

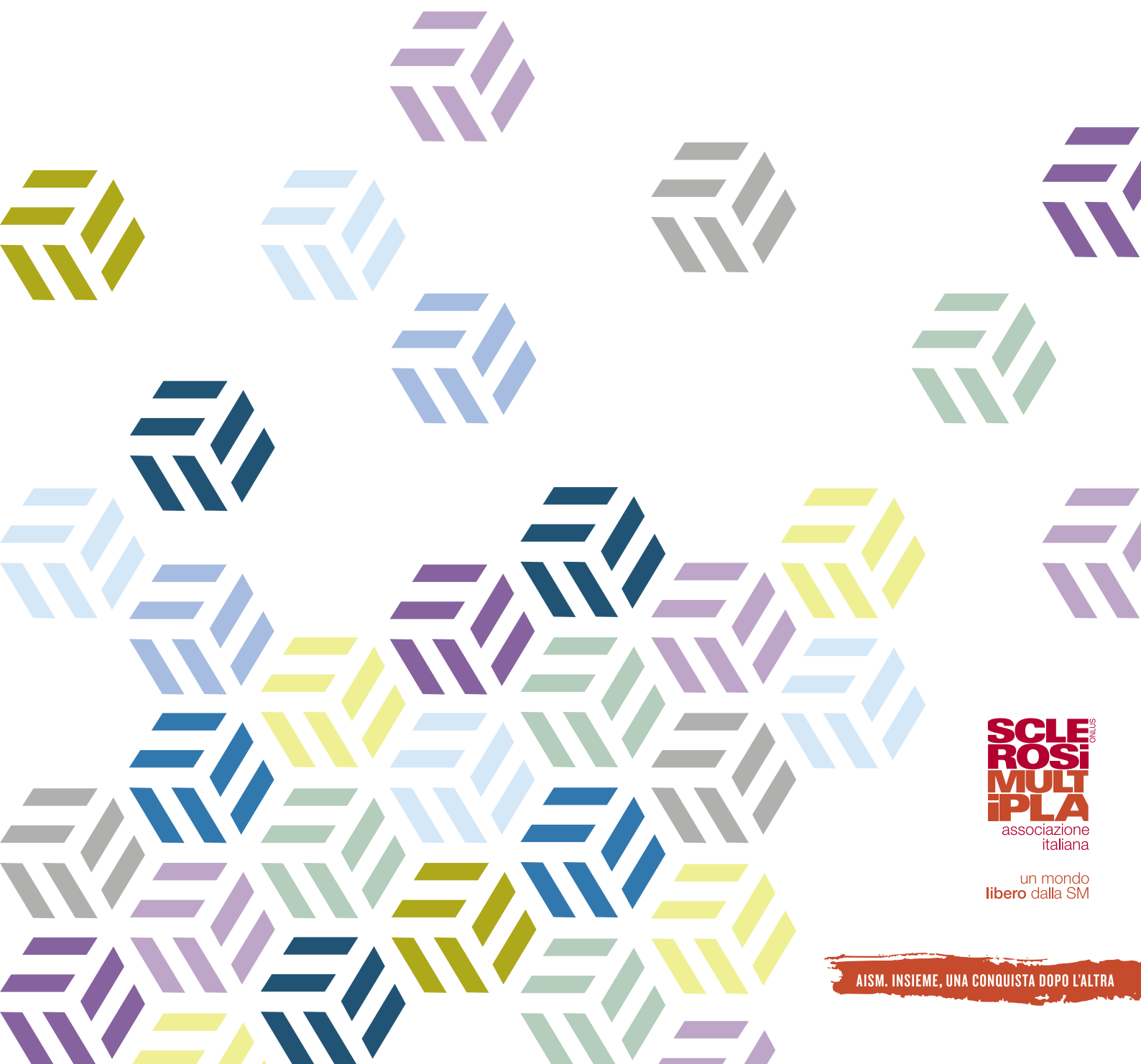
LA RICERCA SULLA SCLEROSI MULTIPLA

RESEARCH ON MULTIPLE SCLEROSIS

Finanziata dalla Fondazione Italiana Sclerosi Multipla
Funded by the Italian Multiple Sclerosis Foundation



COMPENDIO 2021



**SCLE
ROSI
MULTI
PLA**
ONLUS
associazione
italiana

un mondo
libero dalla SM

AI SM. 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 Onlus

A cura di:

Roberta Guglielmino

Area Ricerca Scientifica AISM-FISM

Progetto e coordinamento editoriale:

Manuela Capelli

Area Comunicazione e Ufficio Stampa AISM

Traduzione a cura di:

Zadig srl

Copyright FISM 2021

Pubblicato e distribuito da:

Associazione Italiana Sclerosi Multipla - Onlus

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:

Ecletticateam - Genova

Finito di stampare nel mese di ottobre 2021

da Ditta Lang Sro - Genova

ISBN 978-88-7148-153-1

Introduzione / Introduction

«**T**omorrow hopes that we have learned something from yesterday», diceva John Wayne, indimenticato attore western. Senza volerlo, ci suggerisce il filo rosso, la lente di ingrandimento con cui leggere in filigrana questo Compendio della ricerca finanziata da AISM con la sua Fondazione: **la ricerca di oggi è la cura che potremo offrire alle persone con SM di domani e la garanzia di una migliore qualità di vita delle persone con SM oggi.**

Anzi, la scienza in cui crediamo, quella che AISM con la sua Fondazione promuove, indirizza e finanzia, quella che ogni anno racconta con i progetti nazionali e i progetti internazionali, quella che si presenta in questo Compendio nei 21 progetti finanziati tramite Bando, nei 12 Progetti Speciali, nei 12 progetti nati dal Registro Italiano Sclerosi Multipla come nei 4 progetti nati dall'Italian Network on Neuroimaging, non si limita a sperare, ma costruisce il futuro, imparando dai successi, ma anche dalle fatiche e persino dai fallimenti.

Lo abbiamo imparato, se mai ce lo fossimo scordati, proprio durante la pandemia: se c'è stata ricerca ieri, allora c'è speranza concreta oggi. Non è un caso che i primi vaccini anti-Covid a mRNA siano arrivati a tempo di record: i ricercatori hanno potuto giovare della ventennale ricerca sulla terapia genica per i tumori.

I nostri ricercatori, noi FISM, non ci siamo mai fermati in questo tempo di pandemia perché le persone non devono e non vogliono aspettare, credono nella ricerca che sa dar loro risposte.

Questo stesso Compendio 2021, nato come il precedente in tempo di pandemia, dimostra che noi lavoriamo senza soluzione di continuità per arrivare a una cura risolutiva per tutte le forme di sclerosi multipla. E ci arriveremo, basandoci su ciò che stiamo scoprendo insieme, progetto dopo progetto: dai ventennali progetti speciali sulle cellule staminali neurali a quelli appena iniziati sull'impatto della restrizione calorica, dai progetti che studiano l'effetto protettivo della riabilitazione sulla sinaptopatia infiammatoria fino alle ricerche che, partite dall'identificazione di un recettore coinvolto nella produzione di mielina, hanno sviluppato un brevetto per nuove terapie rimielinizzanti, senza dimenticare gli innovativi progetti che si basano su outcome centrati sul paziente, c'è tutto un fiorire di percorsi che aprono un nuovo futuro. La sezione intitolata "Verso nuovi trattamenti" è, non per mera casualità, quella che qui presenta il maggior numero di progetti conclusi nel 2020, ben 8 sui 21 finanziati tramite Bando: «questi studi – come leggeremo – hanno portato a un avanzamento nella conoscenza dei meccanismi patologici [della malattia], ponendo le basi per lo sviluppo di nuovi trattamenti terapeutici per la SM». Ecco il filo rosso che unisce il presente al futuro.

Intanto, mentre costruiamo il domani, con la nostra ricerca stiamo già cambiando la qualità di vita di tante persone con SM: quest'anno, per la prima volta, il Compendio documenta una serie di progetti che hanno utilizzato la grande messe di dati del Registro Italiano SM per studiare come ottimizzare già ora le strategie terapeutiche disponibili. I solidi risultati di queste ricerche documentano l'impatto nel lungo termine dei diversi tipi di trattamento sulla progressione della disabilità e la qualità di vita e consentono di personalizzare, oggi, la scelta terapeutica. E di vivere al meglio per molti anni. L'infrastruttura del Registro è stata anche la chiave di volta per riuscire a dare risposte in tempo reale all'emergenza Covid-19 per le persone con SM.

Ci sembra allora prezioso rimarcare che, anche in tempo di pandemia, noi ci siamo stati, consapevoli che la ricerca non può perdere un minuto, se vogliamo che le persone con SM non perdano anni di vita domani. E AISM, con la sua Fondazione, ha dedicato alla ricerca in Italia più di 40 milioni di euro negli ultimi 5 anni e sostiene la ricerca ininterrottamente sin dal 1989: a oggi sono 451 i ricercatori e i gruppi da noi finanziati. Tra il 2015 e il 2020 sono state prodotte dai ricercatori FISM 664 pubblicazioni con un impact factor medio di 5,6 e in questo momento sono attivi 111 progetti di ricerca e 117 gruppi, finanziati da Bando o tramite progetti speciali.

Da più di trent'anni lavoriamo con questa logica. I nostri ricercatori posizionano la ricerca italiana ai primi posti nel mondo nel loro campo. Così abbiamo presentato il nostro lavoro ai Ministri della Ricerca negli ultimi due anni, così abbiamo evidenziato il ruolo che il Terzo Settore e noi in particolare con le grandi associazioni di ricerca possiamo svolgere. È tempo che l'Italia intera esca dall'ottica dell'oggi, dell'immediato e cominci a pensare al medio-lungo termine, a ragionare in prospettiva. Su questo possiamo dire la nostra e dobbiamo incidere, insieme, perché i semi di oggi diventino i frutti che tutti potranno raccogliere domani.

«**T**omorrow hopes that we have learned something from yesterday," said John Wayne, unforgettable western actor. Without intending it, he suggests the red thread, the magnifying glass with which to read this Compendium of research funded by AISM with its Foundation: **today's research is the cure that we will be able to offer to people with MS tomorrow and the guarantee of a better quality of life for people with MS today.**

On the contrary, the science we believe in, the science that AISM and its Foundation promote, direct and finance, the science that every year is described through national and international projects, the science that is presented in this Compendium in the 21 projects financed through a Call for Proposals, in the 12 Special Projects, in the 12 projects created by the Italian Multiple Sclerosis Registry as well as in the 4 projects created by the Italian Network on Neuroimaging, is not limited to hope, but builds the future, learning from successes, but also from hardships and even failures.

We have learned, if we had ever forgotten, during the pandemic: if there was research yesterday, then there is real hope today. It is no coincidence that the first mRNA anti-Covid vaccines arrived in record time: researchers were able to take advantage of twenty years of research on gene therapy for cancer.

Our researchers, we FISM, have never stopped in this time of pandemic because people should not and do not want to wait, they believe in research that can give them answers.

This same Compendium 2021, born as the previous one in time of pandemic, shows that we work relentlessly to get to a decisive cure for all forms of multiple sclerosis. And we will get there, building on what we are discovering together, project by project: from the 20-year special projects on neural stem cells to those just begun on the impact of caloric restriction, from projects studying the protective effect of rehabilitation on inflammatory synaptopathy to research that, starting with the identification of a receptor involved in myelin production, has developed a patent for new remyelinating therapies, not to mention innovative projects based on patient-centered outcomes, there is a whole flourish of pathways that open up a new future. The section entitled "Towards new treatments" is, not by mere chance, the one that here presents the highest number of projects completed in 2020, as many as 8 out of 21 funded through the Call: "these studies - as we will read - have led to an advancement in the knowledge of pathological mechanisms [of the disease], laying the foundations for the development of new therapeutic treatments for MS". Here is the common thread that connects the present to the future.

In the meantime, while we are building tomorrow, we are already changing the quality of life of many people with MS through our research: this year, for the first time, the Compendium documents a series of projects that have used the vast amount of data from the Italian MS Registry to study how to optimize the available therapeutic strategies. The solid results of these researches document the long-term impact of different types of treatment on the progression of disability and quality of life and allow to personalize, today, the choice of therapy. And to live at their best for many years. The infrastructure of the Registry has also been the key to be able to give answers in real time to the Covid-19 emergency for people with MS.

It seems to us then precious to remark that, even in times of pandemic, we have been there, aware that research cannot waste a minute, if we want that people with MS do not lose years of life tomorrow. And AISM, with its Foundation, has dedicated more than 40 million euros to research in Italy over the past 5 years and has supported research without interruption since 1989: to date, there are 451 researchers and groups funded by us. Between 2015 and 2020, 664 publications were produced by FISM researchers with an average impact factor of 5.6 and at this moment 111 research projects and 117 groups are active, funded by Call or through special projects.

We have been working with this logic for more than thirty years. Our researchers position Italian research at the top of the world in their field. This is how we have presented our work to the Ministers of Research in the last two years, and this is how we have highlighted the role that the Third Sector and we in particular with the large research associations can play. It is time for Italy as a whole to move away from the present and the immediate and to start thinking about the medium-long term, to think in perspective. We can have our say on this and we must influence, together, so that today's seeds become the fruits that everyone will be able to harvest tomorrow.

Mario Alberto Battaglia
Chairman of the Italian
Multiple Sclerosis Foundation

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

Lista degli autori / List of Authors

Abbracchio Maria Pia	93	Illiano Placido	68
Amato Maria Pia	85 , 135, 161	Magliozzi Roberta	41
Annunziato Francesco	37	Manca Andrea	21
Baroncini Damiano	164	Martino Gianvito	100
Battistini Luca	108	Matarese Giuseppe	27, 108
Bertolotto Antonio	96	Michetti Fabrizio	66
Biggio Monica	44	Mosconi Paola	128
Bommarito Giulia	15	Muzio Luca	55
Bozzoli Federico	74	Pantano Patrizia	178
Brichetto Giampaolo	82	Paolicelli Damiano	138
Centonze Diego	88	Patti Francesco	144
Chabaane Linda	46	Pedullà Ludovico	74
Chiurchiù Valerio	63	Peruzzotti-Jametti Luca	53
Cucca Francesco	105	Previtali Stefano Carlo	31
d'Isa Raffaele	18	Ristori Giovanni	112
De Stefano Nicola	176	Romeo Marzia	158
Didonna Alessandro	57	Sette Claudio	34
Eberini Ivano	93	Tedeschi Gioachino	180
Esposito Federica Eva	117	Trojano Maria	131, 141, 150, 154
Ferraro Diana	147	Trompetto Carlo	23
Filippi Massimo	174	Ulivelli Monica	114
Furlan Roberto	50	Volpe Elisabetta	60
Giovannetti Ambra Mara	77		

Indice / Index

INTRODUZIONE / INTRODUCTION

Mario A. Battaglia

Paola Zaratin

4

PROGETTI BANDO FISM TERMINATI NEL 2020

13

FISM CALL PROJECTS ENDED IN 2020

NEURORIABILITAZIONE E QUALITÀ DELLA VITA / NEUROREHABILITATION AND QUALITY OF LIFE

14

Giulia Bommarito

15

La connettività funzionale dinamica nella SM progressiva: nuovi approcci e rilevanza clinica

The dynamic functional connectome in progressive MS: novel approaches and clinical relevance

Raffaele d'Isa

18

Può la neurostimolazione non-invasiva promuovere la rimielinizzazione? Uno studio pilota preclinico

Can non-invasive neuromodulation promote remyelination? A pilot preclinical study

Andrea Manca

21

Effetti dell'allenamento eccentrico sulla spasticità e debolezza muscolare degli arti in persone con SM: uno studio pilota

The effects of eccentric strength training on limb spasticity and muscle weakness in people with MS: a pilot study

Carlo Trompetto

23

La distonia spastica nella SM il lato oscuro dell'ipertono muscolare

Spastic dystonia in MS: the dark side of muscle hypertonia

PATOGENESI E FATTORI DI RISCHIO / PATHOGENESIS AND RISK FACTORS

26

Giuseppe Matarese

27

La glicolisi come nuovo determinante metabolico tra la tolleranza immunologica e la patogenesi della SM

Glycolysis as novel metabolic determinant linking immune tolerance and pathogenesis of MS

Stefano Carlo Previtali

31

Ruolo di Jab1 e della senescenza nella patogenesi delle forme progressive di SM in un modello animale

Role of Jab1 and senescence in the pathogenesis of progressive MS in a mouse model

Claudio Sette

34

Ruolo della IL-1 nella modulazione della risposta patogenica delle cellule Th17 umane nella SM

Role of IL-1 in the modulation of the pathogenic response of human Th17 cells in MS

Francesco Annunziato

37

Meccanismi molecolari che regolano la proliferazione e la plasticità dei linfociti T helper 17: implicazioni per la patogenesi e la progressione della SM

Molecular mechanisms that regulate T helper 17 lymphocytes proliferation and plasticity: implications for MS pathogenesis and progression

DIAGNOSI E MONITORAGGIO DELLA MALATTIA / DIAGNOSIS AND MONITORING OF THE DISEASE	40
Roberta Magliozzi Componenti strutturali ed infiammatori della patologia corticale nella SM Structural and inflammatory components of cortical pathology in MS	41
Monica Biggio Un approccio combinato di tecniche neurofisiologiche e di neuroimaging per esplorare la funzionalità cortico-cerebrale nella SM A combined neurophysiological and neuroimaging approach to explore the cortico-brainstem functionality in MS	44
Linda Chabaane Sviluppo di un metodo di visualizzazione delle cellule staminali neuronali tramite risonanza magnetica del 19F: ottimizzazione della marcatura, limiti di rilevazione e saggi di biocompatibilità Set-up of neural stem cells imaging by 19F-MRI: labeling optimization, detection limits and biocompatibility tests	46
VERSO NUOVI TRATTAMENTI / TOWARDS NEW TREATMENTS	49
Roberto Furlan Microvesicole microgliali come vettore terapeutico in neuroinfiammazione Microglial microvesicles as therapeutic vector for neuroinflammation	50
Luca Peruzzotti-Jametti Caratterizzazione e manipolazione in vivo del danno associate a succinato in condizioni di neuroinfiammazione In vivo characterisation and manipulation of succinate-dependent injury in neuroinflammation	53
Luca Muzio Sviluppo di proteine REcTO per modulare la neuroinfiammazione Targeting neuroinflammation by REcTO proteins	55
Alessandro Didonna MicroRNA come nuovi strumenti per modulare il processo di mielinizzazione nel sistema nervoso MiRNAs as novel potential tools to modulate myelination in the CNS	57
Elisabetta Volpe Studio del potenziale ruolo neuroprotettivo della interleuchina-9 nella SM Study of the potential neuroprotective role of interleukin-9 in MS	60
Valerio Chiurchiù Mediatori lipidici pro-risolutivi specializzati come nuova strategia terapeutica per "risolvere" le risposte immunitarie dell'immunità adattativa nella SM Specialized pro-resolving lipid mediators as a novel strategy to "resolve" the altered adaptive immune responses in MS	63
Fabrizio Michetti La proteina S100B: un potenziale bersaglio terapeutico nella SM. Studio in vivo The S100B protein as a potential therapeutic target in MS. An in vivo study	66
Placido Illiano Potenziamento del recettore TNFR2 nel sistema nervoso centrale per la terapia della SM Enhancing TNFR2 signaling in the CNS for MS therapy	68

PROGETTI SPECIALI / SPECIAL PROJECTS	71
Introduzione / Introduction	72
MEDICINA PERSONALIZZATA / PERSONALIZED MEDICINE	73
Federico Bozzoli, Ludovico Pedullà MyMood: sviluppo di nuovi patient-reported outcomes sui disturbi dell'umore nella SM. Un approccio di co-creazione tramite la scienza basata su input del e con il paziente MyMood: developing new patient-reported outcomes on mood disorders in MS. An approach of co-creation through science of and with patient input	74
Ambra Mara Giovannetti 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)	77
Giampaolo Bricchetto 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)	82
Maria Pia Amato Riabilitazione cognitiva dell'attenzione, a domicilio con l'uso del computer, in soggetti con sclerosi multipla ad esordio pediatrico: uno studio pilota multicentrico Home-based, computer-assisted cognitive rehabilitation for attention in pediatric onset multiple sclerosis using a new dedicated software: a pilot multicenter study	85
Diego Centonze La sinaptopatia infiammatoria come bersaglio dell'esercizio terapeutico nella lotta alla sclerosi multipla The inflammatory synaptopathy as a target of exercise therapy in the fight against multiple sclerosis	88
SM PROGRESSIVA / PROGRESSIVE MS	92
Maria Pia Abbracchio, Ivano Eberini Sviluppo di un brevetto su nuovi modulatori di GPR17, un recettore coinvolto nei processi di rimielinizzazione Patent development of new modulators of GPR17, a key receptor in remyelinating processes	93
Antonio Bertolotto Una banca biologica ed un laboratorio dedicati alla raccolta ed alla distribuzione di campioni biologici di SMPP, la replicazione e la condivisione di dati e la validazione di metodi biologici A bio-bank and a laboratory devoted to the collection and supply of biological samples of PPMS, the replication and sharing of data, and the validation of biological methods	96
Gianvito Martino Trapianto di cellule staminali neurali in pazienti con SM: uno studio di fase I Neural stem cells transplantation in MS patients: a Phase I study	100
VERSO NUOVI TRATTAMENTI / TOWARDS NEW TREATMENTS	104
Francesco Cucca Uso della genetica per identificare bersagli terapeutici e selezionare composti in grado di modularli nella sclerosi multipla Genetic-driven druggable target identification and selection of modulating compounds in multiple sclerosis	105

Giuseppe Matarese, Luca Battistini	108
Restrizione calorica come nuovo approccio terapeutico per manipolare l'immunità e per migliorare il potenziale terapeutico di farmaci di prima linea nella SM recidivante remittente	
Caloric restriction as a novel therapeutic tool to manipulate immunity and improve therapeutic potential of first line drug treatments during relapsing remitting MS	

Giovanni Ristori	112
Il vaccino Bacille Calmette-Guérin (BCG) nella sindrome radiologicamente isolata (RIS)	
Bacille Calmette-Guérin (BCG) vaccine in radiologically isolated syndrome (RIS)	

Monica Ulivelli	114
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	

Federica Eva Esposito	117
Validazione e studio funzionale di varianti genetiche implicate nella risposta alla terapia con fingolimod	
Validation and functional assessment of genetic variants implicated in the response to fingolimod treatment	

DATA SHARING	121
---------------------	------------

REGISTRO ITALIANO SCLEROSI MULTIPLA	123
MULTIPLE SCLEROSIS ITALIAN REGISTER	

Progetti terminati / Ended projects

EPIDEMIOLOGIA DESCRITTIVA / DESCRIPTIVE EPIDEMIOLOGY	128
---	------------

Paola Mosconi	128
Valutazione della progressione della disabilità, non correlata a riacutizzazione, utilizzando "EDSS roving" verso "EDSS basale": una validazione real world attraverso i dati del Registro Italiano SM	
The use of a roving EDSS reference value to enhance detection of EDSS worsening events: A real world evaluation through the Italian MS Register	

Maria Trojano	131
INTEREST. Verso la definizione di sclerosi multipla secondariamente progressiva: uno studio del Registro Italiano SM	
INTEREST: Italian Multiple Sclerosis Registry non interventional retrospective analysis in secondary progressive MS	

OTTIMIZZAZIONE DELLE TERAPIE / THERAPY OPTIMIZATION	135
--	------------

Maria Pia Amato	135
Valutare l'efficacia e la sicurezza dei trattamenti nella SM progressiva	
Assessing efficacy and safety of treatments in progressive MS	

Damiano Paolicelli	138
Studio di coorte acquisita retrospettivamente sulla valutazione dell'impatto nel lungo termine di differenti strategie terapeutiche su outcomes di disabilità nella SM remittente. Registro Italiano iMedWeb. Studio RE.LO.DI.MS	
Retrospective study to evaluate the long-term impact of different treatment strategies on disability outcomes in patients with relapsing multiple sclerosis. Italian IMedWeb MS Registry. RE.LO.DI.MS Study	

Maria Trojano	141
Delineare le scelte di trattamento nella SM durante due epoche diverse: una valutazione della pratica clinica utilizzando il Registro Italiano SM	
Profiling treatment choices in MS during two different eras: a real world assessment in the Italian MS Registry	

Francesco Patti	144
Studio pilota retrospettivo sugli effetti a lungo termine di Cladribina in pazienti affetti da sclerosi multipla recidivante remittente o sindrome clinicamente isolata. Retrospective pilot study on long-term Cladribine effects in patients with relapsing remitting multiple sclerosis or clinically isolated syndrome	
Diana Ferraro	147
Rischi associati alla durata del wash-out nel passaggio da fingolimod a farmaci depletivi Risks associated with wash-out duration when switching from fingolimod to cell-depleting agents	
Maria Trojano	150
INSPIRA - Analisi del Registro Italiano di Sclerosi Multipla per studiare il concetto di progressione indipendente dall'attività di ricaduta INSPIRA - Italian analysis of the National multiple sclerosis registry Studying the concept of Progression Independent from Relapse Activity	
Maria Trojano	154
Confronto tra un algoritmo di trattamento basato su un approccio terapeutico aggressivo rispetto alla classica terapia di escalation nella sclerosi multipla recidivante Early-aggressive treatment algorithm versus classical escalation therapy in relapsing multiple sclerosis	
Marzia Romeo	158
Fattori predittivi di progressione di disabilità in un'ampia coorte italiana di pazienti affetti da sclerosi multipla Predictive factors of disability progression in a large cohort of italian multiple sclerosis patients	
FORME RARE DI SM / RARE FORMS OF MS	161
Maria Pia Amato	161
E-MUSIC: Early MULTiple Sclerosis Italian Cohort E-MUSIC: Early MULTiple Sclerosis Italian Cohort	
Damiano Baroncini	164
Valutare il decorso clinico della sclerosi multipla a esordio pediatrico in ere differenti di trattamento: stiamo davvero modificando la malattia? Assessing the clinical course of pediatric onset multiple sclerosis in different treatment eras: are we really modifying the disease?	
Progetti approvati Registro Italiano Sclerosi Multipla /	
Multiple sclerosis italian register approved projects	167
Comitato Scientifico del Registro / Italian MS Registry Scientific Committee	170
NETWORK ITALIANO DI NEUROIMAGING (INNI)	
PER L'OTTIMIZZAZIONE DELL'UTILIZZO DI TECNICHE AVANZATE	
DI RISONANZA MAGNETICA IN PAZIENTI CON SM / THE ITALIAN	
NEUROIMAGING NETWORK INITIATIVE (INNI) TO OPTIMIZE	
THE USE OF ADVANCED MRI TECHNIQUES IN PATIENTS WITH MS	171
Massimo Filippi	174
Quantificazione della misura dell'atrofia: dalla ricerca alla pratica clinica Moving atrophy quantification for research setting to clinical practice	
Nicola De Stefano	176
Valutazione multicentrica su larga scala del volume dell'ippocampo nei pazienti con SM Large-scale, multi-centre assessment of hippocampal volume in MS patients	

Patrizia Pantano	178
L'impatto dei cambiamenti della connettività funzionale sulla progressione della malattia e l'accumulo di disabilità	
The impact of functional connectivity changes on disease progression and disability accumulation	

Gioachino Tedeschi	180
Determinanti RM strutturali e funzionali di disequilibrio cognitivo-radiologico in pazienti con SM	
Structural and functional MRI determinants of cognitive-radiological mismatch in MS patients	

PROGETTI DI RICERCA E BORSE DI STUDIO FINANZIATI DALLA FISM 2020, 2019 / FISM FUNDED RESEARCH PROJECTS AND FELLOWSHIPS 2020, 2019	185
--	------------

COMITATO SCIENTIFICO FISM	197
FISM SCIENTIFIC COMMITTEE 2020, 2019	

PROGETTI BANDO FISM TERMINATI NEL 2020

FISM CALL PROJECTS
ENDED IN 2020



Neuroriabilitazione e qualità della vita

Neurorehabilitation
and quality of life



La connettività funzionale dinamica nella sclerosi multipla progressiva: nuovi approcci e rilevanza clinica



Giulia Bommarito

Institute of Bioengineering, Center for Neuroprosthetics, Ecole Polytechnique Fédérale de Lausanne, and Department of Radiology and Medical Informatics, Faculty of Medicine, University of Geneva, Geneva, Switzerland

MENTORE / MENTOR

Dimitri Van De Ville

PREMESSE E OBIETTIVI

La plasticità neuronale nella sclerosi multipla può essere indagata con le neuro-immagini funzionali. Finora, gli studi di connettività funzionale si sono focalizzati su pazienti con sclerosi multipla agli stadi iniziali della malattia, quindi in pazienti con sindrome clinicamente isolata o con sclerosi multipla a ricadute e remissioni. Invece, la riorganizzazione funzionale che avviene negli stadi progressivi della malattia è stata meno studiata.

