SM E PATOLOGIE CORRELATE

Attualmente sono 55 i progetti approvati, 32 completati e 23 in corso.

Le principali aree prioritarie dei progetti di ricerca

- **Epidemiologia descrittiva** (prevalenza, incidenza e mortalità)
- **Epidemiologia analitica** (fattori di rischio, comorbidità e fattori prognostici)
- **Decorsi SM e patologie correlate** (benigno, RIS, CIS, forma progressiva, esordio pediatrico, esordio tardivo, forma aggressiva, NMOSD e MOGAD)
- **Terapia** (fattori prognostici e modelli predittivi di risposta al trattamento, aderenza al trattamento, efficacia del trattamento a breve e lungo termine, sicurezza, efficacia comparativa/sicurezza tra trattamenti, algoritmi di trattamento e switch).

Dal 2018 a febbraio 2024 sono state pubblicate circa 30 articoli peer-reviewed su riviste internazionali.

Di seguito è riportata la lista dei 23 progetti in corso.

<i>Responsabile del progetto</i>	<i>Titolo del progetto</i>	<i>Area prioritaria</i>
Monica Ulivelli	<i>Stato di immunizzazione verso le principali malattie trasmissibili. prevenibili da vaccino, e sicurezza dei vaccini, in una coorte di pazienti con SM. Studio multicentrico Italiano</i>	<i>Epidemiologia analitica - fattori di rischio</i>
Roberto Bergamaschi	<i>L'inquinamento atmosferico come possibile fattore di rischio della SM. Uno studio ecologico sulla popolazione Italiana (Studio AIRMUS)</i>	<i>Epidemiologia analitica - fattori di rischio</i>
Jessica Frau	<i>Valutazione dei fattori prognostici al basale in un'ampia coorte italiana di pazienti affetti da SM</i>	<i>Epidemiologia analitica - fattori prognostici</i>
Maurizio Leone	<i>Integrazione di dati genetici e fenotipici tra il data-base PROGEMUS e il Registro Italiano SM</i>	<i>Epidemiologia analitica - fattori prognostici</i>
Marco Salvetti	<i>Utilizzo di tecniche di Machine Learning per prevedere il decorso della SM recidivante-remittente nei singoli pazienti</i>	<i>Epidemiologia analitica - fattori prognostici</i>
Francesco Patti	<i>Studio retrospettivo sulle caratteristiche cliniche e radiologiche dei pazienti ad esordio tardivo di sclerosi multipla (LOMS)</i>	<i>Decorsi SM e patologie correlate - esordio tardivo</i>
Maria Pia Amato	<i>Valutazione dell'efficacia in funzione dell'età, dei trattamenti per la sclerosi multipla in una coorte Real-Life</i>	<i>Terapia - fattori prognostici e modelli predittivi di risposte al trattamento</i>
Massimo Filippi	<i>Fattori predittivi di risposta alla terapia con cladribina in pazienti affetti da sclerosi multipla</i>	<i>Terapia - fattori prognostici e modelli predittivi di risposte al trattamento</i>
Roberto Bergamaschi	<i>Nuova generazione di modulatori del recettore della sfingosina 1-fosfato (S1P) nella pratica clinica: uno studio real-world dal registro italiano della SM</i>	<i>Terapia - efficacia del trattamento a breve e lungo termine</i>
Emanuele D'Amico	<i>Interrompere o continuare le terapie modificanti il decorso di malattia nella forma secondariamente progressiva di Sclerosi Multipla: uno studio di confronto sulle traiettorie di disabilità</i>	<i>Terapia - sicurezza</i>

<i>Responsabile del progetto</i>	<i>Titolo del progetto</i>	<i>Area prioritaria</i>
Tomas Kalincik	<i>Tempistica ed efficacia comparativa delle terapie modificanti la malattia ad alta efficacia nella sclerosi multipla con esordio nell'infanzia</i>	<i>Terapia - efficacia comparativa/ sicurezza tra trattamenti</i>
Francesco Patti	<i>Studio retrospettivo multicentrico sulla valutazione dell'efficacia di Rituximab nei pazienti affetti da Sclerosi Multipla recidivante precedentemente trattati con farmaci ad elevata efficacia (RENEGADE)</i>	<i>Terapia - efficacia del trattamento a breve e lungo termine</i>
Francesco Patti	<i>Studio retrospettivo multicentrico sulla valutazione delle caratteristiche cliniche e radiologiche dei pazienti affetti da Sclerosi Multipla secondariamente progressiva (ASPERA)</i>	<i>Epidemiologia analitica - fattori di rischio</i>
Emilio Portaccio	<i>Optimal responder alle terapie disease modifying "platform", in una coorte Italiana di pazienti con sclerosi multipla ad esordio recidivante remittente</i>	<i>Terapia - fattori prognostici e modelli predittivi di riposte al trattamento</i>
Carla Tortorella	<i>Fattori prognostici clinico-radiologici nelle patologie dello spettro della Neuromielite Ottica e associate ad anticorpi anti-MOG. Analisi di coorte dal Registro Italiano Sclerosi Multipla ed implementazione di uno specifico dataset</i>	<i>Decorsi di SM e Patologie Correlate</i>
Massimo Filippi	<i>Profilo di efficacia e sicurezza delle terapie anti-CD20 in un'ampia coorte di pazienti affetti da sclerosi multipla: lo studio AFFectS</i>	<i>Terapia-Fattori prognostici e modelli predittivi di risposta alle terapie</i>
Marta Simone	<i>Studio pragmatico multicentrico, prospettico/retrospettivo, randomizzato, in aperto per confrontare l'efficacia e la sicurezza dell'interferone beta-1a (IFN beta-1a) somministrato settimanalmente i.m. e glatiramer-acetato (GA) nei pazienti pediatrici affetti da sclerosi multipla.</i>	<i>Terapia - Efficacia/sicurezza comparativa tra trattamenti</i>
Emilio Portaccio	<i>Efficacia comparativa dei trattamenti modificanti il decorso e del trapianto autologo di cellule staminali ematopoietiche sul rischio di progressione indipendente dalle ricadute nei pazienti con sclerosi multipla recidivante</i>	<i>Terapia - Efficacia/sicurezza comparativa tra trattamenti</i>
Emilio Portaccio	<i>Verso una definizione consolidata della progressione indipendente dalle ricadute nella sclerosi multipla recidivante</i>	<i>Epidemiologia descrittiva</i>
Aurora Zanghì	<i>Exit strategy da Fingolimod: dati dal registro italiano Sclerosi Multipla</i>	<i>Terapia - Efficacia/sicurezza comparativa tra trattamenti</i>
De Meo	<i>Fenotipizzazione della progressione nella sclerosi multipla</i>	<i>Terapia - Fattori prognostici e modelli predittivi di risposta alle terapie</i>
Pietro Iaffaldano	<i>Caratterizzazione della sclerosi multipla progressiva secondaria non attiva: sfide diagnostiche e valutazione dei fenomeni di progressione indipendente dall'attività di ricaduta</i>	<i>Decorsi di SM e Patologie Correlate</i>
Pietro Iaffaldano	<i>Valutazione nel lungo termine della terapia con cladribina: efficacia, sicurezza, sequenze di trattamento oltre il quarto anno</i>	<i>Terapia - Fattori prognostici e modelli predittivi di risposta alle terapie</i>

Italian Multiple Sclerosis And Related Disorders Register

The Italian Multiple Sclerosis and Related Disorders Register (RISM&PC, shortened to RISM) is one of the main Research Special Projects supported by the Italian MS Society (AISM) and its Foundation (FISM), which was launched with the **aim of creating a multicentric organized infrastructure to collect the data of all patients with MS followed in the various MS centers in Italy (a near population-level).**

THE HISTORY OF THE RISM PROJECT

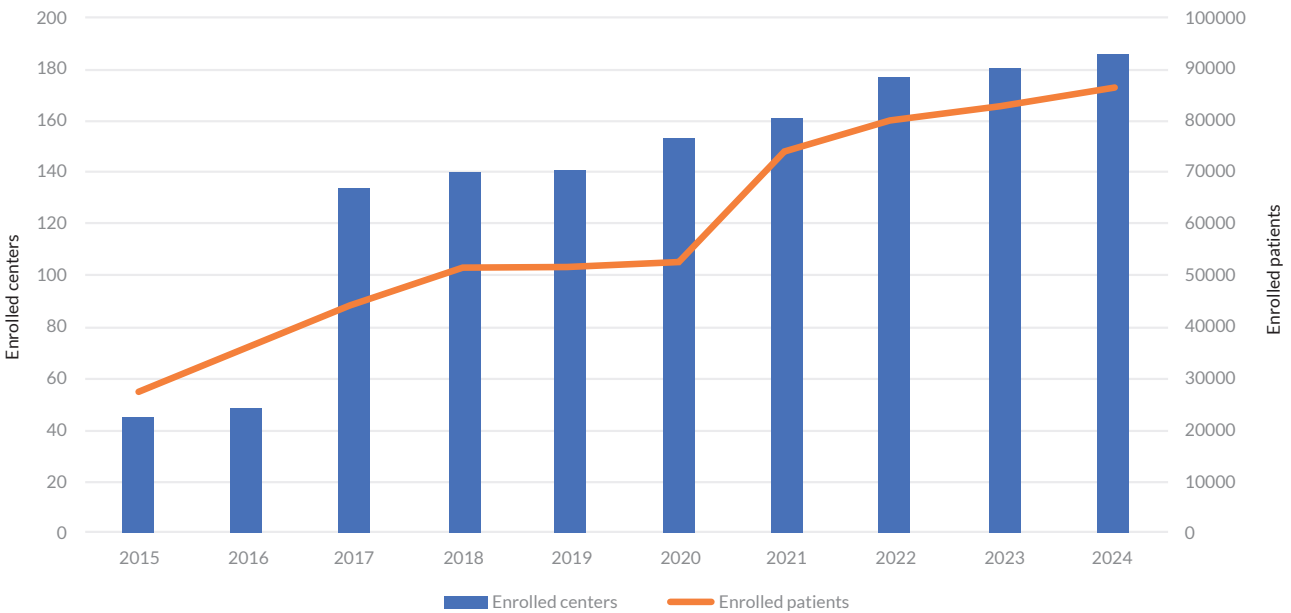
Since 2000, the Italian collection of MS clinical data started at different Italian MS centers in the framework of the Italian Multiple Sclerosis Database Network.

Since 2014, FISM in collaboration with the University of Bari and the Italian MS clinical centers, promoted and funded the creation of the Italian Multiple Sclerosis Register.

Since 2021, for greater inclusiveness, the name of the Register has been changed to Italian Multiple Sclerosis & Related Disorder Register (RISM). A new module was included for the collection of information on rare forms of demyelinating diseases: demyelinating diseases and Neuromyelitis Optica Spectrum Disorder such as neuromyelitis optica (NMOSD) and pathologies associated with the presence of anti-MOG antibodies (MOGAD).

More than 185 Italian clinical centers have joined the project and to date, the RISM project collects the demographic and clinical data of **approximately 86,600 people in care by Italian clinical centers.**

RISM is therefore ready to become a true scientific research tool that can be useful for the development of epidemiological and clinical studies, as well as being a valid tool for health planning by promoting the equity of access to care by comparing the welfare practices of the different centers and to study / evaluate national and local welfare policies.



HIGH-PRIORITY AREAS

The Scientific Committee of RISM has identified two high-priority areas:

- **Public Health:** to set up a universal census of patients that is systematically and continuously updated, in order to obtain accurate estimates of prevalence and incidence of the disease at regional and national level in order to improve quality of care, health optimization, social and welfare information, access to healthcare treatments and services.
- **Research:** to gather useful information for the planning of research studies for specific projects. In particular, studies on epidemiology and prognosis, treatment optimization (effectiveness and safety), MS disease course, early and pre-clinical/subclinical disease stages (CIS and RIS).

INFRASTRUCTURE ORGANIZATION

GOVERNANCE

The governance of RISM includes an **Executive Committee** (chaired by FISM and the University of Bari) with the administrative and organizational role and a **Scientific Committee** (includes clinicians, methodologists, representatives of MS centers, and of the Italian Neurological Society) which oversees the scientific initiatives, promotes specific strategic projects, and approves requests of access to centralized data for further research projects.

The current **Scientific Committee**:

Maria Trojano (Chairman)

University of Bari Aldo Moro, Department of Biomedicine Transnational and Neuroscience "DiBraiN" Multiple Sclerosis Center, Bari

Mario Alberto Battaglia (Co-Chairman)

Fondazione Italiana Sclerosi Multipla, Genova

Paola Mosconi (IRFMN Representative)

Istituto di Ricerche Farmacologiche Mario Negri IRCCS, Milano

Claudio Gasperini (Italian Neurological Society Representative)

Department of Neurology, San Camillo-Forlanini Hospital, Rome

Eleonora Cocco (MS Clinical Centers Representative)

Centro Sclerosi Multipla Ospedale Binaghi, Cagliari

Matilde Inglese (MS Clinical Centers Representative)

Department of Neuroscience, Rehabilitation, Ophthalmology, Genetics, Maternal and Child Health (DINO GMI), University of Genoa, Genoa

Carla Tortorella (MS Clinical Centers Representative)

Department of Neurosciences, S. Camillo-Forlanini Hospital, Rome

Marco Capobianco (Secretary)

Centro Sclerosi Multipla, SC Neurologia, AO Santa Croce e Carle, Cuneo

Maria Pia Amato (Expert)

Department of NEUROFARBA, University of Florence, Florence

Giancarlo Comi (Expert)

Centro Sclerosi Multipla Casa di Cura Igea, Milano

Massimo Filippi (Expert)

San Raffaele Scientific Institute, Vita-Salute San Raffaele University, Milan

OPERATIONAL STRUCTURES

Two operational structures work for the RISM project: the **Technical and Administrative Structure** (TAS) based at FISM in Genoa and the **Technical Methodological Structure** (TMS) based at Istituto di Ricerche Farmacologiche Mario Negri, IRCCS, Milano

NETWORKS RELATED TO THE RISM PROJECT

MS CLINICAL CENTERS NETWORK

MS centers are recognized as the key component of MS care in Italy. There are approximately 240 MS centers of varying size, and they are often located within public hospital neurology departments. Currently about 75% of the Italian MS centers have joined RISM.

RESEARCH ASSISTANT NETWORK

With the aim to increase the quality of data collection and data entry, a network of young research assistants (RA) has been trained ad hoc. Currently 26 Research Assistants are active in 15 Italian Regions (following more than 130 centers)

and are allocated to one or more centers according to their contribution to the project in terms of the number of patients recorded and the geographic distribution. The activities of the RAs include: supporting the start-up phase of the project at the MS centers, supporting the on-time implementation of the project at the MS centers and ensuring a standardized data collection and management.

List of research assistants currently operating in RISM

Fondazione Italiana Sclerosi Multipla, Genoa

Senior staff: Beatrice Biolzi, Daniele Dell'Anna, Sonia Di Lemme, Chiara Di Tillio, Federica Martini, Ilaria Maietta, Ramona Piredda, Silvia Perugini, Chiara Raimondi, Antonino Rallo, Monica Romoli, Ilaria Rossi

Junior staff: Camilla Borgo, Antonella Carta, Paola Crida, Marco Delogu, Daniele Di Giulio Cesare, Teresa Fonsdituri, Agata Marchese, Martina Marciano, Silvia Marinetto, Chiara Monetti, Ludovica Roselli, Valentina Tallarico, Stefania Treccarichi, Eliana Zaccone

STAKEHOLDER ADVISORY BOARD(S)

To meet the strategic priorities of RISM, relevant stakeholders, including industries, are engaged with an advisory forum. Currently an Industry Advisory Board, including the main pharma companies with interest in MS, is active.