Un nuovo approccio che includa la valutazione dei cambiamenti nella dinamica della connettività funzionale potrebbe fornire informazioni più dettagliate sulla riorganizzazione funzionale che interessa i pazienti con sclerosi multipla. Tuttavia, tale approccio non è ancora stato applicato alle fasi progressive della malattia.

In questo studio, ci siamo proposti di valutare se la variazione delle caratteristiche temporali (dinamica) dell'attività funzionale, ovvero il modo in cui tale attività si modifica nel tempo di un'acquisizione di una sequenza di risonanza magnetica funzionale a riposo, sia alterata in pazienti con sclerosi multipla progressiva. Inoltre abbiamo scelto di applicare una tecnica sviluppata per studiare le transizioni dell'attività funzionale dei vari networks e in grado di rilevare la relazione tra l'attività di diversi network, rispetto all'analisi di neuro-immagini funzionale canonica.

Gli obiettivi di tale studio erano: 1) valutare la dinamica dell'attività funzionale in pazienti con sclerosi multipla progressiva, usando un approccio data-driven; 2) valutare la relazione tra parametri di disabilità clinica e dinamica funzionale; 3) determinare i cambiamenti nella dinamica dell'attività funzionale prima e dopo un percorso riabilitativo agli arti superiori, in pazienti con

sclerosi multipla progressiva.

L'analisi è stata effettuata su 32 pazienti con sclerosi multipla primariamente o secondariamente progressiva, e 26 persone sane, come gruppo di controllo, che hanno effettuato una risonanza magnetica che includeva una sequenza di imaging funzionale a riposo e una valutazione clinica e neuropsicologica. Inoltre, 19 pazienti e 16 persone sane hanno effettuato la medesima valutazione anche al follow-up, a distanza di un anno. Le immagini di risonanza magnetica funzionale sono state processate e sono stati ottenuti degli innovation-driven-coactivation-patterns (iCAPs) o "stati cerebrali funzionali". Inoltre, sono state calcolate le proprietà temporali di tali stati, ovvero la loro durata totale e il tempo in cui diversi stati erano attivati nella stessa direzione o in direzione opposta.

RISULTATI

L'iCAP (o stato funzionale) rappresentante il default mode network anteriore e il salience network avevano una durata totale inferiore nel gruppo dei pazienti rispetto al gruppo di controllo. Inoltre, il tempo in cui il default mode network anteriore e il network responsabile delle funzioni esecutive erano attivi in modo opposto era inferiore nei pazienti. Tali cambiamenti erano stabili a distanza di un anno di follow-up. Infine, abbiamo osservato come diversi stati funzionali, inclusi quelli corrispondenti al network sensori-motorio, il default mode network anteriore e posteriore, le strutture sottocorticali e le regioni temporali, fossero associate alla disabilità cognitiva e motoria. In generale, la disabilità clinica era correlata sia alla durata che all'interazione temporale tra stati funzionali, suggerendo che tale ana-

lisi potrebbe essere in grado di catturare in modo appropriato la relazione tra attività funzionale e disabilità. I parametri della sequenza di imaging funzionale usata prima e dopo il trattamento riabilitativo non erano adeguati allo studio delle caratteristiche dinamiche dell'attività funzionale e non hanno permesso di utilizzare la tecnica descritta per analizzare i cambiamenti prima e dopo il trattamento. Quindi non è stato possibile sviluppare il terzo obiettivo del progetto.

CONCLUSIONI

L'approccio di studio delle caratteristiche temporali dinamiche dell'attività funzionale è in grado di fornire informazioni utili e originali sulla riorganizzazione funzionale che caratterizza gli stadi progressivi della sclerosi multipla. In particolare, sembra in grado di catturare meglio la relazione tra stati funzionali e disabilità clinica. Ulteriori studi valuteranno il possibile ruolo di tale approccio nell'identificazione e personalizzazione di protocolli riabilitativi.

The dynamic functional connectome in progressive multiple sclerosis: novel approaches and clinical relevance

INTRODUCTION AND AIMS

Neural plasticity in multiple sclerosis (MS) can be investigated by means of functional neuroimaging. So far, studies on functional connectivity mainly focused on patients at the early stages of the disease, i.e., patients with clinically isolated syndrome and patients with relapsing remitting MS, while the functional reorganization occurring at the later stages of the disease has received limited attention.

An approach including the investigation of changes in the dynamic functional connectivity could provide a better insight into the functional reorganization occurring in MS [3]. However, this approach has never been applied to patients with progressive MS.

In this study we intended to investigate whether the functional dynamics at rest, i.e., the change in functional activity over time registered during a resting-state functional imaging sequence, is altered in patients with progressive MS, using a novel technique developed to study the transient functional activity and able to reveal a different relationship between functional networks[4], in contrast to canonical analysis.

Our aims were: 1) to study the functional dynamics in patients with progressive MS, using a data-driven approach; 2) to assess any relationship between clinical parameters and parameters of functional dynamics; 3) to determine the patterns of brain functional dynamics at baseline and after upper limb motor rehabilitation, in patients with progressive MS.

We performed analysis of functional dynamics on 32 patients with either primary or secondary progressive MS and 26 healthy controls. They underwent magnetic resonance imaging (MRI), clinical and neuropsychological evaluation at baseline; 19 patients and 16 healthy controls underwent also a follow-up analysis. Resting-state functional MRI data were pre-processed and innovation-driven-coactivation-patterns (iCAPs) or "brain states" were retrieved, as well as the temporal properties of these different brain states such as the total duration and coupling/anti-coupling.

RESULTS

The iCAP (or brain state) representing the anterior default mode network (aDMN) and the salience network had a decreased total duration in patients with progressive MS compared to HC. Moreover, the anti-coupling between the brain state representing the aDMN and the executive control network (i.e., the time during which the two brain states were oppositely active) was reduced in patients. Besides, we found that these alterations were steady over one-year follow-up.

Lastly, different brain states, including the ones representing the sensory-motor network, the posterior and anterior default mode network, basal ganglia and temporal regions, were correlated to cognitive or motor disability. Overall, clinical disability was related to both the duration and the interaction among brain states, suggesting they could help at better grasping the relationship between functional activity and behavioral status.

The parameters of the sequence used in the protocol including rehabilitation at the upper limbs did not allow us to apply a dynamic approach. Therefore, we could not fulfill the last aim of the project.

CONCLUSIONS

The functional dynamics approach could reveal new insightful information on the functional reorganization occurring at the late stages of multiple sclerosis. In particular, it seems to properly capture the relationship between functional brain states and clinical disability at the progressive stage of the disease. Further investigations are needed to assess the role of this approach in the identification and personalization of rehabilitation protocols.



PUBBLICAZIONI E COMUNICAZIONI A CONGRESSI PUBLICATIONS AND CONGRESS PRESENTATIONS

- Iandolo R*, Bommarito G*, Falcitano L, Schiavi S, Piaggio N, Mancardi GL, Casadio M, Inglese M. Position sense deficits at the lower limbs in early multiple sclerosis: clinical and neural correlates. *Neurorehabilitation and Neural* 2020 Mar;34(3):260-270. *joint first authors
- Bommarito G, Tarun A, Farouj Y, Preti MG, Petracca M, Droby A, El Mendili MM, Inglese M, Van De Ville D. Dynamic functional connectivity in progressive MS. Accepted in *Multiple Sclerosis Journal*.
- **Comunicazioni a Congressi**
- Bommarito G, Preti MG, Petracca M, Droby A, El Mendili MM, Inglese M, Van De Ville D. Posterior Cingulate Cortex functional connectivity disruption in progressive Multiple Sclerosis. OHBM 25th annual meeting, poster session; Rome, Italy, June 9-13th 2019
- Iandolo R, Bommarito G, Falcitano L, Schiavi S, Piaggio N, Mancardi GL, Casadio M, Inglese M. Position sense deficits at the lower limbs in early multiple sclerosis: clinical and neural correlates. 35th ECTRIMS congress, poster session; Stockholm, Sweden September 11-13th 2019
- Bommarito G, Preti MG, Petracca M, Droby A, El Mendili MM, Inglese M, Van De Ville D. Differences in functional connectivity assessed by graph measures in primary and secondary progressive multiple sclerosis patients. 2020 AAN virtual annual meeting, poster session; April 25th-May 1st, 2020
- Bommarito G, Preti MG, Petracca M, Droby A, El Mendili MM, Inglese M, Van De Ville D. Different functional connectivity patterns underlying clinical features in primary and secondary progressive multiple sclerosis. OHBM 2020 virtual annual meeting, poster session; June 23rd -July 3rd 2020

Borsa di studio finanziata con il Bando FISM 2017 per il periodo di 2 anni e l'ammontare di 78.000 €
Research Fellowship funded by FISM Grant 2017 for the period of 2 years and the amount of € 78,000

Può la neurostimolazione non-invasiva promuovere la rimielinizzazione?

Uno studio pilota preclinico



Raffaele d'Isa

Unità di Neurofisiologia Sperimentale, Istituto di Neurologia Sperimentale (INSPE), Ospedale San Raffaele, Milano, Italia

MENTORE / MENTOR
Letizia Leocani

PREMESSE E OBIETTIVI

La mielina è una membrana specializzata ricca di lipidi, presente solo nel sistema nervoso dei vertebrati, che agisce da isolante degli assoni dei nervi e consente agli impulsi nervosi di viaggiare rapidamente lungo l'assone in una serie di salti (conduzione saltatoria) da uno spazio tra segmenti mielinizzati (nodo di Ranvier) ad un altro, fornendo anche supporto trofico all'assone e mantenendone l'integrità. Nel sistema nervoso centrale (SNC), la mielina è prodotta dagli oligodendrociti, cellule gliali specializzate che hanno origine da cellule precursori degli oligodendrociti. Un fatto particolarmente intrigante è che, in seguito ad un danno demielinizante, il SNC adulto ha l'abilità di rigenerare spontaneamente gli oligodendrociti e di rimpiazzare gli strati di mielina, un processo noto come rimielinizzazione.

Nella sclerosi multipla (SM), le membrane mieliniche e gli oligodendrociti sono distrutti in conseguenza di un'inflammatione cronica del SNC. Purtroppo, in questa patologia la rimielinizzazione spontanea spesso fallisce o è incompleta, lasciando gli assoni vulnerabili alla degenerazione, che è largamente responsabile del declino clinico progressivo della malattia. Per questa ragione, si cercano trattamenti che possano aumentare le possibilità di un processo rigenerativo dopo la demielinizzazione.

Il modello murino cuprizone è un modello tossico di demielinizzazione, nel quale la neurotossina cuprizone è somministrata ai topi nella dieta, inducendo morte degli oligodendrociti e conseguente demielinizzazione del SNC. Se dopo 5 settimane di somministrazione di cuprizone, quando la demielinizzazione è oltre il 90%, i topi tornano alla dieta regolare, ha luogo una rimielinizzazione spontanea ed il livello di mielinizzazione ritorna al 90% dopo 4 settimane di recupero, fatto che rende questo modello

ideale per studiare i fattori che prevengono la demielinizzazione o promuovono i processi di rimielinizzazione.

Il nostro obiettivo è di testare la potenziale utilità della stimolazione transcranica a corrente diretta (tDCS, dall'inglese transcranial direct current stimulation), la quale consiste nell'applicazione indolore di deboli correnti continue allo scalpo, nel modello preclinico cuprizone, allo scopo di potenziare e velocizzare la rimielinizzazione.

Esperimenti *in vitro* hanno dimostrato che la stimolazione elettrica neuronale, che può essere ottenuta *in vivo* attraverso la tDCS, è in grado di promuovere la rimielinizzazione assonale. Inoltre sia la tDCS anodica che la catodica hanno mostrato di migliorare difetti motori e cognitivi in diversi modelli sperimentali di patologie neurologiche, tra cui ictus, malattia di Parkinson, malattia di Alzheimer ed epilessia.

RISULTATI

Nel presente progetto, abbiamo testato l'effetto del trattamento con tDCS anodica e catodica nel promuovere rimielinizzazione nel modello cuprizone di demielinizzazione. Le condizioni sperimentali erano: stimolazione anodica (SA), stimolazione catodica (SC) e stimolazione sham di controllo (SS). I topi hanno ricevuto una dieta arricchita di cuprizone per 7 settimane, dopo le quali sono tornati a dieta regolare. I trattamenti con tDCS sono iniziati al giorno 0 della sospensione della dieta con cuprizone e hanno avuto una durata di 5 giorni. I topi sono stati valutati per coordinazione motoria (tramite il test motorio Rotarod) e memoria di lavoro spaziale (tramite il test cognitivo Spontaneous Alternation T-maze) in tre punti temporali: baseline, pre-tDCS e post-tDCS.

Alla valutazione pre-tDCS (alla fine della dieta con cuprizone), i topi cuprizone hanno presentato un decremento

significativo della performance motoria nel Rotarod, paragonati a topi di controllo che avevano ricevuto dieta regolare ($p = 0.0001$). Nessun effetto è stato osservato sulla memoria di lavoro spaziale nel T-maze. Nella valutazione post-tDCS, la neurostimolazione anodica ha portato ad un recupero completo della performance motoria dei topi cuprizone. I topi cuprizone trattati con corrente anodica hanno mostrato una performance motoria significativamente superiore a quella dei topi cuprizone trattati con stimolazione sham ($p = 0.003$) e dei topi cuprizone stimolati con corrente catodica ($p = 0.002$), nonché comparabile a quella dei topi nutriti con dieta regolare di controllo ($p = 0.317$). La tDCS catodica non ha né migliorato né peggiorato la funzionalità motoria.

Abbiamo, inoltre, esaminato gli effetti dello stesso protocollo tDCS anche su topi sani nutriti con dieta regolare. Nessun effetto della tDCS è stato riscontrato né sulla

performance motoria né sulla memoria di lavoro spaziale, fatto che indica che l'effetto osservato nei topi cuprizone non è un effetto generico di potenziamento, ma piuttosto un effetto specifico che agisce sul difetto indotto dalla demielinizzazione.

CONCLUSIONI

Questi risultati suggeriscono che la tDCS anodica, che è pratica da utilizzare per un'applicazione clinica, potrebbe essere impiegata come un trattamento per la promozione della rimielinizzazione, contrastando la disabilità e ripristinando la funzionalità motoria. Il trattamento con tDCS, una tecnica elettrofisiologica non invasiva che è poco costosa, sicura ed indolore, potrebbe essere facilmente fornito come servizio medico, offrendo un'importante possibilità di miglioramento della qualità della vita delle persone con SM.

Can non-invasive neuromodulation promote remyelination? A pilot preclinical study

INTRODUCTION AND AIMS

Myelin is a lipid-rich specialized membrane, found only in the nervous system of vertebrates, that acts as an insulator of the nerve axons and allows nerve impulses to pass rapidly along the axon in a series of jumps (saltatory conduction) from one gap between myelinated segments (node of Ranvier) to another, and also provides trophic support to the axon and maintains its integrity. In the central nervous system (CNS), myelin is produced by the oligodendrocytes, specialized glial cells which originate from oligodendrocyte precursor cells. Intriguingly, after a demyelinating insult, the adult CNS has the ability to spontaneously regenerate oligodendrocytes and replace myelin sheaths, a process known as remyelination.

In multiple sclerosis (MS), myelin membranes and oligodendrocytes are destroyed through chronic inflammation in the CNS. Unfortunately, in this pathology spontaneous remyelination often fails or is incomplete, leaving the axons vulnerable to degeneration, which is largely responsible for the progressive clinical decline. For this reason, treatments increasing the possibilities of a regenerative process after demyelination are eagerly sought.

The cuprizone murine model is a toxic model of demyelination, in which neurotoxin cuprizone is fed to mice, inducing death of oligodendrocytes and consequent CNS demyelination. If after 5 weeks of cuprizone administration, when demyelination is over 90%, mice are returned to a regular diet, spontaneous remyelination occurs, with myelination returning to 90% after 4 weeks of recovery,

making this model ideal to study factors preventing demyelination or promoting remyelination processes.

Our aim is to test the potential usefulness of transcranial direct current stimulation (tDCS), consisting in the painless application of weak continuous currents on the scalp, in the cuprizone preclinical model, in order to enhance and speed up remyelination.

In vitro experiments have demonstrated that neuronal electrical stimulation, which can be obtained *in vivo* through tDCS, is able to promote axonal remyelination. Moreover, both anodal and cathodal tDCS have shown to ameliorate motor and cognitive impairments in several experimental models of neurological disorders, including stroke, Parkinson's disease, Alzheimer's disease and epilepsy.

RESULTS

In the present project, we tested the effect of anodal and cathodal tDCS treatment in promoting remyelination in the cuprizone model of demyelination. Experimental conditions were: anodal stimulation (AS), cathodal stimulation (CS) and sham stimulation (SS). Mice received a cuprizone-enriched diet for 7 weeks, after which they returned to regular diet. Treatments started on day 0 of cuprizone diet suspension (when demyelination is almost complete) and lasted 5 days. Mice were evaluated for motor coordination (through Rotarod) and for spatial working memory (through Spontaneous Alternation T-maze) at baseline, pre-treatment and post-treatment time-points.

At pre-treatment (end of cuprizone diet), a significant decrease of motor performance in Rotarod was observed in cuprizone mice compared with control mice ($p = 0.0001$). No effect was seen on spatial working memory in T-maze. Post-tDCS treatment, anodal neurostimulation led to a complete rescue of motor performance in cuprizone mice. Cuprizone-anodal mice showed a motor performance significantly higher than both cuprizone-sham ($p = 0.003$) and cuprizone-cathodal ($p = 0.002$) and comparable to mice fed with control diet ($p = 0.317$). Cathodal tDCS did not ameliorate nor worsen motor function. Furthermore, we evaluated the effect of the same tDCS protocol on healthy mice eating regular diet. No effect of tDCS was found on either motor performance or spatial

memory, suggesting that the effect observed on cuprizone mice is not a general enhancement effect, but rather a specific effect acting on the demyelination-induced impairment.

CONCLUSIONS

These results suggest that anodal tDCS, which is practical to use for clinical application, could be employed as a remyelination-boosting treatment, which contrasts disability and restores motor function. Indeed, treatment with tDCS, a non invasive electrophysiological technique which is cheap, safe and painless, could be easily setup as a medical service, representing a fundamental amelioration of the quality of life of people with MS.



PUBBLICAZIONI E COMUNICAZIONI A CONGRESSI PUBLICATIONS AND CONGRESS PRESENTATIONS

- d'Isa R, Marenni S, Castoldi V, Comi G, Leocani L (2020) Can neuromodulation through tDCS promote recovery of behavioural impairments in the cuprizone demyelination/remyelination mouse model? Preliminary results. 1st Annual Meeting of RIN (Rete IRCCS delle Neuroscienze e della Neuroriabilitazione), 8-11 July 2020
- d'Isa R, Castoldi V, Marenni S, Comi G, Leocani L (2020) Neuromodulation through anodal tDCS promotes recovery of demyelination-induced motor impairments in cuprizone demyelination/remyelination mouse model. 8th Joint ACTRIMS-ECTRIMS Meeting - MSVirtual2020, 11-13 September 2020
- d'Isa R, Marenni S, Castoldi V, Comi G, Leocani L (2020) Can non-invasive neuromodulation promote remyelination? A pilot preclinical study. Annual Scientific Congress of the Italian Multiple Sclerosis Society (AISM) and the Italian Multiple Sclerosis Foundation (FISM), 26-27 November 2020
- d'Isa R, Castoldi V, Marenni S, Comi G, Leocani L (2020) Neuromodulation through anodal tDCS promotes recovery of demyelination-induced motor impairments in cuprizone demyelination/remyelination mouse model. *Multiple Sclerosis Journal* 26 (S3): 491-492
- d'Isa R, Comi G, Leocani L. The 4-Hole-Board Test for Assessment of Long-Term Spatial Memory in Mice. *Curr Protoc* 2021 1(8): e228
- d'Isa R, Comi G, Leocani L. Apparatus design and behavioural testing protocol for the evaluation of spatial working memory in mice through the spontaneous alternation T-maze. *Scientific Reports* (in press)

Borsa di studio finanziata con il Bando FISM 2018 per il periodo di 1 anno e l'ammontare di 26.700 €
Research Fellowship funded by FISM Grant 2018 for the period of 1 year and the amount of € 26,700

Effetti dell'allenamento eccentrico sulla spasticità e debolezza muscolare degli arti in persone con sclerosi multipla: uno studio pilota



Andrea Manca

Dipartimento di Scienze Biomediche, Istituto di Fisiologia Umana, Università degli Studi di Sassari, Sassari, Italia

COLLABORATORI / COLLABORATORS

Franca Deriu, Elena Aiello, Enzo Ortu, Lucia Ventura, Gianluca Martinez

PREMESSE E OBIETTIVI

Il 60-90% delle persone con sclerosi multipla (SM) presenta spasticità, un disturbo del movimento che causa ipertonía neuromuscolare e retrazione dei tessuti molli e riduce la funzionalità motoria degli arti. L'efficacia dei trattamenti farmacologici e riabilitativi attualmente disponibili è tuttavia limitata a benefici di breve termine. L'obiettivo del presente progetto era quello di testare gli effetti di un esercizio, il rinforzo muscolare eccentrico, in cui il muscolo si allunga sotto carico grazie a un'azione frenante, e di confrontarlo con il convenzionale rinforzo concentrico in accorciamento. L'idea progettuale si basa sulle numerose evidenze scientifiche che hanno dimostrato come l'esercizio eccentrico consenta di modificare l'architettura del tessuto muscolare e modulare l'ipertonía.

RISULTATI

Il principale risultato di questo studio pilota su 28 pazienti a disabilità moderata e con spasticità focale è che il rinforzo eccentrico in allungamento a basse velocità angolari non soltanto consente di contrastare la debolezza muscolare nelle persone con SM come il rinforzo convenzionale in accorciamento, ma a differenza di quest'ultimo permette anche di ridurre significativamente la resistenza che il muscolo spastico oppone involontariamente alla mobilitazione passiva. Tale riduzione risulta accompagnata anche da una ridotta attività elettromiografica del muscolo spastico durante la mobilitazione e da un aumentato arco di movimento attivo dell'articolazione interessata. Inoltre, a seguito dell'intervento eccentrico, i partecipanti attribuivano un punteggio significativamente più basso all'impatto negativo che la spasticità esercitava sulla funzionalità dell'arto interessato.

CONCLUSIONI

L'allenamento eccentrico a basse velocità angolari si è dimostrato fattibile e sicuro. I dati preliminari hanno mostrato che questo protocollo può ridurre la resistenza spastica al movimento passivo in misura significativamente maggiore rispetto al rinforzo concentrico convenzionalmente impiegato, riducendo inoltre l'attività muscolare involontaria.

I risultati di questo studio possono avere un impatto positivo e immediato sulla funzione dell'arto inferiore e superiore nelle persone con SM. L'allenamento eccentrico può pertanto rappresentare un innovativo approccio nella riabilitazione della spasticità indotta dalla SM. Tuttavia, ulteriori studi sono necessari per chiarire i meccanismi neurofisiologici attraverso i quali il rinforzo eccentrico modula l'ipertonía spastica. Inoltre, poiché in questo progetto è stata impiegata una tecnologia robotica per somministrare le contrazioni eccentriche, le prossime ricerche dovranno verificare se queste siano efficaci anche in condizioni ecologiche, cioè utilizzando strumenti a basso costo per l'allenamento, come fasce elastiche e manubri.

The effects of eccentric strength training on limb spasticity and muscle weakness in people with multiple sclerosis: a pilot study

INTRODUCTION AND AIMS

Sixty to 90% of people with multiple sclerosis (MS) exhibit spasticity, a motor disorder that causes neuromuscular hypertonia and soft tissue retraction and reduces motor function in the limbs. However, the effectiveness of currently available pharmacological and rehabilitative treatments is limited to short-term benefits. The objective of the present project was to test the effects of an exercise, eccentric muscle strengthening, in which the muscle is stretched under load by a braking action, and to compare it with conventional concentric shortening strength training. The project idea is based on the abundant scientific evidence that eccentric exercise can modify muscle tissue architecture and modulate hypertonia.

RESULTS

The main result of this pilot study on 28 moderately disabled persons with MS and focal limb spasticity is that eccentric strengthening in lengthening not only counteracts muscle weakness in people with MS in the same way as conventional strengthening in shortening, but unlike the latter it also significantly reduces the resistance that the spastic muscle involuntarily opposes to passive mobilization. This reduction is also accompanied by a reduced electromyographic activity of the spastic muscle during

mobilization and an increased arc of active movement of the affected joint. Furthermore, following the eccentric intervention, participants attributed a significantly lower score to the negative impact that spasticity exerted on the function of the affected limb.

CONCLUSIONS

Eccentric training proved feasible and safe to manage spasticity in persons with MS. Preliminary data showed that this protocol can reduce spastic resistance to passive motion to a significantly greater extent than the conventionally employed concentric protocols, reducing the involuntary activity of the spastic muscles. The results of this study can have a positive, immediate impact on limb function. Eccentric training may represent a novel, exercise-based approach in the rehabilitation of MS-induced spasticity. However, further studies are needed to elucidate the neurophysiological mechanisms by which eccentric seems to modulate spastic hypertonia. Moreover, given that in this project a robotic technology was employed to deliver the eccentric lengthening contractions, upcoming research will have to test whether these are effective also in more ecological conditions, i.e., using low cost tools for training, such as elastic bands and dumbbells.



PUBBLICAZIONI E COMUNICAZIONI A CONGRESSI PUBLICATIONS AND CONGRESS PRESENTATIONS

- Manca A, Martinez G, Aiello E, Ventura L, Deriu F. *Effect of Eccentric Strength Training on Elbow Flexor Spasticity and Muscle Weakness in People With Multiple Sclerosis: Proof-of-Concept Single-System Case Series.* *Phys Ther.* 2020 Jul 19;100(7):1142-1152

Progetto di ricerca finanziato con il Bando FISM 2018 per il periodo di 1 anno e l'ammontare di 30.000 €
Research project funded by FISM Grant 2018 for the period of 1 year and the amount of € 30,000

La distonia spastica nella sclerosi multipla: il lato oscuro dell'ipertono muscolare



Carlo Trompetto

U.O. Clinica di Neuroriabilitazione, Dipartimento di Neuroscienze, Riabilitazione, Oftalmologia, Genetica e scienze Materno-Infantili (DINOGLI), IRCCS, Ospedale Policlinico San Martino, Università degli Studi di Genova, Genova, Italia

COLLABORATORI / COLLABORATORS

Lucio Marinelli, Laura Mori, Luca Puce, Filippo Cotellessa

COLLABORAZIONI CON ALTRI GRUPPI / COLLABORATIONS WITH OTHER GROUPS

Elisabetta Capello Clinica Neurologica, Dipartimento di Neuroscienze, IRCCS Ospedale Policlinico San Martino, Genova, Italia

Antonio Currà, Unità di Neurologia, Ospedale A. Fiorini, Terracina (LT), Dipartimento di Scienze Medico-Chirurgiche e Biotecnologie, Sapienza Università di Roma, Polo Pontino, Roma, Italia

Francesco Fattapposta, Unità di Neurologia, Policlinico Umberto I, Dipartimento di Neurologia e Psichiatria, Sapienza Università di Roma, Roma, Italia

Claudio Solaro, Rachele Digiovanni, Matteo Bodrero Dipartimento di Riabilitazione, CRRF "Mons. Luigi Novarese", Moncrivello (VC), Italia

PREMESSE E OBIETTIVI

Il tono muscolare si valuta a riposo. L'esaminatore (medico, fisioterapista) mobilizza un segmento articolare, ad esempio flettendo ed estendendo l'avambraccio sul braccio. Quando l'avambraccio viene esteso, i muscoli flessori (come il bicipite brachiale) si lasciano allungare dall'esaminatore, ma oppongono una certa resistenza, che viene percepita dall'esaminatore. Lo stesso accade ai muscoli estensori (tricipite brachiale) quando l'avambraccio viene flesso. Tale resistenza è per l'appunto il tono muscolare.

Normalmente il tono muscolare è percepito come una lieve resistenza. Nella persona con sclerosi multipla (SM) questa resistenza può aumentare in modo considerevole, soprattutto quando l'allungamento viene effettuato velocemente. Si parla allora di spasticità.

La spasticità viene comunemente considerata un'esagerazione del riflesso da stiramento, presente anche nei soggetti sani. Quando il muscolo viene allungato, esso invia segnali al midollo spinale attraverso i nervi sensitivi. Il midollo spinale a sua volta, attraverso i nervi motori, invia segnali al muscolo, che ne determinano la contrazione. Questo è il riflesso da stiramento. Nella persona con SM il midollo spinale diventa più eccitabile e così il riflesso da stiramento diventa esagerato, dando luogo alla spasticità.