DEDICATED SOFTWARE

During the first years, RISM used a client-server solution software, an offline computerized medical folder that needed a periodic upload by clinical centers. At the end of 2016, a **new web-based software**, named **RISM-App**, was developed. **From April 2021**, the project is running on the RISM-App in an exclusive way. Currently, **the software release is 3.8**. The software access happens through the reserved area of the website of the project (<https://www.registroidalianosm.it/>).

SKILLS OF THE NEW PLATFORM

- **Patient-centered:** the patient is registered only once in the database through a tax code (unique personal identification code). This is a crucial point because the uniqueness of the registered SM subject produces a significant improvement in the pooling of the data in the central database. No double cases are now present in the database
- **Practical:** data entry is possible through different devices (PC, mobile, tablet).
- **Secure:** the system respects the standards required by the European Union General Data Protection Regulation (GDPR) 2016/679 and each center enters the data through a personalized password.
- **Easily accessible:** an internet access is sufficient.
- **Standardized:** the database uses standardized coding
- **Printable:** it is possible to print a report containing patient information.
- **Modular:** it is possible to add several modules.

SOFTWARE STRUCTURE OF THE "RISM PROJECT"

The RISM database collects a minimum data set of variables including crucial information that are useful to characterize the MS patient and other variables included in specific modules such as:

Drugs

This section is dedicated to the patient's treatment history. This module includes the risk-management plan for all the Disease Modifying Treatments. Moreover, serious and non-serious adverse events (SAEs and AEs) are codified using MedDRA and comorbidities are codified using ICD9.

MRI

This section is dedicated to conventional magnetic resonance imaging (MRI) measures (Brain and SC T2 and T1 and Gd+T1 lesion numbers).

Instrumental

This section collects information about laboratory tests (i.e. virological, immunological, thyroid function and other specific tests), liquor, evoked potentials, EEG, ECG.

Covid-19

This section collects information related to the Covid-19 infection such as: diagnosis, severity, outcome and correlation with DMTs and vaccinations.

NMOSD and MOGAD

This section is dedicated to rare forms of demyelinating diseases: demyelinating diseases and Neuromyelitis Optica Spectrum Disorder such as Neuromyelitis Optica (NMOSD) and pathologies associated with the presence of anti-MOG antibodies (MOGAD).

Pregnancy

This section collects information regarding pregnancy, maternal and foetal outcomes of MS patients and their children.

Pediatric Onset MS

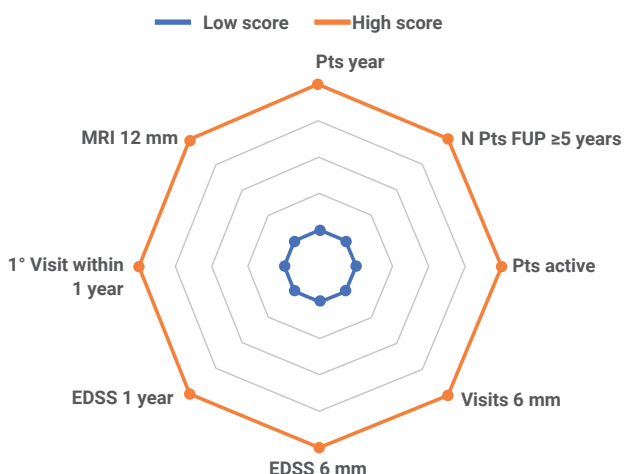
This section collects information on pediatric-onset MS. This module includes information such as: environmental risk factors, vaccinations, cognitive functioning over time and specific MRI features.

DATA MONITORING

Data are centrally monitored in order to guarantee a high quality of the information collected. Several tools of quality control have been implemented in order to increase the quality and generalizability of the data collected. Each center periodically receives a report on all the data collected and a tailored report with queries on the missing data or inconsistencies among the variables inserted. Quality controls regard:

- **dates:** presence/absence, completeness, anomalies and consistency among all the data collected in the dataset
- **completeness:** overall evaluation of the completeness level of the variables included
- **accuracy:** proportion of variables with value corresponding to their range
- **consistency:** congruency with other variables

Every 2 months, research assistants are updated on the progress of the centers they are in charge of and share the information with the responsible of the clinical center. Monthly, each center receives a communication with updates and clarification regarding data entry and procedures pertaining to the project. Moreover, a set of 8 performance indicators has been identified and adopted with the aim to improve the quality, completeness of the survey, timeliness, generalization, and representativeness of the collected data. For each examined indicator or domain, each participating center was awarded with a score of five for the highest performance, while lower scores of 4 to 1 were attributed for progressively lower performance. Every 6 months, each participating center receives a report where data and performance indicators of its own center are benchmarked with the whole sample: in this way, each center can assess the most critical performances and the level of improvement with time. Here the 8 performance indicators and their graphical representation (radar graph):



1. **Pts year:** number of patients/year
2. **N Pts FUP ≥ FU 5 years:** % of patients with follow-up longer than 5 years
3. **Pts active:** at least 1 visit in the last 2 years
4. **Visits 6 mm:** at least 1 visit every 6 months/FU
5. **EDSS 6 mm:** at least 1 EDSS evaluation every 6 months/FU
6. **EDSS 1 year:** at least 1 EDSS evaluation every 12 months/FU
7. **1° visit within 1 year:** At least 1 visit within 1 year from onset
8. **MRI 12 mm:** at least 1 MRI every 12 months

THE EMA (EUROPEAN MEDICINES AGENCY) INITIATIVE FOR PATIENT REGISTRIES

Real-world data are vital as they offer long-term data collection and allow to evaluate patient's treatment history throughout the disease course. The use of disease registries may provide a better understanding of the effects of comorbidity on effectiveness and safety of disease modifying treatments. EMA is interested in real-world data regarding the post-marketing drug safety assessment (i.e., Post-Authorization Safety Study—PASS). The international data-sharing initiative "Big MS Data network" that include the RISM database, has been recognized as a high quality initiative by EMA, able to provide data for PASSs.

Currently, RISM collaborates on four ongoing PASSs:

1. An observational study utilizing data from the US Tysabri TOUCH programme and select EU MS Registries to estimate **the risk of progressive multifocal leukoencephalopathy** and other serious opportunistic infections among patients who were exposed to an MS disease modifying treatment prior to treatment with **Natalizumab (BIOGEN)**
2. Long-term surveillance of **Ocrelizumab** (MANUSCRIPT study) treated patients with multiple sclerosis (**ROCHE**)
3. Long-term surveillance (CLARION study) of **oral Cladribine** in patients with highly active relapsing multiple sclerosis (**MERCK**)
4. **Ofatumumab** long-term retrospective safety study utilizing real-world data from existing multiple sclerosis registries and databases from multiple countries” (**NOVARTIS**)

RESEARCH PROJECTS BASED ON THE RISM DATA

Currently 55 projects approved, 32 completed and 23 ongoing. The main priority areas of the research projects are:

- **Descriptive Epidemiology** (prevalence, incidence and mortality)
- **Analytical Epidemiology** (risk factors, comorbidity and prognostic factors)
- **MS and RD courses** (benign, RIS, CIS, progressive form, pediatric onset, late onset, aggressive form, NMOSD and MOGAD)
- **Therapy** (prognostic factors and predictive models of treatment response, treatment adherence, short and long-term treatment effectiveness, safety, comparative effectiveness/safety between treatments, treatment algorithms and switches)

Since 2018 to February 2024, approximately 30 peer-reviewed scientific articles were published on international journals. Here are reported the title of 23 ongoing projects.

<i>Principal Investigator</i>	<i>Title of the project</i>	<i>Priority areas</i>
Monica Ulivelli	<i>Immunisation status against major communicable diseases preventable with vaccines, and safety of vaccines, in a cohort of multiple sclerosis patients. An Italian multicenter study</i>	<i>Descriptive Epidemiology - prevalence</i>
Roberto Bergamaschi	<i>Air pollution as a risk factor of multiple sclerosis. An ecological study in the Italian population (The AIRMUS study)</i>	<i>Analytical Epidemiology - risk factors</i>
Jessica Frau	<i>Evaluation of baseline prognostic factors in a large Italian cohort of patients with multiple sclerosis</i>	<i>Analytical Epidemiology - prognostic factors</i>
Maurizio Leone	<i>Integrating genetic and phenotypic data from the PROGEMUS data-base and the Italian Multiple Sclerosis registry</i>	<i>Analytical Epidemiology - prognostic factors</i>
Marco Salvetti	<i>Use of Machine Learning techniques in predicting the course of relapsing-remitting Multiple Sclerosis in individual patients</i>	<i>Analytical Epidemiology - prognostic factors</i>
Francesco Patti	<i>Clinical and neuroradiological findings in patients with late-onset multiple sclerosis (LOMS)</i>	<i>MS and RD courses - late onset</i>
Maria Pia Amato	<i>Evaluating Age-Dependent Efficacy of Multiple Sclerosis Treatments in a Real-Life Cohort</i>	<i>Therapy - prognostic factors and predictive models of treatment response</i>
Massimo Filippi	<i>Predictors of response to cladribine in multiple sclerosis patients</i>	<i>Therapy - prognostic factors and predictive models of treatment response</i>
Roberto Bergamaschi	<i>New generation of sphingosine 1-phosphate (S1P) receptor modulators in clinical practice: a real-world study from the Italian MS Registry</i>	<i>Therapy - short and long-term treatment effectiveness</i>
Emanuele D'Amico	<i>Stop or not the disease-modifying therapies in secondary progressive multiple sclerosis: a comparison study of disability accrual trajectory</i>	<i>Therapy - safety</i>

<i>Principal Investigator</i>	<i>Title of the project</i>	<i>Priority areas</i>
Tomas Kalincik	<i>Timing and comparative effectiveness of high-efficacy disease-modifying therapies in childhood-onset multiple sclerosis</i>	<i>Therapy - comparative effectiveness/ safety between treatments</i>
Francesco Patti	<i>Evaluating the effectiveness of Rituximab in rElapsiNg Multiple Sclerosis patiEnts previously treated with hiGHly-Active Disease modifying thErapiEs (RENEGADE).</i>	<i>Therapy - short and long-term treatment effectiveness</i>
Francesco Patti	<i>Evaluating the clinicAl and MRI characteristics of Secondary Progressive multiPlE sclerosis; a registRy-bAsed/multicentric cohort study (ASPERA).</i>	<i>Analytical Epidemiology - risk factors</i>
Emilio Portaccio	<i>Optimal responders to platform disease modifying therapies in an Italian cohort of relapsing-onset multiple sclerosis patients</i>	<i>Therapy - prognostic factors and predictive models of treatment response</i>
Carla Tortorella	<i>Clinical and radiological prognostic predictors in Neuromyelitis Optica Spectrum Disorders (NMOSD) and MOG Antibody-mediated Disorders (MOGAD). Evaluation by Italian MS Registry and implementation of a disease-specific dataset</i>	<i>MS and RD courses - NMOSD and MOGAD</i>
Massimo Filippi	<i>AFFectS – Anti-CD20 eFFectiveness and Safety profile in a large cohort of multiple sclerosis patients</i>	<i>Therapy - prognostic factors and predictive models of treatment response</i>
Marta Simone	<i>Multi-centre, prospective/retrospective, randomised, open label pragmatic trial to compare the effectiveness and safety of interferon beta-1a (IFN beta-1a) administered weekly i.m. and glatiramer-acetate (GA) in pediatric patients affected by multiple sclerosis.</i>	<i>Therapy - comparative effectiveness/ safety between treatments</i>
Emilio Portaccio	<i>Comparative effectiveness of disease modifying treatments and Autologous Hematopoietic Stem Cell Transplant on the risk of first progression independent of relapse activity in relapsing multiple sclerosis</i>	<i>Therapy - comparative effectiveness/ safety between treatments</i>
Emilio Portaccio	<i>Towards an unified definition of progression independent of relapse activity in relapsing multiple sclerosis</i>	<i>Descriptive Epidemiology</i>
Aurora Zanghì	<i>Fingolimod Exit strategy: a real word Italian registry study</i>	<i>Therapy - comparative effectiveness/ safety between treatments</i>
De Meo	<i>Phenotyping progression in multiple sclerosis</i>	<i>Therapy - prognostic factors and predictive models of treatment response</i>
Pietro Iaffaldano	<i>Characterization of non-active secondary progressive multiple sclerosis: diagnosis challenge ad assessment of progression independent from relapse activity phenomena</i>	<i>MS and RD courses</i>
Pietro Iaffaldano	<i>Assessment of cladribine therapy over time: effectiveness, safety and evaluation of treatment sequencing beyond year four</i>	<i>Therapy - prognostic factors and predictive models of treatment response</i>

Monitoraggio dei dati: l'esperienza del Registro Italiano Sclerosi Multipla & Patologie Correlate



Paola Mosconi

Istituto di Ricerche Farmacologiche Mario Negri IRCCS, Milano, Italia

COLLABORATORI/COLLABORATORS

Tommaso Guerra, Maria Trojano, Dipartimento Scienze Mediche di Base, Neuroscienze ed Organi di Senso, Università degli Studi Aldo Moro, Bari, Italia

Pasquale Paletta, Antonio D'Etto, Vito Lepore, Istituto di Ricerche Farmacologiche Mario Negri IRCCS, Milano, Italia

Michela Ponzio, Area Ricerca Scientifica, Fondazione Italiana Sclerosi Multipla, FISM, Genova, Italia

Mario Alberto Battaglia, Fondazione Italiana Sclerosi Multipla, FISM, Genova; Dipartimento di Fisiopatologia, Medicina Sperimentale e Sanità Pubblica, Università di Siena, Siena, Italia

Maria Pia Amato, Centro Sclerosi Multipla AOU Careggi, Firenze, Italia

Roberto Bergamaschi, Centro Interdipartimentale Sclerosi Multipla, Fondazione Istituto Neurologico C. Mondino, Pavia, Italia

Marco Capobianco, Centro Sclerosi Multipla, SC Neurologia, AO Santa Croce e Carle, Cuneo, Italia

Giancarlo Comi, Casa di Cura del Policlinico, Università Vita Salute San Raffaele, Milano, Italia

Claudio Gasperini, Azienda Ospedaliera San Camillo-Forlanini, Roma, Italia

Francesco Patti, Centro Sclerosi Multipla AOU Policlinico Vittorio Emanuele, Catania, Italia

Maura Pugliatti, Centro Di Servizio e Ricerca Sulla Sclerosi Multipla AOU Di Ferrara, Ferrara, Italia

Monica Ulivelli, Dipartimento di Scienze Mediche Chirurgiche e Neuroscienze, Università degli Studi di Siena, Siena, Italia

on behalf of the Italian Multiple Sclerosis and Related Disorders Register Centres Group

PREMESSE E OBIETTIVI

L'uso dei dati provenienti dai registri di malattia è cresciuto costantemente negli ultimi dieci anni da parte di operatori sanitari e pazienti; questi dati forniscono un potente strumento per discernere i diversi decorsi di malattia e raccogliere informazioni sulla pratica clinica, nonché valutare problemi di sicurezza, quesiti di ricerca e sugli esiti dei pazienti. Anche l'Agenzia Europea dei Medicinali (EMA) ha recentemente riconosciuto i registri come strumenti importanti per supportare il processo decisionale regolatorio sui prodotti medici. Il crescente utilizzo e il riconoscimento formale dei registri come mezzi cruciali per condurre una ricerca, monitorare la pratica clinica e rispondere alle esigenze dei pazienti, richiedono un costante miglioramento delle procedure di raccolta e della qualità dei dati. Infatti, la validità e l'affidabilità dei dati raccolti dai registri possono essere limitate da dati mancanti, bias di selezione o insufficiente qualità dei dati che possono essere non adeguatamente inputati o controllati.

Il Registro Italiano Sclerosi Multipla e Patologie Correlate (RISM) raccoglie, attraverso un'applicazione web standardizzata (RISM-App), pazienti unici e univoci. Oltre 140 centri contribuiscono alla raccolta dei dati e, per aumentare la qualità dell'inserimento dei dati, è stata formata una rete di assistenti di ricerca (AR), assegnati a uno o più centri in base al volume del loro contributo al progetto e alla loro distribuzione geografica. I dati vengono esportati bimestralmente, costantemente monitorati e analizzati per valutarne lo stato di aggiornamento e la completezza e per verificarne la qualità e la coerenza. In dettaglio, le analisi condotte sono:

- centro-specifiche, come la dimensione del centro (grandi, medi e piccoli), in relazione al contributo al progetto, il conteggio del numero di pazienti registrati rispetto alla precedente esportazione dei dati;
- campione-specifico, lo stato di aggiornamento di ciascun paziente registrato (aggiornato, recuperabile, perso, indefinito, dropout e deceduto);

- clinico, sull'aderenza al protocollo del progetto, in particolare sul numero e sulle tempistiche delle visite dal primo contatto al centro al follow-up (vengono valutati otto indicatori clinici);
- tempo-specifiche, le analisi sono condotte su tutto il campione e sul campione registrato post-2016 (anno in cui il progetto è passato dal precedente Italian MS Database Network all'attuale organizzazione RISM).

Pertanto, questo studio presenta metodi e strategie per il controllo di qualità dei dati raccolti nel RISM, evidenziandone l'importanza e l'affidabilità al fine di validarne la rappresentatività epidemiologica e statistica.

RISULTATI

A luglio 2022 il RISM contava 77.628 pazienti raccolti da 126 centri distribuiti in tutta Italia. Da marzo 2021, momento di inizio di questo tipo di valutazione, un'analisi descrittiva dei centri e dei dati raccolti nel RISM mostra un costante aumento del numero di centri coinvolti (da 112 a 126), compresi i centri seguiti da AR (da 88 a 106), e di conseguenza della popolazione di pazienti (da 70.493 a 77.628), nonostante l'impatto della pandemia da COVID-19 sul sistema sanitario, sulla pratica clinica quotidiana e sulla ricerca. Si è registrato un aumento dei centri con incremento del numero di pazienti registrati - indipendentemente dalle loro dimensioni - mentre il numero di centri con numero di pazienti invariato rimane più stabile tra i centri medi e grandi.

Focalizzandosi sui pazienti aggiornati (nel campione complessivo e post-2016) in base alle dimensioni del centro, il numero di centri con $\geq 75\%$ di pazienti aggiornati era di 21 nei centri piccoli (30%), 5 nei medi (17%) e 2 nei grandi

(8%). Nella coorte di pazienti registrati dopo il 2016 c'erano $\geq 75\%$ di pazienti aggiornati in 33 centri piccoli (30%), in 11 (9%) centri nei centri medi e nel 100% (2) dei centri grandi.

Considerando gli otto indicatori clinici di aderenza al protocollo RISM, si è notato un miglioramento significativo confrontando le due coorti temporali: pazienti attivi, Expanded Disability Status Scale (EDSS) ogni sei mesi e ogni anno, visite ogni sei mesi, prima visita entro un anno e risonanza magnetica ogni dodici mesi sono aumentati di un punto (in una scala da 1 a 5) confrontando la coorte complessiva con quella post-2016. Due eccezioni sono il numero di pazienti per anno, che rimane stabile, e il follow-up superiore a 5 anni, che prevedibilmente peggiora (a causa del periodo di follow-up più breve nella coorte post-2016).

CONCLUSIONI

I dati provenienti dai registri di patologia forniscono indicazioni per le politiche sanitarie e la ricerca basate sull'evidenza dei dati, pertanto i metodi e le strategie che ne garantiscono la qualità e l'affidabilità sono fondamentali e hanno diverse potenziali applicazioni. Poiché la validità e l'affidabilità dei risultati dei registri possono essere limitate da dati mancanti, bias di selezione o qualità dei dati non valutati o controllati adeguatamente, il RISM ha pianificato un'analisi sistematica della coerenza, della completezza e del controllo di qualità dei suoi dati per aumentarne la validità e la generalizzabilità e sostenerne l'osservanza da parte dei centri. Adottando questo approccio, insieme all'aumento del numero di centri e di pazienti registrati e aggiornati nel tempo, è aumentata la percentuale di centri che hanno incrementato il numero di pazienti registrati.

Data monitoring roadmap. The experience of the Italian Multiple Sclerosis and Related Disorders Register

INTRODUCTION AND AIMS

The use of data from disease registers has steadily grown over the past decade, by healthcare professionals and patients, providing a powerful tool to discern the different disease courses and collect information on clinical practice, safety issues, research topics, and patient outcomes. Furthermore, the European Medicines Agency (EMA) has recently recognized registers as important tools to support regulatory decision-making on medical products. The growing use and the formal recognition of registers as crucial means by which conduct research, monitor clinical practice and embrace patients' needs, necessary require a constant improvement in data collection procedures and data quality. In fact, the validity and reliability of data

collected from registers may be limited by missing data, selection bias or data quality not adequately evaluated or checked.

The Italian Multiple Sclerosis and Related Disorders Register (RISM) collects, through a standardized web-based application (RISM-App), unique patients. Over 140 centers contribute to the data collection, and in order to increase the quality of data entry, a network of research assistants (RAs) has been trained and assigned to one or more centers according to the volume of their contribution to the project and their geographic distribution. Data are exported bimonthly, constantly monitored and analyzed to evaluate and assess their updating and completeness, and to check their quality and consistency. In detail,

the analysis conducted are:

- center-specific, such as center dimension (big, medium and small), related to their contribution to the project, counting of the number of patients enrolled respect to the previous data export;
- sample-specific, the updating status of each patient enrolled (updated, recuperable, lost, undefined, dropout and deceased);
- clinical, about the adherence to the protocol of the project specifically about the number and time of visits from the first contact to the center to the follow-up (eight clinical indicators are evaluated);
- time-specific, analyses are split in overall analysis and post-2016 analysis (year in which the project transitioned from the previous Italian MS Database Network to the current RISM organization).

Hence, this study presents methods and strategies about the quality control of data collected in the RISM, highlighting both its importance and reliability in order to validate its epidemiological and statistical representativeness.

RESULTS

As of July 2022, the RISM recorded 77,628 patients collected by 126 centers distributed across Italy. Since March 2021, the moment in which this kind of analyses started, a descriptive analysis of the centers and data collected in the RISM shows a steady increase in the number of centers involved (112 to 126), including centers followed by RAs (88 to 106), and consequently in the patient population (70,493 to 77,628), despite the impact of the COVID-19 pandemic on the health system, daily clinical practice and research work. There has been an increase of enlarged centers – independently of their size – while the number of unchanged centers remains more stable across medium and large centers.

Focusing on the updated patients to the samples (overall and post-2016) based on the center size, the number of centers with $\geq 75\%$ updated patients was 21 in small centers (30%), 5 in medium centers (17%) and 2 in large centers (8%) in the overall sample. In the cohort of patients registered after 2016 there were $\geq 75\%$ updated patients in 33 small centers (30%), in 11 (9%) of the medium centers and in 100% (2) of the large centers.

Considering the eight clinical indicators of adherence to the RISM protocol, a significant improvement has been noticed comparing the two temporal cohorts: active patients, Expanded Disability Status Scale (EDSS) every six months and every year, visits every six months, first visit within one year, and Magnetic Resonance Imaging (MRI) every 12 months rose of one point (in a five points scale) comparing the overall cohort to the post-2016 one. Two exceptions are the number of patients per year, remaining stable, and follow-up longer than 5 years, which predictably worsens (due to its shorter follow-up period).

CONCLUSIONS

Data from disease registers provide guidance for evidence-based health policies and research, so methods and strategies ensuring their quality and reliability are crucial and have several potential applications. Since the validity and reliability of results from the registers may be limited by missing data, selection bias or data quality not evaluated or adequately controlled, the RISM planned a systematic analysis of the consistency, completeness and quality control of its data to increase its validity and generalizability and support the compliance of centers. Adopting this approach, along with the increasing number of centers, patients registered and updated over time, the proportion of centers which increased their number of patients rose.



PUBBLICAZIONI E COMUNICAZIONI A CONGRESSI PUBLICATIONS AND CONGRESS PRESENTATIONS

- Mosconi, P., Guerra, T., Paletta, P. et al. Data monitoring roadmap. The experience of the Italian Multiple Sclerosis and Related Disorders Register. *Neurol Sci* 44, 4001-4011 (2023). <https://doi.org/10.1007/s10072-023-06876-9>

La pandemia SARS-CoV-2 come modello per valutare la relazione tra infezioni virali intercorrenti e attività della malattia nella Sclerosi Multipla: uno studio caso-controllo con propensity score matching



Paola Cavalla

Centro Sclerosi Multipla - Neurologia I D.U. - Prof. Chiò - AOU Città della Salute e della Scienza di Torino, Molinette, Italia

COLLABORATORI/COLLABORATORS

Marco Vercellino

COLLABORAZIONI CON ALTRI CENTRI / COLLABORATIONS WITH OTHER CENTERS

Chiara Bosa, Anastasia Altano, Francesco Muccio, Stella Marasciulo, Paola Garelli,
Neurologia I D.U., Dipartimento di Neuroscienze, Università di Torino, Torino, Italia

PREMESSE E OBIETTIVI

L'associazione tra infezioni respiratorie virali intercorrenti ed esacerbazione dell'attività di malattia nella Sclerosi Multipla (SM) è stata suggerita da diversi studi, ipotizzando un effetto "bystander" conseguente all'attivazione della risposta immunitaria dell'ospite; tuttavia, è meno chiaro se specifici virus siano associati al rischio di riaccensione della SM. Precedentemente alla pandemia di SARS-CoV-2, nessuna infezione virale respiratoria era mai stata sottoposta a screening intensivo su un'ampia popolazione generale, né era diagnosticata sistematicamente con test di laboratorio specifici. La pandemia SARS-CoV-2 può quindi rappresentare un modello per valutare la relazione temporale tra infezioni respiratorie virali intercorrenti ed esacerbazioni dell'attività di malattia nella SM.

Abbiamo effettuato uno studio caso-controllo propensity score-matched con un follow-up prospettico clinico e di Risonanza Magnetica (RM), su una coorte di pazienti con SM recidivante-remittente (RRMS) risultati positivi per SARS-CoV2 nel periodo 2020-2022, con l'obiettivo di valutare se l'infezione da SARS-CoV2 influenzi il rischio a breve termine di attività della malattia. Sono stati inclusi nello studio tutti i casi incidenti di infezione da SARS-CoV-2 osservati in pazienti con SMRR seguiti presso il Centro SM dell'AOU Città della Salute e della Scienza di Torino, nel periodo marzo 2020-marzo 2022. I dati clinici e di RM sono stati ottenuti dal "Registro Italiano Sclerosi Multipla e patologie-correlate", periodicamente aggiorna-

ti. L'infezione da SARS-CoV-2 è stata considerata confermata se il paziente è risultato positivo a un test antigenico o molecolare approvato dall'EMA.

I casi sono stati abbinati 1:1 per età, EDSS, sesso e trattamento modificante la malattia (DMT) (efficacia moderata vs elevata) con controlli (rappresentati da pazienti con SMRR non esposti a SARS-CoV-2, utilizzando il 2019 come periodo di riferimento). Sono state confrontate le differenze in termini di attacchi, attività di malattia alla RM e peggioramento confermato della disabilità (CDW) tra i casi nei 6 mesi successivi all'infezione da SARS-CoV-2, rispetto ai controlli in un periodo di riferimento di 6 mesi nel 2019. Il CDW è stato definito come un aumento dell'EDSS di 1,0 punti se EDSS al basale < 5,5, o un aumento di 0,5 punti se l'EDSS al basale $\geq 5,5$, confermato a 3 mesi di distanza.

RISULTATI

Abbiamo identificato 156 casi di infezione da SARS-CoV-2 in pazienti con SMRR nel periodo marzo 2020 - marzo 2022, su una popolazione totale di circa 1500 pazienti con SM. Dopo aver escluso 6 pazienti privi di una RM successiva all'infezione da SARS-CoV-2, i restanti 150 casi sono stati abbinati 1:1 con 150 controlli (pazienti con SMRR non esposti a SARS-CoV-2, come precedentemente definito). L'età media era di $40,9 \pm 12,0$ anni nei casi e di $42,0 \pm 10,9$ anni nei controlli, l'EDSS medio era di $2,54 \pm 1,36$ nei casi e $2,60 \pm 1,32$ nei controlli. Tutti i pazienti sono stati trattati con DMT e una percentuale considerevole con DMT ad

alta efficacia (65,3% nei casi e 66% nei controlli), dato che riflette una tipica popolazione RRMS del mondo reale.

Non abbiamo osservato una differenza significativa, tra i casi nei 6 mesi successivi all'infezione da SARS-CoV-2 e i controlli, nella comparsa di attacchi [6/150 (4,0%) casi e in 8/150 (5,3%) controlli ($p = 0,774$)], attività di malattia alla RM [14/150 casi (9,3%) e 12/150 controlli (8,0%) ($p = 0,838$)], CDW [8/150 casi (5,3%) e in 10/150 controlli (6,7%) ($p = 0,782$)]. In questa coorte non sono stati registrati decessi o ricoveri dovuti a malattia da Sars-Cov2. Una percentuale considerevole di pazienti (52,8%) era stata vaccinata con un vaccino mRNA anti-Sars-Cov2, secondo le linee guida nazionali per i pazienti con SM (quasi tutti i pazienti non vaccinati non hanno ricevuto il vaccino perché non era ancora disponibile).

CONCLUSIONI

Questi risultati possono rassicurare i pazienti con SM sull'assenza di rischi significativi derivanti dall'esposizione a SARS-CoV-2 in relazione all'attività di malattia. Tuttavia,

tutti i pazienti con SM nella nostra coorte sono stati trattati con un DMT e un numero considerevole con un DMT ad alta efficacia. Questi risultati potrebbero pertanto non essere applicabili ai pazienti non trattati, per i quali non si può escludere il rischio di un aumento dell'attività della malattia dopo l'infezione da SARS-CoV-2. I risultati diversi rispetto agli studi del passato potrebbero essere spiegati dal fatto che questi ultimi sono stati effettuati su coorti di pazienti con SM non trattati o trattati con betaFN, mentre nessun studio ha incluso DMT ad alta efficacia; inoltre, questi studi raramente hanno incluso dati di RM, limitando così la sensibilità al rilevamento dell'attività di malattia.

Possibili ipotesi che spiegano questi risultati potrebbero essere:

1. che SARS-CoV2 sia meno incline, rispetto ad altri virus, a indurre esacerbazioni dell'attività della malattia
2. che l'utilizzo dei DMT sia in grado di sopprimere efficacemente l'aumento dell'attività di malattia innescata dall'infezione da SARS-CoV2.