Se il riflesso da stiramento nel muscolo spastico viene valutato con l'elettromiografia di superficie (EMG), possiamo apprezzare che esistono diverse forme di esagerazione del riflesso. In alcuni muscoli, l'attivazione si ha solo durante l'allungamento muscolare. In altri muscoli, l'attivazione muscolare si ha non solo durante l'allungamento muscolare, ma anche prima dell'allungamento. In quest'ultimo caso, il muscolo ha perso la capacità di rilassarsi. Esso tende a rimanere sempre attivo, anche se il soggetto vuole tenerlo completamente rilassato. Questa forma di spasticità, denominata distonia spastica, probabilmente determina, impedendo al muscolo di rilassarsi, una disabilità maggiore rispetto alla forma nella quale la contrazione muscolare si ha solo durante l'allungamento. L'obiettivo di questo studio, effettuato utilizzando l'EMG, è stato quello di valutare il riflesso da stiramento nei muscoli spastici delle persone con SM, al fine di studiare la prevalenza e la distribuzione della distonia spastica.

RISULTATI

Sono state valutate 59 persone con SM, affette da spasticità in almeno un settore muscolare. Il riflesso da stiramento è stato valutato in 108 muscoli spastici. La distonia spastica è stata trovata in 28 muscoli, con distribuzione preferenziale all'arto superiore.

CONCLUSIONI

Senza l'ausilio della EMG, è difficile riconoscere la distonia spastica. Essa talvolta può determinare delle posture anomale, come la flessione forzata dell'avambraccio sul braccio oppure la chiusura a pugno della mano. Spesso però ciò non accade e la distonia spastica non viene quindi distinta dalla spasticità.

Il muscolo spastico non trova riposo solo quando viene allungato. Invece, il muscolo affetto da distonia spastica

non si riposa mai, anche quando non viene mobilizzato. Riteniamo che questa condizione possa portare a gravi alterazione del tessuto muscolare, come la progressiva riduzione della sua lunghezza. Probabilmente la distonia spastica merita un'attenzione maggiore da parte del team riabilitativo rispetto alla spasticità. Con questa ricerca abbiamo dimostrato che la distonia spastica è un fenomeno frequente e misconosciuto nella persona con SM.

Spastic dystonia in multiple sclerosis: the dark side of muscle hypertonia

INTRODUCTION AND AIMS

Muscle tone is assessed at rest. The examiner (for instance, medical doctor or physiotherapist) moves a joint segment, for example by flexing and extending the forearm on the arm. When the forearm is extended, the flexor muscles (such as the biceps) offer a certain resistance to stretch, which is perceived by the examiner. The same happens to the extensor muscles (triceps) when the forearm is flexed. This resistance represents the muscle tone.

Muscle tone is usually perceived as mild resistance. In the person with Multiple Sclerosis (MS), this resistance can increase considerably, especially when the lengthening is done quickly. We then speak of spasticity.

Spasticity is commonly considered a stretch reflex exaggeration. The stretch reflex is also present in healthy subjects. When the muscle is stretched, it sends signals to the spinal cord via the sensory nerves. The spinal cord in turn, through the motor nerves, sends signals to the muscle, which cause it to contract. This is the stretch reflex. In the person with MS, the spinal cord becomes more excitable and thus the stretch reflex becomes exaggerated, resulting in spasticity.

If the stretch reflex in the spastic muscle is evaluated with surface electromyography (EMG), we can appreciate that there are different forms of exaggeration of the reflex. In some muscles, activation occurs only during muscle lengthening. In other muscles, muscle activation occurs not only during muscle lengthening, but also before lengthening. In the latter case, the muscle has lost the ability to relax. It tends to remain active all the time, even if the subject wants to keep it completely relaxed. This form of

spasticity, called spastic dystonia, probably determines, by preventing the muscle from relaxing, a greater disability than the form in which the muscle contraction occurs only during stretching.

The aim of this study was to evaluate using EMG the stretch reflex in the spastic muscles of people with MS, in order to study the prevalence and distribution of spastic dystonia.

RESULTS

Fifty-nine people with MS, suffering from spasticity in at least one muscle area, were evaluated. The stretch reflex was studied in 108 spastic muscles. Spastic dystonia was found in 28 muscles, with a preferential distribution to the upper limb.

CONCLUSIONS

Without the help of EMG, it is difficult to recognize spastic dystonia. It can sometimes lead to abnormal postures, such as the forced flexion of the upper limb. However, very often this does not happen and spastic dystonia is therefore not distinguished from spasticity.

Spastic muscles cannot rest only when they are stretched. On the other hand, muscles affected by spastic dystonia never rest, even when they are not moved. We believe that this condition can lead to severe alteration of muscle tissue, such as the progressive reduction of its length. Spastic dystonia probably deserves more attention from the rehabilitation team than spasticity. With this research we have shown for the first time that spastic dystonia is a frequent and misunderstood phenomenon in people with MS.



PUBBLICAZIONI E COMUNICAZIONI A CONGRESSI

PUBLICATIONS AND CONGRESS PRESENTATIONS

- Puce L, Currà A, Marinelli L, Mori L, Capello E, Digiovanni R, Bodrero M, Solaro C, Cotellessa F, Fattapposta F, Trompetto C. Spasticity, spastic dystonia, and static stretch reflex in hypertonic muscles of patients with multiple sclerosis. *Clinical Neurophysiology Practice* (under review)
- *Rehabilitation in Multiple Sclerosis (RIMS) Digital Annual Conference, December 4-5th 2020*
- *7th Congress of the European Academy of Neurology (EAN), Virtual Congress, June 19th-22nd 2021*

Progetto di ricerca finanziato con il Bando FISM 2016 per il periodo di due anni (prorogato di 12 mesi) e l'ammontare di 60.000 €

Research project funded by FISM Grant 2016 for the period of two years (extended by 12 months) and the amount of € 60,000

Patogenesi e fattori di rischio

Pathogenesis
and risk factors



La glicolisi come nuovo determinante metabolico tra la tolleranza immunologica e la patogenesi della sclerosi multipla



Giuseppe Matarese

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

COLLABORATORI / COLLABORATORS

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

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

PREMESSE E OBIETTIVI

Le malattie autoimmunitarie sono spesso invalidanti e portano alla distruzione da parte del sistema immunitario dei costituenti e degli organi del nostro corpo. Per esempio, nella sclerosi multipla (SM) si registra la distruzione della mielina responsabile della conduzione degli impulsi nervosi. La frequenza di tali patologie appare in costante aumento nelle società avanzate e opulente, per motivi non ben conosciuti. Nonostante i grandi passi avanti fatti dalla ricerca, i meccanismi alla base della perdita della "tolleranza immunologica" non sono ancora completamente identificati. Negli ultimi anni l'attenzione dei ricercatori si è concentrata su una popolazione linfocitaria di "cellule sentinella" dette cellule T regolatorie (Treg), che hanno un ruolo nello sviluppo di questo tipo di patologie. Il nostro team di ricerca ha dimostrato che il metabolismo cellulare, in particolare la "via degli zuccheri" (tra cui il glucosio), è in grado di modificare un fattore denominato FOXP3, necessario per la genesi e il corretto funzionamento delle cellule Treg. Le alterazioni del metabolismo, sempre più comuni nelle società con maggior benessere, potrebbero dunque essere associate alle disfunzioni della risposta immunitaria, caratteristiche della SM. Secondo questo studio le cellule Treg dei pazienti affetti da SM possiedono una ridotta quantità di una particolare variante di FOXP3, che si associa ad un alterato metabolismo degli zuccheri. Quest'ultimo aspetto determina una incapacità delle cellule Treg di svolgere in modo appropriato il proprio ruolo nel mantenere la "tolleranza immunologica" nei confronti dell'organismo. Scopo del nostro progetto è proprio quello

di comprendere a livello sub-cellulare come il metabolismo cellulare e il glucosio controllano i processi più profondi che regolano la genesi delle cellule Treg nei soggetti normali e nei pazienti con SM. Tale strategia dovrebbe aiutare a comprendere la patogenesi della malattia e potrebbe contribuire allo sviluppo di nuovi protocolli terapeutici per la SM.

RISULTATI

I risultati di questo studio hanno mostrato che la modifica del metabolismo cellulare, attraverso segnali di pseudo affamamento farmacologico (pseudo-starvation), ha un impatto significativo su diversi processi cellulari nelle cellule Treg, tra cui la proliferazione, la divisione cellulare e il trasporto di molecole attraverso la membrana cellulare. In particolare, nelle cellule Treg coltivate in condizione di pseudo-starvation, abbiamo osservato livelli più elevati di un fattore chiamato SLC7A11, coinvolto nel trasporto di diverse molecole attraverso la membrana cellulare. Nelle cellule Treg dei pazienti con SM, abbiamo osservato un ridotto aumento di SLC7A11 e questo fenomeno è associato a un difetto nella proliferazione delle cellule Treg. Questi risultati suggeriscono che SLC7A11 è una molecola chiave per il controllo della proliferazione delle cellule Treg e suggeriscono un meccanismo nuovo che potrebbe spiegare la patogenesi delle malattie autoimmunitarie come la SM.

CONCLUSIONI

I nostri risultati suggeriscono che nelle cellule Treg dei soggetti sani e dei pazienti con SM, i segnali di pseudo-starvation agiscono in particolare sui livelli di una serie di trasportatori presenti sulla membrana cellulare, tra cui in particolare SLC7A11. I nostri studi potrebbero avere una rapida applicazione nella pratica clinica. Infatti, la pos-

sibilità di influenzare il metabolismo cellulare o utilizzando farmaci specifici che agiscono sulle vie metaboliche intracellulari o attraverso la riduzione del sovraccarico nutrizionale (es. la restrizione calorica), potrebbe essere in grado di influenzare la suscettibilità e la progressione della SM.

Glycolysis as novel metabolic determinant linking immune tolerance and pathogenesis of multiple sclerosis

INTRODUCTION AND AIMS

Autoimmune diseases are disabling diseases leading to destruction of constituents and organs of our body by the immune system. For example, in multiple sclerosis (MS) is observed the destruction of the myelin that is responsible for the conduction of nerve impulses. The frequency of these pathologies appears to be constantly increasing in advanced and opulent societies, for reasons not well known. Despite major advances over the past years, the mechanisms underlying the loss of "immunological tolerance" are not yet fully identified. In recent years, researchers have focused on a lymphocyte population of "sentinel cells" called regulatory T(Treg) cells, which play a key role in the development of this kind of pathology. Our research team has shown that cellular metabolism, in particular the "sugar pathway" (including glucose), is able to modify a factor called FOXP3, which is necessary for the development and function of Treg cells. Alterations in metabolism, increasingly common in well-being societies, could therefore be associated with dysfunctions of the immune response, characteristic of MS. According to this study, Treg cells from MS patients display a reduced level of a particular variant of FOXP3, which is associated with an altered metabolism of sugars. This last aspect is correlated with the incapacity of Treg cells to maintain the "immunological tolerance" towards the organism. The aim of our project is to understand at the sub-cellular level how cellular metabolism and glucose control the processes regulating the induction of Treg cells in normal subjects and in MS patients. This strategy should help to understand the pathogenesis of the disease and could contribute to the development of new therapeutic protocols for MS.

RESULTS

The results of this study showed that modification of cellular metabolism, with signals of pharmacological pseudo-starvation, is associated with a significant impact on crucial cellular processes, including proliferation, cell division, and transport of molecules in human Treg cells. In particular, in pseudo-starved Treg cells we observed a higher levels of a factor called SLC7A11, involved in the transport of different molecules through cellular membrane. In Treg cells from MS patients, we observed a reduced induction of SLC7A11 and this phenomenon was associated with a defect in the proliferation of Treg cells. These results suggest that SLC7A11 is a key molecule for the control of Treg cell proliferation and suggest a previously unrecognized mechanism that could explain the progressive loss of Treg cells in autoimmune diseases such as MS.

CONCLUSIONS

Our results suggest that in Treg cells from healthy subjects and patients with MS, signals of pseudo-starvation act in particular on the levels of a number of transporters present on the cell membrane, including in particular SLC7A11. Our studies could have rapid application from basic to clinical science. Indeed, the possibility to influence cellular metabolism in general utilizing specific drugs acting on intracellular metabolic pathways and nutritional overload (ie. calorie restriction), could be able to affect MS susceptibility and progression.



PUBBLICAZIONI E COMUNICAZIONI A CONGRESSI

PUBLICATIONS AND CONGRESS PRESENTATIONS

- Procaccini C, Garavelli S, Carbone F, Di Silvestre D, La Rocca C, Greco D, Colamatto 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 May 11:S1074-7613(21)00176-X
- 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, Alvingi 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
- 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
- de Candia P, Prattichizzo F, Garavelli S, Matarese G. T Cells: Warriors of SARS-CoV-2 Infection. *Trends Immunol*. 2020 Nov
- Bruzzaniti S, Cirillo E, Prencipe R, Giardino G, Lepore MT, Garziano F, Perna F, Procaccini C, Mascolo 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
- Stanpanoni 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
- Galgani M, Bruzzaniti S, Matarese G. Immunometabolism and autoimmunity. *Curr Opin Immunol*. 2020 Dec;67:10-17
- Li X, Colamatto 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 Dec 1;130(12):6261-6277
- 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, 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 Dec;63(12):2699-2712
- Terrazzano G, Bruzzaniti S, Rubino V, Santopaolo 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 progression 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
- Barisciano G, Colangelo T, Rosato V, Muccillo L, Taddei ML, Ippolito L, Chiarugi P, Galgani M, Bruzzaniti S, Matarese G, Fassan M, Agostini M, Bergamo F, Pucciarelli S, Carbone A, Mazzocchi G, Colantuoni V, Bianchi F, Sabatino L. miR-27a is a master regulator of metabolic reprogramming and chemoresistance in colorectal cancer. *Br J Cancer*. 2020 Apr;122(9):1354-1366
- Negri R, Trinchese G, Carbone F, Caprio MG, Stanzione G, di Scala C, Micillo T, Perna F, Tarotto L, Gelzo M, Cavaliere G, Spagnuolo MI, Corso G, Mattace Raso G, Matarese G, Mollica MP, Greco L, Iorio R. Randomised Clinical Trial: Calorie Restriction Regimen with Tomato Juice Supplementation Ameliorates Oxidative Stress and Preserves a Proper Immune Surveillance Modulating Mitochondrial Bioenergetics of T-Lymphocytes in Obese Children Affected by Non-Alcoholic Fatty Liver Disease (NAFLD). *J Clin Med*. 2020 Jan 4;9(1):141
- Vitale A, Strisciuglio C, Vitale S, Santopaolo M, Bruzzese D, Micillo T, Scarpato E, Miele E, Staiano A, Troncone R, Matarese G, Gianfrani C. Increased frequency of regulatory T cells in pediatric inflammatory bowel disease at diagnosis: a compensative role? *Pediatr Res*. 2019 Nov 12
- Moccia M, Capacchione A, Lanzillo R, Carbone F, Micillo T, Matarese G, Palladino R, Brescia Morra V. Sample Size for Oxidative Stress and Inflammation When Treating Multiple Sclerosis with Interferon- β 1a and Coenzyme Q10. *Brain Sci*. 2019 Sep 27;9(10):pii: E259
- Colamatto 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
- de Candia P, Prattichizzo F, Garavelli S, De Rosa V, Galgani M, Di Rella F, Spagnuolo MI, Colamatto A, Fusco C, Micillo T, Bruzzaniti S, Ceriello A, Puca AA, Matarese G. Type 2 Diabetes: How Much of an Autoimmune Disease? *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2019 Jul 4;10:451
- Mollo N, Nitti M, Zerillo L, Faicchia D, Micillo T, Accarino R, Secondo A, Petrozziello T, Cali G, Cicatiello R, Bonfiglio F, Samataro V, Genesio R, Izzo A, Pinton P, Matarese G, Paladino S, Conti A, Nitsch L. Pioglitazone Improves Mitochondrial Organization and

- Bioenergetics in Down Syndrome Cells. *Front Genet.* 2019 Jun 28;10:606
- Bruzzaniti S, Bocchino M, Santopaolo M, Cali G, Stanziola AA, D'Amato M, Esposito A, Barra E, Garziano F, Micillo T, Zuchegna C, Romano A, De Simone S, Zuccarelli B, Mottola M, De Rosa V, Porcellini A, Perna F, Matarese G, Galgani M. An immunometabolic pathomechanism for chronic obstructive pulmonary disease. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2019 Jul 30;116(31):15625-15634
 - Stampanoni Bassi M, Iezzi E, Buttari F, Gilio L, Simonelli I, Carbone F, Micillo T, De Rosa V, Sica F, Furlan R, Finardi A, Fantozzi R, Storto M, Bellantonio P, Pirolo P, Di Lemme S, Musella A, Mandolesi G, Centonze D, Matarese G. Obesity worsens central inflammation and disability in multiple sclerosis. *Mult Scler.* 2019 Jun 4;1352458519853473.
 - Carrizzo A, Procaccini C, Lenzi P, Fusco C, Villa F, Migliarino S, De Lucia M, Fornai F, Matarese G, Puca AA, Vecchione C. PTX3: an inflammatory protein modulating ultrastructure and bioenergetics of human endothelial cells. *Immun Ageing.* 2019 Feb 2;16:4
 - Vigo T, La Rocca C, Faicchia D, Procaccini C, Ruggieri M, Salvetti M, Centonze D, Matarese G, Uccelli A; MSRUN Network. IFN β enhances mesenchymal stromal (Stem) cells immunomodulatory function through STAT1-3 activation and mTOR-associated promotion of glucose metabolism. *Cell Death Dis.* 2019 Jan 28;10(2):85
 - Criscuolo C, Cianflone A, Lanzillo R, Carrella D, Carissimo A, Napolitano F, de Cegli R, de Candia P, La Rocca C, Petrozziello T, Matarese G, Boscia F, Secondo A, Di Bernardo D, Brescia Morra V. Glatiramer Acetate modulates ion channels expression and calcium homeostasis in B cell of patients with relapsing-remitting multiple sclerosis. *Sci Rep.* 2019 Mar 12;9(1):4208
 - Moccia M, Capacchione A, Lanzillo R, Carbone F, Micillo T, Perna F, De Rosa A, Carotenuto A, Alberio R, Matarese G, Palladino R, Brescia Morra V. Coenzyme Q10 supplementation reduces peripheral oxidative stress and inflammation in interferon- β 1a-treated multiple sclerosis. *Ther Adv Neurol Disord.* 2019 Feb 18;12:1756286418819074
 - Simula L, Pacella I, Colamatteo A, Procaccini C, Cancila V, Bordini M, Tregnago C, Corrado M, Pigazzi M, Barnaba V, Tripodo C, Matarese G, Piconese S, Campello S. Drp1 Controls Effective T Cell Immune-Surveillance by Regulating T Cell Migration, Proliferation, and cMyc-Dependent Metabolic Reprogramming. *Cell Rep.* 2018 Dec 11;25(11):3059-3073.e10
 - Becher J, Simula L, Volpe E, Procaccini C, La Rocca C, D'Acunzo P, Cianfanelli V, Strappazon F, Caruana I, Nazio F, Weber G, Gigantino V, Botti G, Ciccocanti F, Borsellino G, Campello S, Mandolesi G, De Bardi M, Fimia GM, D'Amelio M, Ruffini F, Furlan R, Centonze D, Martino G, Braghetta P, Chrisam M, Bonaldo P, Matarese G, Locatelli F, Battistini L, Cecconi F. AMBRA1 Controls Regulatory T-Cell Differentiation and Homeostasis Upstream of the FOXO3-FOXP3 Axis. *Dev Cell.* 2018 Dec 3;47(5):592-607.e6
 - Ristori G, Faustman D, Matarese G, Romano S, Salvetti M. Bridging the gap between vaccination with Bacille Calmette-Guérin (BCG) and immunological tolerance: the cases of type 1 diabetes and multiple sclerosis. *Curr Opin Immunol.* 2018 Nov 14;55:89-96
 - Sambucci M, Gargano F, De Rosa V, De Bardi M, Piccozza M, Placido R, Ruggieri S, Capone A, Gasperini C, Matarese G, Battistini L, Borsellino G. FoxP3 isoforms and PD-1 expression by T regulatory cells in multiple sclerosis. *Sci Rep.* 2018 Feb 27;8(1):3674. doi: 10.1038/s41598-018-21861-5. PubMed PMID: 29487369; PubMed Central PMCID: PMC5829149
 - de Candia P, Matarese G. Leptin and ghrelin: Sewing metabolism onto neurodegeneration. *Neuropharmacology.* 2018 Jul 1;136(Pt B):307-316. doi: 10.1016/j.neuropharm. 2017.12.025. Epub 2017 Dec 15. Review
 - Kishore M, Cheung KCP, Fu H, Bonacina F, Wang G, Coe D, Ward EJ, Colamatteo A, Jangani M, Baragetti A, Matarese G, Smith DM, Haas R, Mauro C, Wraith DC, Okkenhaug K, Catapano AL, De Rosa V, Norata GD, Marelli-Berg FM. Regulatory T Cell Migration Is Dependent on Glucokinase-Mediated Glycolysis. *Immunity.* 2017 Nov 21;47(5):875-889.e10
 - La Rocca C, Carbone F, De Rosa V, Colamatteo A, Galgani M, Perna F, Lanzillo R, Brescia Morra V, Orefice G, Cerillo I, Florio C, Maniscalco GT, Salvetti M, Centonze D, Uccelli A, Longobardi S, Visconti A, Matarese G. Immunometabolic profiling of T cells from patients with relapsing-remitting multiple sclerosis reveals an impairment in glycolysis and mitochondrial respiration. *Metabolism.* 2017 Dec; 77:39-46.
 - De Rosa V, La Cava A, Matarese G. Metabolic pressure and the breach of immunological self-tolerance. *Nat Immunol.* 2017 Oct 18;18(11):1190-1196
 - Lanzillo R, Carbone F, Quarantelli M, Bruzzese D, Carotenuto A, De Rosa V, Colamatteo A, Micillo T, De Luca Picione C, Saccà F, De Rosa A, Moccia M, Brescia Morra V, Matarese G. Immunometabolic profiling of patients with multiple sclerosis identifies new biomarkers to predict disease activity during treatment with interferon beta-1a. *Clin Immunol.* 2017 Oct;183:249-253
 - De Rosa V, Di Rella F, Di Giacomo A, Matarese G. Regulatory T cells as suppressors of anti-tumor immunity: Role of metabolism. *Cytokine Growth Factor Rev.* 2017 Jun;35:15-25
 - Melis D, Carbone F, Minopoli G, La Rocca C, Perna F, De Rosa V, Galgani M, Andria G, Parenti G, Matarese G. Cutting Edge: Increased Autoimmunity Risk in Glycogen Storage Disease Type 1b Is Associated With a Reduced Engagement of Glycolysis in T Cells and an Impaired Regulatory T Cell Function. *J Immunol.* 2017 May 15;198(10):3803-3808

Progetto di ricerca finanziato con il Bando FISM 2016 per il periodo di 3 anni (prorogato di 2 mesi) e l'ammontare di 307.500 €

Research project funded by FISM Grant 2016 for the period of 3 years (extended by 2 months) and the amount of € 307,500

Ruolo di Jab1 e della senescenza nella patogenesi delle forme progressive di sclerosi multipla in un modello animale



Stefano Carlo Previtali

Istituto di Neurologia Sperimentale (INSPE), Divisione di Neuroscienze, Ospedale San Raffaele, Milano, Italia

COLLABORATORI / COLLABORATORS

Cristina Rivellini, Emanuela Porrello, Giorgia Dina, Angelo Quattrini, Linda Chaabane, Letizia Leocani, Silvia Marena, Cinthia Farina, Emanuela Colombo, Marco Bacigaluppi, Giorgia Serena Gullotta

COLLABORAZIONI CON ALTRI GRUPPI / COLLABORATION WITH OTHER GROUPS

Ruggero Pardi, *Unità di Biologia leucocitaria, Divisione di Immunologia, Ospedale San Raffaele, Milano, Italia*

Alessandra Vezzoli, Simona Mrakic-Sposta, *Istituto di Fisiologia Clinica Consiglio Nazionale delle Ricerche, ICF-CNR, Milano, Italia*

Klaus A. Nave, *Department of Neurogenetics, Max Planck Institute of Experimental Medicine, Gottingen, Germany*

PREMESSE E OBIETTIVI

La sclerosi multipla (SM) è una malattia demielinizzante e infiammatoria del sistema nervoso centrale (SNC). La demielinizzazione nella tipica SM recidivante-remittente è dovuta ad un meccanismo disimmune e di conseguenza le terapie antinfiammatorie risultano efficaci. Nelle SM progressive (primarie o secondarie) è invece la presenza di neurodegenerazione a costituire l'evento principale (ed irreversibile) di malattia. Poco si sa sui meccanismi patogenetici della neurodegenerazione in corso di SM progressiva, così come non è disponibile alcuna terapia efficace a fermare/rallentare la neurodegenerazione. Pertanto, la comprensione dei meccanismi che generano (sostengono) gli eventi neurodegenerativi nella SM progressiva è estremamente importante per poterli contrastare. Inoltre, non sono disponibili buoni modelli animali che riproducono gli aspetti clinico-patologici della SM progressiva.

Nella SM progressiva, studi sui campioni biotici suggeriscono che il processo neurodegenerativo spesso precede (o è parallelo) alla componente infiammatoria. Inoltre, mostrano che gli oligodendrociti (OL) presentano danni del DNA ed aspetto picnotico/apoptotico. Il quadro infiammatorio è dominato dall'attivazione della microglia, e viene descritta un'elevata produzione di ROS (con disfunzio-

ne mitocondriale) che porterebbero al danno e alla perdita assonale (neurodegenerazione).

Jab1 è una molecola multifunzionale che svolge un ruolo nel danno e nella riparazione del DNA e nella regolazione del ciclo cellulare. Abbiamo generato dei topi in cui abbiamo selettivamente eliminato Jab1 negli OL per valutare se il conseguente danno al DNA influisca sulla loro funzione e sopravvivenza. Abbiamo osservato che questi topi senza Jab1 (chiamati Jab1OLcKO) sviluppano una progressiva demielinizzazione del SNC, infiammazione e neurodegenerazione, con aspetti patologici simili a quanto descritto in persone con SM progressiva.

In questo progetto abbiamo voluto indagare il meccanismo molecolare che causa la neurodegenerazione nei topi Jab1OLcKO, il ruolo dell'infiammazione e se sia possibile bloccare / interferire con questo processo patologico.

RISULTATI

Per prima cosa abbiamo caratterizzato il meccanismo molecolare che sostiene la demielinizzazione progressiva, l'infiammazione e la neurodegenerazione nei topi Jab1OLcKO. Abbiamo appurato che questi eventi sono la conseguenza dell'accumulo di danni al DNA negli OL maturi. Questi OL mutati (privi di Jab1) non solo sviluppano

danno al DNA ma hanno anche una riparazione difettosa di questo danno che quindi si amplifica nel tempo. Questo causa lo sviluppo di un processo di senescenza negli OL. Gli OL senescenti producono (e rilasciano) fattori infiammatori (detti SASP) e specie reattive dell'ossigeno (detti ROS), che promuovono infiammazione e neurodegenerazione.

Successivamente abbiamo indagato se l'infiltrato infiammatorio associato alla neurodegenerazione nei topi JabOLc1KO fosse dovuto i) all'attivazione e proliferazione della microglia, ii) al reclutamento di monociti / macrofagi dal flusso sanguigno iii) o come conseguenza di entrambi. I nostri studi che hanno utilizzato un trattamento con minociclina e la generazione di topi doppi knockout (ovvero privi) per Jab1 e CCR2-KO (e quindi incapaci di reclutare macrofagi dal flusso ematico), insieme alla mancata rottura della barriera ematoencefalica nei topi mutanti, hanno dimostrato che l'infiammazione nei topi JabOLc1KO è principalmente dovuta all'attivazione e alla proliferazione della microglia.

Infine, abbiamo valutato se il blocco della microglia, mediante un inibitore specifico per il recettore CSF1, fosse sufficiente per migliorare la malattia. Questa molecola ha ridotto significativamente la microglia nei topi mutanti ma non ha attenuato né la demielinizzazione né la neurodegenerazione.

CONCLUSIONI

Abbiamo generato un modello murino che riproduce gli aspetti clinici e patologici di persone con SM primaria progressiva e ne abbiamo caratterizzato il possibile meccanismo patogenetico. Abbiamo anche dimostrato che l'infiammazione microgliale, abbondantemente presente nel nostro modello murino (e nel cervello di persone con SM progressiva) probabilmente non contribuisce alla neurodegenerazione, poiché la sua inibizione non migliora/blocca la progressiva neurodegenerazione del topo mutante. Infine, i nostri risultati hanno identificato nella senescenza un potenziale obiettivo da affrontare per interferire con la neurodegenerazione nella SM progressiva.

Role of Jab1 and senescence in the pathogenesis of progressive MS in a mouse model

INTRODUCTION AND AIMS

Multiple sclerosis (MS) is a chronic inflammatory demyelinating disease of the central nervous system (CNS). Demyelination in typical relapsing-remitting MS is due to dysimmune mechanism, and accordingly anti-inflammatory therapies are effective. However, neurodegeneration may follow (secondary progressive) or constitute the main finding in primary progressive MS. Little is known on the pathogenesis of neurodegeneration in progressive MS, as well as not known therapy is available to stop neurodegeneration. Thus, the comprehension of mechanisms that generate and sustain neurodegeneration is extremely important in MS persons, as the extent of neurodegeneration correlates with disability and irreversible deficits. Of note, pathological alterations seen in progressive MS are poorly represented in available animal models. Thus, the generation of new animal models to study the pathogenesis of progressive MS represents an urgent need in the field.

Studies of brain samples in progressive MS persons describe neurodegeneration that precedes/parallels inflammation. Primary oligodendrocyte (OL) damage, including DNA damage and apoptosis, associates to microglia activation, elevated ROS production and mitochondrial dysfunction that eventually results in axonal damage and loss.

Jab1 is multifunctional molecules involved in DNA damage and repair and in cell cycle regulation. We selectively deleted Jab1 in OLs to evaluate whether consequent DNA damage affects OL function and survival. Interestingly, mice without Jab1 (called Jab1OLcKO) develop progressive CNS demyelination, inflammation and neurodegeneration, resembling pathology of progressive MS persons. In this grant application we wanted to investigate the molecular mechanism causing neurodegeneration in Jab1OLcKO mice, the role of inflammation and whether we may block/interfere with this process.

RESULTS

We first characterized the molecular mechanism sustaining progressive demyelination, inflammation and neurodegeneration in Jab1OLcKO mice. This was the consequence of DNA-damage accumulation in mature OLs that, together with defective DNA-damage repair, induces a senescence-like phenotype in the OLs. Senescent OLs produced and secreted inflammatory factors (senescent associated secretory pathway, or SASP) and ROS reactive oxygen species), which promoted inflammation and neurodegeneration.

We then evaluated whether the inflammatory infiltrate that associates to CNS neurodegeneration in Jab1OLc1KO mice was i) primarily consequence of microglia

activation and proliferation, ii) due to monocyte/macrophage recruitment from the blood stream, or iii) consequence of both.

Our experiments performed with minocycline treatment, generation of double *Jab1*/CCR2-KO mice, and evaluation of blood-brain-barrier integrity of mutant mice, showed inflammation is primarily due to microglia activation and proliferation, with minimal and late involvement of lymphocytes.

Finally, we evaluated whether blocking microglia with specific inhibitor of CSF1-Receptor was sufficient to ameliorate the disease. This molecule significantly reduced the microglia in mutant mice but did not attenuate demyelination nor neurodegeneration.

CONCLUSIONS

We generated a mouse model showing clinical and pathological aspects of primary progressive MS persons, and characterized possible pathogenetic mechanism. We also showed that microglia inflammation, abundantly present in our mouse model (and progressive MS brain) possibly does not contribute to neurodegeneration, as its inhibition did not affect progressive neurodegeneration in the mouse mutant. Finally, our results identified in senescence a potential target to tackle to interfere with neurodegeneration in progressive MS.



PUBBLICAZIONI E COMUNICAZIONI A CONGRESSI PUBLICATIONS AND CONGRESS PRESENTATIONS

- Previtali Stefano Carlo. Seminars at IRCCS Istituto Besta Role of *Jab1* in oligodendrocytes: a new mouse model of progressive MS? Milano, 21 November 2016
- Cristina Rivellini, Emanuela Porrello, Giorgia Dina, Klaus A. Nave, Corinna Lappe-Siefke, Ueli Suter, Ruggero Pardi, Angelo Quattrini, Stefano Carlo Previtali. Role of Jun activating binding protein 1 (*Jab1*) In Central Nervous System (CNS) Myelination. XIII European Meeting on Glial Cells in Health and Disease Edinburgh, July 8-11, 2017
- Cristina Rivellini, Emanuela Porrello, Giorgia Dina, Letizia Leocani, Linda Chaabane, Alessandra Vezzoli, Simona Mrakic-Sposta, Klaus-Armin Nave, Ueli Suter, Ruggero Pardi, Angelo Quattrini, Stefano Carlo Previtali. Role of *Jab1* in CNS neurodegeneration and Disease. XV European Glia Meeting in Health, Porto, 2019
- Previtali Stefano Carlo. Making progresses in modelling Progressive Multiple Sclerosis: A senescence connection? San Raffaele Scientific Institute Seminars, April 2020

Progetto di ricerca finanziato con il Bando FISM 2016 per il periodo di 2 anni (prorogato di 12 mesi) e l'ammontare di 150.000 €

Research project funded by FISM Grant 2016 for the period of 2 years (extended by 12 months) and the amount of € 150,000

Ruolo della IL-1 β nella modulazione della risposta patogenica delle cellule Th17 umane nella sclerosi multipla



Claudio Sette

Laboratorio di Neuroembriologia, Fondazione Santa Lucia IRCCS, Roma, Italia

COLLABORATORI / COLLABORATORS

Eleonora Cesari, Fondazione Santa Lucia/Università degli Studi di Roma Tor Vergata, Roma

Alessia Capone, Chiara Naro, Fondazione Santa Lucia, Roma, Italia

COLLABORAZIONI CON ALTRI GRUPPI / COLLABORATION WITH OTHER GROUPS

Diego Centonze, Università degli Studi di Roma Tor Vergata, Roma; IRCCS Neuromed, Pozzilli (IS)

Elisabetta Volpe, Fondazione Santa Lucia, Roma, Italia

PREMESSE E OBIETTIVI

La sclerosi multipla (SM) è una patologia neurologica caratterizzata da infiammazione e neurodegenerazione. I sintomi della SM sono prevalentemente causati da una risposta infiammatoria mediata dal sistema immunitario che porta alla demielinizzazione dei neuroni del sistema nervoso centrale (SNC), alterando così la funzione neuronale e causando una progressiva perdita di neuroni. Studi recenti hanno indicato le cellule T helper 17 (Th17), un sottotipo di cellule immunitarie caratterizzate dalla produzione dell'interleuchina (IL) 17, come regolatori cruciali nella SM. Le cellule Th17 in condizioni normali combattono le infezioni fungine e batteriche, ma possono acquisire un fenotipo patogenico nei pazienti che sviluppano malattie autoimmuni. Studi effettuati nel modello murino hanno mostrato come alcune citochine possono indurre l'acquisizione di un fenotipo patologico da parte delle cellule Th1. In particolare, la IL-1 β conferisce un profilo pro-infiammatorio alle cellule Th17. Al contrario, l'assenza di IL-1 β nell'ambiente attenua le proprietà infiammatorie delle cellule Th17. Inoltre, l'espressione del recettore per la IL-1 β (IL-1R1) è essenziale per lo sviluppo dell'encefalite sperimentale autoimmune, un modello murino della SM comunemente utilizzato negli studi pre-clinici. Sebbene il contributo delle cellule Th17 e della IL-1 β nella SM sia riconosciuto, il programma di espressione genica indotto dalla IL-1 β nelle cellule Th17 umane non è stato pienamente studiato.

In questo progetto abbiamo condotto una analisi di espressione ad alto spettro per tutti i geni del genoma umano al fine di caratterizzare i cambiamenti di espressione che ac-

compagnano le fasi precoci e tardive del differenziamento delle cellule Th17 umane.

RISULTATI

I nostri risultati indicano che i geni appartenenti a vie di segnale intracellulare e coinvolti nella produzione di citochine sono espressi costantemente durante il differenziamento, mentre i geni coinvolti nella risposta alle infezioni sono espressi in modo specifico al termine del processo di differenziamento. Analisi comparative tra cellule differenziate in presenza o assenza di IL-1 β ha evidenziato i geni cruciali per una piena acquisizione del profilo Th17, inclusi quelli codificanti per citochine che non erano state finora associate con le cellule Th17, e i fattori di trascrizione HOPX e SOX2. I nostri risultati suggeriscono anche che HOPX e SOX2 agiscono a valle del regolatore principale del differenziamento delle cellule Th17, il fattore di trascrizione ROR γ t, e sono necessari per l'acquisizione di un profilo Th17/Th1 patogenico.

In seguito, per approfondire il ruolo delle cellule Th17 nella SM, ne abbiamo indagato le caratteristiche in pazienti SM. A tal fine, abbiamo analizzato i parametri che caratterizzano il profilo Th17 durante il differenziamento di cellule CD4 T naïve ottenute da individui sani e da pazienti SM. Questi studi hanno rivelato che l'espressione di IL-21 e IL-2, del fattore di necrosi tumorale TNF- β , e del recettore IL-1R1 risulta aumentata in cellule Th17 derivate da pazienti SM. Inoltre, l'espressione del recettore IL-1R1 risulta aumentata anche nelle cellule Th17 in circolo nel sangue dei pazienti SM rispetto a quello di individui sani. Questi risultati indica-

no che l'espressione di queste molecole nelle cellule Th17 dei pazienti SM potrebbe essere correlate al loro elevato profilo infiammatorio e potrebbe quindi svolgere un ruolo diretto nella patologia.

CONCLUSIONI

Nell'insieme, il nostro studio ha messo in luce un programma dinamico di espressione genica che sottende il differen-

ziamento delle cellule Th17 umane e rivela alcune caratteristiche importanti e alcuni geni chiave di queste cellule. Questi risultati possono aprire nuove prospettive verso potenziali bersagli terapeutici per patologie autoimmuni che coinvolgono le cellule Th17, come la SM.

Role of IL-1 β in the modulation of the pathogenic response of human Th17 cells in multiple sclerosis

INTRODUCTION AND AIMS

Multiple sclerosis (MS) is a neurological disease that involves inflammation and neurodegeneration. MS symptoms are mainly caused by an immune-mediated inflammatory response that leads to demyelination of axons in the central nervous system (CNS), thus altering neuronal function and leading to progressive neuron loss. Recent evidence points to T helper 17 (Th17) cells, a subtype of immune cells characterized by production of IL-17, as key players in MS. Th17 cells normally fight fungal and bacterial infections, but they can acquire pathogenic phenotypes in patients affected by autoimmune diseases. Studies in mice have indicated that some cytokines can drive the acquisition of a pathogenic phenotype by Th17 cells. In particular, exposure to interleukin 1 β (IL-1 β) was shown to confer a pro-inflammatory signature to Th17 cells. Conversely, lack of IL-1 β attenuates the inflammatory properties of Th17 cells. Furthermore, expression of the receptor for IL-1 β (IL-1R1) is essential for the development of experimental autoimmune encephalomyelitis (EAE), a well-established mouse model of MS.

While the contribution of Th17 cells and IL-1 β is also recognized in MS, the transcriptional program and the cellular responses triggered by IL-1 β in human Th17 cells have not been fully investigated yet. In this project, we have performed a genome-wide expression analysis to characterize the changes in the transcriptome that accompany early and late stages of human Th17 cell differentiation.

RESULTS

Our results indicate that genes related to signaling pathways and cytokine production are expressed during the whole process of differentiation, while genes involved in

the response to infections are specifically expressed at late time points. Comparative analysis with cells differentiated in the absence of IL-1 β uncovered crucial genes required for optimal Th17 differentiation, including cytokines that were not previously associated to Th17 cells, and the transcriptional regulators HOPX and SOX2. Importantly, our results suggest that HOPX and SOX2 act downstream of the master regulator of Th17 differentiation, the transcription factor ROR γ t, and are required for acquisition of the pathogenic Th17/Th1 profile.

Next, to gain insight into the function of Th17 cells in MS, we studied the molecular features of Th17 cells derived from the blood of MS patients. To this end, parameters that typify the Th17 profile were analyzed during the differentiation process of naïve CD4 T cells obtained from relapsing-remitting (RR)-MS patients and healthy donors (HD). Our study showed that expression of IL-21, tumor necrosis factor (TNF)- β , IL-2 and IL-1R1 is significantly increased in Th17 cells derived from MS patients compared to HD-derived cells. Moreover, IL-1R1 expression is also increased in Th17 cells circulating in the blood of MS patients compared to HDs. These results indicate that high expression of these molecules in Th17 cells from MS patients could be related to their high inflammatory status and may play a role in the disease.

CONCLUSIONS

Collectively, our study uncovers a dynamic gene expression program underlying human Th17 cell polarization and reveals important features and critical genes expressed in these cells, which could open new perspectives towards potential therapeutic targets for Th17-related autoimmune diseases, including MS.



PUBBLICAZIONI E COMUNICAZIONI A CONGRESSI PUBLICATIONS AND CONGRESS PRESENTATIONS

- Capone A, Naro C, Bianco M, De Bardi M, Battistini L, Soumelis V, Volpe E, Sette C. Systems analysis of human Thelper17 cell differentiation uncovers distinct time-regulated transcriptional modules. 2021.Submitted for publication, currently under revision
- Marchese E, Valentini M, Di Sante G, Cesari E, Adinolfi A, Corvino V, Ria F, Sette C, Geloso MC. (2020) Alternative splicing of neurexins 1-3 is modulated by neuroinflammation in the prefrontal cortex of a murine model of multiple sclerosis. *Exp Neurol*.2021, Jan; 335:113497. doi:10.1016/j.expneurol.2020.113497
- Capone A, Bianco M, Ruocco G, De Bardi M, Battistini L, Ruggieri S, Gasperini C, Centonze D, Sette C, Volpe E. Distinct Expression of Inflammatory Features in T Helper 17 Cells from Multiple Sclerosis Patients. *Cells* 2019. Jun 4;8(6):533. doi: 10.3390/cells8060533

Progetto di ricerca finanziato con Bando FISM 2017 per il periodo di 2 anni e l'ammontare di 120.000€
Research project funded by FISM Grant 2017 for the period of 2 years and the amount of € 120,000

Meccanismi molecolari che regolano la proliferazione e la plasticità dei linfociti T helper 17: implicazioni per la patogenesi e la progressione della sclerosi multipla



Francesco Annunziato

Dipartimento di Medicina Sperimentale e Clinica, Università degli Studi di Firenze, Firenze, Italia

COLLABORATORI / COLLABORATORS

Lorenzo Cosmi, Francesco Liotta, Laura Maggi, Alessio Mazzoni, Manuela Capone, Anna Vanni, Lorenzo Salvati

COLLABORAZIONI CON ALTRI GRUPPI / COLLABORATIONS WITH OTHER GROUPS

Clara Ballerini, Università degli Studi di Firenze, Firenze, Italia

PREMESSE E OBIETTIVI

Il paradigma originale della risposta delle cellule effettrici T helper umane contemplava l'esistenza di due possibili programmi di differenziazione, Th1 e Th2, entrambi fondamentali per la protezione dell'ospite ma allo stesso tempo responsabili di danno tissutale in caso di risposta deregolata. In linea con ciò, la patogenesi di molte malattie autoimmuni come la sclerosi multipla (SM) è stata associata a risposte Th1 autoreattive inappropriate. A seguito della identificazione del subset di linfociti Th17, questa teoria è stata drasticamente cambiata. È stato infatti dimostrato come anche queste cellule abbiano un ruolo primario nello sviluppo della SM. Tuttavia, studi in vitro e in vivo successivi hanno dimostrato che le cellule Th17 possono rapidamente modulare il loro fenotipo verso Th1 durante i processi infiammatori. A causa di questa plasticità fenotipica, è difficile comprendere quali siano i ruoli reciproci delle cellule Th1 e Th17 nella patogenesi della SM. Inoltre, a complicare ulteriormente questo scenario, alcuni autori propongono che i due tipi di cellule possano giocare ruoli distinti nelle diverse fasi della malattia. Per questi motivi riteniamo che una profonda caratterizzazione a livello molecolare dei meccanismi che governano la fisiopatologia delle cellule Th1 e Th17 sia fondamentale per capire meglio quali di esse possono essere coinvolte nella fase iniziale e nella progressione della SM.

In linea con questo principio, questo progetto cerca di chiarire il ruolo di due fattori di trascrizione nel controllo

di alcune proprietà effettrici delle cellule Th17 e Th1. Il primo è Musculin, scelto sulla base di nostri dati preliminari che ne evidenziavano un ruolo nel controllo della proliferazione delle cellule Th17 umane. In particolare, Musculin ne riduce la sensibilità al principale fattore di crescita delle cellule T, IL-2. La proliferazione e l'espansione clonale sono, insieme all'acquisizione delle funzioni effettrici, un punto chiave della risposta dei linfociti T. Pertanto, una alterazione in uno dei meccanismi di controllo fondamentali per la crescita delle cellule T può essere dannosa per la capacità dell'organismo di bilanciare la necessità di protezione contro i patogeni e quella di evitare risposte auto-reattive inadeguate. In questo progetto abbiamo proposto di valutare il ruolo di Musculin nel controllo dello sviluppo del modello sperimentale di SM, (Encefalite Autoimmune Sperimentale, ESA).

Il secondo fattore di trascrizione che abbiamo proposto di studiare è Eomes. I dati in letteratura propongono il suo coinvolgimento nella patogenesi dell'ESA. Il nostro scopo è stato di indagare il ruolo di Eomes nel controllo della polarizzazione da Th17 a Th1 in cellule umane.

RISULTATI

Per quanto riguarda il ruolo del fattore di trascrizione Musculin nello sviluppo della SM, abbiamo eseguito esperimenti in vivo. Abbiamo indotto ESA tramite immunizzazione con MOG in topi privi di Musculin (Msc^{-/-}) e in topi wild type (WT). I nostri risultati mostrano una tendenza

verso una maggiore gravità di ESA nei topi *Msc*^{-/-}, sebbene non statisticamente significativa. Le osservazioni cliniche sono confermate dall'analisi istologica. Sarà necessario eseguire ulteriori esperimenti per rafforzare queste osservazioni. Tuttavia, i nostri risultati suggeriscono che Musculin possa svolgere un ruolo protettivo nello sviluppo dell'infiammazione cronica. Per quanto riguarda la caratterizzazione del ruolo di Eomes nella plasticità del fenotipo Th17 verso Th1, abbiamo dimostrato che questo fattore di trascrizione ha un ruolo primario in questo processo. Abbiamo dimostrato che l'espressione di Eomes è indotta da IL-12, una citochina che ha un ruolo primario nel processo di polarizzazione delle cellule Th17 verso Th1. Abbiamo anche dimostrato che le attività di Musculin ed Eomes sono strettamente legate. Infatti, Musculin previene l'espressione di Eomes nelle cellule Th17 sopprimendo la segnalazione di IL-2, un'altra citochina capace di

innescare l'espressione di Eomes. A conferma del ruolo di Musculin nel prevenire la plasticità delle cellule Th17, lo sviluppo delle cellule Th1 da Th17 è accompagnato da una riduzione dell'espressione di Musculin. Tuttavia, una volta innescata l'espressione di Eomes, questo fattore promuove la produzione di citochine tipiche Th1 come interferone- γ e GM-CSF, mentre contemporaneamente inibisce l'espressione di IL-17 e ROR- γ t, tipiche molecole Th17.

CONCLUSIONI

I dati ottenuti in questo progetto permettono di caratterizzare meglio i meccanismi molecolari coinvolti nella deregolazione della risposta delle cellule T nell'infiammazione cronica, come nella SM. Questi dati supportano ulteriormente il ruolo del fattore di trascrizione Eomes nel promuovere la plasticità delle cellule Th17 verso Th1, un evento che è coinvolto nella patogenesi della SM.

Molecular mechanisms that regulate T helper 17 lymphocytes proliferation and plasticity: implications for multiple sclerosis pathogenesis and progression

INTRODUCTION AND AIMS

The original paradigm of human T helper effector cell response considered the existence of two possible programs, Th1 and Th2, both fundamental for host protection but, at the same time, responsible of tissue damage if deregulated. In line with this, the pathogenesis of many autoimmune disorders like multiple sclerosis (MS) was linked to inappropriate self-reacting Th1 responses. Following the discovery of Th17 cells, this theory has been drastically changed. These newly identified cells were first thought to be the major player in MS development. However, in vitro and in vivo studies have shown that Th17 cells can rapidly shift their phenotype towards Th1 during inflammatory processes. Due to this phenotype plasticity, it's difficult to understand the reciprocal roles of Th1 and Th17 cells in MS pathogenesis. Further, reinforcing this complex scenario, some authors propose that the two cell subsets may play distinct roles in different phases of disease. For these reasons, we believe that a deep characterization at molecular level of the mechanisms that govern the pathophysiology of Th1 and Th17 cells is mandatory for better understanding which of them may become deregulated during MS initiation and progression.

In line with this, we proposed to clarify the role of two

transcription factors in the control of functional features of Th17 and Th1 cells. The first is Musculin, and our preliminary data showed that it inhibits the proliferation of human Th17 cells by reducing their sensitivity to the main T cell growth factor, IL-2. Indeed, cell proliferation and clonal expansion is, together with the acquisition of effector functions, a key point in T cell response. A loss in one fundamental checkpoint for T cell growth may be detrimental for the ability of the organism to balance the need of protection against pathogens and that of avoiding inappropriate responses. We proposed in this project to evaluate the role of Musculin in controlling EAE development. The second transcription factor we proposed to study is Eomes. Data in the literature propose its involvement in the pathogenesis of EAE, our aim was to investigate the role of Eomes in controlling the human Th17 to Th1 polarization.

RESULTS

Regarding the role of the transcription factor Musculin in MS development, we performed in vivo experiments. We induced EAE via MOG immunization in *Msc*^{-/-} and in WT mice. Our results show that there is a trend towards an increased severity of EAE in *Msc*^{-/-} mice, although not statistically significant. Clinical observations are confirmed by

histological analysis. Further experiments need to be performed, to strengthen these observations. However, our findings suggest that Musculin may play a protective role in the development of chronic inflammation. Regarding the characterization of the role of Eomes in Th17 cell plasticity towards Th1, we demonstrated that this transcription factor has a primary role in this process. We found that Eomes expression is induced by IL-12, a cytokine that has a primary role in the polarization process of Th17 cells towards Th1. We also demonstrated that Musculin and Eomes are involved in the same molecular network. Indeed, Musculin restrains Eomes expression in Th17 cells by suppressing the signaling of IL-2, another cytokine that can promote Eomes expression. Indeed, Th1 cell develop-

ment from Th17 is accompanied by a reduction of Musculin expression. Once expressed, Eomes promotes the production of typical Th1 cytokines such as interferon- γ and GM-CSF, while contemporary inhibiting the expression of IL-17 and ROR- γ t, typical Th17-molecules.

CONCLUSIONS

The data obtained in this project allow to better characterize the molecular mechanisms that are involved in the deregulation of T cell response in chronic inflammation, such as in MS. These data further support the role of the transcription factor Eomes in promoting the plasticity of Th17 cells towards Th1, an event that is involved in the pathogenesis of MS.



PUBBLICAZIONI E COMUNICAZIONI A CONGRESSI PUBLICATIONS AND CONGRESS PRESENTATIONS

- Mazzoni A, Maggi L, Siracusa F, Ramazzotti M, Rossi MC, Santarlasci V, Montaini G, Capone M, Rossetti B, De Palma R, Kruglov A, Chang HD, Cimaz R, Maggi E, Romagnani S, Liotta F, Cosmi L, Annunziato F. Eomes controls the development of Th17-derived (non-classic) Th1 cells during chronic inflammation. *Eur J Immunol.* 2019 Jan;49(1):79-95. doi: 10.1002/eji.201847677
- World Immune Regulation Meeting XII, Davos, Switzerland 14-17 March 2018
- 5th European congress of immunology, Amsterdam, the Netherlands, September 2-5, 2018
- AAAAI/WAO Joint congress, Orlando, Florida, USA, 2-5 March 2018
- EFIS on Tous, Tallin, Estonia, 1 June 2018
- Cytomore, Modena, Italy, 17 September 2018
- SSAI Annual congress, Lugano, Switzerland, 5-6 September 2019
- Immunopatogenia de las IMiDs, Madrid, Spain, 15 September 2019
- Congresso Nazionale AAITO 2019, Milano, Italy, 12-15 October 2019
- XXXII Congresso Nazionale SIAAIC, Milano, Italy, 27-29 June 2019
- Highlights in immunology and oncohaematology, Rome, Italy, 18-19 June 2019
- XXXIV Congresso Sezione SIAAIC Toscana, II Congresso Sezione Toscana-Emilia Romagna e San Marino, Firenze, Italy, 26-27 ottobre 2018

Progetto di ricerca finanziato con il Bando FISM 2017 per il periodo di 2 anni (prorogato di 6 mesi) e l'ammontare di 130.000 €

Research project funded by FISM Grant 2017 for the period of 2 years (extended by 6 months) and the amount of € 130,000

Diagnosi e monitoraggio della malattia

Diagnosis and monitoring
of the disease



Componenti strutturali e infiammatori della patologia corticale nella sclerosi multipla



Roberta Magliozzi

Dipartimento di Neuroscienze, Biomedicina e del Movimento, Università degli Studi di Verona, Verona, Italia

COLLABORATORI / COLLABORATORS

Agnese Tamanti, Marco Castellaro, Francesca Benedetta Pizzini, Salvatore Monaco, Massimiliano Calabrese

COLLABORAZIONI CON ALTRI GRUPPI / COLLABORATIONS WITH OTHER GROUPS

Jorge Jovicich, CIMEC, *Dipartimento di Psicologia e Scienze Cognitive, Università degli Studi di Trento, Trento, Italia*

Richard Nicholas, Richard Reynolds, *Division of Brain Sciences, UKMSTB, Faculty of Medicine, Imperial College London, London, UK*

Caterina Mainero, *Martinos Center for Biomedical Imaging, Department of Radiology, Massachusetts General Hospital, Harvard Medical School, Boston, MA, USA*

Hans Lassmann, *Neuroimmunology Department, Center for Brain Research, Medical University of Vienna, Austria*

PREMESSE E OBIETTIVI

È stato dimostrato che il tasso di progressione della disabilità nella sclerosi multipla (SM) è associato all'infiammazione compartimentalizzata e all'accumulo di neurodegenerazione, sia nella fase recidivante che in quella progressiva, in particolare nella sostanza grigia, corticale e profonda (GM). Tuttavia, a causa della mancanza di strumenti per la risonanza magnetica (RM) in grado di valutare in modo affidabile le caratteristiche del danno GM, gli aspetti eterogenei della patologia corticale della SM rimangono ancora non completamente compresi. Una RM con maggiori dettagli della patologia corticale e la sua relazione con esatti correlati neuropatologici può forse aiutare a identificare strumenti e strategie migliori per rilevare, prevedere e monitorare precocemente l'accumulo di danno e infiammazione corticale e la conseguente disabilità neurologica nella SM.

In questo progetto abbiamo mirato ad analizzare la composizione e la microstruttura delle sezioni coronali cerebrali di pazienti autoptici con SM confrontando sia le immagini recuperate con modalità multiple di RM acquisite a un campo magnetico di 3 e 7 Tesla sia l'esito delle indagini neuropatologiche, con particolare attenzione alla presenza di infiammazione meningeale, strettamente correlata alla patologia corticale subpiale, e alla densità e al livello di

attività della microglia nelle lesioni GM.

RISULTATI

La disponibilità di campioni cerebrali autoptici con SM ottenuti con procedure ottimizzate di raccolta e fissazione ha permesso di ottimizzare la quantificazione dei tempi di rilassamento T1 e T2, nonché l'imaging basato sul trasferimento di magnetizzazione. La prima analisi qualitativa è stata eseguita confrontando la presenza delle lesioni in sostanza bianca (WM) e grigia rilevate sia dall'immunostochimica che dalla RM. Questo primo approccio ci ha permesso di rivelare la presenza di lesioni GM, comprese anche lesioni corticali subpiali, difficilmente visibili in RM convenzionale. In particolare, siamo stati in grado di evidenziare mediante RM lesioni corticali subpiali adiacenti a strutture simil-linfoidi rilevate nelle meningi di 4 dei 9 cervelli di SM esaminati, dimostrando che nonostante l'infiammazione meningeale non sia rilevabile con metodologie di RM avanzata, la demielinizzazione subpiale rappresenta al momento il miglior surrogato dell'infiammazione intratecale.

L'analisi quantitativa ottenuta dalla co-registrazione delle mappe delle lesioni RM e neuropatologiche delle sezioni cerebrali ha rivelato che il 65% delle lesioni corticali rilevate mediante immunostochimica sono rilevabili da alme-

no una delle modalità RM utilizzate. Queste analisi hanno anche rivelato cambiamenti significativi delle caratteristiche di RM che riflettono lo stadio di attivazione delle lesioni corticali. La misurazione esatta della densità della microglia (identificata con il marker di attivazione MHC-class II) nelle lesioni corticali subpiali e nelle lesioni talamiche ha rivelato un gradiente di attivazione “dalla superficie all'interno”, dal confine del liquido cerebrospinale (CSF) all'interfaccia piale ed ependimale. In particolare, abbiamo riscontrato un sostanziale aumento della densità della microglia residente (identificata dal marker TMEM119) accompagnato da una rilevante perdita neuronale negli strati più esterni di materia grigia profonda sub-ependimale vicino al confine con il CSF. Inoltre, abbiamo scoperto che questi gradienti di cambiamenti cellulari sono stati rilevati anche nel talamo in assenza di demielinizzazione, ed erano maggiori nei casi di SM con strutture meningehe simili a linfoidi e con esiti di malattia più gravi. Abbiamo

osservato che erano significativamente associati con livelli di proteine aumentati di Nf-L, CXCL13, IFN γ , sCD163, fibrinogeno chitinasi 3-L1, sTNFR1, TNF, CCL19, CCL21, CCL22, CXCL10, IL2 e IL10 osservati nel CSF ottenuto dagli stessi casi di SM esaminati.