SARS-CoV-2 pandemic as a model to assess the relationship between intercurrent viral infections and disease activity in Multiple Sclerosis: a propensity score matched case-control study

INTRODUCTION AND AIMS

The association between intercurrent viral respiratory infections and exacerbations of Multiple Sclerosis (MS) disease activity has been suggested by several studies, hypothesizing a bystander effect following the activation of the host immune response; it is yet less clear whether specific viruses are associated with MS exacerbations risk. Prior to the SARS-CoV-2 pandemic, never before a viral respiratory infection had been so intensively screened for on the wide general population in Europe, and systematically diagnosed with specific laboratory tests in a huge effort to immediately detect and quarantine all incident cases (even those asymptomatic or with minimal symptoms). The SARS-CoV-2 pandemic can therefore represent an interesting model to assess the temporal relationship between intercurrent viral respiratory infections and exacerbations of MS disease activity.

We have performed a propensity score-matched case-control study with a prospective clinical/MRI follow-up, on a cohort of relapsing-remitting MS (RRMS) patients who tested positive for SARS-CoV2 in the period 2020–2022, to evaluate if the SARS-CoV2 infection influences the short-term risk of disease activity. All incident

cases of SARS-CoV-2 infection observed in RRMS patients followed at the MS Center of the AOU Città della Salute e della Scienza di Torino in the period March 2020–March 2022 were included in the study. Clinical and MRI data were obtained from the Italian MS Register, in which patient data are routinely recorded. SARS-CoV-2 infection was considered confirmed if the patient tested positive with an EMA-approved antigenic or molecular test.

Controls (RRMS patients not exposed to SARS-CoV-2, using 2019 as the reference period) were matched 1:1 with cases for age, EDSS, sex, and disease-modifying treatment (DMT) (moderate efficacy vs high efficacy, HE). Differences in relapses, MRI disease activity, and confirmed disability worsening (CDW) between cases in the 6 months following the SARS-CoV-2 infection, and controls in a similar 6 months reference period in 2019 were compared. CDW was defined as a 1.0-point EDSS increase if baseline EDSS < 5.5, or a 0.5-point increase if baseline EDSS \geq 5.5, confirmed 3 months apart.

RESULTS

We identified 156 cases of SARS-CoV-2 infection in RRMS patients in the period March 2020 - March 2022, out of a

total population of approximately 1500 MS patients. After excluding 6 patients with no MRI available after SARS-CoV-2 infection, the remaining 150 cases were matched 1:1 with 150 controls (MS patients not exposed to SARS-CoV-2, as previously defined). Mean age was 40.9 ± 12.0 years in cases and 42.0 ± 10.9 years in controls, mean EDSS was 2.54 ± 1.36 in cases and 2.60 ± 1.32 in controls. All patients were treated with a DMT, and a considerable proportion with a HE-DMT (65.3% in cases and 66% in controls), reflecting a typical real world RRMS population. We did not observe a significant difference, between cases in the 6 months after SARS-CoV-2 infection and controls, in the occurrence of clinical relapses [6/150 (4.0%) cases and in 8/150 (5.3%) controls ($p = 0.774$)], MRI disease activity [14/150 cases (9.3%) and 12/150 controls (8.0%) ($p = 0.838$)], CDW [8/150 cases (5.3%) and in 10/150 controls (6.7%) ($p = 0.782$)].

No deaths or hospitalizations due to Covid-19 were recorded in this cohort. A considerable proportion of patients in this cohort (52.8%) had been vaccinated with a mRNA Covid-19 vaccine, according to the national guidelines for MS patients, (almost all unvaccinated patients did not receive the vaccine because it was not yet available).

CONCLUSIONS

Using a propensity score matching design and including both a clinical and MRI evaluation of MS disease activity, this study does not suggest an increase in MS disease ac-

tivity after the SARS-CoV-2 infection. These results can reassure MS patients about the absence of significant risks of the exposure to SARS-CoV-2 in relation to MS disease activity. It should however be considered that all MS patients in our cohort were treated with a DMT, and a considerable number with a high efficacy DMT. These results therefore may not be applicable to untreated patients, for which the risk of increased MS disease activity after SARS-CoV-2 infection may not be excluded. This is an important difference from most older studies on the relationship between intercurrent viral infections and exacerbations of MS, which were performed on untreated MS patient cohorts.

Discrepancies with previous studies may be explained by the fact that older studies usually did not include MRI data and evaluated only clinical exacerbations, therefore with limited sensitivity for disease activity. Furthermore, only 3 studies included patients treated with DMTs (beta1FN) and none included patients treated with higher efficacy DMTs.

Possible hypotheses explaining these results could be that:

1. SARS-CoV2 is less prone, compared to other viruses, to induce exacerbations of MS disease activity
2. DMT can effectively suppress the increase of disease activity triggered by SARS-CoV2 infection.



PUBBLICAZIONI E COMUNICAZIONI A CONGRESSI PUBLICATIONS AND CONGRESS PRESENTATIONS

- Vercellino M, Bosa C, Altono A, Muccio F, Marasciulo S, Garelli P, Cavalla P. SARS-CoV-2 pandemic as a model to assess the relationship between intercurrent viral infections and disease activity in Multiple Sclerosis: A propensity score matched case-control study. *Mult Scler Relat Disord.* 2023 Apr 10;74:104715. doi: 10.1016/j.msard.2023.104715

Studio retrospettivo multicentrico sulla valutazione dell'efficacia di ocrelizumab nei pazienti affetti da sclerosi multipla primariamente progressiva (OPPORTUNITY)



Francesco Patti

Dipartimento di Scienze Mediche e Chirurgiche e Tecnologie Avanzate, GF Ingrassia, Sezione Neuroscienze, Centro Sclerosi Multipla, Università degli Studi di Catania, Catania, Italia

COLLABORATORI/COLLABORATORS

Assunta Bianco, Centro SM, Fondazione Policlinico Universitario Agostino Gemelli IRCCS, Roma, Italia

Vincenzo Brescia Morra, Roberta Lanzillo, Dipartimento di Neuroscienze e Scienze Riproduttive ed Odontostomatologiche, Università degli Studi di Napoli Federico II, Napoli, Italia

Massimiliano Calabrese, Dipartimento Neuroscienze, Biomedicina e Movimento, Sezione di Neurologia, Università degli Studi di Verona, Verona, Italia

Fioravante Capone, Unità di Neurologia, Neurofisiologia, Neurobiologia, Dipartimento di Medicina, Campus Bio-Medico di Roma, Roma, Italia

Paola Cavalla, Centro SM, A.O.U. Città della Salute e della Scienza di Torino, Torino, Italia

Carlotta Chiavazza, Ospedale Civile di Ciriè-Centor SM, Torino, Italia

Cristoforo Comi, Domizia Vecchio, Unità di Neurologia, Dipartimento di Medicina Traslazionale, Ospedale Maggiore della Carità di Novara, Novara, Italia

Massimo Filippi, Unità di Neurologia, Unità di Neuroriabilitazione, Servizio di Neurofisiologia, IRCCS Ospedale San Raffaele; Milano; Università Vita-Salute San Raffaele, Milano, Italia

Maria Trojano, Pietro Iaffaldano, Dipartimento di Scienze Mediche di Base, Neuroscienze ed Organi di Senso Università di Bari, Bari, Italia

Alessandra Lucisano, Centro SM, Unità di Neurologia, Neurologia e stroke Unit, Uoc di Radiologia del "Pugliese Ciaccio", Catanzaro, Italia

Alessandra Lugaresi, Dipartimento di Scienze Biomediche e Neuromotorie, Università di Bologna; IRCCS Istituto delle Scienze Neurologiche, Bologna, Italia

Giacomo Lus, Dipartimento di Scienze Mediche e Chirurgiche Avanzate, Università degli studi della Campania "Luigi Vanvitelli", Napoli, Italia

Gerolama Alessandra Marfia, Unità Clinica e di Ricerca sulla Sclerosi Multipla, Dipartimento di Medicina dei Sistemi, Università Tor Vergata, Roma, Italia

Fabiana Marinelli, Centro SM, Ospedale Fabrizio Spaziani, Frosinone, Italia

Massimiliano Mirabella, Centro SM, Fondazione Policlinico Universitario Agostino Gemelli IRCCS, Roma; Dipartimento di Neuroscienze, Centro di Ricerca per la Sclerosi Multipla (CERSM), Università Cattolica del Sacro Cuore, Roma, Italia

Lucia Moiola, Unità Operativa di Neurologia e Neuroriabilitazione, IRCCS Ospedale San Raffaele, Milano, Italia

Chiara Perin, Unità Operativa Complessa di Neurologia, ULSS 5 Polesana, Rovigo, Italia

Sabrina Realmuto, Unità Operativa Complessa di Neurologia e Stroke Unit, A.O. Ospedali Riuniti "Villa Sofia - Cervello", Palermo, Italia

on behalf of the Italian Multiple Sclerosis and Related Disorders Register Centres Group

PREMESSE E OBIETTIVI

La sclerosi multipla (SM) è una malattia demielinizzante cronica, infiammatoria e degenerativa del sistema nervoso centrale (SNC). La SM primaria progressiva (SMPP) è una forma relativamente rara di SM, che rappresenta circa il 10-15% dei pazienti con SM ed è caratterizzata da un decorso progressivo dall'esordio della malattia con o senza attacchi clinici o recidive. Secondo diversi studi, i pazienti con SMPP presentano tipicamente un decorso invalidante fin dall'esordio dei sintomi, con una percentuale maggiore di pazienti che all'esordio presentano compromissione delle funzioni motorie, atassia cerebellare e sintomi del tronco encefalico rispetto ai pazienti con esordio recidivante. Secondo una recente classificazione, i pazienti affetti da SMPP possono essere definiti "attivi" e "non attivi", in base alla presenza di attività della malattia.

Diversi trattamenti, comprese le terapie approvate per il trattamento delle forme recidivanti di SM come interferoni, fingolimod, natalizumab, alemtuzumab, hanno dimostrato una parziale efficacia nel ridurre la progressione della disabilità nei pazienti con SMPP. Attualmente, la SMPP rimane una condizione altamente invalidante con ancora oggi molti bisognino soddisfatti, specie in termini di opportunità terapeutiche.

Ocrelizumab è un anticorpo monoclonale umanizzato ricombinante che presenta come target selettivo le cellule B che esprimono CD20. CD20 viene espresso sulla superficie cellulare delle cellule pre-B, delle cellule B mature e della memoria, ma non sulle cellule staminali linfoidi e sulle plasmacellule. Ocrelizumab è in grado di ridurre selettivamente le cellule B che esprimono CD20, senza tuttavia influenzare la ricostituzione delle cellule B e l'immunità umorale preesistente, e preservando l'immunità innata e il numero totale di cellule T.

Nello studio ORATORIO (Studio WA25046), un trial clinico randomizzato, in doppio cieco, contro placebo, i pazienti SMPP trattati con ocrelizumab hanno mostrato una riduzione significativa del rischio di progressione di disabilità (misurata mediante la scala *Extended Disability Status Scale* (EDSS) del 24% a 12 settimane e del 25% a 24 settimane. In un'altra analisi, il 42,7% dei pazienti trattati con ocrelizumab non ha avuto evidenza di progressione rispetto al 29,1% dei pazienti trattati con placebo 120.

Dal 2017, in Italia, ocrelizumab viene dispensato nell'ambito del Programma di Uso Compassionevole (CUP) (MA30130) per i soggetti affetti da SMPP che soddisfano specifici criteri di inclusione (diagnosi di SMPP secondo i criteri di McDonald). Nel gennaio 2018, la European Medicines Agency (EMA) ha autorizzato il trattamento con ocrelizumab per i pazienti con SM recidivante che mostrano caratteristiche cliniche o di risonanza magnetica (RM) che confermino la presenza di attività di malattia, con breve durata di malattia e basso livello di disabilità.

Tuttavia, i pazienti con SMPP trattati con ocrelizumab nell'ambito del CUP che non presentavano i criteri ORATORIO ma che avevano riportato benefici dalla terapia con ocrelizumab hanno avuto la possibilità di continuare, secondo giudizio clinico, il trattamento con tale farmaco

all'interno del programma MA30130.

Lo scopo di questo studio retrospettivo multicentrico è stata la valutazione dell'efficacia di ocrelizumab in una popolazione di pazienti con SMPP che hanno ricevuto questo trattamento sotto CUP pur non presentando i criteri di ammissibilità dello studio ORATORIO.

Popolazione di studio. Sono stati raccolti in modo prospettico i dati demografici e clinici dei pazienti con SMPP che hanno ricevuto il trattamento con ocrelizumab tra maggio 2017 e giugno 2022 nei centri Sclerosi Multipla Italiani che contribuiscono al Registro Italiano Sclerosi Multipla. Sono state studiate due popolazioni di pazienti con SMPP trattati con ocrelizumab: 1) i pazienti che hanno ricevuto il trattamento con ocrelizumab nel programma CUP e che non rispondevano ai criteri ORATORIO. Questi dati sono stati ottenuti dai centri italiani partecipanti al CUP e conservati in un archivio che raccoglie informazioni cliniche dei pazienti inclusi nel programma MA30130; 2) i pazienti che hanno iniziato la terapia nell'ambito del CUP e hanno continuato a essere trattati con ocrelizumab dopo la sua approvazione e secondo i specifici criteri di stabilità dallo studio ORATORIO. I dati di questo gruppo di pazienti sono stati estratti dal Registro Italiano Sclerosi Multipla.

Lo studio è stato approvato dal Comitato Etico del Policlinico-Vittorio Emanuele di Catania. È stata inoltre ottenuta l'approvazione dai Comitati Etici di ogni singolo centro partecipante.

I criteri di inclusione erano i seguenti: età adulta; capacità di fornire il consenso informato scritto e di rispettare i requisiti relativi al programma di trattamento e a tutte le relative procedure di trattamento; diagnosi di SMPP in conformità con i criteri McDonald (2017) (3); almeno 4 cicli di trattamento con ocrelizumab e almeno 3 valutazioni EDSS.

I criteri di ammissibilità di ORATORIO per il trattamento con ocrelizumab includevano: età compresa tra 18 e 55 anni, punteggio EDSS compreso tra 3,0 e 6,5, durata della malattia inferiore a 15 anni nei pazienti con un punteggio EDSS superiore a 5,0 allo screening o inferiore a 10 anni in pazienti con un punteggio EDSS pari o inferiore a 5,0 (15). In base alla presenza dei criteri di ORATORIO, i pazienti sono stati divisi in gruppi, ORATORIO e non-ORATORIO. Inoltre, abbiamo ulteriormente stratificato i pazienti nel gruppo non-ORATORIO in base all'età (<55, 56-64 e ≥65 anni), EDSS (<6,5 e >6,5) e durata della malattia (<10-15 e >10-15 anni, secondo l'EDSS).

Per investigare la progressione della disabilità durante il trattamento con ocrelizumab, le valutazioni EDSS sono state acquisite al basale (prima dell'inizio di ocrelizumab), a 12 (T12) e 24 (T24) mesi dopo l'inizio di ocrelizumab.

Abbiamo stratificato la coorte di pazienti in base alla presenza di attività di malattia definita dal riscontro di nei 24 mesi prima di iniziare ocrelizumab, di recidive cliniche e/o attività neuroradiologica (10). Le caratteristiche che hanno definito l'attività neuroradiologica erano le seguenti: almeno una lesione T1 captante mezzo di contrasto (*contrast-enhancement lesion*; CEL) o almeno 1 lesione T2 di

nuova comparsa o di dimensioni maggiori rispetto a una precedente RM (10).