CONCLUSIONI

Questi dati corroborano l'ipotesi che la patologia della materia grigia sia associata ad una progressione della malattia più grave e rapida e si manifesti secondo un gradiente superficiale accompagnato dalla presenza di un'elevata infiammazione intratecale, compartimentalizzata sia negli infiltrati meningei che nel liquido cerebrospinale. Inoltre, suggeriscono che un profilo combinato di risonanza magnetica e liquorale di ciascun paziente SM, potrebbe rappresentare un utile strumento per ricercare l'infiammazione meningeale, e il danno corticale coinvolti nella progressione della malattia.

Structural and inflammatory components of cortical pathology in multiple sclerosis

INTRODUCTION AND AIMS

The rate of disability progression in multiple sclerosis (MS), both in the relapsing and progressive phases, has been demonstrated to be associated with compartmentalized inflammation and accumulation of neuronal and axonal degeneration, in particular in cortical and deep grey matter (GM). However, due to the lack of magnetic resonance imaging (MRI) tools able to reliably assess the features of GM damage, the heterogeneous aspects of cortical MS pathology remain still not fully understood. A more detailed MRI characterization of cortical pathology and its relationship with exact neuropathological correlates may possibly help to identify the best tools and strategies to early detect, predict and monitor the accumulation of cortical damage and inflammation and subsequent neurological disability in MS.

In this project we aimed to infer the composition and microstructure of brain coronal slices of post-mortem MS patients by comparing both the images retrieved with multiple MRI modalities acquired at 3 and 7 Tesla magnetic field and the outcome of the neuropathology investigations, with particular attention to the presence of meningeal inflammation, strictly related to subpial cortical pathology, and to the density and level of microglia activity in GM lesions.

RESULTS

The availability of post-mortem MS brain with short time

of post-mortem delay and optimized procedures of collection and fixation has allowed to optimize the quantification of T1 and T2* relaxation times as well as Magnetization Transfer based imaging.

The first qualitative analysis was performed comparing the presence of the WM and GM lesions detected by both immunohistochemistry and MRI scan. This first approach allowed us to reveal the presence of GM lesions, also including subpial cortical lesions, hardly visible in conventional MRI. In particular, we have been able to detect by MRI subpial cortical lesions adjacent to lymphoid-like structures detected in the meninges of 4 out of the 9 examined MS brains, demonstrating that even if meningeal inflammation is not detectable by advance MRI methodologies, subpial demyelination represents at the moment the best surrogate marker of intrathecal inflammation.

The quantitative analysis obtained by co-registering MRI and neuropathology lesion maps of the cerebral brain slices revealed that 65% of cortical lesions detected by immunohistochemistry are also detectable by at least one of the MRI modalities. These analyses also revealed significant changes of MRI features reflecting the stage of activation of cortical lesions. Exact measurement of the microglia (immunostained with the marker of activation MHC-class II) density in subpial cortical lesions and in thalamic lesions revealed a “surface-in” gradient of activation from the CSF boundary at the pial and ependymal interfaces. In particular, we found a substantial increase

in resident TMEM 119+ microglia density accompanied by relevant neuronal loss in the sub-ependymal deep grey matter layers close to the CSF boundary. In addition, we found that these gradients of cell changes were also detected in normal appearing thalamus, were greatest in MS cases with meningeal lymphoid-like structures and with more severe disease outcome and were significantly associated with increased protein levels of Nf-L, CXCL13, IFN γ , sCD163, fibrinogen, chitinase 3-L1, sTNFR1, TNF, CCL19, CCL21, CCL22, CXCL10, IL2 and IL10 observed in paired CSF of the same examined MS cases.

CONCLUSIONS

All together, these data corroborate the hypothesis that grey matter pathology is associated with more severe and rapid progressive MS and occurs according to a surface-in gradient accompanied by the presence of elevated intrathecal inflammation, compartmentalized either in meningeal infiltrates or in the CSF and suggest that both imaging and CSF profiling may represent useful tools to investigate meningeal inflammation and associated cortical demyelination involved in disease progression.



PUBBLICAZIONI E COMUNICAZIONI A CONGRESSI PUBLICATIONS AND CONGRESS PRESENTATIONS

- Pardini M, Brown W, Magliozzi R, Reynolds R, Chard D. Superficial pathology in multiple sclerosis: A new view on pathogenesis? *Brain*. Online ahead of print. IF: 11.37
- Magliozzi R, Pitteri M, Ziccardi S, Pisani A, Montibeller L, Marastoni D, Rossi S, Mazziotti V, Guandalini M, Dapor C, Schiavi G, Tamanti A, Nicholas R, Reynolds R, Calabrese M. CSF parvalbumin levels reflect interneuron loss linked with cortical pathology in multiple sclerosis. *Annals of clinical and Translational Medicine*, Jan 2021 <https://doi.org/10.1002/acn3.51298> Online ahead of print
- Magliozzi R, Mazziotti V, Montibiller L, Pisani A, Marastoni D, Tamanti A, Rossi S, Crescenzo F, Calabrese M. Cerebrospinal Fluid IgM Levels in Association With Inflammatory Pathways in Multiple Sclerosis Patients. *Front Cell Neurosci*. 2020 Oct 16;14:569827 IF: 4.55
- Magliozzi R, Marastoni D, Calabrese M. The BAFF / APRIL system as therapeutic target in multiple sclerosis. *Expert Opin Ther Targets*. 2020 Sep 8
- Donninelli G, Saraf-Sinik I, Mazziotti V, Capone A, Grasso MG, Battistini L, Reynolds R, Magliozzi R, Volpe E. Interleukin-9 regulates macrophage activation in the progressive multiple sclerosis brain. *J Neuroinflammation*. 2020 May 6;17(1):149. doi: 10.1186/s12974-020-01770-z
- Pedrinolla A, Colosio AL, Magliozzi R, Danese E, Kirmizi E, Rossi S, Pogliaghi S, Calabrese M, Gelati M, Muti E, Cè E, Longo S, Esposito F, Lippi G, Schena F, Venturelli M. The Vascular Side of Chronic Bed Rest: When a Therapeutic Approach Becomes Deleterious. *J Clin Med*. 2020 Mar 27;9(4):918. doi: 10.3390/jcm9040918
- Magliozzi R, Scalfari A, Pisani A, Ziccardi S, Marastoni D, Pizzini FB, Bajrami A, Tamanti A, Guandalini M, Bonomi S, Rossi S, Mazziotti V, Castellarro M, Montemezzi S, Rasia S, Capra R, Pitteri M, Romualdi C, Reynolds R, Calabrese M. The CSF profile linked to cortical damage predicts Multiple Sclerosis activity. *Ann Neurol*. 2020 May 17
- Magliozzi R, Cross A. Can CSF biomarkers predict future MS disease activity and severity? *Mult Scler*. 2020 Jan 22

Progetto di ricerca finanziato con il Bando FISM 2016 per il periodo di 3 anni (prorogato di 10 mesi) e l'ammontare di 80.000 €

Research project funded by FISM Grant 2016 for the period of 3 years (extended by 10 months) and the amount of € 80,000

Un approccio combinato di tecniche neurofisiologiche e di neuroimaging per esplorare la funzionalità cortico-cerebrale nella sclerosi multipla



Monica Biggio

Dipartimento di Medicina Sperimentale, DIMES, Università degli Studi di Genova, Genova, Italia

MENTORE / MENTOR

Marco Bove

PREMESSE E OBIETTIVI

Il tronco encefalico è una struttura che si trova alla base del cervello e che lo mette in continuità diretta con il midollo spinale. I riflessi mediati dal tronco dell'encefalo sono stati approfonditamente studiati nella sclerosi multipla perché presentano caratteristiche alterazioni nelle persone affette da questa patologia. L'analisi dei riflessi (per esempio il riflesso trigeminale) e delle loro alterazioni si è rivelata in alcuni casi una tecnica preziosa da affiancare alla risonanza magnetica classica, in quanto con essa non è sempre possibile rilevare lesioni del tronco encefalico, che altrimenti rimarrebbero silenti.

In questo studio si è indagato un riflesso sottocorticale che non era mai stato esplorato prima nelle persone con SM (PcSM): l'Hand Blink Reflex (HBR). HBR è un riflesso difensivo di chiusura degli occhi in risposta a uno stimolo sensoriale somministrato sul nervo mediano del polso. La sua particolarità è che l'intensità della risposta varia quando la mano stimolata si trova a diverse distanze rispetto al corpo: aumenta quando la mano è vicina al viso, e diminuisce quando è lontana dal corpo. In questo progetto abbiamo confrontato il riflesso HBR evocato in posizione vicina e lontana della mano in un gruppo di PcSM con un gruppo di controllo di pari età. Lo scopo era di verificare se HBR era alterato nelle PcSM rispetto ai controlli. Inoltre, abbiamo verificato se era possibile trovare una doppia dissociazione nelle PcSM tra il riflesso HBR e il riflesso trigeminale, ovvero casi in cui era presente l'alterazione di un riflesso ma non dell'altro e viceversa.

RISULTATI

HBR e il riflesso trigeminale erano mediamente alterati nelle PcSM rispetto ai controlli. I due riflessi presentavano un'intensità di risposta inferiore e le risposte erano tardive. Per quanto riguarda HBR non era presente la

modulazione fisiologica delle risposte vicine e lontane, e anzi le due risposte erano di intensità confrontabile. Singolarmente però non tutte le persone con alterazioni nel riflesso HBR presentavano anche alterazioni del riflesso trigeminale e viceversa.

CONCLUSIONI

Le PcSM presentavano risposte riflesse alterate, in media, rispetto al gruppo di controllo. Singolarmente però era presente una doppia dissociazione, ovvero alcune PcSM presentavano un HBR intatto e un riflesso trigeminale alterato, mentre altre presentavano la situazione opposta. Questo significa che i due riflessi sono mediati da circuiti differenti, che possono presentare lesioni indipendenti. HBR potrebbe dunque essere affiancato allo studio di altri riflessi e fornire informazioni aggiuntive sull'integrità dei circuiti tronco encefalici in quei casi dove la risonanza magnetica non riesce a evidenziare le lesioni, favorendo in alcuni casi la possibilità di una diagnosi precoce.

A combined neurophysiological and neuroimaging approach to explore the cortico-brainstem functionality in multiple sclerosis

INTRODUCTION AND AIMS

Brainstem is the posterior part of the brain, connected with the spinal cord. Reflexes mediated by the brainstem have been extensively studied in multiple sclerosis, showing specific alterations in people with MS (PwMS). Reflexes investigation (i.e. the trigeminal reflex) has been a precious technique to use alongside the magnetic resonance, since it is not always possible to detect brainstem lesion with this imaging technique.

In this study we explore a subcortical reflex that is never been investigated in PwMS before: the Hand Blink Reflex (HBR). HBR is the defensive reflex of eye blink following a tactile stimulation at the level of the median nerve of the wrist. Its peculiarity is that the intensity of the blink is modulated by the proximity of the stimulated hand with the body: it increases when the hand is near the face and decreases when the hand is far from the body.

In this project we confront HBR reflex evoked in near and far position in a group of PwMS and in an age-matching control group. Also, we checked if it was possible to find a double dissociation between HBR and trigeminal reflex, meaning that one of the two reflexes was altered whilst the other intact and vice versa.

RESULTS

HBR and trigeminal reflexes were on average altered in PwMS with respect to controls. Both reflexes showed a lower intensity and slower responses. Specifically, for HBR, the physiological modulation between far and near responses were absent, rather the two responses were comparable.

Singularly, however, not all the PwMS showing HBR alteration also presented trigeminal reflex alteration, and vice versa.

CONCLUSIONS

PwMS showed on average altered reflexes with respect to control group. However, a double dissociation was present, meaning that some PwMS showed an intact HBR but an altered trigeminal reflex and others presented the opposite situation. This means that the two reflexes are mediated by different brainstem circuits, that could present independent lesions. HBR could therefore be used in clinical practice alongside with other reflexes, providing additional information about the integrity of brainstem circuits in those cases in which the magnetic resonance could not detect brainstem lesions, potentially favoring early diagnosis.



PUBBLICAZIONI E COMUNICAZIONI A CONGRESSI PUBLICATIONS AND CONGRESS PRESENTATIONS

- Biggio M. Congresso RIN, Rete IRCCS delle Neuroscienze e della Riabilitazione, presentazione poster, Virtual meeting, 8-9 luglio 2020

Borsa di Studio finanziata con il Bando FISM 2017 per il periodo di 2 anni e l'ammontare di 54.000 €
Research Fellowship funded by FISM Grant 2017 for the period of 2 years and the amount of € 54,000

Sviluppo di un metodo di visualizzazione delle cellule staminali neuronali tramite risonanza magnetica del ^{19}F : ottimizzazione della marcatura, limiti di rilevazione e saggi di biocompatibilità



Linda Chaabane

Istituto di Neurologia Sperimentale (INSPE) & Centro di Imaging Sperimentale (CIS), Divisione di Neuroscienze, IRCCS Ospedale San Raffaele, Milano, Italia

COLLABORATORI / COLLABORATORS

Cristina Chirizzi

COLLABORAZIONI CON ALTRI GRUPPI / COLLABORATIONS WITH OTHER GROUPS

Francesca Baldelli Bombelli, Lodovico Gatti, Dipartimento di Chimica, Materiali e Ingegneria Chimica "Giulio Natta", Politecnico di Milano, Milano, Italia

Linda Ottoboni, Unità di Neuroimmunologia, INSPE, Divisione Neuroscienze, IRCCS Ospedale San Raffaele, Milano, Italia

PREMESSE E OBIETTIVI

La terapia mediante cellule staminali è molto promettente per la riparazione tissutale anche in gravi malattie neurodegenerative. Per valutarne l'efficienza, è richiesta una tecnica non-invasiva capace di fornire informazioni sulla localizzazione, numero e funzionalità delle cellule trapiantate. La risonanza magnetica (RM) è una tecnica adatta grazie alla sua risoluzione anatomica e assenza di radiazioni ionizzanti. Recentemente sono state proposte sonde di fluoro (^{19}F) per il tracciamento cellulare poiché il segnale ^{19}F -RM è rilevato direttamente e senza segnale endogeno interferente. Nel presente progetto, abbiamo valutato diverse sonde ^{19}F per marcare le cellule staminali neuronali. In particolare, è stato usato una molecola superfluorurata (PERFECTA) con proprietà RM ottimale. Inoltre all'efficienza della marcatura, la tolleranza delle cellule e la sensibilità della RM sono stati valutati.

RISULTATI

Sono state prodotte diverse formulazioni contenenti PERFECTA con piccole dimensioni (120-250 nm) e stabile per settimane, utilizzando tensioattivi o polimeri biocompatibili. Nelle formulazioni è stato introdotto una molecola fluorescente per ulteriori analisi sulle cellule. Sono poi stati effettuati dei saggi, come la spettroscopia del fluoro, per quantificare il contenuto di ^{19}F all'interno delle cellule.

In alcuni casi, residui del tracciante non internalizzato erano presente anche dopo diversi lavaggi, poiché sono stati valutati vari modi per eliminarli. Tra i vari test, una formulazione è stata identificata con la capacità di marcare le cellule staminali dopo 24 ore di incubazione senza influenzare la vitalità cellulare. Inoltre, è stato possibile la rilevazione fino a 280.000 cellule staminali marcate usando metodi RM ottimizzate. Infine, un agente di trasfezione è stato testato per incrementare l'efficienza di marcatura, che però ha indotto danni significativi alle cellule.

CONCLUSIONI

Nel presente progetto pilota sono state valutate diverse nanosonde ^{19}F per marcare delle cellule staminali neurali. Abbiamo dovuto superare diversi problemi e limitazioni. Tuttavia, è stato possibile marcare le cellule staminali neuronali rilevandole tramite RM. Oltre all'ottimizzazione dei protocolli di marcatura, l'integrazione di tecnologie avanzate come le criosonde RM potrebbe migliorare notevolmente la sensibilità della ^{19}F -RM per rilevare un numero ridotto di cellule in vivo. Ulteriori sviluppi su nuove formulazioni sono in corso per migliorare l'efficienza di marcatura cellulare e sensibilità.

Set-up of neural stem cells Imaging by ^{19}F -MRI: labeling optimization, detection limits and biocompatibility tests

INTRODUCTION AND AIMS

Stem cells based therapy is a promising treatment for tissue repair even in severe neurodegenerative disease. To evaluate cell therapy efficiency, a non-invasive imaging technique is required to provide information on transplanted cell localization, number, and functionality. For this aim, magnetic resonance imaging (MRI) is a suitable due to its anatomical resolution and lack of ionizing radiation. More recently, fluorine (^{19}F) based nanoprobe have been proposed for cell tracking since ^{19}F -MRI signal is directly detected from ^{19}F atoms and is without tissue background. In the present project, we evaluated different ^{19}F -nanoformulations to label neuronal stem cells, including a superfluorinated molecule (PERFECTA) that considerably improves MR sensitivity. We assessed both labeling efficiency and MRI limits of detection but also the tolerance and maintenance of cells function.

RESULTS

Several formulations of PERFECTA were tested using biocompatible surfactants or polymers. All ^{19}F probes presented a small and stable hydrodynamic size over weeks (120-250 nm). In addition, a fluorescent dye was incorporated to allow complementary cells assays. Since after

several washing steps, free ^{19}F -probe remained present in some cases; we investigated various methods to eliminate the residue with reduced impact on cells. Among the different tests, one formulation presented suitable capacity to label neural stem cells after 24h of incubation without affecting cells viability. Through the optimization of advanced fast MRI acquisition, it has been possible to detect up to a pool of 280 000 cells. In order to boost ^{19}F uptake by cells, a transfecting agent was also tested however with limited success as it induced significant cell damage.

CONCLUSIONS

In the present pilot project, several ^{19}F -nanoprobes were formulated and tested for labeling neural stem cells. We had to overcome several issues and limitations. From these assays, neural stem cells were labelled and detectable by ^{19}F -MRI. Beside to the optimization of labeling protocols, the integration of advanced technology as cryoprobes for example, ^{19}F -MRI sensitivity could be improved in order to make possible the in vivo detection of small pools of labeled cells. Further developments on new formulations are ongoing to the efficiency of cell labeling.



Progetto di ricerca finanziato con il Bando FISM 2018 per il periodo di 1 anno (prorogato di 2 mesi) e l'ammontare di 30.000 €

Research project funded by FISM Grant 2018 for the period of 1 year (extended by 2 months) and the amount of € 30,000

Verso nuovi trattamenti

Towards new
treatments



Microvescicole microgliali come vettore terapeutico in neuroinfiammazione



Roberto Furlan

Unità di Neuroimmunologia Clinica, Istituto di Neurologia Sperimentale, Divisione di Neuroscienze, IRCCS Ospedale San Raffaele, Milano, Italia

COLLABORATORI / COLLABORATORS

Annamaria Finardi, Giacomo Casella, Luca Muzio, Giulia Marostica

PREMESSE E OBIETTIVI

La microglia è considerata un bersaglio privilegiato e difficile per le fasi progressive e più degenerative della sclerosi multipla. L'incapacità di colpire in modo efficace la microglia è considerata uno dei motivi del fallimento terapeutico di diversi farmaci testati nella SM progressiva. Studi recenti suggeriscono che la microglia comunica attraverso il rilascio di microglia alle cellule vicine per modulare il loro fenotipo e funzione. Abbiamo le prove che le microvescicole derivate dalla microglia vengono recepite preferenzialmente da microglia o dai neuroni. Inoltre, nel nostro precedente progetto supportato dalla FISM, abbiamo dimostrato che le microvescicole microgliali ingegnerizzate per contenere IL-4 e per esprimere il segnale "mangiami" MGFE8 vengono appunto "mangiate" e modulano la microglia ricevente *in vitro* e *in vivo* verso un fenotipo anti-infiammatorio. Abbiamo dimostrato che la somministrazione *in vivo* di microvescicole ingegnerizzate nel cervello del topo è in grado di inibire una malattia neuroinfiammatoria. Le microvescicole microgliali sembrano perciò uno strumento promettente per la somministrazione di farmaci che mirino specificamente al sistema nervoso centrale con molecole antinfiammatorie o neuroprotettive. Per sviluppare ulteriormente le microvescicole ingegnerizzate come strumento di rilascio di farmaci specifico per il sistema nervoso centrale, con diversi vantaggi rispetto alla terapia cellulare, anche negli esseri umani è necessario dettagliare il loro meccanismo d'azione e i potenziali effetti collaterali. Ai fini di questo progetto ci siamo proposti di: a) stabilire l'esatta natura del carico di microvescicole: proteine ingegnerizzate (cioè IL-4), altre proteine, mRNA, miRNA e il loro contributo all'effetto terapeutico *in vitro* e *in vivo*; b) determinare le vie di segnalazione attivate nella cellula ricevente da microvescicole ingegnerizzate; c) stabilire formalmente che le microvescicole ingegnerizzate possono fornire più segnali; d) stabilire quali cellule sono

prese di mira dalle microvescicole intratecali durante la neuroinfiammazione; e) studiare gli effetti immunomodulatori indotti dalla somministrazione di microvescicole *in vivo*.

RISULTATI

Abbiamo portato avanti tutti e quattro gli obiettivi indicati. Abbiamo innanzitutto ottenuto un notevole miglioramento delle tecnologie disponibili per analizzare oggetti estremamente piccoli come le vescicole extracellulari (EV) mettendo a punto il Resistive Pulse Sensing con determinazione del potenziale ζ e abbiamo stabilito saggi *in vitro* su linee cellulari di microglia. Abbiamo sviluppato un nuovo vettore lentivirale che ci permette di marcare le EV, che ci ha aiutato a sezionare i problemi critici nelle cellule riceventi *in vivo* e *in vitro*. Abbiamo incontrato difficoltà a causa del team totalmente rinnovato che lavora al progetto e problemi iniziali con le linee cellulari hanno determinato un leggero ritardo nella tempistica del progetto. Tuttavia la preparazione di reagenti cruciali come i nuovi vettori lentivirali ha accelerato notevolmente il progresso del nostro lavoro che è stato completato a tempo debito. Per quanto riguarda lo scopo a) abbiamo determinato il contenuto delle vescicole da cellule stimulate e b) abbiamo anche determinato almeno parzialmente il loro meccanismo di trasferimento. Abbiamo scoperto in particolare che la cinetica dell'effetto sulle cellule riceventi è molto più veloce con le vescicole rispetto all'IL-4 ricombinante, suggerendo che le proteine, ma anche altri componenti, sono cruciali per fornire segnali appropriati e accelerare la risposta delle cellule riceventi. Abbiamo c) somministrato più segnali, e abbiamo eseguito d) ed e) esperimenti *in vivo* ricevendo indicazioni, almeno indicative di quali cellule, in particolare la microglia, e quali percorsi, il signaling di IL-4, sono attivati.

CONCLUSIONI

Il nostro studio mostra che le vescicole extracellulari potrebbero essere utilizzate come piccole navette per trasferire una grande varietà di molecole, anche contemporaneamente. Si tratta di un sistema innovativo per la

somministrazione di farmaci e potrebbe aiutarci a combattere diverse malattie neuroinfiammatorie come la sclerosi multipla, fornendo l'opportunità di colpire diversi bersagli terapeutici allo stesso tempo, come richiesto nelle forme progressive di SM.

Microglial microvesicles as therapeutic vector for neuroinflammation

INTRODUCTION AND AIMS

Microglia is considered a privileged and difficult target for the progressive, more degenerative phases of multiple sclerosis. The inability to target efficiently microglia is considered one of the reasons of the therapeutic failure of several drugs tested in progressive MS. Recent evidence suggest that microglia communicates through the release of microvesicles to neighboring cells to modulate their phenotype and function. We have evidence that microglia-derived microvesicles are preferentially up-taken by other microglia or by neurons. Further, in our previous project supported by FISM we have demonstrated that microglia microvesicles engineered to contain IL-4 and to express the "eat-me" signal MGFE8 are up-taken and modulate recipient microglia *in vitro* and *in vivo* towards an anti-inflammatory phenotype. We showed that the *in vivo* delivery of engineered microvesicles to the mouse CNS is able to inhibit established neuroinflammation. Thus, microglial microvesicles appear a promising drug-delivery tool to specifically target the CNS with anti-inflammatory or neuro-protective molecules. To further develop engineered microvesicles as a CNS-specific drug-delivery tool, with several advantages over cell therapy, also in humans we need to detail their mechanism of action and potential side effects. To the aim of this project we proposed to: a) establish the exact nature of the microvesicles cargo: engineered protein (i.e. IL-4), other proteins, mRNAs, miRNAs and their contribution to the therapeutic effect *in vitro* and *in vivo*; b) determine signaling pathways activated in recipient cell by engineered microvesicles; c) formally establish that engineered microvesicles can deliver multiple signals; d) establish what cell(s) are targeted by intrathecal microvesicles during neuroinflammation; e) investigate immunomodulatory effects induced by microvesicles delivery *in vivo*.

RESULTS

We have moved forward all the four indicated aims. We had a considerable improvement of our available technologies to analyse extremely small objects like extracellular vesicles (EVs) by setting up Resistive Pulse Sensing with ζ -potential determination and we established *in vitro* assays on newly obtained microglia cell lines. We developed a new lentiviral vector expressing a tag EVs, that helped us dissecting critical issues in recipient cells *in vivo* and *in vitro*. We encountered difficulties due to the totally renewed team working on the project and initial problems with cell lines determined a slight delay in the project time line. Nevertheless, the preparation of crucial reagents like the new lentiviral vectors have accelerated considerably the progress of our work that was completed in due time. Concerning aim a) we have determined the cargo content of EVs from polarized cells and we b) also determined at least partially their transfer. We especially found that the kinetic of the effect on recipient cells is much faster with EVs as compared with recombinant IL-4, suggesting proteins but also other components are crucial to deliver appropriate signals and accelerating recipient cell response. We c) delivered multiple signals, and we performed d) and e) *in vivo* experiments receiving indications, at least suggestive of what cells, i.e. especially microglia, and what pathways, i.e. IL-4 signaling, are activated.

CONCLUSIONS

Our study shows that extracellular vesicles might be used as small shuttles to transfer a great variety of molecules, also contemporarily. It is an innovative system to administer drugs and might help us fight several neuroinflammatory diseases like multiple sclerosis, providing the opportunity the target several different pathways at the same time as it is required in progressive forms of MS.



PUBBLICAZIONI E COMUNICAZIONI A CONGRESSI PUBLICATIONS AND CONGRESS PRESENTATIONS

Publications:

- Casella G, Colombo F, Finardi A, Ill-Ragaa G, Spinelli A, Podini P, Bastoni M, Descamps H, Muzio L, Furlan R. Phagocytes-targeted extracellular vesicles containing IL4 inhibit neuroinflammation in a mouse model of multiple sclerosis. *Mol. Ther.* 2018 26:2107-2118. doi: 10.1016/j.ymthe.2018.06.024

Abstracts

- Marostica G, Finardi A, Manenti S, Furlan R. Microglial Extracellular Vesicles as Therapeutic Vector for Neuroinflammation. *San Raffaele Scientific Retreat, Baveno, March 14-16 2019.*
- Marostica G, Finardi A, Manenti S, Furlan R. Microglial Extracellular Vesicles as Therapeutic Vector for Neuroinflammation. *Italian Association of Neuroimmunology, Camogli, May 6-9 2019*
- Marostica G, Finardi A, Manenti S, Furlan R. Microglial Extracellular Vesicles as Therapeutic Vector for Neuroinflammation. *Italian Association of Neuroimmunology, Roma, May 29-31 2019.*
- Marostica G, Finardi A, Manenti S, Furlan R. Microglial Extracellular Vesicles as Therapeutic Vector for Neuroinflammation. *Italian Association of Neuroimmunology, Amsterdam, July 16-19 2019*
- Marostica G, Finardi A, Manenti S, Furlan R. Microglial Extracellular Vesicles as Therapeutic Vector for Neuroinflammation. *Italian Association of Neuroimmunology, Palermo, November 6-8 2019*
- Marostica G, Finardi A, Manenti S, Furlan R. Microglial Extracellular Vesicles as Therapeutic Vector for Neuroinflammation. *Italian Association of Neuroimmunology, Milan, November 14-16 2019*

Progetto di ricerca finanziato con il Bando FISM 2017 per il periodo di 2 anni e l'ammontare di 140.000 €

Research project funded by FISM Grant 2017 for the period of 2 years and the amount of € 140,000

Caratterizzazione e manipolazione in vivo del danno associato a succinato in condizioni di neuroinfiammazione



Luca Peruzzotti-Jametti

Department of Clinical Neurosciences, University of Cambridge, Cambridge, UK

MENTORE / MENTOR
Stefano Pluchino

PREMESSE E OBIETTIVI

L'introduzione degli immunomodulanti ha trasformato la gestione della sclerosi multipla (SM) a ricadute e remissioni, ma non ha ancora fornito benefici concreti per i pazienti con forme progressive di malattia. Nella SM progressiva, l'infiltrazione diffusa di fagociti mononucleati (FM), come la microglia e i macrofagi, è uno dei principali processi associati all'accumulo del danno irreversibile al sistema nervoso centrale (SNC). Il metabolismo svolge un ruolo fondamentale nella regolazione della funzione dei FM. Una volta attivati, i FM vanno incontro ad una 'riprogrammazione metabolica' e passano ad uno stato glicolitico altamente efficiente. Questo fenomeno comporta la produzione di grandi quantità dell'immunometabolita succinato, che viene regolato dalla succinato deidrogenasi (complesso II), e funge da segnale chiave per l'espressione di mediatori dell'infiammazione. Inoltre, l'ossidazione del succinato porta alla successiva produzione di specie reattive dell'ossigeno (ROS) a livello mitocondriale attraverso l'attività della NADH-ubichinone ossidoreduttasi (complesso I) tramite un processo denominato RET (reverse electron transport).