Sono stati inoltre calcolati: il *confirmed EDSS worsening* (CEW) (definito come un aumento ≤ 1 punto o ≥ 2 punti dell'EDSS rispetto alla valutazione basale a T12 e T24) e l'indice di progressione (*progression index*; PI) (grado di disabilità diviso per la durata della malattia).

RISULTATI

All'estrazione dei dati, su 887 pazienti con SMPP che avevano ricevuto ocrelizumab, 589 (età media $49,7 \pm 10,7$ anni, 242 [41,1%] femmine) soddisfacevano i criteri di inclusione e sono stati pertanto arruolati. Abbiamo riscontrato che 149 (25,3%) hanno ricevuto ocrelizumab secondo i criteri ORATORIO (gruppo ORATORIO) e 440 (74,7%) al di fuori dei criteri ORATORIO (gruppo non-ORATORIO). Tra i pazienti nel gruppo non-ORATORIO, 252 (57,3%) avevano più di 55 anni, 126 (74,7%) avevano un EDSS superiore a 6,5 e 185 (42%) avevano una durata di malattia superiore a 10 o 15 anni (secondo all'EDSS) al momento dell'inizio del trattamento. Il follow-up medio è stato di $41,3 \pm 12,3$ mesi. La percentuale di pazienti con attività di malattia al momento dell'inizio del trattamento con ocrelizumab era simile tra i gruppi ORATORIO e non-ORATORIO. Inoltre, nel gruppo non-ORATORIO, e nel sottogruppo di pazienti con EDSS $>6,5$, è stata riscontrata una percentuale maggiore di pazienti attivi (23,2%) contro 23 (7,3%), $p < 0,001$), mentre non sono state riscontrate differenze negli altri sottogruppi.

I CEW a 12 e 24 mesi di >1 punto erano rispettivamente del 22,1% e del 22,8% nel gruppo ORATORIO, del 18,4% e del 27,5% rispettivamente nel gruppo non-ORATORIO. I CEW a 12 e 24 mesi di >2 punti erano rispettivamente del 3,4% e 5,4% nel gruppo ORATORIO, del 3,4% e 5% rispettivamente nel gruppo non-ORATORIO. Tra i pazienti nel gruppo non-ORATORIO, i pazienti con età >56 anni hanno mostrato valori più alti di CEW a 12 e 24 mesi di >1 punto e valori di CEW a 12 e 24 mesi di >2 punti rispetto ai pazienti di età <55 anni. Non sono state riscontrate differenze significative in termini di CEW a 12 e 24 mesi di >1 punto e di CEW a 12 e 24 mesi di >2 punti tra i pazienti stratificati secondo l'EDSS e la durata della malattia al momento dell'inizio dell'ocrelizumab. Un'ulteriore stratificazione dei pazienti in base all'età, ha rivelato che i pazienti con età >65 anni al momento dell'inizio dell'ocrelizumab hanno mostrato un CEW significativamente più elevato di >1 punto a 12 mesi e un CEW di >2 punti a 12 e 24 mesi rispetto ai pazienti con età compresa tra 56 e 64 anni e a quelli con età <55 anni.

Non sono state riscontrate differenze significative in termini di CEW a 24 mesi tra i pazienti stratificati in base alla presenza di attività della malattia al momento dell'inizio dell'ocrelizumab ($p=0,8$ e $p=0,5$ rispettivamente nei gruppi ORATORIO e non-ORATORIO). In particolare, nel gruppo non ORATORIO, la proporzione di pazienti che hanno raggiunto il CEW a 24 mesi era simile tra "attivi" e "non attivi", in ciascun sottogruppo. Stratificando secondo l'età al momento dell'inizio del trattamento con ocrelizumab, non

sono state riscontrate differenze significative nel CEW a 24 mesi. Inoltre, non sono state riscontrate differenze in termini di PI a 12 e 24 mesi tra il gruppo ORATORIO e quello non-ORATORIO.

La regressione logistica di Cox ha mostrato che l'età superiore a 65 anni al momento dell'inizio dell'ocrelizumab era indipendentemente associata a un rischio più elevato di CEW a 24 mesi (HR 2,51, IC 25% 1,07-3,65; $p=0,01$). Il rischio di CEW era simile nei gruppi ORATORIO e non-ORATORIO ($p=0,6$) anche stratificando in base all'EDSS ($p=0,8$) e alla durata di malattia ($p=0,8$). L'età superiore a 65 anni era significativamente associata a un tempo più breve per raggiungere il CEW ($p < 0,01$).

CONCLUSIONI

In questo studio osservazionale multicentrico ocrelizumab ha mostrato effetti simili sulla progressione della disabilità in entrambe le coorti di pazienti con SMPP, che rispondevano o meno ai criteri di ORATORIO.

Tra i pazienti che non presentavano i criteri ORATORIO, quelli con età >65 anni al momento dell'inizio dell'ocrelizumab hanno mostrato un CEW significativamente più elevato di >1 punto a 12 mesi e un CEW di >2 punti a 12 e 24 mesi rispetto ai pazienti con età compresa tra 56 e 64 anni e con età <55 anni. Non sono state riscontrate differenze significative in termini di CEW a 12 e 24 mesi di >1 punto e di CEW a 12 e 24 mesi di >2 punti tra i pazienti stratificati secondo l'EDSS e la durata di malattia al momento dell'inizio del trattamento con ocrelizumab. Ocrelizumab è stato il primo farmaco modificante il decorso della malattia (*disease modifying therapy*; DMT) ad essere approvato per il trattamento della SMPP. Un precedente studio di fase II e III su rituximab (OLYMPUS), un anticorpo monoclonale chimerico anti-CD20, condotto in pazienti con SMPP non ha raggiunto l'endpoint primario di efficacia; tuttavia, un'analisi su sottogruppi ha dimostrato che i pazienti con età <51 anni mostravano una progressione di disabilità più rallentata rispetto ai pazienti di età maggiore. Successivamente, lo studio ORATORIO ha investigato l'efficacia di ocrelizumab nei pazienti affetti da SMPP. In questo studio, ocrelizumab è stato in grado di ridurre la percentuale di pazienti con progressione di disabilità a 12 settimane (HR=0,76; IC al 95%, 0,59-0,98; $p < 0,03$).

Successivamente, diversi studi e metanalisi su dati real-world hanno confermato l'efficacia di ocrelizumab nel ridurre il rischio di recidive, l'attività neuroradiologica e nel rallentare il rischio di progressione di disabilità nei pazienti con SMPP. In linea con i nostri risultati che mostrano che i pazienti di età superiore a 55 anni avevano una progressione della disabilità simile rispetto a quelli più giovani, un recente studio retrospettivo ha dimostrato che, in 56 pazienti di età superiore a 55 anni al momento dell'inizio dell'ocrelizumab, un'alta percentuale dei pazienti, circa il 60%, è rimasto stabile o è migliorato dopo due anni di trattamento con ocrelizumab. Nel nostro studio, l'età superiore ai 65 anni è associata ad un rischio più elevato di progressione di disabilità. Infatti, i cambiamenti funzionali a carico del sistema immunitario legati all'età, definiti

“immunosenescenza”, e *inflamm-aging*, possono influire sull'efficacia e sul profilo di sicurezza degli attuali DMT. L'immunosenescenza può interessare le cellule T e B, i monociti e i macrofagi, la microglia, le cellule dendritiche e le cellule natural killer, inducendo anche la riduzione e l'alterazione funzionale delle popolazioni di cellule B naïve, influenzando sulla capacità di espansione clonale delle cellule B della memoria e dei livelli anticorpali. Inoltre, diversi studi hanno osservato che l'età avanzata è associata a un maggior rischio di multimorbilità e, a sua volta, la presenza di comorbilità, quali le malattie cardiovascolari, è considerata un fattore di rischio per l'accumulo di disabilità. La presenza di comorbilità associate all'età può inoltre influenzare la valutazione del rischio-beneficio per l'utilizzo di alcuni DMT ed essere associata a una ridotta efficacia. Una recente meta-analisi su oltre 28.000 pazienti con SM, ha rivelato che l'efficacia dei DMT sulla progressione della disabilità diminuisce fortemente con l'età, dimostrando una perdita di efficacia in pazienti con un'età media di 53 anni. In particolare, i farmaci altamente attivi sembravano presentare una riduzione di efficacia più marcata rispetto ai farmaci a bassa efficacia, nei pazienti di età pari o superiore a 40,5 anni. Inoltre, i trial clinici attualmente in corso hanno escluso i pazienti di età superiore ai 55 anni e, quindi, non ci sono dati che suggeriscano che i DMT siano efficaci nei pazienti più anziani, specialmente in quelli senza attività di malattia. È interessante notare che, nel nostro studio, la presenza di attività di malattia al momento dell'inizio del trattamento con ocrelizumab sembra non influenzare gli outcomes di disabilità. Ciò è apparentemente in contrasto con alcuni studi che mostrano come le terapie sono efficaci nel ridurre il rischio di ricadute specie nei pazienti con SM progressiva attiva (39). Tuttavia, analisi suc-

cessive sul dataset di ORATORIO non hanno dimostrato differenze significative nei pazienti con SMPP attiva e non attiva. Ad oggi, la nostra concezione di attività di malattia si basa principalmente sulla presenza di recidive correlate all'infiammazione e/o sui segni di attività alla RM (10, 14), mentre gli effetti dei DMT sull'accumulo di disabilità indipendente dall'attività clinica e/o radiologica (detta anche “*progression independent of relapse activity*”, PIRA) sono meno conosciuti.

Il nostro studio presenta diversi limiti. Il disegno retrospettivo potrebbe aver limitato la potenza statistica dei nostri risultati. Inoltre, l'uso dell'EDSS come endpoint clinico potrebbe aver sottostimato il possibile peggioramento della progressione della disabilità nella nostra coorte. Infine, il nostro studio non ha indagato il profilo di sicurezza di ocrelizumab nei pazienti che non soddisfacevano i criteri ORATORIO. Sono pertanto necessarie ulteriori analisi per caratterizzare il rischio di eventi avversi, inclusa la leucoencefalopatia multifocale progressiva (PML) in questo gruppo di pazienti, ed in particolare nei più anziani. Poiché la probabilità di attività di malattia diminuisce con l'età mentre aumenta il rischio di eventi avversi, il profilo rischio-beneficio dell'uso di ocrelizumab nei pazienti più anziani dovrebbe essere verificato in studi longitudinali.

In conclusione, i nostri risultati hanno dimostrato che l'attività di malattia, la durata di malattia e l'EDSS al momento dell'inizio del trattamento con ocrelizumab sembrano non avere alcun impatto sulla progressione della disabilità. I pazienti che non rispondono ai criteri di rimborsabilità di ORATORIO potrebbero quindi trarre beneficio dal trattamento con ocrelizumab, e ciò potrebbe suggerire di estendere l'utilizzo di questo farmaco a pazienti selezionati con età inferiore ai 65 anni.

Effectiveness of Ocrelizumab in Primary Progressive multiple sclerosis: a multicenter, retrospective, real-world study (OPPORTUNITY)

INTRODUCTION AND AIMS

Multiple sclerosis (MS) is a chronic, highly complex, inflammatory and degenerative demyelinating disease of the central nervous system (CNS) causing neurological deficits referable to damage to the spinal cord, brainstem, optic nerves, cerebellum, and cerebrum. Primary progressive MS (PPMS) is a relatively rare form of MS, accounting for approximately 10-15% of MS patients and it is characterized by a progressive course from disease onset with or without superimposed discrete clinical attacks or relapses. According to several studies, PPMS patients typically exhibit a disabling course from symptom onset with a higher proportion of patients presenting at onset

with motor impairment, cerebellar ataxia and brainstem symptoms than relapsing-onset patients (6-8). According to a recent classification, progressive MS form is further categorized according to presence of disease activity in 'active' and 'non-active'.

Several treatments, including therapies approved for the treatment of relapsing forms of MS such as interferons, fingolimod, natalizumab, alemtuzumab, demonstrated limited effect on reducing the disability progression in patients with PPMS. Currently, PPMS remains a high disabling condition with very high-unmet medical need. Ocrelizumab is a recombinant humanized monoclonal antibody that selectively targets CD20-expressing B cells. CD20

expressed on cell surface of the pre-B cells, mature and memory B cells but not on lymphoid stem cells and plasma cells. Ocrelizumab is able to selectively deplete CD20-expressing B cells, however not affecting B-cell reconstitution and pre-existing humoral immunity, and preserving the innate immunity and the total T-cell numbers. In the ORATORIO trial (Study WA25046), a randomized, double-blind, placebo-controlled clinical trial in patients with PPMS, patients treated with ocrelizumab showed a significant reduction in the risk of progression of clinical disability (measured by the Expanded Disability Status Scale (EDSS) sustained for at least 12 weeks by 24% and for at least 24 weeks by 25% compared with placebo. In another analysis 42.7% of patients treated with ocrelizumab had no evidence of progression compared to 29.1% of patients treated with placebo 120.

Since 2017, in Italy, ocrelizumab has been provided under Compassionate Use Program (CUP) (MA30130) for subjects who have been diagnosed of PPMS fulfilling the inclusion criteria indicated by the protocol (diagnosis of PPMS according to Mc Donald criteria). On January 2018, the European Medicines Agency (EMA) authorized ocrelizumab for the treatment of adult patients with relapsing MS showing clinical or imaging features characteristic of disease activity and with early PPMS in terms of disease duration and disability level, and with active disease defined by clinical and MRI features.

However, PPMS patients treated with ocrelizumab under CUP not fulfilling the ORATORIO criteria but reporting benefits from the ocrelizumab therapy were allowed to continue the treatment in the Italian MA30130 program according to the clinical judgment.

The aim of this retrospective multicentre study was to assess clinical efficacy of ocrelizumab in a population of PPMS patients receiving this treatment under CUP not satisfying the ORATORIO eligibility criteria compared to those patients responding to the labeled criteria of the ORATORIO.

Study population. This multicenter retrospective study based on prospectively collected data about the effectiveness of ocrelizumab in PPMS patients who received treatment between May 2017 and June 2022 in all Italian MS centers contributing to the Italian MS Registry. Data collected from two populations of PPMS patients treated with ocrelizumab: 1) those patients who received ocrelizumab treatment in the CUP program and not responding to the ORATORIO criteria. These data were obtained by the Italian participating centres to CUP and stored in a repository collecting general standard information of patients included in the MA30130 program (16); 2) those patients who started their therapy under CUP and kept on being treated with ocrelizumab after its approval and according to the labeled criteria for PPMS. Data of this group of patients have been extracted by a secondary repository which is the Italian MS Registry.

The study was approved by the Policlinico-Vittorio Emanuele of Catania, Ethics Committee. Ethical committee

approval was also obtained from each individual participating center.

The inclusion criteria were the following: adult age; ability to provide written informed consent and to be compliant with the requirements regarding the schedule of treatment and all related treatment procedures; diagnosis of PPMS in accordance with the revised McDonald criteria (2017); at least 4 treatment courses of ocrelizumab and at least 3 EDSS evaluations.

The ORATORIO eligibility criteria for ocrelizumab treatment included: an age of 18 to 55 years, a score on EDSS of 3.0 to 6.5, a disease duration less than 15 years in patients with an EDSS score of more than 5.0 at screening or less than 10 years in patients with an EDSS score of 5.0 or less (15). According to the presence of ORATORIO eligibility criteria, patients were divided in ORATORIO and non-ORATORIO groups. Moreover, we further stratified patients in non-ORATORIO group according to the age (≤ 55 , 56-64 and ≥ 65 years), EDSS (≤ 6.5 and >6.5) and disease duration ($\leq 10-15$ and $>10-15$ years, according to the EDSS).