L'obiettivo di questo progetto era di (i) comprendere il ruolo specifico del metabolismo della microglia e dei macrofagi nella neuroinfiammazione cronica, (ii) manipolare i percorsi metabolici che regolano il succinato nei FM, e (iii) promuovere l'uso di inibitori farmacologici per ridurre il danno dipendente dal succinato nella neuroinfiammazione.

RISULTATI

Per raggiungere questi obiettivi abbiamo combinato studi di metabolomica della microglia e dei macrofagi isolati dal SNC di topi affetti dal modello di SM chiamato encefalite autoimmune sperimentale (EAE) cronica, con l'analisi ex vivo dei loro stati funzionali. Questo ci ha permesso di

evidenziare come i cambiamenti metabolici della microglia e dei macrofagi riflettano cambiamenti della trascrizione di geni che ne determinano l'attività infiammatoria. In particolare, abbiamo identificato nell'asse tra succinato e complesso mitocondriale I un nuovo possibile meccanismo che regola la produzione di ROS in vivo nelle fasi croniche di malattia. Utilizzando una linea transgenica murina, abbiamo di conseguenza bloccato a livello genetico la funzione del complesso mitocondriale I specificatamente nella microglia e nei macrofagi attivati, ottenendo un effetto protettivo a livello cerebrale e spinale, che ha portato ad un drastico miglioramento dei sintomi cronici di malattia. Infine, abbiamo identificato e testato *in vitro* e *in vivo*, inibitori dell'attività del complesso I e II, riuscendo a ridurre la produzione di ROS e l'attività delle cellule infiammatorie.

CONCLUSIONI

I dati ottenuti hanno evidenziato come la disfunzione dei mitocondri nella microglia e nei macrofagi appare essere selettiva nel tempo, identificando un nuovo meccanismo patogenetico della progressione di malattia. Inoltre, abbiamo dimostrato che è possibile modulare l'asse tra succinato e complesso mitocondriale I usando approcci genetici e molecolari che potranno portare in futuro allo sviluppo di una nuova terapia per la SM progressiva e la neuroinfiammazione cronica.

In vivo characterisation and manipulation of succinate-dependent injury in neuroinflammation

INTRODUCTION AND AIMS

The introduction of disease modifying treatments (DMTs) has transformed the management of relapsing remitting multiple sclerosis (MS), but has not yet provided substantial benefits for patients with progressive forms of disease. In progressive (P)MS, diffuse infiltration of inflammatory mononuclear phagocytes (MPs), including microglia and macrophages, is one of the main processes associated to irreversible tissue damage in the central nervous system (CNS). Metabolism plays a major role in the regulation of MPs function. Once activated, MPs undergo metabolic reprogramming and 'switch' their metabolism to an energy efficient glycolytic state. This phenomenon involves the production of large amounts of the immunometabolite succinate, which is regulated by the mitochondrial complex II succinate dehydrogenase (SDH) and acts as a key signal to drive the expression of pro-inflammatory cytokines. In addition, succinate oxidation by the SDH leads to mitochondrial reactive oxygen species (ROS) production from the mitochondrial complex I (NADH-ubiquinone oxidoreductase) via a process termed reverse electron transport (RET). This project was aimed at (i) understanding the specific role of macrophages' and microglial metabolism in chronic neuroinflammation, (ii) manipulating the succinate pathway as a mechanistic explanation for immune mediated CNS damage, and (iii) testing small molecule inhibitors to reduce succinate-dependent injury in neuroinflammation.

RESULTS

To achieve these aims we have combined non-targeted metabolomics of microglia and macrophages isolated from the CNS of mice affected by the chronic experimental autoimmune encephalomyelitis (EAE) model of MS, with the ex vivo analysis of their functional states. This has allowed us to identify metabolic changes of macrophages and microglia in relation to transcriptional changes that determine their inflammatory functions. Specifically, we identified the succinate-mitochondrial complex I axis as a novel pathway that regulates the production of ROS in vivo during the chronic phase of neuroinflammation. Using a conditional transgenic mouse line, we then blocked mitochondrial complex I activity in microglia and macrophages, thus observing a beneficial effect on the brain and spinal cord disease, leading to a significant amelioration of chronic symptoms of EAE. Finally, we identified and tested in vivo and in vitro inhibitors of complex I and complex II activity, obtaining a reduction of ROS production and the pro-inflammatory activity of MPs.

CONCLUSIONS

Our data suggest that the mitochondrial dysfunction of microglia and macrophages is time-selective, thus identifying a new pathogenic mechanism driving disease progression. In addition, we show that modulating the succinate-mitochondrial complex I axis, either with genetic approaches or molecules, can be a valuable therapeutic option to cure progressive MS and chronic neuroinflammation.



PUBBLICAZIONI E COMUNICAZIONI A CONGRESSI PUBLICATIONS AND CONGRESS PRESENTATIONS

Publications

- Krzak G, Willis CM, Smith JA, Pluchino S and Peruzzotti-Jametti L. Succinate Receptor 1: An Emerging Regulator of Myeloid Cell Function in Inflammation. *Trends Immunol.* 2021 Jan;42(1):45-58
- Peruzzotti-Jametti L, Pluchino S. Targeting Mitochondrial Metabolism in Neuroinflammation: Towards a Therapy for Progressive Multiple Sclerosis. *Trends Mol Med.* 2018 Oct;24(10):838-855

Congress Presentations

- Recent Trends in CNS Regenerative Medicine 2020, University of Minho, Portugal
- Annual Scientific Congress Italian MS Society and its Foundation, 2019, Rome, Italy
- XIV European Meeting on Glial Cells in Health and Disease 2019, Centro de Congressos da Alfândega do Porto, Portugal
- Kick-off Symposium of Advanced Graduate Program for Future Medicine and Health Care 2019, Tohoku University, Japan
- UK Society for Extracellular Vesicles (UKEV) meeting 2018, The University of Sheffield, UK

Borsa di studio finanziata con il Bando FISM 2018 per il periodo di 2 anni e l'ammontare di 79.361 €
Research Fellowship funded by FISM Grant 2018 for the period of 2 years and the amount of € 79,361

Sviluppo di proteine REcTO per modulare la neuroinfiammazione



Luca Muzio

Istituto Scientifico San Raffaele, Milano, Italia

COLLABORATORI / COLLABORATORS

Marta Molinari, Alessia Capotondo, Martina Zambito, Alice Viotti, Gino Bonazza

COLLABORAZIONI CON ALTRI GRUPPI / COLLABORATIONS WITH OTHER GROUPS

Mario Milani, CNR, Istituto di Biofisica, Milano, Italia

PREMESSE E OBIETTIVI

La mancata regolazione delle citochine pro infiammatorie nella sclerosi multipla (SM) amplifica la reazione infiammatoria e contribuisce al danno cerebrale. Il turnover degli RNA codificanti per molte citochine infiammatorie è sotto stretto controllo di una piccola pattuglia di proteine leganti l'RNA (RBPs). Queste proteine esercitano la funzione di freni fisiologici legando l'RNA bersaglio (i.e. codificante per le citochine pro infiammatorie) e causando la sua degradazione. Questo meccanismo inibisce l'instaurarsi di un quadro di infiammazione cronica in molti tessuti e organi. Tristetraprolin (TTP) è una di queste RBP in grado di regolare finemente i livelli di espressione di TNF α e di molte altre citochine legate alla SM. Regnase-1 (anche conosciuta con il nome di MCPIP1) regola i trascritti codificanti per le seguenti citochine IL6, IL1 β , IL2, e IL12p40, anch'esse coinvolte nella SM. Purtroppo, sia TTP sia MCPIP1 sono regolate a loro volta dagli stessi segnali che attivano l'infiammazione. Pertanto, come molti freni fisiologici, esse sono pressoché inattive durante la cronicizzazione del processo infiammatorio. In questo progetto abbiamo prodotto proteine chimeriche (REcTOs) che esprimono il dominio di interazione con gli mRNA di TTP accoppiato con il dominio RNase di MCPIP1. Queste proteine interagiscono con gli mRNA codificanti per citochine infiammatorie, riducendone i livelli e, soprattutto, sono svincolate dal feedback esercitato dalla cascata infiammatoria.

RISULTATI

Abbiamo impiegato docking virtuale per disegnare quattro proteine REcTO in cui le zinc finger di TTP sono state fuse con il dominio RNase di MCPIP1. Successivamente abbiamo studiato la distribuzione di queste proteine in cellule verificandone la stabilità. Sulla base di questi esperimenti

abbiamo selezionato REcTO3 e REcTO4. Entrambe le proteine esibivano una distribuzione cellulare sovrapponibile a quella di TTP e MCPIP1. In un esperimento di immuno-precipitazione dell'mRNA abbiamo dimostrato che le due proteine REcTO legavano e precipitavano l'mRNA di TNF α . Successivamente impiegando la cito fluorimetria abbiamo dimostrato che entrambe le proteine REcTO riducevano i livelli del TNF α in cellule RAW264.7 stimulate con LPS. In parallelo abbiamo sviluppato una strategia per regolare i livelli di espressione delle REcTO, basata sul dominio destabilizzante della DHFR di E. coli (forma mutante R12Y/Y100I). Questo dominio, fuso con REcTO4, non permette il ripiegamento corretto della proteina, inducendone la degradazione. Tuttavia somministrando l'antibiotico Trimethoprim possiamo stabilizzare il dominio DHFR e di conseguenza anche REcTO4.

CONCLUSIONI

L'infiammazione cronica gioca un ruolo preminente nella SM. A questo proposito una pleora piuttosto estesa di citochine infiammatorie contribuisce all'attivazione del sistema immunitario, e di conseguenza del danno al cervello. TTP e MCPIP1 sono freni fisiologici che impediscono l'over-attivazione del sistema immunitario. Purtroppo entrambi i geni sono regolati dagli stessi segnali e cascate molecolari che dovrebbero loro stessi regolare. Quindi nelle malattie infiammatorie croniche, come la SM, i processi infiammatori nel cervello riescono sfuggono al controllo imposto dalle proteine RBPs perpetuando una condizione di cronicità. Le proteine REcTO dovrebbero superare le limitazioni di TTP e MCPIP1 essendo in grado di regolare i bersagli di entrambe le RBPs senza essere a loro volta influenzate dalla cascata infiammatoria. Il livello di regolazione che noi abbiamo introdotto nelle REcTO, basato sul dominio destabilizzan-

te di DHFR di *E. coli* assicura una attivazione controllata e specifica. Pertanto possiamo immaginare che unendo la terapia del trapianto cellulare con la terapia genica basta

sulle REcTO potremo creare uno strumento terapeutico in grado di modulare il cronicizzarsi dei processi infiammatori.

Targeting neuroinflammation by REcTO proteins

INTRODUCTION AND AIMS

Dysregulated cytokines operate like driver in multiple sclerosis (MS), boosting the inflammatory reaction and enhancing tissue damage. A small number of RNA Binding Proteins (RBPs) regulates RNA turnover of many of them by post-transcriptional mechanisms. They operate like physiological brakes targeting pro-inflammatory cytokines messengers, inducing their degradation and therefore avoiding the chronic inflammation. Tristetraprolin (TTP) is a RBP that targets transcripts encoding several MS-linked pro-inflammatory cytokines, including TNF α . Regnase1 (also known MCPIP1) is another RBP that binds IL6, IL1 β , IL2, and IL12p40 mRNAs leading to their degradation. Unfortunately, RBPs are strictly governed by the same signaling machineries that control immune cells activation in response to antigens. Like many other physiological brakes, RBPs undergo to inactivation during chronic inflammation. This project aims to design and to generate chimeric proteins (REcTOs) that harbor the RNA binding domain of TTP along with the RNase domain of MCPIP1. Selected chimeras should be able to target inflammatory signals independently of the inflammatory machinery.

RESULTS

We used virtual docking to design four REcTO proteins in which we connected the zinc fingers of TTP with the RNase domain of MCPIP1. We compared cell distribution and stability of our synthesized proteins with those of parental proteins -i.e. TTP and MCPIP1-. Among them, we selected REcTO3 and REcTO4, showing the same pattern of distribution of TTP and MCPIP1. Using RNA immunoprecipitation, we demonstrated that both REcTO3 and REcTO4 bound

the TNF α mRNA. By flow cytometry we demonstrated that they efficiently downregulate TNF α levels in LPS-treated RAW264.7 cells. In parallel, we established a strategy to regulate the expression of our REcTO proteins once we will deliver these proteins in vivo. We connect REcTO4 with the destabilizing domain (DD) encoded by the R12Y/Y100I mutant form of the *E. coli* DHFR. The DD domain does not allow the proper folding of the DHFR as well as of the chimeric protein, inducing its rapid degradation of REcTO4. However, supplementing cells with the antibiotic Trimethoprim (TMP), we induced the stability of the DD domain and, as consequence, the stability of the REcTO4 protein.

CONCLUSIONS

Inflammation is probably the main trigger that unleashes CNS tissue damage in MS. A large plethora of inflammatory cytokines contributes to the activation of immune cells that in turn affect the brain. TTP and MCPIP1 are physiological brakes that avoid the over activation of the immune reaction. Unfortunately, both genes are tightly regulated by signals belonging to the same molecular cascades that is supposed to be suppressed by them. Therefore, in chronic disorders, such as MS, the inflammation perpetuates in the brain, escaping any type of RBPs-mediated regulation. REcTOs should overcome these limitations, being able to target mRNAs codifying pro inflammatory cytokines. The supplemental level of regulation that we based on the DD domain, allows the activation of our chimeric proteins in the brain with a high temporal resolution. In principle, coupling the cell transplantation with the REcTOs gene therapy could provide reliable and long lasting therapeutic effects.



MicroRNA come nuovi potenziali strumenti per modulare il processo di mielinizzazione del sistema nervoso



Alessandro Didonna

Department of Neurology, University of California San Francisco, San Francisco, USA

MENTORE / MENTOR:

Jorge R. Oksenberg

PREMESSE E OBIETTIVI

I micro RNA (miRNA) sono piccoli RNA non-codificanti che funzionano come modulatori dell'espressione genica, promuovendo l'inibizione di determinati geni bersaglio a livello post-trascrizionale. Diversi studi sono stati condotti sui miRNA nell'ambito della sclerosi multipla (SM). Purtroppo, nessuno di questi ha tenuto conto della estrema complessità del sistema nervoso, non permettendo di associare in maniera affidabile i miRNA identificati a particolari sotto-popolazioni di cellule. Per ovviare a questi limiti, ho proposto di utilizzare la metodologia denominata miRAP per caratterizzare i miRNA negli oligodendrociti, uno dei bersagli principali del processo patologico dell'SM. Questa tecnica è un nuovo metodo di purificazione dei miRNA mediante la marcatura genetica della proteina Argonate 2 (AGO2), un enzima coinvolto nella maturazione dei miRNA. Una versione ingegnerizzata di AGO2 può essere espressa in qualsiasi tipo cellulare attraverso una tecnica di biologia molecolare (il sistema binario Cre-Lox) e la frazione di miRNA legata all'enzima può essere in seguito isolata.

Nel presente progetto, abbiamo combinato la tecnica miRAP con metodi di sequenziamento massivo per caratterizzare i cambiamenti nei miRNA degli oligodendrociti indotti dal modello murino di SM, l'encefalomielite sperimentale autoimmune (ESA) (Obiettivi 1 e 2). I risultati saranno poi utilizzati per sviluppare tecniche di terapia genica finalizzate alla protezione degli oligodendrociti nell'ambito della SM (Obiettivo 3).

RISULTATI

Per raggiungere tali obiettivi, è stato generato e caratterizzato il primo modello murino che esprime la versione ingegnerizzata di AGO2 (GFP-Myc-AGO2) negli oligodendrociti usando una linea Cre col promotore del gene Olig1. La patologia ESA è stata di seguito indotta in questi animali usando il peptide MOG35-55 e campioni di midollo spinale sono

stati raccolti ad intervalli specifici (0, 10 e 20 giorni post-immunizzazione). Tessuti di midollo spinale sono stati raccolti anche da animali controllo. Gruppi di tessuti isolati da cinque animali sono stati usati per una singola purificazione miRAP e i miRNA ottenuti sono stati successivamente sequenziati su piattaforme Illumina. Un protocollo bioinformatico è stato di seguito applicato per identificare quei miRNA legati alla patologia.

Analisi caso-controllo e longitudinali hanno permesso di evidenziare un gruppo di 20 miRNA che risulta deregolato nell'ESA, nel passaggio da stadi pre-sintomatici al picco della patologia (miR-142a-5p, miR-146a-5p, miR-10b-5p, miR-7654-3p, miR-466i-3p, miR-6944-5p, miR-342-3p, miR-155-5p, miR-1193-5p, miR-221-3p, miR-203-3p, miR-1249-3p, miR-210-3p, miR-28a-3p, miR-667-3p, miR-3093-5p, miR-8114, miR-6983-5p, miR-219c-3p, e miR-190a-5p). Per comprendere il ruolo di questi miRNA nella biologia degli oligodendrociti, ho ottimizzato un sistema in vitro di differenziamento cellulare basato su colture primarie di precursori di oligodendrociti murini. Ho poi usato la tecnica della PCR quantitativa per misurare i livelli dei 20 miRNA a diversi stadi di maturazione (3 e 6 giorni). Un incremento significativo nei livelli di 6 miRNA (miR-155-5p, miR-28a-3p, miR-667-3p, miR-221-3p, miR-7654-3p, e miR-203-3p) è stato misurato al giorno 6, mentre un trend è stato trovato per altri 5 miRNA (miR-1249-3p, miR-210-3p, miR-1193-5p, miR-219c-3p, e miR-190a-5p).

Oligonucleotidi artificiali sono stati successivamente impiegati per manipolare i livelli dei 20 miRNA e studiare i relativi effetti sulle cinetiche di maturazione. Precursori di oligodendrociti over-esprimenti miR-1193-5p, miR-190a-5p, miR-210-3p, miR-3093-5p, e miR-8114 hanno mostrato una maggiore propensione al differenziamento cellulare. Al contrario, l'over-espressione del miR-8114 ha negativamente influenzato la maturazione dei precursori. Complessivamente

te, si può ipotizzare come alcuni miRNA (miR-1193-5p, miR-210-3p, miR-3093-5p, miR-8114 e miR-6983-5p) attivino risposte omeostatiche per promuovere la formazione di nuova mielina, mentre altri miRNA (miR-190a-5p) sembrano mediare segnali patogenetici.

In ultimo, tecniche di trascrittomica sono state adottate per identificare i network genetici regolati da miR-190a-5p e miR-6983-5p, scelti come esempi di miRNA protettivi e patogenetici. Il sequenziamento del trascrittoma di precursori over-esprimenti tali miRNA ha evidenziato numerosi geni target appartenenti a specifiche vie di segnale. In particolare, il processo di endocitosi risulta associato ai bersagli genetici

del miR-190a-5p, mentre il processo di ferroptosi, un tipo di morte cellulare, è associato all'azione del miR-6983-5p.

CONCLUSIONI

In conclusione, il presente progetto delinea uno scenario in cui uno stress neuroinfiammatorio induce negli oligodendrociti una duplice risposta, omeostatica e degenerativa. Entrambi gli effetti sono mediati da un ristretto numero di miRNA, i quali agiscono come regolatori di estesi network genetici. I miRNA scoperti in questo studio rappresentano il punto di partenza per futuri approcci di terapia genica per incrementare i meccanismi endogeni di neuroprotezione.

miRNAs as novel potential tools to modulate myelination in the CNS

INTRODUCTION AND AIMS

MicroRNAs (miRNAs) are short non-coding RNAs which act as modulators of gene expression by promoting the down regulation of target genes in a post-transcriptional fashion. Several studies have been conducted on miRNAs in the context of multiple sclerosis (MS). However, they failed to consider the extreme complexity of the central nervous system (CNS) cyto-architecture, thus preventing the univocal attribution of differentially regulated miRNAs to a specific cytotype. To overcome these limitations, I proposed to use miRAP technology to investigate miRNA dynamics in oligodendrocytes (OLs), one of the principal targets of MS pathology. miRAP is a novel cell-based affinity purification technique that relies on genetically tagging in mice the miRNA-bound protein Argonaute 2 (AGO2), which is expressed in selected cell populations via the Cre/lox binary system. Subsequent AGO2 precipitation allows the isolation of the physiologically active AGO2-tied miRNA pool. In this project, I proposed to combine miRAP with next-generation sequencing (NGS) to characterize OL-specific microRNA dynamics at different stages of the MS model experimental autoimmune encephalomyelitis (EAE) (Aims 1 and 2). The gained information would be then used to develop a possible miRNA-based gene therapy approach aiming at preventing OL loss upon autoimmune challenges (Aim 3).

RESULTS

Toward this goal, I generated and characterized the first double transgenic mouse model expressing an epitope-tagged version of AGO2 in OLs by crossing a line carrying a stop codon-floxed GFP-Myc-Ago2 transgene with the Olig1-Cre driver line. These mice were EAE immunized using the MOG35-55 peptide and their spinal cords were collected at selected time points (baseline, 10 and 20 dpi). Spinal cords

from mock immunized controls were also collected. Pools of 5 spinal cords per time point were processed for miRAP isolation and the different samples were subsequently sequenced on Illumina platforms. A robust bioinformatics pipeline was finally applied to identify those miRNAs differentially expressed in cross-sectional and longitudinal comparisons. Remarkably, I was able to identify a signature of 20 miRNAs associated with the transition from pre-symptomatic to manifested EAE stages (miR-142a-5p, miR-146a-5p, miR-10b-5p, miR-7654-3p, miR-466i-3p, miR-6944-5p, miR-342-3p, miR-155-5p, miR-1193-5p, miR-221-3p, miR-203-3p, miR-1249-3p, miR-210-3p, miR-28a-3p, miR-667-3p, miR-3093-5p, miR-8114, miR-6983-5p, miR-219c-3p, and miR-190a-5p).

To grasp the functional role of these miRNAs in the context of OL biology, I established an in vitro OL differentiation model employing primary murine oligodendrocyte precursor cells (OPCs). I then measured by qRT-PCR the levels of all 20 EAE-associated miRNAs after 3 and 6 days of differentiation. The levels of 6 miRNAs (miR-155-5p, miR-28a-3p, miR-667-3p, miR-221-3p, miR-7654-3p, and miR-203-3p) were significantly increased in cells at day 6 compared to day 0. A trend for higher expression in mature OLs was also found for other 5 miRNAs (miR-1249-3p, miR-210-3p, miR-1193-5p, miR-219c-3p, and miR-190a-5p), while the expression of the remaining 9 miRNAs did not change across the tested time points. To identify those miRNAs mechanistically associated with OL maturation, artificial mimics of the 20 miRNAs were then transfected into OPC cultures and their effects on OL differentiation were assessed. Immunocytochemistry analysis revealed that OPCs overexpressing miR-1193-5p, miR-190a-5p, miR-210-3p, miR-3093-5p, and miR-8114 possessed an increased propensity to differentiate as compared to control. On the contrary, miR-6983-5p overexpression

resulted in a significant decrease in the number of mature OLs. Considering their levels in EAE spinal cord, miR-1193-5p, miR-210-3p, miR-3093-5p, miR-8114 and miR-6983-5p presumably represent homeostatic responses to promote new myelin formation. Conversely, miR-190a-5p likely mediates detrimental signals via re-myelination inhibition. Lastly, RNA-seq technology was adopted to characterize the specific genetic networks regulated by miR-190a-5p and miR-6983-5p, which represent the most significant differentially expressed miRNAs mediating pathogenic and protective effects, respectively. Transcriptomic profiling of OPCs over-expressing each miRNA identified multiple down-regulated genes belonging to distinct signaling pathways. In details, "endocytosis" was the

most significant category connected to miR-190a-5p, while "ferroptosis" was instead the most enriched pathway for miR-6983-5p.

CONCLUSIONS

In summary, this work is consistent with a scenario in which neuroinflammatory stress induces in OLs both homeostatic and degenerative responses. Both effects are mediated by a small number of miRNAs, acting as high-ranked regulators of underlying extended gene networks. This newly discovered miRNA signature represents a reliable starting point for future gene therapy approaches aimed at enhancing the endogenous mechanisms of remyelination.



PUBBLICAZIONI E COMUNICAZIONI A CONGRESSI PUBLICATIONS AND CONGRESS PRESENTATIONS

Publications

- Didonna A, Canto E. Genetic Factors in Neuroimmune Diseases. In: *Neuroimmune Diseases. Contemporary Clinical Neuroscience*. Hiroshi Mitoma and Mario Manto (Editors), Springer, Cham. 2019; 357-386
- Didonna A, Cantó E, Shams H, Isobe N, Zhao C, Caillier SJ, Condello C, Yamate-Morgan H, Tiwari-Woodruff SK, Mofrad MRK, Hauser SL, Oksenberg JR. Sex-specific Tau methylation patterns and synaptic transcriptional alterations are associated with neural vulnerability during chronic neuroinflammation. *J Autoimmun*. 2019 Jul; 101:56-69. PMID: 31010726. PMCID: PMC6561733
- Renschen A, Matsunaga A, Oksenberg JR, Santaniello A, Didonna A. TopoDB: a novel multifunctional management system for laboratory animal colonies. *Database*. 2020 Jan 1;2020:baaa098. PMID: 33206961
- Didonna A, Canto Puig E, Ma Q, Matsunaga A, Ho B, Caillier SJ, Shams H, Lee N, Hauser SL, Tan Q, Zamvil SS, Oksenberg JR. Ataxin-1 regulates B cell function and the severity of autoimmune experimental encephalomyelitis. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2020 Sep 22;117(38):23742-23750. PMID: 32878998
- Didonna A, Damotte V, Shams H, Matsunaga A, Caillier SJ, Dandekar R, Misra MK, Mofrad MRK, Oksenberg JR, Hollenbach JA. A splice acceptor variant in HLA-DRA affects the conformation and cellular localization of the class II DR alpha-chain. *Immunology*. 2020 Sep 28. PMID: 32986852
- Didonna A. Tau at the interface between neurodegeneration and neuroinflammation. *Genes*

and Immunity. 2020 Nov;21(5):288-300. PMID: 33011744

- Ma Q, Matsunaga A, Ho B, Oksenberg JR, Didonna A. Oligodendrocyte-specific Argonaute profiling identifies microRNAs associated with experimental autoimmune encephalomyelitis. *Journal of Neuroinflammation*. 2020 Oct 12; 17(1):297. PMID: 33046105
- Ma Q, Didonna A. The novel multiple sclerosis susceptibility gene ATXN1 regulates B cell receptor signaling in B-1a cells. *Molecular Brain*. 2021 Jan 21; 14:19. PMID: 33478569

Congress Presentations

- A. Didonna and J. R. Oksenberg. MicroRNA dynamics in oligodendrocytes in the context of autoimmune demyelination. Abstract presented at the UCSF 2017 Neuroimmunology Group Retreat MS 2020. Basic and Translational Research. 29 August 2017, San Francisco, CA - USA
- A. Didonna and J. R. Oksenberg. MicroRNA dynamics in oligodendrocytes in the context of autoimmune demyelination. Abstract presented at the First Joint ASCB-EMBO meeting. 2-6 December 2017, Philadelphia, PA - USA. The abstract was awarded a travel grant
- H. Shams, M. R. K. Mofrad, J. A. Hollenbach, A. Matsunaga, J. R. Oksenberg, A. Didonna. A splice acceptor variant associated with multiple sclerosis affects HLA-DRA conformation and cellular localization. Third joint ASCB-EMBO meeting. 7-11 December 2019, Washington, DC - USA. The abstract was awarded a travel grant

Borsa di studio finanziata con il Bando 2017 per il periodo di 2 anni e l'ammontare di 100.000 €

Research Fellowship funded by FISM Grant 2017 for the period of 2 years and the amount of € 100,000

Studio del potenziale ruolo neuroprotettivo della interleuchina-9 nella sclerosi multipla



Elisabetta Volpe

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

COLLABORATORI / COLLABORATORS

Inbar Saraf Sinik, Gloria Donninelli, Alessia Capone

COLLABORAZIONI CON ALTRI GRUPPI / COLLABORATIONS WITH OTHER GROUPS

Roberta Magliozzi, Dipartimento di Neurologia, Università degli Studi di Verona, Verona, Italia

Valeria Studer, Dipartimento di Neurologia, Ospedale Martini, Torino, Italia

Laura Brambilla, Unità di Neuroimmunologia e Malattie Neuromuscolari, IRCCS Istituto Neurologico Carlo Besta, Milano, Italia

PREMESSE E OBIETTIVI

Il progetto era volto a caratterizzare il ruolo della proteina interleuchina-9 (IL-9) nella sclerosi multipla. In un precedente lavoro avevamo scoperto che i livelli di IL-9 nel fluido cerebrospinale (CSF) dei pazienti con sclerosi multipla recidivante remittente (SM-RR) sono inversamente correlati con attività infiammatoria, neurodegenerazione e progressione di disabilità. Questi risultati suggeriscono un'azione benefica di IL-9 in SM. In questo progetto abbiamo studiato i meccanismi responsabili dell'attività benefica della IL-9 nella SM, e abbiamo indagato se IL-9 avesse un ruolo protettivo anche nelle forme progressive di SM, dove le necessità di nuovi trattamenti neuroprotettivi sono più urgenti. In particolare gli obiettivi del nostro progetto di studio erano:

- 1) Studiare la funzione di IL-9 in cellule residenti o infiltranti il sistema nervoso centrale.
- 2) Caratterizzare l'espressione di IL-9 nel sistema nervoso centrale dei pazienti con SM progressiva.
- 3) Investigare il ruolo di IL-9 nella SM progressiva.

RISULTATI

Il nostro studio ha portato al raggiungimento dei tre obiettivi di partenza. In particolare:

- 1) IL-9 agisce su monociti e macrofagi/microglia infiltranti o residenti nel sistema nervoso centrale, riducendo il loro stato di attivazione e aumentando la produzione del fattore di crescita trasformante (TGF)- β una proteina che regola il sistema immunitario. Questi due effetti sono molto importanti nella SM perché riducono il processo infiammatorio, altamente patogenico nella SM, e indicano un effettivo ruolo protettivo di IL-9. Inoltre, abbiamo scoperto che IL-9 ha un potenzia-

le ruolo sugli astrociti umani, che esprimono alti livelli del recettore per IL-9. Lo studio del ruolo effettivo di IL-9 sugli astrociti è pianificato per un progetto futuro.

2) L'analisi post-mortem dei cervelli dei pazienti con SM progressiva ha mostrato che IL-9 è presente nel sistema nervoso centrale, specialmente nelle aree con lesioni attive della materia grigia. L'espressione di IL-9 è prevalentemente associata a macrofagi/microglia e linfociti, indicando che tali cellule immunitarie sono responsabili della produzione di IL-9 nel sistema nervoso centrale.

3) Livelli maggiori di IL-9 si ritrovano nei cervelli dei pazienti con SM progressiva che hanno un'età più alta, rispetto a quelli con età più bassa, all'esordio di malattia e al decesso. Questo risultato indica che IL-9 ha un ruolo protettivo anche nelle forme progressive di SM.

La proteina IL-9 è presente anche nel liquido cerebrospinale di pazienti con SM progressiva, primaria e secondaria. La nostra analisi ha rivelato che l'espressione di IL-9 nei pazienti con minore disabilità (EDSS<4) è associata ad altre proteine solubili con attività anti-infiammatoria come IL-15, IL-1ra, e il fattore di crescita dell'endotelio vascolare (VEGF), mentre nei pazienti con disabilità severa (EDSS>4), l'espressione di IL-9 non è associata a questi fattori. Questo risultato suggerisce un'azione anti-infiammatoria coordinata di questi fattori che potrebbe mantenere sotto controllo la neurodegenerazione e la disabilità nella SM progressiva.

CONCLUSIONI

Questo progetto ha portato all'identificazione del meccanismo di azione della proteina IL-9, che ha ruolo protettivo nella SM. Questa scoperta ha importanti ricadute nell'ambi-

to scientifico perché contribuisce a migliorare la conoscenza dei meccanismi di regolazione della patogenesi SM. Inoltre, questo progetto ci ha permesso di validare il ruolo protettivo della IL-9 anche nelle forme progressive di SM. Tali risultati possono avere importanti ricadute a medio termine

in ambito clinico perché l'espressione della proteina IL-9 potrebbe essere farmacologicamente amplificata nei pazienti con SM per aumentarne gli effetti protettivi. Studi preclinici sul modello murino di SM sono programmati a breve termine per un progetto futuro.

Study of the potential neuroprotective role of interleukin-9 in multiple sclerosis

INTRODUCTION AND AIMS

The project aimed to characterize the role of the protein interleukin-9 (IL-9) in multiple sclerosis. In a previous study we found that the levels of IL-9 in the cerebrospinal fluid (CSF) of patients with relapsing remitting multiple sclerosis (RR-MS) are inversely correlated with the inflammatory activity, neurodegeneration, and disability progression. These results suggested a beneficial activity of IL-9 in MS.

In this project we studied the mechanisms responsible for the beneficial activity of IL-9 in MS, and we investigated whether IL-9 had a protective role also in progressive forms of MS, where the need for new neuroprotective treatments is more urgent.

In particular, the objectives of our study project were:

- 1) Study of IL-9 functions in cells resident or infiltrating the central nervous system.
- 2) Characterize the expression of IL-9 in the central nervous system of patients with progressive MS.
- 3) Investigate the role of IL-9 in progressive MS.

RESULTS

Our study allows accomplishing the three initial objectives. Specifically:

1) IL-9 acts on monocytes and macrophages / microglia infiltrating and resident in the central nervous system, reducing their activation status and increasing the production of transforming growth factor (TGF)- β , a protein that regulates the immune system. These two effects are very important in MS because they reduce the inflammatory process, highly pathogenic in MS, and indicate an effective protective role of IL-9.

Moreover, we found that IL-9 has a potential role on human astrocytes, which express high levels of the IL-9 receptor. The study of the effector role of IL-9 on astrocytes is planned for a future project.

2) Post-mortem analysis of the brain of patients with pro-

gressive MS showed that IL-9 is present in the central nervous system, especially in areas with active lesions of the grey matter. The expression of IL-9 is mainly associated with macrophages / microglia and lymphocytes, indicating that these immune cells are responsible for the production of IL-9 in the central nervous system.

3) High levels of IL-9 are found in the brain of patients with progressive MS who have a higher age at disease onset and at death, compared to those who have a lower age at disease onset and death. This result indicates that IL-9 plays a protective role also in progressive forms of MS.

IL-9 is also expressed in the cerebrospinal fluid of patients with primary or secondary progressive MS. Our analysis revealed that IL-9 expression in patients with less disability (EDSS<4), is associated with other soluble proteins with anti-inflammatory activity, such as IL-15, IL-1ra, and vascular endothelial growth factor (VEGF), while in patients with severe disability (EDSS>4) IL-9 expression does not correlate with these factors. This result suggests a coordinated anti-inflammatory action of these factors that may control neurodegeneration and disability in progressive MS.

CONCLUSIONS

In conclusion, we have identified the mechanism of action of IL-9, which has a protective role in MS. This finding has important implications in facilitating our understanding of the mechanisms regulating MS pathogenesis.

Furthermore, this project allowed us to validate the protective role of IL-9 also in the progressive forms of MS. These results may have important medium-term effects in the clinical setting because the expression of IL-9 protein could be pharmacologically amplified in RR-MS and progressive MS patients to increase its protective activity. Preclinical studies on the mouse model of MS are planned in the short term for a future project.



PUBBLICAZIONI E COMUNICAZIONI A CONGRESSI PUBLICATIONS AND CONGRESS PRESENTATIONS

Scientific publications

- Volpe E, Cesari E, Mercatelli N, Cicconi R, De Bardi M, Capone A, Bonvissuto D, Fraziano M, Mattei M, Battistini L, Paronetto MP, Sette C. The RNA binding protein Sam68 controls T helper 1 differentiation and anti-mycobacterial response through modulation of miR-29. *Cell Death Differentiation*. 2019. 26, 1169-1180
- Capone A, Bianco M, Ruocco G, De Bardi M, Battistini L, Ruggieri S, Gasperini C, Centonze D, Sette C, Volpe E. Distinct Expression of Inflammatory Features in T Helper 17 Cells from Multiple Sclerosis Patients. *Cells*, 2019. 8-533
- Corsetti M, Ruocco G, Ruggieri S, Gasperini C, Battistini L, Volpe E. Resiquimod-Mediated Activation of Plasmacytoid Dendritic Cells Is Amplified in Multiple Sclerosis. *Int J Mol Sci*. 2019, 20-2811
- Capone A, Volpe E. Transcriptional regulators of T helper 17 cell differentiation in health and autoimmune diseases. *Frontiers in Immunology*, 2020. 11-348
- Donninelli G, Saraf-Sinik I, Mazziotti V, Capone A, Grasso M G, Battistini L, Reynolds R, Magliozzi R, Volpe E. Interleukin-9 regulates macrophage activation in the progressive multiple sclerosis brain. *Journal of Neuroinflammation*, 2020. 17-149
- Donninelli G, Studer V, Brambilla L, Zecca C, Peluso D, Laroni A, Micheli D, Mantegazza R, Confalonieri P, Volpe E. Immune soluble factors in the cerebrospinal fluid of progressive multiple sclerosis patients segregate in two groups. *Frontiers in Immunology*, 2021. In press

Congress abstracts:

- Donninelli G., Saraf-Sinik I., Mazziotti V., Battistini L., Magliozzi R. and Volpe E. Anti-inflammatory effect of IL-9 in multiple sclerosis as achieved by modulation of macrophage activation. XXVII Congress of the Italian Association of Neuroimmunology, Trieste, May 7-10, 2018
- Donninelli G., Saraf-Sinik I., Mazziotti V., Battistini L., Magliozzi R. and Volpe E. Anti-inflammatory effect of IL-9 in multiple sclerosis as achieved by modulation of macrophage activation. 14th International Congress of Neuroimmunology, Brisbane - Australia, August 27-31, 2018
- Donninelli G., Saraf-Sinik I., Mazziotti V., Battistini L., Magliozzi R. and Volpe E. Anti-inflammatory effect of IL-9 in multiple sclerosis as achieved by modulation of macrophage activation. 1st Brainstorming Research Assembly for Young Neuroscientist, Genoa - Italy, June 29-30, 2018

Invited Lectureships

- Volpe E. T helper 17 cells: from birth to death. 2nd International Cell Death Research Congress, Izmir, Turkey. November 1-4 2018
- Volpe E. T helper 17 cells in autoimmunity: a matter of abnormal birth or of death? 3th National Congress of Italian Society of Clinical Cell Analysis, Rome, Italy. November 8-10 2018
- Volpe E. T helper 17 cells in multiple sclerosis. Course "Flow cytometry: from basic principles to advanced applications - CytoFluo@ICGEB" Trieste, Italy, May 8-10 2019

Progetto di ricerca finanziato con il Bando FISM 2016 per il periodo di 3 anni e l'ammontare di 165.000 €
Research project funded by FISM Grant 2016 for the period of 3 years and the amount of € 165,000

Mediatori lipidici pro-risolutivi specializzati come nuova strategia terapeutica per “risolvere” le risposte immunitarie dell’immunità adattativa nella SM



Valerio Chiurchiù

Università Campus Bio-Medico, IRCCS Fondazione Santa Lucia, Roma, Italia

COLLABORATORI/ COLLABORATORS

Alessandro Leuti

COLLABORAZIONI CON ALTRI GRUPPI / COLLABORATIONS WITH OTHER GROUPS

Nicola Biagio Mercuri, *Università degli Studi di Roma Tor Vergata, Roma, Italia*

Diego Centonze, *IRCCS Neuromed, Pozzilli (IS), Italia*

Charles Serhan, *BWH, Harvard Medical School, Boston, USA*

Gijs Kooij, *Amsterdam University, Amsterdam, The Netherland*

PREMESSE E OBIETTIVI

La sclerosi multipla (SM) è una malattia neurodegenerativa infiammatoria cronica a carattere autoimmune e associata ad infiammazione incontrollata e per la quale vi è ancora un bisogno insoddisfatto di nuove opzioni diagnostiche e terapeutiche, soprattutto per le forme progressive. La nostra ipotesi è che il meccanismo alla base dell'infiammazione cronica nella SM potrebbe essere il fallimento nell'attivare meccanismi pro-risolutivi, che coinvolgono i mediatori della risoluzione dell'infiammazione, recentemente scoperti e derivati dagli acidi grassi polinsaturi omega-3: le resolvine, maresine e protettine. Questi mediatori endogeni, definiti nel loro insieme come “lipidi pro-risolutivi specializzati” (SPMs), riducono l'eccessiva infiammazione e sollecitano la tempestiva risoluzione. Le nostre ricerche hanno portato alla scoperta che gli SPM, recentemente identificati anche negli organi linfoidi secondari umani, dove si verifica la maggior parte della differenziazione delle cellule T da naïve a effettori, esercitano un ruolo immunoregulatorio sulle cellule chiave dell'autoimmunità, agendo sull'equilibrio tra le cellule autoreattive Th1/Th17 e le cellule T regolatorie, tipicamente alterato nella SM. La delucidazione dei meccanismi di risoluzione dell'infiammazione che operano *in vivo* per mantenere l'infiammazione acuta entro i confini fisiologici, nonché per stimolare la risoluzione e prevenire l'infiammazione cronica è particolarmente significativa e offre una nuova opportunità per la gestione della SM. In particolare, il progetto mira a caratterizzare a fondo il codice di risoluzione dell'infiammazione nei pazienti con SM e

a indagare il ruolo di alcuni specifici SPMs nel modulare le risposte immunitarie adattative nei linfociti T autoreattivi dei pazienti con SM e nel suo modello sperimentale di encefalomielite sperimentale autoimmune (EAE).

RISULTATI

In questo progetto, mediante metabololipidomica nel sangue periferico dei pazienti con SM, abbiamo rivelato che ogni forma di malattia è associata a specifici profili caratterizzati dalla presenza o assenza di determinati SPM, che correlano significativamente con la gravità della malattia. In particolare, è stato riscontrato che i livelli di molte resolvine e protettine correlano negativamente con la gravità di malattia e si riducono con il peggiorare della progressione, fino a scomparire del tutto nei pazienti più gravi. Tali alterazioni dei meccanismi di risoluzione dell'infiammazione sono stati anche associati a una ridotta espressione nei leucociti del sangue dei loro enzimi metabolici responsabili della loro sintesi (5-LOX e 15-LOX) e dei loro recettori a cui si legano per esplicare le loro funzioni (ALX/FPR2 e GPR32). Inoltre, i nostri dati hanno evidenziato che nei pazienti con SM diversi lipidi pro-risolutivi quali RvD1, LXA4, LXB4 e PD1 riducevano la produzione di citochine pro-infiammatorie dai linfociti T CD8, mentre non esercitavano un effetto significativo sui linfociti T CD4 Th1 e Th17, suggerendo che durante la SM vi è una minor responsività dei linfociti T al ruolo anti-infiammatorio degli SPM. Infine, il trattamento cronico con alcuni SPM esercitava un effetto protettivo verso la EAE. In particolare nei topi EAE

trattati con tali lipidi pro-risolutivi, si osservava protezione clinica, riduzione della neuroinfiammazione e degli infiltrati infiammatori nel midollo spinale, nonché ridotta produzione di citochine Th1/Th17 ed induzione dell'espressione del FoxP3 nei linfociti Treg.

CONCLUSIONI

Questo studio dimostra che nella SM vi è un difetto nell'at-

tuazione dei meccanismi molecolari e biochimici della risoluzione dell'infiammazione a livello periferico e suggerisce che gli SPM potrebbero rappresentare dei nuovi biomarcatori diagnostici e prognostici di tale malattia. Inoltre, questi promettenti risultati indicano anche che gli SPM potrebbero essere impiegati come nuovi approcci terapeutici per modulare i processi autoimmuni e neuroinfiammatori che sono alla base della progressione della SM.

Specialized pro-resolving lipid mediators as a novel strategy to “resolve” the altered adaptive immune responses in MS

INTRODUCTION AND AIMS

Multiple sclerosis (MS) is an autoimmune and chronic inflammatory neurodegenerative disease associated to uncontrolled inflammation and for which there is still an unmet need for new diagnostic and therapeutic options, especially for the progressive forms. Our hypothesis is that the underlying mechanism of chronic inflammation in MS could be the failure of activating pro-resolving mechanisms, involving the newly discovered omega-3 poly-unsaturated fatty acids-derived mediators of resolution of inflammation: resolvins, marins and protectins. Endogenous mechanisms that curtail excessive inflammation and prompt its timely resolution are of considerable interest and our findings that these SPMs (recently identified also in human secondary lymphoid organs, where most naïve-to-effector T cell differentiation occurs), exert a non-cytotoxic regulatory role on cells central to induction of autoimmunity acting on the balance between pathogenic Th1/Th17 and tolerogenic Treg cells, which is typically altered in MS, represents a promising beginning for a new avenue of research for MS. The elucidation of these mechanisms operating in vivo to keep acute inflammation within physiologic boundaries as well as to stimulate resolution and prevent chronic inflammation is particularly significant and offers a novel opportunity to manage MS. Specifically, the project aims to thoroughly characterize the resolution code of inflammation in MS patients and to investigate the potential of specific SPMs in modulating adaptive immune responses in autoreactive T lymphocytes of MS patients and its animal model of experimental autoimmune encephalomyelitis (EAE).

RESULTS

Here, through targeted-metabololipidomics in peripheral blood of MS patients, we revealed that each disease form was associated with distinct specialized pro-resolving mediators (SPMs) profiles that significantly correlated with di-

sease severity. In particular, we reported that the levels of several resolvins and protectins negatively correlated with clinical scores and were progressively reduced along disease progression, being even undetectable in progressive patients. Such alteration in the pro-resolution pathway was also associated to altered expression in blood leukocytes of their key metabolic enzymes (5-LOX and 15-LOX) and target receptors (ALX/FPR2 and GPR32). Furthermore, we found that several SPMs such as RvD1, LXA4, LXB4 and PD1 were able to reduce pro-inflammatory cytokines from activated CD8 T cells, while no significant effect was observed on autoreactive Th1 and Th17 CD4 T cells from MS patients, suggesting that their T cells are less responsive to the anti-inflammatory bioactivity of SPMs. Finally, the chronic treatment of EAE mice with specific SPMs was able to ameliorate not only clinical symptoms in EAE, whereby pro-resolving lipids exerted clinical amelioration, reduced neuroinflammation and blocked leukocyte infiltration in the spinal cord as well as reduced production of Th1/Th17 cytokines and promoted Foxp3-expressing Treg cells.

CONCLUSIONS

These findings reveal peripheral defects in the activation of the molecular and biochemical pathway of resolution of inflammation in MS and suggest SPMs as novel diagnostic and prognostic biomarkers for this disease. Moreover, these promising results also advocate SPMs as potentially safe therapeutics to modulate autoimmune and neuroinflammatory processes that underlie MS progression.



PUBBLICAZIONI E COMUNICAZIONI A CONGRESSI PUBLICATIONS AND CONGRESS PRESENTATIONS

- Talamonti E, Sasso V, To H, Haslam RP, Napier JA, Ulfhake B, Pernold K, Asadi A, Hessa T, Jacobsson A, Chiurchiù V#, Viscomi MT#. Impairment of DHA synthesis alters the expression of neuronal plasticity markers and the brain inflammatory status in mice. *FASEB J.* 2020 Feb;34(2):2024-2040. #equally senior authors
- Kooij G, Derada Troletti CD, Leuti A, Norris PC, Riley I, Albanese M, Ruggieri S, van der Pol SMA, van het Hof B, Schell Y, Libreros S, Guerrero G, Mercuri NB, Centonze D, Gasperini C, Maccarrone M, Battistini L, de Vries HE, Serhan CN, Chiurchiù V. Specialized pro-resolving lipid mediators are differentially altered in peripheral blood of patients with multiple sclerosis and attenuate monocyte and blood-brain barrier dysfunction. *Haematologica.* 2020 Aug;105(8):2056-2070
- Serhan CN, Gupta S, Perretti M, Godson C, Li Y, Soehnlein O, Shimizu T, Werz O, Chiurchiù V, Azzi A, Dubourdeau M, Gupta SS, Schopohl P, Hoch M, Gjorgjevikj D, Khan FM, Brauer D, Tripathi A, Cesnulevicius K, Lescheid D, Schultz M, Repsilber D, Kruse R, Sala A, Haeggström JZ, Levy BD, Filep JG, Wolkenhauer O. The AIR group. The Atlas of Inflammation-Resolution (AIR). *Mol Aspects Med.* 2020 Aug; 74:100894
- Krashia P, Cordella A, Nobili A, La Barbera L, Federici M, Leuti A, Campanelli F, Natale G, Marino G, Calabrese V, Vedele F, Ghiglieri V, Picconi B, Di Lazzaro G, Schirinzi T, Sancesario G, Casadei N, Riess O, Bernardini S, Pisani A, Calabresi P, Viscomi MT, Serhan CN, Chiurchiù V#, D'Amelio M#, Mercuri NB#. Blunting neuroinflammation with resolvin D1 prevents early pathology in a rat model of Parkinson's disease. *Nat Commun.* 2019 Sep 2;10(1):3945. #equally senior authors
- Leuti A, Maccarrone M, Chiurchiù V. Pro-resolving lipid mediators: endogenous modulators of oxidative stress. *Oxid Med Cell Longev.* 2019 Jun 18; 2019:8107265
- Chiurchiù V, Leuti A, Dalli J, Maccarrone M, Serhan CN. Pro-resolving lipid mediators are novel critical modulators of T-helper cells: implications for autoimmunity 11th International Congress on Autoimmunity, Lisbon, Portugal, 16-20 May, 2018
- Chiurchiù V, Leuti A, Albanese M, Battistini L, Centonze D, Serhan CN. Macrophage plasticity and their pro-resolving action is altered in multiple sclerosis-15th International Conference on Innate Immunity, Chania, Greece, 18-23 June, 2018
- Chiurchiù V, Leuti A, Bisicchia E, Cordella A, Norris P, Riley I, D'Amelio M, Battistini L, Mercuri NB, Viscomi MT, Serhan CN. Specialized pro-resolving mediators as novel pathophysiological leads and innovative therapeutic agents for neurodegenerative diseases: towards the resolution of neuroinflammation Gordon Conference, Neurobiology of Brain Disorders, Castelldefels, Spain, 5-10 August, 2018
- Chiurchiù V, Kooij G, Derada Troletti CD, Leuti A, Norris PC, Albanese M, Mercuri NB, Centonze D, Battistini L, de Vries H, Serhan CN. Specialized pro-resolving lipid mediators are differentially altered in peripheral blood of patients with multiple sclerosis and attenuate monocyte and blood-brain barrier dysfunction. *European Congress of Immunology (ECI), Amsterdam, The Netherlands, 2-5 September, 2018*
- Chiurchiù V, Kooij G, Leuti A, Norris P, Eggen B, Mercuri NB, Centonze D, de Vries HE, Serhan CN. Specialized pro-resolving mediators regulate the neuro-immune axis in multiple sclerosis: Towards the resolution of neuroinflammation Cell Symposia on "Neuro-Immune Axis", Long Beach, USA, 22-24 September, 2019
- Chiurchiù V, Kooij G, Norris P, Derada Troletti C, Leuti A, Rodriguez S, Libreros S, de Vries HE, Serhan CN. Specialized pro-resolving mediators are altered in multiple sclerosis patients and modulate the inflammatory responses of key pathogenic cells at the interface between blood and the brain. 16th International Conference on Bioactive Lipids in Cancer, Inflammation and related diseases, St. Petersburg, USA, 20-23 October, 2019

Progetto di ricerca finanziato con il Bando FISM 2017 per il periodo di 2 anni e l'ammontare di 120.000 €
Research project funded by FISM Grant 2017 for the period of 2 years and the amount of € 120,000

La proteina S100B: un potenziale bersaglio terapeutico nella sclerosi multipla. Studio *in vivo*



Fabrizio Michetti

Dipartimento di Neuroscienze, Università Cattolica S. Cuore, Roma, Italia

COLLABORATORI / COLLABORATORS

Francesco Ria, Gabriele Di Sante, Mariagrazia Valentini

COLLABORAZIONI CON ALTRI GRUPPI / COLLABORATIONS WITH OTHER GROUPS

Cinzia Volonté, Susanna Amadio, IRCCS Fondazione S. Lucia, Roma, Italia

Maria Elisabetta Clementi, Beatrice Sampaolese, Patrizia Casalbore, Consiglio Nazionale delle Ricerche, Roma, Italia

PREMESSE E OBIETTIVI

Un tema centrale nella lotta alla sclerosi multipla (SM) è la mancanza di terapie specificamente mirate verso fattori chiave nella patogenesi della malattia. Le terapie ora impiegate si rivolgono ad aspetti generali, usualmente infiammatori, che accompagnano il corso della malattia.

Intendiamo identificare un fattore patogenetico chiave per la SM che, di conseguenza, possa costituire un bersaglio terapeutico mirato specificamente. A questo fine abbiamo rivolto l'interesse alla proteina S100B, che è nota essere attivamente rilasciata dagli astrociti, un tipo cellulare che nel sistema nervoso partecipa a vari processi patologici, in cui S100B è coinvolta. In particolare, S100B compare ad alta concentrazione nei liquidi biologici (liquido cerebrospinale e sangue) di pazienti con SM in fase acuta, per ridursi durante la fase stazionaria, ed è anche presente in alta concentrazione nelle placche attive di SM. Sulla base di queste evidenze abbiamo investigato la possibilità che la proteina costituisca un fattore chiave nei processi patologici della SM. A questo fine abbiamo impiegato un modello animale di SM ampiamente riconosciuto (modello di encefalomielite sperimentale autoimmune recidivante-remittente, RR-ESA).

RISULTATI

Abbiamo impiegato due diversi farmaci: la pentamidina, che è nota bloccare l'azione patologica di S100B, e l'acido arundico, che è noto inibire la sintesi di S100B da parte degli astrociti. La somministrazione in vivo di questi farmaci a due separati gruppi di animali ha prodotto un miglioramento della sintomatologia clinica degli animali da esperimento, nonché dei parametri patologici, studiati con metodi mor-

fologici e biomolecolari. I risultati ottenuti hanno sostanzialmente raggiunto l'obiettivo proposto dalla ricerca.

CONCLUSIONI

Sulla base dei risultati ottenuti, S100B può essere ragionevolmente considerata un bersaglio terapeutico per i processi patologici propri della SM. Può essere rilevante notare che la pentamidina è un farmaco già approvato per uso clinico sull'uomo contro una patologia polmonare (pneumocystis pneumonia) e che per l'acido arundico sono in corso test clinici sull'uomo rivolti ad altre patologie neurologiche (sclerosi laterale amiotrofica, malattia di Alzheimer), così da poter prevedere un rapido impiego clinico sull'uomo per entrambi i farmaci. Sono inoltre attivamente in corso studi miranti ad identificare altri farmaci, possibilmente anche maggiormente efficaci, per bloccare il bersaglio terapeutico S100B.

The S100B protein as a potential therapeutic target in multiple sclerosis. An *in vivo* study

INTRODUCTION AND AIMS

The main problem dealing with multiple sclerosis (MS) at present is the lack of therapy specifically oriented against key pathogenic factors of the disease. Therapeutic approaches essentially address general, usually inflammatory, features accompanying the course of the disease. We intended to definitely identify a key pathogenic factor of multiple sclerosis, which, as a consequence, may constitute a specifically oriented therapeutic target. In this respect we focused on the S100B protein, which is known to be actively released by astrocytes, a cell type which in the nervous system participates in various pathogenic processes, where S100B is also involved. In particular, S100B is detectable at high concentrations in biological fluids (cerebrospinal fluid and blood) of MS patients in the acute phase, being reduced during the stationary phase, and is also present at high concentrations in active MS plaques. On the basis of these evidences we investigated the possibility that the protein is a key factor in MS pathogenic processes. To this goal we used a widely recognized animal model of MS (the relapsing-remitting experimental autoimmune encephalomyelitis mouse model- RR EAE).