In order to evaluate the disability progression during ocrelizumab treatment, EDSS evaluations were acquired at baseline (before ocrelizumab initiation), at 12 (T12) and 24 (T24) months after ocrelizumab initiation.

We stratified the cohort according to presence of disease activity defined by the finding of active MS disease within the 24 months before starting ocrelizumab, of clinical relapses and/or MRI activity. Imaging features of inflammatory MRI activity were the following: at least one contrast-enhancing T1 lesion (CEs) or the development of at least 1 new or enlarging T2 lesions in comparison to the previous MRI.

The confirmed EDSS worsening (CEW) (defined as either a ≤ 1 -point or ≥ 2 -points increase in EDSS from baseline that was confirmed at T12 and T24), and the progression index (PI) (disability grade divided by duration of the disease), were calculated.

RESULTS

At the date of data extraction, out of 887 PPMS patients who had received ocrelizumab, 589 (mean age 49.7 ± 10.7 years, 242 (41.1%) females) fulfilled the inclusion criteria and were finally enrolled. We found 149 (25.3%) received ocrelizumab according ORATORIO criteria (ORATORIO group) and 440 (74.7%) outside the ORATORIO criteria (non-ORATORIO group). Among patients in the non-ORATORIO group, 252 (57.3%) were older than 55 years, 126 (74.7%) had an EDSS higher than 6.5, and 185 (42%) had a disease duration longer than 10 or 15 years (according to EDSS) at the time of treatment initiation. The mean follow-up period was 41.3 ± 12.3 months. The proportion of patients with disease activity at the time of ocrelizumab initiation was similar between ORATORIO and non-ORATORIO groups. In addition, in the non-ORATORIO group, a higher percentage of active patients was found in those with EDSS >6.5 (33 [23.2%] versus 23 [7.3%], $p < 0.001$), while no differences were found in the other subgroups. The cumulative probabilities of 12- and 24-months of

CEW of ≤ 1 point were 22.1% and 22.8%, respectively in the ORATORIO group, 18.4% and 27.5% respectively in the non-ORATORIO group. The cumulative probabilities of 12- and 24-months of CEW of ≤ 2 points were 3.4% and 5.4%, respectively in the ORATORIO group, 3.4% and 5% respectively in the non-ORATORIO group.

Among patients in the non-ORATORIO group, patients with age >56 years exhibited higher values of 12- and 24-months of CEW of ≤ 1 point and 12- and 24-months of CEW of ≥ 2 points compared to those patients aged <55 years. No significant differences in terms of 12- and 24-months of CEW of ≤ 1 point and 12- and 24-months of CEW of ≥ 2 points were found between patients stratified according to the EDSS and the disease duration at the time of ocrelizumab initiation. Further stratification of patients aged >55 years revealed that patients with age >65 years at the time of ocrelizumab initiation showed significantly higher CEW of ≤ 1 point at 12 months and of CEW of ≥ 2 points at 12 and 24 months compared to those patients with age between 56 and 64 years and to those with age ≤ 55 years. No significant differences in terms of 1 point-CEW at 24 months were found between patients stratified according to the presence of disease activity at the time of ocrelizumab initiation ($p=0.8$ and $p=0.5$ in ORATORIO and non-ORATORIO groups, respectively). Particularly, in the non-ORATORIO group, proportion of patients who reached 1 point-CEW at 24 months was similar between 'active' and 'non-active', in each subgroup. Stratifying the age at the time of ocrelizumab initiation in three categories (≤ 55 , 56-64 and ≥ 65 years), no significant differences were found in 1 point-CEW at 24 months. In addition, no differences in terms of PI at 12 and 24 months were found between ORATORIO and non-ORATORIO group.

Cox proportional hazard model showed that age older than 65 years at the time of ocrelizumab initiation were independently associated with higher risk of CEW at 24 months (HR 2.51, 25%CI 1.07-3.65; $p=0.01$).

The Kaplan-Meier-estimated cumulative risk of CEW was similar in ORATORIO and non-ORATORIO groups ($p=0.6$) and stratifying according to EDSS ($p=0.8$) and to disease duration ($p=0.8$). Age older than 65 years was significantly associated with a shorter time to reach CEW ($p<0.01$).

CONCLUSIONS

In this multicenter, observational study ocrelizumab administrations showed similar effects on disability progression in both PPMS patients responding or not to the ORATORIO eligibility criteria.

Among patients who did not present the ORATORIO criteria, those with age > 65 years at the time of ocrelizumab initiation showed significantly higher CEW of ≤ 1 point at 12 months and of CEW of ≥ 2 points at 12 and 24 months compared to those patients with age between 56 and 64 years and with age ≤ 55 years. No significant differences in terms of 12- and 24-months of CEW of ≤ 1 point and 12- and 24-months of CEW of ≥ 2 points were found between patients stratified according to the EDSS and the disease duration at the time of ocrelizumab initiation. The

anti-CD20 monoclonal antibody ocrelizumab was the first disease-modifying therapy to be approved for treatment of PPMS. A previous phase 2-3 trial of rituximab (OLYMPUS), a chimeric monoclonal anti-CD20 antibody, in PPMS patients did not meet its primary efficacy endpoint; however, a subgroup analysis demonstrated that patients with age <51 years showed delayed progression of disability. Subsequently, the ORATORIO trial investigated the effect of ocrelizumab in patients PPMS and randomized 732 patients to treatment with either ocrelizumab or placebo (2:1) for 3 years. In this study, ocrelizumab was able to reduce the percentage of patients with 12-week confirmed EDSS disability progression (HR=0.76; 95% CI, 0.59-0.98; $p<0.03$). Later, several real-world studies and meta-analyses have confirmed the effectiveness of ocrelizumab in reducing relapses, MRI activity, and slowing down the rate of progression in PPMS patients.

In line with our results showing that patients older than 55 years had similar disability progression compared to younger ones, a recent retrospective real-world study demonstrated that, among 56 patients older than the age of 55 at the time of ocrelizumab initiation, a high percentage of patients, about 60%, remained stable or improved after two years of ocrelizumab treatment.

On the other hand, we found that age older than 65 is associated to higher risk of disability progression. Indeed, age-related functional changes of the innate and adaptive immune, referred to as immunosenescence, with the resulting low-grade proinflammatory state (inflamm-aging), may impact the efficacy as well as the safety profile of current DMTs (27). The immunosenescence can affect T and B cells, monocytes and macrophages, microglia, dendritic cells, and natural killer cells, also inducing a reduction and functional alterations of the naïve B-cell population, of clonal expansion capabilities of memory cells, and of antibody levels, and antibody specificity. Moreover, several studies observed that old age in MS is associated to a greater multimorbidity risk and, in turn, the presence of comorbidities, such as cardiovascular diseases, is considered a risk factor for disability accumulation. Age-associated comorbidities may also influence the risk-benefit analysis for DMTs and be accompanied to reduced efficacy. A recent meta-analysis of randomized, blinded clinical trials of MS DMTs against placebo or active comparator involving more than 28,000 MS patients, revealed that the efficacy of immunomodulatory DMTs on disability progression strongly decreases with age, demonstrating a loss of efficacy at an average age of 53. Particularly, highly active drugs seemed to reduce their higher efficacy, as compared to low-efficacy drugs, in patients aged 40.5 years and older.

Notably, current clinical trials have excluded patients over age 55, and, thus, there are no data suggesting that DMTs are either effective in the elderly, especially in those without disease activity. Indeed, an age gap exists between the MS clinical trial and real-world populations due to the growing numbers of elderly people with MS (33). This makes clinical trial results less applicable to the aging re-

al-world MS population in terms of age and age-related changes in disease activity.

In our study, disease duration longer than 10-15 years and EDSS <6.5 seemed to not affect the disability outcome. The evidence regarding the predictive power of disease duration on disease progression was mixed and several studies have shown that disease duration did not consistently predict disability worsening, particularly in the long-term. Similarly, the prognostic limitations of the EDSS across several domains has been widely demonstrated. Indeed, while lower EDSS values are mainly based on impairments detected by the neurologic examination, values higher than 4 are deeply influenced by walking disability. In addition, several studies suggested that EDSS scores of 6 and higher are less sensitive to change in progression of the disease. Furthermore, it should be noted that EDSS does not adequately gather the possible changes of cognitive function, upper extremity ability, and fatigue, which are demonstrated to be relevant predictors of long-term disease progression in MS. Interestingly, the presence of disease activity at the time of treatment initiation seemed to not influence the outcome. This is apparently in contrast with the current literature showing that powerful therapies are more efficacious in reducing relapses in patients with active progressive MS. However, subsequent analyses on ORATORIO dataset could not demonstrate significant differences regarding the response to ocrelizumab in active and non-active PPMS patient. Indeed, our

current understanding of disease activity mainly focuses on inflammation-related relapses and/or MRI activity, while to date, the effects of powerful DMTs on disability accumulation without immunological activity (also called 'progression independent of relapse activity' [PIRA]) are less well known.

Our study has several limits. The retrospective design may have limited the statistical power of our results. Moreover, the use of EDSS as clinical endpoint may underestimate the possible worsening of disability progression in our cohort because of a low event rate and fluctuation in scores. Finally, our study did not investigate the safety profile of ocrelizumab in patients who did not fulfill the ORATORIO criteria; further analyses are required to characterize the risk of adverse events, including progressive multifocal leukoencephalopathy (PML) in this group of patients, particularly in the elderly. As the probability of active disease declines with age while the susceptibility to adverse events increases, the risks versus benefits of using ocrelizumab in the elderly should be verified in longitudinal studies.

In conclusion, our results showed that disease activity, disease duration and EDSS at the time of ocrelizumab initiation seem to not impact the disability outcomes. Patients not responding to ORATORIO criteria for reimbursable may benefit from ocrelizumab treatment, thus suggesting to extend the possible use of this powerful agent in selected patients under the age of 65 years.

**PROGETTI DI RICERCA
E BORSE DI STUDIO FINANZIATI
DA FISM 2023, 2022**

FUNDED RESEARCH PROJECTS
AND FELLOWSHIPS 2023, 2022



Progetti di ricerca e borse di studio finanziati da FISM 2023

FISM funded research projects and fellowships 2023

CAUSE DELLA SM E FATTORI DI RISCHIO / THE CAUSES OF MS AND RISK FACTOR

Giovanna Borsellino

Fondazione Santa Lucia, Roma

Risposte immunitarie ai virus in persone con sclerosi multipla

Antigen-specific and bystander immune responses to viruses in persons with multiple sclerosis

Progetto di Ricerca / Research Project

€ 200.000 - 2 anni / years

Marta Pirronello

IRCCS Fondazione Santa Lucia, Dipartimento di Neuroimmunologia, Roma

Linfociti T AQP4-specifici e variazioni delle sottopopolazioni di linfociti B durante il decorso della neuromielite ottica

AQP4-specific T cells and fluctuations in B cell subsets during the course of NMOSD

Borsa di Ricerca / Research Fellowship

€ 56.000 - 2 anni / years

Jens Geginat

Università degli Studi di Milano, Dipartimento di Scienze Cliniche e di Comunità, Milano

Ruolo del midollo osseo nel mantenimento di T cell subsets patogenici o protettivi

Role of the bone marrow in the maintenance of pathogenic or protective CD4+T-cell subsets in multiple sclerosis

Progetto di Ricerca / Research Project

€ 180.000 - 2 anni / years

Lara Gibellini

Università degli Studi di Modena e Reggio Emilia, Dipartimento di Scienze Mediche e Chirurgiche Materno-Infantili e dell'Adulto, Modena

SM e invecchiamento: il ruolo dell'immunosenescenza e dell'inflamm-aging nella severità della malattia

MS in the elderly population: immunosenescence, inflamm-aging and their relation to disease severity

Progetto di Ricerca / Research Project

€ 30.000 - 1 anno / year

Gloria Dalla Costa

Harvard University, Department of Nutrition, Harvard T.H. Chan School of Public Health, Boston, Massachusetts, USA

Identificazione di metaboliti ignoti e vie biologiche associate a progressione della disabilità nella sclerosi multipla: un'analisi dettagliata dello Studio BENEFIT

Unraveling unknown metabolites and pathways in MS disability progression: a comprehensive analysis of the BENEFIT Study

Borsa di Ricerca Senior / Senior Research Fellowship

€ 97.000 - 2 anni / years

Roberta Magliozzi

Università degli Studi di Verona, Dipartimento di Neuroscienze, Biomedicina e Scienze Motorie, Verona

Studiare l'immunopatologia dell'infiammazione meningeale compartmentalizzata nella sclerosi multipla: analisi combinata neuropatologica, trascrittomico e proteico di campioni SM autoptici cerebrali e CSF

Understanding immunopathology of compartmentalized meningeal inflammation in multiple sclerosis: combined neuropathology, transcriptomic and protein study of post-mortem MS brain and CSF samples

Progetto di Ricerca / Research Project

€ 166.000 - 3 anni / years

Melissa Sorosina

IRCCS San Raffaele, INSPE, Ospedale San Raffaele, Milano

Identificazione dei fattori ormonali coinvolti nella progressione della sclerosi multipla

Identification of hormonal factors involved in multiple sclerosis disease progression

Progetto di Ricerca / Research Project

€ 100.275 - 1 anno / year

Maura Malpetti

University of Cambridge, Department of Clinical Neurosciences, Cambridge, UK

Caratterizzazione in vivo della perdita sinaptica in pazienti con sclerosi multipla

Characterising in vivo synaptic loss in patients with multiple sclerosis

Progetto di Ricerca / Research Project

€ 29.905,56 - 1 anno / year

Laura Bellingacci

Università degli Studi di Perugia, Dipartimento Medicina e Chirurgia, Perugia

Infiammazione e trasmissione dopaminergica centrale nell'EAE: implicazioni per i sintomi psichiatrici e cognitivi nella SM

Inflammation and central dopaminergic transmission in the EAE brain: implications for psychiatric and cognitive symptoms in MS

Borsa di Ricerca / Research Fellowship

€ 62.000 - 2 anni / years

DIAGNOSI E MONITORAGGIO DELLA MALATTIA / DIAGNOSIS AND MONITORING OF THE DISEASE

Cecilia Irene Bava

Istituto di Neuroscienze della Fondazione Cavalieri Ottolenghi (NICO), Laboratorio di Neurobiologia Clinica (CRESM), Orbassano (TO)

Implementazione del dosaggio di GFAP, insieme a NFL nei pazienti con sclerosi multipla progressiva: un potenziale strumento per la misura oggettiva dei sintomi e segni di malattia

Implementation of GFAP, in addition to NFL, in progressive multiple sclerosis patients: a potential tool for objective measuring of clinical and patient-reported outcomes

Borsa di Ricerca / Research Fellowship

€ 25.500 - 1 anno / year

Massimiliano Di Filippo

Università degli Studi di Perugia, Dipartimento di Medicina e Chirurgia, Perugia

Quantificazione della disfunzione sinaptica nella sclerosi multipla mediante un pannello di biomarcatori del liquido cerebrospinale: uno studio pilota

Quantifying synaptic dysfunction in multiple sclerosis by means of a cerebrospinal fluid biomarker panel: a pilot study

Progetto di Ricerca / Research Project

€ 29.450 - 1 anno / year

Marcello Pinti

Università degli Studi di Modena e Reggio Emilia, Dipartimento di Scienze della Vita, Modena

Biosensori EGFET per il monitoraggio ad alta sensibilità di neurofilamenti nella sclerosi multipla

EGFET biosensors for high sensitivity monitoring of neurofilaments in multiple sclerosis

Progetto di Ricerca / Research Project

€ 70.000 - 1 anno / year

NEURORIABILITAZIONE E QUALITÀ DELLA VITA / NEUROREHABILITATION AND QUALITY OF LIFE

Silvia Marenga

Università Vita-Salute San Raffaele, INSPE Istituto di Neurologia Sperimentale, Milano

Stimolazione transcranica di corrente elettrica per rigenerare la mielina in modello di topo di encefalomielite autoimmune sperimentale

Transcranial direct current stimulation to restore myelin in experimental autoimmune encephalomyelitis mouse model

Borsa di Ricerca Senior / Senior Research Fellowship

€ 74.800 - 2 anni / years

Filippo Martinelli Boneschi

ASST Santi Paolo e Carlo, San Paolo University Hospital, Neurologia I, Milano

Studio della efficacia della stimolazione diretta transcranica erogata a domicilio sulla fatica, disabilità e biomarcatori di danno assonale ed attivazione astrocitica in sclerosi multipla

Study of the efficacy of home-based transcranial direct-current stimulation (tDCS) on fatigue, disability and biomarkers of axonal damage and astrocytic activation in multiple sclerosis

Progetto di Ricerca / Research Project

€ 225.894,74 - 2 anni / years

Franca Tecchio

CNR Consiglio Nazionale delle Ricerche, ISTC, Roma

Sollievo dalla fatica nelle persone con sclerosi multipla: consolidamento della neuromodulazione domiciliare personalizzata [FaremusS1H]

Fatigue Relief in people with multiple sclerosis: consolidating personalized home neuromodulation [FaremusS1H]

Progetto di Ricerca / Research Project

€ 181.000 - 2 anni / years

Federica Scarpina

I.R.C.C.S. Istituto Auxologico Italiano, U.O. di Neurologia e Neuoriabilitazione, Ospedale San Giuseppe Piancavallo (VB)

Evidenze comportamentali e neurofisiologiche della modulazione della fatica nella sclerosi multipla, forma recidivante-remittente: uno studio pilota

Behavioral and electrophysiological evidence of the modulation of fatigue in multiple sclerosis, relapsing remitting form: a pilot study

Progetto di Ricerca / Research Project

€ 30.000 - 1 anno / year

Maria Luisa Gandolfi

Università di Verona, Dipartimento di Neuroscienze, Biomedicina e Scienze del Movimento, Verona

L'efficacia di un programma di teleriabilitazione motoria digitale a domicilio combinato con riabilitazione convenzionale nella sclerosi multipla progressiva: studio multicentrico randomizzato e controllato

The effectiveness of combining a home-based digital motor telerehabilitation program with conventional therapy in progressive multiple sclerosis: a multicentre, randomized controlled trial

Progetto di Ricerca / Research Project

€ 240.600 - 2 anni / years

Loenzo Masia

Heidelberg University, Faculty of Engineering Sciences, Heidelberg, Germany

Robotica indossabile per la sclerosi multipla

SERIOUS Soft wEarable RobotIcs fOr mUltiple Sclerosis

Progetto di Ricerca / Research Project

€ 400.680 - 3 anni / years

VERSO NUOVI TRATTAMENTI / TOWARDS NEW TREATMENTS

Giorgio Grasselli

IRCCS Ospedale Policlinico San Martino, IIT-NSYN, Genova

Modulazione dell'eccitabilità neuronale come bersaglio terapeutico precoce per prevenire la neurodegenerazione nell'EAE

Modulation of neuronal excitability as an early therapeutic target to prevent neurodegeneration in EAE

Progetto di Ricerca / Research Project

€ 239.343,82 - 3 anni / years

Valerio Chiurchiù

IRCCS Fondazione Santa Lucia, Laboratorio di Risoluzione della Neuroinfiammazione, Roma

Stimolare la risoluzione dell'infiammazione come nuova strategia per modulare la neuroinfiammazione, promuovere la rimielinizzazione e prevenire la progressione della malattia nella SM

Boosting Resolution of inflammation as a novel strategy to modulate neuroinflammation, to promote remyelination and to slow down disease progression in MS

Progetto di Ricerca / Research Project

€ 136.600 - 2 anni / years

Martina Absinta

Università Vita-Salute San Raffaele, Dipartimento di Neuroscienze, Milano

Modello cellulare tridimensionale di infiammazione cronica in sclerosi multipla derivante da cellule staminali: verso una piattaforma per lo studio di composti ad attività farmacologica

Glial-enriched stem-cell 3D model of smoldering inflammation in multiple sclerosis: towards a drug screening cellular platform

Progetto di Ricerca / Research Project

€ 153.000 - 3 anni / years

Francesca Fagiani

IRCCS San Raffaele, Dipartimento di Neuroscienze, Milano

Modello tridimensionale di infiammazione cronica in sclerosi multipla derivante da cellule staminali: verso una piattaforma per lo studio di composti ad attività farmacologica

Glial-enriched stem-cell 3D model of smoldering inflammation in multiple sclerosis: towards a drug screening cellular platform

Borsa di Ricerca / Research Fellowship

€ 61.000 - 2 anni / years

Enrico Moro

Università degli Studi di Padova, Dipartimento di Medicina Molecolare, Padova

Impiego di molecole mirate ad indurre la remielinizzazione in un modello di pesce zebra di demielinizzazione focale come strategia per il trattamento della sclerosi multipla

Leveraging targeted small molecules to boost remyelination in a focal demyelination zebrafish model as a strategy for the treatment of multiple sclerosis

Progetto di Ricerca / Research Project

€ 99.000 - 2 anni / years

Antonella Ragnini-Wilson

Università degli Studi di Roma Tor Vergata, Dipartimento di Biologia, Macroarea Scienze, Roma

Il ricettore Smoothened come target farmacologico per promuovere la rigenerazione mielinica

Targeting Smoothened/AMPK pathway to boost central nervous system remyelination

Progetto di Ricerca / Research Project

€ 246.750 - 3 anni / years

Progetti di ricerca e borse di studio finanziati da FISM 2022

FISM funded research projects and fellowships 2022

CAUSE DELLA SM E FATTORI DI RISCHIO / THE CAUSES OF MS AND RISK FACTOR

Rosella Mechelli

Università Telematica San Raffaele Roma, Dipartimento di Scienze Umane e Promozione della Qualità della Vita, Roma

I geni regolati da EBNA2 nella SM: studio di trascritti codificanti e non codificanti nel sangue e nel SNC

EBNA2- regulated genes in MS: coding and non-coding transcripts in blood and CNS

Progetto di Ricerca / Research Project
€ 161.561 - 3 anni/ years

Claudio Sette

Università Cattolica del Sacro Cuore, Facoltà di Medicina e Chirurgia, Dipartimento di Neuroscienze, Roma

Ruolo della modulazione dell'espressione genica da parte di proteine di legame all'RNA sulle caratteristiche infiammatorie della sclerosi multipla

Impact of gene expression modulation by RNA binding proteins on inflammatory features in multiple sclerosis

Progetto di Ricerca / Research Project
€ 30.000 - 1 anno / year

Barbara Serafini

Istituto Superiore di Sanità, Sect. Inflammatory and demyelinating diseases of the nervous system, Dept. Neurosciences, Roma

Infezione da virus di Epstein-Barr e strategie di evasione della risposta immunitaria nella sclerosi multipla: focus sull'asse PD-1/PD-L1

Epstein-Barr virus infection and immune evasion strategies in the multiple sclerosis brain: focus on the PD-1/PD-L1 axis

Progetto di Ricerca / Research Project
€ 53.685 - 2 anni / years

Caterina Veroni

Istituto Superiore di Sanità, Neuroscienze, Roma

Studio del legame tra infezione con EBV, aumentata espressione di BAFF geneticamente determinata e rischio di SM in Sardegna e nell'Italia continentale

Searching for a link between EBV infection status, genetically determined BAFF overexpression and MS risk in Sardinians and mainland Italians

Progetto di Ricerca / Research Project
€ 187.845 - 3 anni / years

Massimo Costanza

Fondazione IRCCS, Istituto Neurologico Carlo Besta, Department of Clinical Neuroscience, Milano

Svelare le trappole di DNA extracellulare nella patologia autoimmune del sistema nervoso centrale

Unveiling extracellular DNA traps in autoimmune pathology of the central nervous system

Progetto di Ricerca / Research Project
€ 82.235 - 2 anni / years

Luca De feo

Washington University in St. Louis, MO, School of Medicine, Neurology, Saint Louis MO (US)

Caratterizzazione del ruolo di Trem-2 nella maturazione oligodendrocitaria e in un modello di demielinizzazione del sistema nervoso centrale

Deciphering the contribution of TREM-2 to oligodendrocyte differentiation in CNS demyelination models

Borsa di Ricerca / Research Fellowship
€ 100.000 - 2 anni / years

Alberto Chiarugi

Università degli Studi di Firenze, Health Sciences, Dipartimento di Farmacologia, Firenze

Identificazione del ruolo della degenerazione assonale programmata nella progressione della SM

Deciphering the role of programmed axonal degeneration in MS progression

Progetto di Ricerca / Research Project
€ 140.000 - 3 anni / years

Costanza Gianni

Sapienza Università di Roma, Neuroscienze Umane, Roma

L'associazione tra la neuroinfiammazione cronica e la degenerazione della sostanza bianca nella sclerosi multipla: uno studio combinato 11C-PBR28 PET-MRI

The association between white matter chronic neuroinflammation and degeneration in multiple sclerosis: a combined 11C-PBR28 PET-MRI study

Progetto di Ricerca / Research Project

€ 33.600 - 1 anno / year

Monica Biggio

Università degli Studi di Genova, DIMES, Genova

Studiare i riflessi blink nella sclerosi multipla attraverso sistemi spiegabili di intelligenza artificiale

Disentangling Blink Reflexes in Multiple Sclerosis through explainable artificial intelligence systems

Progetto di Ricerca / Research Project

€ 270.897 - 3 anni / years

Gabriele Angelini

Università degli Studi di Verona, Medicina, Verona

Caratterizzazione dell'infiammazione meningeale durante encefalomielite autoimmune sperimentale: un ruolo per l'interazione neutrofilo-macrofago

Characterisation of meningeal inflammation during experimental autoimmune encephalomyelitis: a role for neutrophil-macrophage interplay

Borsa di Ricerca / Research Fellowship

€ 50.000 - 2 anni / years

Simone Patergnani

Università degli Studi di Ferrara, Department of Medical Sciences, Laboratory for Technologies of Advanced Therapies (LTTA), Ferrara

Coinvolgimento di HMGB1 nella sclerosi multipla: ruolo nella ferritinofagia e attivazione dell'inflammasoma AIM2

Involvement of HMGB1 in Multiple sclerosis: role in ferritinophagy and AIM2 inflammasome activationsclerosis: a combined 11C-PBR28 PET-MRI study

Progetto di Ricerca / Research Project

€ 144.000 - 2 anni / years

DIAGNOSI E MONITRAGGIO DELLA MALATTIA / DIAGNOSIS AND MONITORING OF THE DISEASE

Francesca Benedetta Pizzini

Università degli Studi di Verona, Radiology, Department of Diagnostic and Public Health, Verona

Gradient Echo Plural Contrast Imaging (GEPCI): un nuovo MRI biomarker di neurodegenerazione in Sclerosi Multipla

Gradient Echo Plural Contrast Imaging (GEPCI) technique: a novel MRI biomarker of neurodegeneration in Multiple Sclerosis

Progetto di Ricerca / Research Project

€ 60.000 - 1 anno / year

Patrizia Pantano

Sapienza Università di Roma, Dipartimento di Neuroscienze Umane, Roma

Il ruolo della risonanza magnetica ad alto e ultra-alto campo nella previsione di progressione di disabilità nella sclerosi multipla

Impact of imaging markers at high and ultra-high field MRI on MS disability progression

Progetto di Ricerca / Research Project

€ 221.813 - 2 anni / years

Clelia Dallanocce

Università degli Studi di Milano, Dipartimento di Scienze Farmacologiche, Milano

Sviluppo di nuovi radiotraccianti del recettore GPR17 per la diagnosi precoce della sclerosi multipla

Development of new radiotracers targeting GPR17 receptor for the early diagnosis of multiple sclerosis

Progetto di Ricerca / Research Project

€ 75.000 - 3 anni / years

VERSO NUOVI TRATTAMENTI / TOWARDS NEW TREATMENTS

Stefano Pluchino

University of Cambridge, Department of Clinical Neurosciences, Cambridge UK

Regolazione epigenetica dei processi di invecchiamento delle cellule staminali neurali nella sclerosi multipla progressiva (EMBRACE)

The Epigenetic Programme of BRAin Stem Cell Aging in Progressive Multiple Sclerosis (EMBRACE)

Progetto di Ricerca / Research Project

€ 349.558 - 3 anni / years

Luca Muzio

Fondazione Centro San Raffaele, Neuroimmunology Unit, INSpe, Division of Neuroscience, Dibat, Milano

Proteine chimeriche REcTO per il trattamento della SM progressiva

Hybrid REcTO proteins for the treatment of progressive MS

Progetto di Ricerca / Research Project

€ 150.000 - 2 anni / years

Cristina Rivellini

Vita-Salute San Raffaele University, Institute of Experimental Neurology, Division of Neuroscience, Neuromuscular Repair Unit, Milano

Impatto degli oligodendrociti senescenti sulla rimielinizzazione nel modello animale di Sclerosi Multipla Primariamente Progressiva Jab1 KO

Role of OL-senescence on remyelination in the Jab1 KO mouse model of primary progressive MS

Borsa di Ricerca Senior / Senior Research Fellowship

€ 105.000 - 3 anni / years

Fabio Bertozzi

IIT Istituto Italiano di Tecnologia, D3Farmachimica, Genova

Ligandi multitarget per la sclerosi multipla con proprietà sia antinfiammatorie che rimielinizzanti (MARs)

Multitarget-directed Ligands for Multiple Sclerosis with combined Antiinflammatory and Remyelinating properties (MARs)

Progetto di Ricerca / Research Project

€ 248.925 - 2 anni / years

Claudio Procaccini

CNR - Consiglio Nazionale delle Ricerche Istituto per l'Endocrinologia e Oncologia Sperimentale (IEOS-CNR), Napoli

Ruolo di specifici nutrienti nel controllo della tolleranza immunologica al self in corso di EAE

Nutrient-specific control of immunological self-tolerance in experimental autoimmune encephalomyelitis (EAE)

Progetto di Ricerca / Research Project

€ 30.000 - 1 anno / year

Giacomo Boffa

Università degli Studi di Genova, DINOGMI Dipartimento di Neuroscienze, riabilitazione, oftalmologia, genetica e scienze materno-infantili, Genova

L'effetto Del Trapianto Autologo Di Cellule Staminali Ematopoietiche Sull'infiammazione Cronica Del SNC Nella Sclerosi Multipla: Uno Studio Combinato MRI/PET

Using MRI And TSPO-PET To Study The Effect Of Autologous Hematopoietic Stem Cell Transplantation On Compartmentalized CNS Inflammation In Multiple Sclerosis

Progetto di Ricerca / Research Project

€ 30.000 - 1 anno / year

Paola Panina

Università Vita-Salute San Raffaele, Istituto Scientifico San Raffaele, Dipartimento di Neuroscienze, Milano

Gli acidi grassi a catena corta nella sclerosi multipla: modulatori endogeni di staminalità neuronale e neuroinfiammazione

Short-chain fatty acids in multiple sclerosis: endogenous modulators of neural stemness and neuroinflammation

Progetto di Ricerca / Research Project

€ 245.000 - 2 anni / years

Ermanna Turano

Università degli Studi di Verona, Neuroscienze, Biomedicina e Scienze Motorie, Verona

Somministrazione intranasale di vescicole extracellulari da cellule staminali adipose nel modello sperimentale di encefalomielite autoimmune sperimentale: una nuova strategia terapeutica per la SM

Intranasal administration of extracellular vesicles derived from adipose mesenchymal stem cells (ASC-EVs) in experimental autoimmune encephalomyelitis: a novel therapeutic strategy for MS

Progetto di Ricerca / Research Project

€ 29.925 - 1 anno / year

Ildiko Szabo

Università degli Studi di Padova, Biologia, Padova

L'eliminazione selettiva delle cellule T della memoria blocca la progressione dell'EAE : dalle evidenze sperimentali alla possibile applicazione per la sclerosi multipla

Selective elimination of effector memory T cells halts EAE progression: from experimental evidence to possible application in Multiple Sclerosis

Progetto di Ricerca / Research Project

€ 100.000 - 2 anni / years

Laura Mori

Università degli Studi di Genova, DINOGMI, Ospedale Policlinico San Martino IRCCS, Genova

Impatto della tDCS anodica e della realtà virtuale nei disturbi cognitivi in pazienti affetti da Sclerosi Multipla: studio in doppio cieco, randomizzato, prospettico, controllato

Impact of anodal tDCS and virtual reality on cognitive dysfunction in patients with Multiple Sclerosis: a double blind, randomized, prospective, controlled study

Progetto di Ricerca / Research Project

€ 100.000 - 2 anni / years

NEURORIABILITAZIONE E QUALITÀ DELLA VITA / NEUROREHABILITATION AND QUALITY OF LIFE

Nicola Smania

Università degli Studi di Verona, Neuroscienze, Biomedicina e Scienze Motorie, Sezione di Medicina Fisica e Riabilitativa, Verona

Trattamento singolo versus trattamento combinato cognitivo e motorio nella riabilitazione del paziente con sclerosi multipla

Isolated versus combined cognitive and motor high-tech rehabilitation in patients with multiple sclerosis

Progetto di Ricerca / Research Project

€ 85.434 - 2 anni / years

Marta Bassi

Università degli Studi di Milano, Dipartimento di Scienze Biomediche e Cliniche Luigi Sacco, Milano

Sostenere la salute mentale nella quotidianità dopo la diagnosi di sclerosi multipla: il ruolo della flow experience e della mindfulness

Supporting mental health in daily life after the diagnosis of multiple sclerosis: the role of flow experience and mindfulness

Progetto di Ricerca / Research Project

€ 97.654 - 2 anni / years

Rosalba Rosato

Università degli Studi di Torino, Psicologia, Torino

Identificazione di domini di qualità di vita associata alla salute per lo sviluppo di una banca item per il testing adattivo computerizzato multidimensionale nella sclerosi multipla

Identifying health-related quality of life domains to develop an item bank for multidimensional computerized adaptive testing in multiple sclerosis

Progetto di Ricerca / Research Project

€ 29.977 - 1 anno / year

Monica Falautano

IRCCS Istituto Scientifico Ospedale San Raffaele, Neurologia e riabilitazione neurologica, Milano

La Batteria Breve e Ripetibile di test Neuropsicologici (BBR-N-Batteria di Rao): dati normativi nella popolazione italiana con età maggiore a 51 anni

The Brief Repeatable Battery of Neuropsychological Tests (BRB-N- Rao's Battery): normative values in an Italian population over 51 years old

Progetto di Ricerca / Research Project

€ 87.500 - 2 anni / years

Maura Casadio

Università degli Studi di Genova, Dipartimento di Informatica, Bioingegneria, Robotica e Ingegneria dei Sistemi (DIBRIS), Genova

Valutazione e esercizio personalizzato delle capacità di guida in persone con sclerosi multipla

Assessment and personalized training of driving skills in people with multiple sclerosis

Progetto di Ricerca / Research Project

€ 30.000 - 1 anno / year

Sara Isernia

Fondazione Don Carlo Gnocchi, IRCCS Santa Maria Nascente, CADiTeR, Milano

L'utilizzo del metodo Lee Silvermann Voice Treatment (LSVT)-Loud in teleriabilitazione: studio pilota sulla fattibilità e gli effetti del trattamento sull'intensità vocale e sulla qualità della voce

A feasibility pilot study on Lee Silvermann Voice Treatment (LSVT)-Loud on voice intensity and voice use in daily living in people with multiple sclerosis: a telerehabilitation approach

Progetto di Ricerca / Research Project

€ 29.925 - 1 anno / year

Marco Panasci

Università degli Studi di Genova, Dipartimento di Medicina Sperimentale, Genova

Studio sugli effetti di un allenamento intervallato ad alta intensità 30s-30s sulle risposte cardiorespiratorie e sulla prestazione fisica in persone con sclerosi multipla con disabilità minima

Investigation of the effects of 30s-30s HIIT protocol using two different ergometers on cardiorespiratory responses and physical function in person with MS with minimal disability.

Borsa di Ricerca / Research Fellowship

€ 54.000 - 2 anni / years

Elisa Gervasoni

Fondazione Don Carlo Gnocchi, IRCCS Santa Maria Nascente,
Neurologia, Milano

Valutazione dell'impatto dell'affaticabilità sperimentalmente indotta sulle funzioni motorie e cognitive. Effetti di un training ad alta intensità sulle funzioni motorie e cognitive: uno studio pilota

Evaluation of the impact of experimentally induced
fatigability on motor and cognitive functions. Effect
of high intensity training on motor and cognitive
functions: a pilot randomized controlled trial

Progetto di Ricerca / Research Project

€ 163.800 - 2 anni / years

Davide Cattaneo

Università degli Studi di Milano, Dipartimento
di Fisiopatologia e Trapianti, Milano

Studio dell'attività corticale durante esercizi orientati al compito: i principi attivi della riabilitazione motoria

Unraveling active ingredients of neurorehabilitation:
investigating cortical activity during task-oriented
exercises

Progetto di Ricerca / Research Project

€ 233.415 - 2 anni / years

Alessio Avenanti

Alma Mater Studiorum Università degli Studi di Bologna,
Psicologia, Cesena

Tracciare le interazioni causali tra aree premotorie e motorie nella Sclerosi Multipla

Tracking causal interactions between premotor
and motor areas in Multiple Sclerosis

Progetto di Ricerca / Research Project

€ 30.000 - 1 anno / year

COMITATO SCIENTIFICO FISM 2023, 2022

FISM SCIENTIFIC COMMITTEE
2023, 2022



2023 Biomedical Research FISM Scientific Committee

Maria Pia Abbracchio

Dipartimento di Scienze Farmacologiche e Biomolecolari, Università degli Studi di Milano, Milano, Italia

Martina Absinta

Fondazione Centro San Raffaele, Neuroimaging Research Unit, Division of Neuroscience, Institute of Experimental Neurology, Milano, Italia

Clara Ballerini *Ad hoc*

NEUROFARBA Dipartimento di Neuroscienze, Psicologia, Area del Farmaco e Salute del Bambino, Università di Firenze, Firenze, Italia

Luca Battistini

IRCCS S. Lucia Neuroimmunology Unit European Centre for Brain Research, Roma, Italia

Benedetta Bodini

Institut du cerveau et de la moelle épinière (ICM), Hôpital Pitié Salpêtrière, Paris, France

Roberta Brambilla

University of Miami, The Miami Project To Cure Paralysis, Miller School of Medicine, Miami, USA

Valerio Chiurchiù

Istituto di Farmacologia Traslazionale (IFT) European Center for Brain Research (CERC), IRCCS Fondazione Santa Lucia, Roma, Italia

Gabriela Constantin

Dipartimento di Patologia e Diagnostica, Università degli Studi di Verona, Verona, Italia

Roberto Furlan *Ad hoc*

Unità di Neuroimmunologia Clinica, Istituto di Neurologia Sperimentale, Divisione di Neuroscienze, Istituto Scientifico San Raffaele, Milano, Italia

Roberta Magliozzi

Dipartimento di Neuroscienze, Biomedicina e Scienze Motorie, Università degli Studi di Verona, Verona, Italia

Filippo Martinelli - Boneschi

ASST-Santi Paolo e Carlo, Milano, Italia

Giuseppe Matarese

Dipartimento di Medicina Molecolare e Biotecnologie Mediche, Università di Napoli "Federico II", Napoli, Italia

Paolo Muraro

Department of Brain Sciences, Imperial College London, London, UK

Stefano Previtali

Ospedale San Raffaele, Milano, Italia

Giovanni Ristori *Ad hoc*

Centro Neurologico Terapie Sperimentali (CENTERS), Neurologia e Dipartimento di Neuroscienze, Salute Mentale e Organi di Senso NESMOS, Ospedale Sant'Andrea, Sapienza Università di Roma, Roma, Italia

2023 Social & Behavioural Science Research FISM Scientific Committee

Marta Bassi

Dipartimento di Scienze Biomediche e Cliniche, Università degli Studi di Milano, Milano, Italia

Marco Capobianco

Istituto di Neuroscienze della Fondazione Cavalieri Ottolenghi (NICO)

AOU San Luigi Gonzaga, Neurologia, Orbassano (TO), Italia

Davide Cattaneo

Dipartimento di Fisiopatologia e Trapianti, Università degli Studi di Milano, Milano, Italia

Roshan das Nair

University of Nottingham, Nottingham UK

SINTEF Digital, Health Services Research, Trondheim, Norway

Lorenzo De Michieli

Rehab Technologies - INAIL-IIT; Genova, Italia

Lars Næsby Hvid

Aarhus University, Aarhus C, Denmark

Jaume Sastre-Garriga

Neurology-Neuroimmunology Department, Multiple Sclerosis Centre of Catalonia (Cemcat), Barcelona, Spain

Carlo Trompetto

IRCCS Ospedale Policlinico San Martino, Dipartimento di Neuroscienze, Riabilitazione, Oftalmologia, Genetica e Scienze

Materno-Infantili (DINOI), Università degli Studi di Genova, Genova, Italia

2022 Biomedical Research FISM Scientific Committee

Maria Pia Abbracchio

Dipartimento di Scienze Farmacologiche e Biomolecolari, Università degli Studi di Milano, Milano, Italia

Benedetta Bodini

Institut du cerveau et de la moelle épinière (ICM), Hôpital Pitié Salpêtrière, Paris, France

Gabriela Constantin

Dipartimento di Patologia e Diagnostica, Università degli Studi di Verona, Verona, Italia

Francesco Cucca

Dipartimento di Scienze Biomediche, Università degli Studi di Sassari, Sassari, Italia

Massimiliano Di Filippo

Centro Malattie Demielinizzanti e Laboratori di Neurologia Sperimentale, Clinica Neurologica, Università degli Studi di Perugia, Perugia, Italia

Roberto Furlan

Unità di Neuroimmunologia Clinica, Istituto di Neurologia Sperimentale, Divisione di Neuroscienze, Istituto Scientifico San Raffaele, Milano, Italia

Matilde Inglese

*DINOGLMI, Università degli Studi di Genova, Genova, Italia
Mount Sinai School of Medicine – New York, USA*

Giuseppe Matarese

Dipartimento di Medicina Molecolare e Biotecnologie Mediche, Università di Napoli "Federico II", Napoli, Italia

Paolo Muraro

Department of Brain Sciences, Imperial College London, London, UK

Stefano Pluchino

Department of Clinical Neurosciences, University of Cambridge, Cambridge, UK

Stefano Previtalli

Ospedale San Raffaele, Milano, Italia

Giovanni Ristori

Centro Neurologico Terapie Sperimentali (CENTERS), Neurologia e Dipartimento di Neuroscienze, Salute Mentale e Organi di Senso NESMOS, Ospedale Sant'Andrea, Sapienza Università di Roma, Roma, Italia

Antonio Scalfari

Imperial College London, London, UK

Claudia Verderio

CNR Istituto di Neuroscienze, Dipartimento di Scienze Biomediche, Milano, Italia

2022 Social & Behavioural Science Research FISM Scientific Committee

Roberto Bergamaschi

Fondazione Istituto Neurologico Nazionale C Mondino, IRCCS, Pavia, Italia

Marco Bove

Dipartimento di Medicina Sperimentale (DIMES), Università degli Studi di Genova, Genova, Italia

Roshan das Nair

University of Nottingham, Nottingham, UK

SINTEF Digital, Health Services Research, Trondheim, Norway

Monica Falautano

Dipartimento di Neurologia, Servizio di Psicologia, Ospedale San Raffaele, Milano, Italia

Luca Prosperini

Dipartimento Neuroscienze, U.O.C. Neurologia e Neurofisiopatologia, Azienda Ospedaliera S. Camillo Forlanini, Roma, Italia

Jaume Sastre-Garriga

Neurology-Neuroimmunology Department, Multiple Sclerosis Centre of Catalonia (Cemcat), Barcelona, Spain

Anders Guldhammer Skjerbæk

Development Manager Msc, Physiotherapist, MS Hospitals in Denmark

AISM, Associazione Italiana Sclerosi Multipla, è l'unica organizzazione in Italia che si occupa in modo strutturato e organico di tutti gli aspetti legati alla sclerosi multipla (SM) e patologie correlate, attraverso una prospettiva d'insieme che abbraccia il tema dei diritti, i servizi sanitari e socio-sanitari, la promozione, l'indirizzo e il finanziamento della ricerca scientifica. Le patologie correlate includono lo spettro delle malattie della neuromielite ottica (NMOSD) e MOGAD, che necessitano di un'attenzione simile alla SM.

Per la ricerca, per individuare terapie e trattamenti efficaci a rallentare il decorso della malattia e per trovare, domani, una cura risolutiva, mettiamo in campo tutte le risorse, grazie anche, dal 1998, al lavoro della Fondazione Italiana Sclerosi Multipla (FISM). In questi ultimi 20 anni lo scenario di chi affronta ogni giorno la SM o patologie correlate è molto cambiato, grazie all'impatto positivo di farmaci e interventi terapeutici. A determinare questo risultato ha concorso la nostra capacità di indirizzare la ricerca scientifica verso l'eccellenza e l'innovazione, a livello nazionale e internazionale.

The Italian Multiple Sclerosis Society (AISM) is the only organization in Italy that deals with every aspect of multiple sclerosis (MS) and related pathologies with a structured and organic approach. AISM has an all-round perspective that covers points such as advocating for the rights of people with MS, health and social services, promotion, orientation and funding scientific research. The pathologies linked to MS include Neuromyelitis optica spectrum disorders (NMOSD) and MOGAD, which require similar attention from health and social services as MS.

Thanks to its Multiple Sclerosis Research Foundation (FISM), established in 1998, AISM promotes research to accelerate the discovery of effective therapies and treatments that slow the progression of the disease and to ensure that one day a definitive cure can be found.

Over the past 20 years, the scenario for people dealing with MS everyday has undergone radical change, thanks to the positive impact of new drugs and therapeutic advances. AISM has made a significant contribution to achieving these results thanks to our ability to orientate scientific research towards excellence and innovation on a national and international level.

Numero Verde AISM

800.80.30.28

www.aism.it