RESULTS

We used two different drugs: pentamidine which is known to block the activity of S100B, and arundic acid, which is known to inhibit the synthesis of S100B in astrocytes. Administering *in vivo* these drugs separately to two different groups of RR EAE mice, in both cases we obtained an amelioration of clinical symptoms as well as of pathological parameters studied using morphological and biomolecular methods. The results obtained essentially fulfilled the main goal of the research.

CONCLUSIONS

From the results obtained, the S100B protein may reasonably be regarded as a therapeutic target for MS pathogenic processes. Interestingly, pentamidine is an approved drug for human use against a pulmonary disease (pneumocystis pneumonia), and arundic acid is undergoing clinical trials for other neurological diseases (amyotrophic lateral sclerosis, Alzheimer's disease), so that a rapid clinical use in humans for these drug may be foreseen. In addition, investigations are in progress to identify even more efficacious drugs blocking S100B as a therapeutic target.



PUBBLICAZIONI, COMUNICAZIONI A CONGRESSI E DOMANDE DI BREVETTO PUBLICATIONS, CONGRESS PRESENTATIONS AND PATENT APPLICATIONS

- Di Sante G, Amadio S, Sampaiolese B, Clementi ME, Valentini M, Volonté C, Ria F, Michetti F. Decrease of disease score in *in vivo* model of multiple sclerosis targeting S100B. XXVIII Congresso dell'Associazione Italiana di Neuroimmunologia (AINI), Camogli, 6-9 maggio 2019
- Di Sante G, Amadio S, Sampaiolese B, Clementi ME, Valentini M, Volonté C, Ria F, Michetti F. Reduction of disease score in *in vivo* model of multiple sclerosis targeting S100B. Joint Meeting of the German Society for Immunology (DGfI) and the Italian Society of Immunology, Clinical Immunology and Allergology (SIICA), Munich, Germany, 10-13 September 2019
- Michetti F. The S100B protein as a biomarker and effector in neural disorders: a potential novel therapeutic target. Invited presentation at 12th FENS Forum 2020. Miniconference: Molecular mechanisms of cognitive and intellectual disability Glasgow, United, Kingdom, 11-15 July 2020
- Di Sante G, Amadio S, Sampaiolese B, Clementi ME, Valentini M, Volonté C, Casalbore P, Ria F, Michetti F. The S100B inhibitor pentamidine ameliorates clinical score and neuropathology of relapsing-remitting multiple sclerosis mouse model. *Cells* 2020, 9, 748; doi: 10.3390/cells9030748
- Michetti F., Di Sante G, Clementi ME, Sampaiolese B, Casalbore P, Volonté C, Romano Spica V, Di Liddo R, Parnigotto PP, Amadio S, Ria F. The S100B protein as a therapeutic target for neurological and non-neurological disorders. Submitted
- Di Sante G, Amadio S, Sampaiolese B, Clementi ME, Ria F, Michetti F. L'impiego di acido arundico nella terapia della sclerosi multipla. Domanda di brevetto 102020000015895

Progetto di ricerca finanziato con Bando FISM 2018 per il periodo di un 1 anno (prorogato di 6 mesi) e l'ammontare di 30.000 €

Research project funded by FISM Grant 2018 for the period of 1 year (extended by 6 months) and the amount of € 30,000

Potenziamento del recettore TNFR2 nel sistema nervoso centrale per la terapia della sclerosi multipla



Placido Illiano

University of Miami Miller School of Medicine. The Miami Project to Cure Paralysis, Department of Neurosurgery, Miami, Usa

MENTORE / MENTOR
Roberta Brambilla

PREMESSE E OBIETTIVI

Malattie come cancro, infiammazione e infezioni presentano fattori di regolazione comuni, quali il Tumor Necrosis Factor (TNF). Il TNF è anche associato allo sviluppo di malattie neurodegenerative, tra cui la sclerosi multipla (SM). Il TNF esiste in due forme attive, una solubile (solTNF) e una di membrana (tmTNF), che hanno spesso funzioni opposte. Studi preclinici hanno rivelato che la SM è associata alle funzioni negative del solTNF, mentre il tmTNF svolge un ruolo protettivo.

Usando un modello sperimentale di SM, quale la Encefalomielite Sperimentale Autoimmune (ESA), il nostro gruppo di ricerca ha dimostrato che il blocco farmacologico del solTNF favorisce la rimielinizzazione, ossia la capacità del sistema nervoso di riparare la mielina che avvolge i neuroni, le cellule responsabili della trasmissione degli impulsi nervosi. Il danno alla mielina è il principale processo degenerativo nella SM. In particolare, abbiamo scoperto che gli effetti benefici del tmTNF sono mediati dal recettore TNFR2 presente sugli oligodendrociti, le cellule deputate a produrre mielina: qui il TNFR2 non solo favorisce la rimielinizzazione, ma riduce anche la neuroinfiammazione. Questo ci ha portato a ipotizzare che il recettore TNFR2 negli oligodendrociti agisca in gran parte promuovendo meccanismi anti-infiammatori specifici nel sistema nervoso centrale, quali ad esempio sopprimendo l'attività di altre cellule infiammatorie come la microglia e promuovendo effetti anti-infiammatori negli oligodendrociti.

Il nostro obiettivo è quello di approfondire la nostra conoscenza delle funzioni benefiche del TNFR2 e di identificare nuovi bersagli terapeutici per lo sviluppo di farmaci per la cura della SM.

RISULTATI

I nostri studi si sono basati sulla caratterizzazione di un nuovo modello transgenico preclinico generato nel no-

stro laboratorio, ossia il topo TRE-TNFR2. In questo modello transgenico, è possibile permettere l'espressione del TNFR2 in maniera selettiva in specifiche classi di cellule di interesse. Nei nostri studi abbiamo ottenuto quattro linee fondatrici originarie per questo modello. Al fine di selezionare la linea con alta specificità e più alta efficienza dell'espressione del recettore TNFR2, abbiamo incrociato questi topi con la linea CamkIIa-tTA. Una volta effettuati gli studi per la selezione della migliore linea TRE-TNFR2, abbiamo incrociato questa linea con topi transgenici PLP-tTA, generando il doppio transgenico PLPtTA:TRE-TNFR2; questo al fine di ottenere potenziamento dell'espressione del recettore TNFR2 selettivamente in oligodendrociti maturi. In ultima istanza, abbiamo valutato infine il potenziale terapeutico associato col potenziamento del TNFR2 nel modello di ESA nei topi PLP-tTA:TRE-TNFR2.

CONCLUSIONI

I nostri risultati hanno dimostrato che l'attivazione del TNFR2 derivante dal potenziamento della sua espressione negli oligodendrociti maturi ha un effetto benefico nell'ESA. In particolare, abbiamo osservato come questo potenziamento di TNFR2 sia mediatore di effetti protettivi durante la fase acuta infiammatoria della ESA. I nostri studi hanno portato ad un avanzamento nella conoscenza dei meccanismi patologici operati dalle cellule gliali quali gli oligodendrociti maturi, ponendo le basi per lo sviluppo di nuovi trattamenti terapeutici per la SM.

Enhancing TNFR2 signaling in the CNS for multiple sclerosis therapy

INTRODUCTION AND AIMS

Diseases like cancer, inflammation and infection share common regulation factors, such as Tumor Necrosis Factor (TNF). TNF is also associated with the development of neurodegenerative diseases, including multiple sclerosis (MS). TNF exists in two active forms, a soluble form (solTNF) and a membrane form (tmTNF), which often display opposite functions. Preclinical studies have revealed that MS is associated with the negative functions of solTNF, while tmTNF plays a protective role. Our research group has demonstrated, by using an experimental model of MS, Experimental Acute Encephalomyelitis (EAE), that pharmacological blockade of solTNF favors "remyelination". This process consists in the ability of the central nervous system (CNS) to repair the 'myelin' that sheaths neuronal cells, which are responsible for the transmission of nervous impulse. Myelin damage is the main degenerative process in MS. In particular, we have discovered that tmTNF beneficial effects are mediated by TNFR2 receptor located on mature oligodendrocyte cells. These cells are responsible for the production of myelin. Therefore, TNFR2 promotes remyelination and also reduces neuroinflammation. Our studies led us to the hypothesis that TNFR2 receptor present on the mature oligodendrocytes promotes CNS-specific anti-inflammatory mechanisms, e.g. suppressing activity of other inflammatory cells like microglia and concurrently promoting anti-inflammatory effects in oligodendrocytes. Our aim is to deepen our knowledge of TNFR2 and its beneficial functions, thereby identifying new therapeutic targets for drug development in MS.

RESULTS

Our studies are based on the characterization of a new transgenic mouse model generated in our laboratory, namely TRE-TNFR2 mouse model. This model allows selective expression of TNFR2 in the cells of interest. In our studies we have obtained four TRE-TNFR2 founder lines. In order to select the mouse line displaying high specificity and the highest TNFR2 overexpression, we crossed TRE-TNFR2 mice with CamkIIa-tTA transgenics. By doing so, we were able to select the best TRE-TNFR2 model line. We therefore proceeded to cross TRE-TNFR2 mice with PLP-tTA transgenics, thereby obtaining PLP-tTA:TRE TNFR2 double transgenics, where TNFR2 overexpression can be selectively induced in mature oligodendrocytes. Finally, we evaluated the therapeutic potential associated with TNFR2 overexpression, by using the EAE model in double transgenic mice PLP-tTA:TRE-TNFR2.

CONCLUSIONS

Our results demonstrated that activation of TNFR2 signaling in mature oligodendrocytes is beneficial in EAE, displaying protective effects during the acute-inflammatory phase of this model. Therefore, our studies have provided further insights in the pathophysiology of glial cells such as mature oligodendrocytes, involved in inflammation during MS. Our investigations pave the way to the development of new possible therapeutic agent for MS therapy.



PUBBLICAZIONI E COMUNICAZIONI A CONGRESSI PUBLICATIONS AND CONGRESS PRESENTATIONS

- Illiano P, Desu HL, Mudalegundi S, Nissanka N, Moraes CT and Brambilla R. Characterization of TRE-TNFR2 model for selective overexpression of TNFR2 receptor. In preparation

Borsa di studio finanziata con il Bando FISM 2017 per il periodo di 2 anni e l'ammontare di 83.000 €
Research Fellowship funded by FISM Grant 2017 for the period of 2 years and the amount of € 83,000

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 partecipazione 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 delle Persone con SM.

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 Agenda for People with MS.

The following is an in-depth analysis of the main special research projects in progress divided into research areas of study.

Medicina personalizzata

Personalized
Medicine



MyMood: sviluppo di nuovi patient-reported outcomes sui disturbi dell'umore nella SM.

Un approccio di co-creazione tramite scienza basata sull'input del e con il paziente



Federico Bozzoli, Ludovico Pedullà

Fondazione Italiana Sclerosi Multipla, FISM, Genova, Italia

COLLABORATORI / COLLABORATORS

Giampaolo Brichetto, Federica Molinari, Jessica Podda, Michela Ponzio

COLLABORAZIONI CON ALTRI GRUPPI / COLLABORATIONS WITH OTHER GROUPS

Paolo Confalonieri, *Fondazione Istituto Neurologico Carlo Besta, Milano, Italia*

Monica Falautano, *Università Vita Salute H. San Raffaele, Milano, Italia*

David Korn, *Fondazione Policlinico Universitario Gemelli IRCCS, Roma, Italia*

PREMESSE E OBIETTIVI

L'umore è una personale disposizione dell'animo, in grado di determinare particolari reazioni emotive che possono essere più o meno stabili. Talvolta però questi cambiamenti e alterazioni possono diventare veri e propri disturbi dell'umore, che condizionano la vita di chi ne è soggetto. I disturbi dell'umore sono comuni nella sclerosi multipla (SM), con fino al 50% delle persone con SM che presentano sintomi depressivi o di ansia. Gli strumenti di valutazione esistenti per rilevare i disturbi dell'umore non sono sempre focalizzati su questioni importanti per le persone con SM. La scienza basata sull'input del e con il paziente suggerisce l'importanza del coinvolgimento dei pazienti come co-ricercatori a tutti i livelli del percorso di ricerca, condividendo con altri stakeholder la propria esperienza della malattia, che si traduce in una forma di conoscenza che si integra con la conoscenza scientifica (es. conoscenza esperienziale).

Negli ultimi anni, grande interesse è stato dato ai Patient Reported Outcomes, (PRO) nella SM, definiti come strumenti scientifici che riflettono la prospettiva e l'esperienza delle persone con SM in relazione al loro trattamento o condizione di malattia, dando valore e qualità all'informazione che viene dalle persone stesse. Inoltre, diverse iniziative recenti, ad esempio il progetto MULTI-ACT, promuovono una partecipazione informata e di qualità delle persone con SM nei processi decisionali della ricerca e dell'assistenza sanitaria in merito al loro trattamento e alle loro prestazioni.

In questo contesto, le linee guida per la co-creazione di nuovi

vi PRO basati sulla scienza e con l'input dei pazienti sono altamente raccomandate. Infatti, nella definizione di nuovi questionari, i ricercatori dovrebbero applicare metodologie adeguate, senza trascurare l'input della popolazione target al fine di cogliere gli aspetti che contano per i pazienti.

Pertanto, gli obiettivi del presente studio sono: (i) definire e testare un modello operativo per la co-creazione di nuovi PRO basati sulla scienza e con l'input del paziente; (ii) sviluppare un nuovo questionario su ansia e depressione basato sul modello sopra menzionato per caratterizzare meglio i disturbi dell'umore nelle persone con SM.

RISULTATI

Il progetto MyMood è stato sviluppato in 3 Working Package (WP): il primo WP, previsto per tutta la durata dello studio, è relativo alle attività del Team di Coordinamento (Engagement Coordination Team, ECT), responsabile della gestione del coinvolgimento degli stakeholder. Le azioni dell'ECT comprendono la progettazione di sessioni di formazione, incontri multidisciplinari e del processo di disseminazione. Il gruppo ECT di MyMood è composto da una persona con SM in un ruolo chiave (in questo progetto è il ricercatore principale), il suo caregiver, ricercatori, un esperto nel coinvolgimento del paziente con esperienza nel progetto MULTI-ACT, medici, psicologi e un metodologo.

I WP2 e WP3 consistevano rispettivamente nell'analisi della letteratura esistente sull'argomento e nella creazione degli item, cioè il processo di formulazione delle domande

che costituiscono il questionario stesso. Gli aspetti chiave di WP2 e WP3 sono l'acquisizione della conoscenza esperienziale del paziente sia a livello individuale (assicurato dalla presenza di una persona con SM nell'ECT) che a livello di comunità. Infatti, tutti i membri di ECT dovrebbero garantire un'adeguata rappresentanza della loro comunità di appartenenza attraverso strumenti adeguati come sondaggi web o interviste in persona.

Per quanto riguarda il lavoro del WP2 sulla prospettiva individuale, sono state identificate due espressioni comportamentali della regolazione dell'umore come disturbi principali: la fluttuazione e l'iper-reazione agli eventi. Inoltre, la prospettiva individuale dell'umore nella SM è stata consolidata coinvolgendo un gruppo di pazienti e richiedendo loro di compilare un diario di 10 giorni sullo stato dell'umore. Questi diari sono stati analizzati sia da professionisti (psicologi) che dalla persona con SM del gruppo ECT al fine di evidenziare le parole chiave più rilevanti e rivedere la letteratura, di conseguenza. Tutti gli stati d'animo e le emozioni elencate nei diari sono stati visualizzati in un'interfaccia a griglia considerando la loro valenza (negativa / positiva, asse x) e la loro reazione (bassa / alta, asse y). Questo ha aiutato a identificare i principali domini correlati alla regolazione dell'umore segnalati come altamente impattanti dalle persone con SM reclutate. Questi includevano: flut-

tuazione, iper-reazione agli eventi, sentimenti di autosvalutazione, mancanza di comprensione, autoisolamento, senso di colpa, paura, rigidità cognitiva e non accettazione come espressioni di regolazione dell'umore alterate; flessibilità, resistenza, ottimismo, cura di sé, consapevolezza e accettazione come meccanismi di resilienza.

Sulla base di questi punti chiave è stata effettuata una nuova ricerca in letteratura al fine di raccogliere le scale esistenti sugli aspetti individuati (N = 22).

Queste scale e tutto il materiale raccolto guidano il processo di creazione degli item del questionario che viene eseguito in sessioni di gruppi multistakeholder coordinate dall'ECT. Ad oggi, sono stati generati più di 200 item. La riduzione del numero di item sarà eseguita in ulteriori fasi coinvolgendo sia l'ECT che le comunità al fine di progettare una versione pre-finale del questionario.

CONCLUSIONI

Il nuovo PRO sarà presentato a un grande gruppo di persone con SM al fine di garantire interesse sugli outcome, priorità dei temi e intelligibilità della nuova scala. Infine, saranno necessarie ulteriori ricerche per valutare le proprietà psicometriche del nuovo questionario con opportune analisi statistiche.

MyMood: developing new patient-reported outcomes on mood disorders in MS. An approach of co-creation through science of and with patient input

INTRODUCTION AND AIMS

Mood is a personal disposition of the soul, capable of determining particular emotional reactions that can be more or less stable. However, sometimes these changes and alterations can become real mood disorders, which affect the life of those who are subject to them.

Mood disorders are common in multiple sclerosis (MS), with up to 50% of people with MS (PwMS) showing depressive or anxiety symptoms. Existing assessment tools on this domain are not always focused on issues that matter to PwMS. The science of and with patient input suggests the engagement of patients as co-researchers at every levels of the research path, sharing with other stakeholders their own experience of the disease, which translates into a form of knowledge that integrates with scientific knowledge (i.e., experiential knowledge).

In the last years, great interest has been given to the patient reported outcomes (PROs) in MS, defined as scientific tools that reflect the perspective and experience of

PwMS in relation to their disease condition. Moreover, different recent initiatives, e.g., the MULTI-ACT project, promote an informed and quality participation of PwMS in the decision-making processes of research and healthcare regarding their treatment and performance.

In this framework, guidelines for co-creation of new PROs based on science of and with patient input are highly recommended. Indeed, in the definition of new questionnaires, researchers should apply proper methodologies, but cannot neglect the input of the target population in order to capture the aspects that matter to patients.

Therefore, the aims of the present study are: (i) to define and test an operational model for co-creation of new PROs based on science of and with patient input; (ii) to develop a new questionnaire on anxiety and depression based on the above mentioned model to better characterize mood disorders in people with MS.

RESULTS

The project MyMood has been implemented in 3 Working Packages (WP): the first horizontal WP, lasting throughout the whole duration of the study, is related to the activities of the Engagement Coordination Team (ECT), a body in charge of the management of stakeholder engagement. ECT actions include the design of training sessions, multidisciplinary meetings and of the dissemination process. MyMood ECT included a person with MS in a key role (here, the principal investigator), his caregiver, researchers, an expert in patient engagement with MULTI-ACT background, clinicians, psychologists and a methodologist.

WP 2 and 3 consisted in the Landscape analysis and Item generation respectively. Key aspects of both WPs are the capture of the patient experiential knowledge at both individual level (ensured by the presence of a person with MS in the ECT) and at community level. Indeed, all ECT members should ensure representativeness of their community through proper tools such as web survey or in-person interviews.

Concerning WP2, as a result of the work on the individual perspective, two behavioral expressions of mood regulation have been identified as main disorders: fluctuation and hyper-reaction to events. Further, the individual perspective of mood in MS was consolidated by engaging a group of patients in order to fill in a 10-day diary in mood status. These were analyzed by both professionals (psychologist) and the ECT person with MS in order to highlight the most relevant keywords and revise the literature, accordingly.

All mood status and emotions listed in the diaries have been displayed in a grid-like interface considering their valence (negative/positive, x-axis) and their arousal (low/high, y-axis).

This helped to identify the main domains related to mood regulation reported by the recruited PwMS as highly impacting. These included: fluctuation, hyper-reaction to events, low self-efficacy, lack of understanding, self-isolation, sense of guilt, fear, cognitive rigidity and non-acceptance as impaired mood regulation expressions; flexibility, hardiness, optimism, self-care, awareness and acceptance as resilience mechanisms. On the bases of these key points, a new search on the literature has been performed in order to collect the existing scales on the identified aspects (N=22).

These scales and all the material collected guide the item generation process, which is performed in multi-stakeholder panel sessions coordinated by the ECT. Up to date, more than 200 items have been generated. Item reduction will be performed in further steps engaging both the ECT and the communities in order to design a pre-final version of the questionnaire.

CONCLUSIONS

The new PRO will be presented to a large group of PwMS in order to ensure interest on outcome, priority of the themes and intelligibility of the new scale. Finally, further research will be required to assess the psychometric properties of the new questionnaire with appropriate statistical analyses.



PUBBLICAZIONI E COMUNICAZIONI A CONGRESSI PUBLICATIONS AND CONGRESS PRESENTATIONS

- Ludovico Pedulla, Federico Bozzoli. *Science of Patient Input in Progressive MS. Measuring impact on outcome that matter to patients. FISM Annual Congress 2020*

Progetto speciale di ricerca FISM finanziato nel 2019 per l'ammontare di 60.000 €
FISM Research special project funded in 2019 for an amount of € 60,000

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 / COLLABORATORS READY MULTICENTER STUDY

MULTI_READY FOR MS TRIAL STEERING COMMITTEE

Ambra Mara Giovannetti, Alessandra Solari, Kenneth Ian Pakenham,

Giovambattista Presti, *Facoltà di Scienze Umane e Sociali, 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, Medizinische Klinik M.S. Psychosomatik, Campus Benjamin Franklin, Berlin, Germany*

Marta Bassi, *Dipartimento di Scienze Biomediche e Cliniche L. Sacco, Università degli Studi di Milano, Milano, Italia*

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

DATA MANAGEMENT AND ANALYSIS COMMITTEE:

Massimo Copetti, *Unità di Biostatistica, 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*

ENROLLMENT CENTERS

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

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

Giampaolo Brichetto, Miranda Giuntoli, Annalisa Garaventa *Servizio Riabilitativo AISM, Genova, Italia*

Francesco Patti, Francesca Mongelli, Eleonora Chisari, *Azienda Ospedaliero Universitaria Policlinico Vittorio Emanuele, Centro Sclerosi Multipla, Catania, Italia*

Monica Grobberio, Samuela Turati, *Laboratorio di neuropsicologia, UOSD psicologia clinica e UOC neurologia, ASST Lariana, Regione Lombardia, Italia*

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

Mary Micheli, Valentina Schiarelli, *ASL Umbria2, Dipartimento Riabilitazione, Terni, Italia*

Massimiliano Di Filippo, Giuliana Costantini, Luciana Ciaccassassi, *Centro Malattie Demyelinizzanti e Laboratori di Neurologia Sperimentale, Clinica Neurologica, Università di Perugia, Perugia, Italia*

PREMESSE E OBIETTIVI

Il processo di adattamento alla sclerosi multipla (SM) 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

programma READY for MS in Italia (Studio 1, 3 e 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 suggeriscono di

estenderlo ad 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 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, indipendentemente 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 dello Studio 1 sono stati discussi in una riunione dedicata (gennaio 2020), le riflessioni emerse hanno contribuito alla definizione del protocollo dello studio multicentrico randomizzato controllato (Studio 4). Lo studio è attualmente in pausa a causa della pandemia COVID-19 e alla conseguente impossibilità nel condurre gruppi in presenza.

CONCLUSIONI

Il programma READY for MS è stato in grado di migliorare resilienza, ansia, depressione, stress e flessibilità psicologica nei partecipanti. I dati qualitativi (ma non quantitativi) supportano la maggior efficacia del programma rispetto a un trattamento standard come il rilassamento. Inoltre, i risultati dello Studio 2 suggeriscono che il training rivolto agli psicologi abbia avuto un impatto positivo, sia a livello professionale che personale e che il programma READY for MS sia facilmente implementabile nei servizi territoriali italiani dedicati alle persone con SM.

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 adverse 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 improve their quality of life (QoL).

Pakenham and colleagues of the 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 on most outcomes occurred at post-intervention and were maintained at 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.

Result of Study 1 were discussed in two dedicated meetings (January 2020). The panel discussion informed the design of the multi-centre RCT. The multi-centre RCT is paused due to the COVID-19 pandemic and the impossibility to run in-person group intervention.

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. Qualitative (but not quantitative) data provide evidence in favour of READY for MS. Moreover, results suggested that the training was personally and professionally helpful for the MS psychologists and the integration of program delivery within patients' association branches and MS Centres was effective.



PUBBLICAZIONI E COMUNICAZIONI A CONGRESSI PUBLICATIONS AND CONGRESS PRESENTATIONS

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
- 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. In preparation
- 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). Submitted to PLOS ONE on April 9, 2021
- Giovannetti AM, Messmer Uccelli M, Solari A, Pakenham KI. Effectiveness of a group resilience intervention for people with multiple sclerosis delivered via frontline services. Submitted to Disability and Rehabilitation on November 19, 2020

Congress

- Giovannetti AM, Quintas R, Giordano A, Messmer Uccelli M, Solari A, Pakenham KI. 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*, 2018 24(6), 853-853.
- Giovannetti AM, Quintas R, Matarrozzi K, Giordano A, Solari A, Pakenham K. Individualized quality of life in people with MS: advantages of using the SEIQOL-DW. *Multiple Sclerosis Journal* 2018, 24(6), 848-848.
- Giovannetti AM, Quintas R, Giordano A, Messmer Uccelli M, Solari A, Pakenham K. Progetto READY per pazienti con sclerosi multipla (MS): protocollo e dati preliminari dello studio. (2018). Oral presentation at the "GIS ACT for HEALTH", Italian conference, Rome, March 25th.
- Giovannetti AM, Solari A, Quintas R, Giordano A, Tramacere I, Messmer Uccelli M, Pakenham K. (2018). 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 per l'ammontare di 213.000 €
FISM Research special project funded in 2016 for an 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, Mario Alberto Battaglia, Michela Ponzio, Ludovico Pedullà, Andrea Tacchino

COLLABORAZIONI CON ALTRI GRUPPI / COLLABORATIONS WITH OTHER GROUPS

Alessandro Verri, Annalisa Barla, Dipartimento di Informatica, Bioingegneria, Robotica, e Ingegneria dei Sistemi (DIBRIS), Università di Genova, Genova, Italia

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.

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 5000 valutazioni da circa 1.100 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 decor-

so 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.

CONCLUSIONI

L'accuratezza di predizione potrebbe essere ulteriormente migliorata affinando e potenziando il modello con altri dati ottenibili da altri database che raccolgono informazio-

ni sui pazienti come, ad esempio database amministrativi, di variabili neurofisiologiche e provenienti da monitoraggi continui con dispositivi elettronici. Questo aspetto potrebbe anche aiutare ad espandere gli orizzonti temporali della predizione spostandoli oltre gli attuali quattro mesi. A questo proposito, per migliorare la predizione, è stato intrapreso un percorso di validazione di nuova scale autoriportate.

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), that follows after the RR course and is characterized by a 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 in 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 5000 evaluations from about 1100 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 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.

CONCLUSIONS

The accuracy of prediction could be further improved refining and empowering the model with other real world data such as administrative data, neuroimaging data and continuous data from sensors. This aspect could also help to expand the temporal horizons of the prediction. For this reason, we started a process to create and validate new PRO in order to improve the prediction algorithm.



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. PMID: 32394274. Brichetto G, Zaratin 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. PMID: 32324704; PMCID: PMC7259382

Progetto speciale di ricerca FISM finanziato nel 2013 per l'ammontare di 380.000 €
FISM Research special project funded in 2013 for an amount of € 380,000

Riabilitazione cognitiva dell'attenzione, a domicilio con l'uso del computer, in soggetti con sclerosi multipla ad esordio pediatrico: uno studio pilota multicentrico



Maria Pia Amato

Dipartimento NEUROFARBA, Divisione di Riabilitazione Neurologica, Azienda Ospedaliero-Universitaria Careggi, IRCCS Fondazione Don Carlo Gnocchi, Firenze, Italia

COLLABORATORI/COLLABORATORS

Luisa Pasto, Lorenzo Razzolini, Elio Prestipino, Benedetta Goretti, Claudia Niccolai

COLLABORAZIONI CON ALTRI GRUPPI/ COLLABORATION WITH OTHER GROUPS

Mauro Zaffaroni, Lorena Pippolo, Marco Roscio, Centro SM, ASST della Valle Olona, Presidio Ospedaliero di Gallarate, Gallarate (VA), Italia

Maria Trojano, Rosa Gemma Viterbo, Marta Simone, Dipartimento di Scienze Mediche di Base Neuroscienze ed Organi di Senso, Università degli Studi Aldo Moro di Bari, Bari, Italia

Eleonora Cocco, Giuseppe Fenu, Centro SM, Ospedale Binaghi, Dipartimento di Scienze Mediche e Sanità Pubblica, Università degli Studi di Cagliari, Cagliari, Italia

Giancarlo Comi, Lucia Moiola, Monica Falautano, Università Vita-Salute San Raffaele, Milano, Italia

Giovanni Mancardi, Dipartimento di Neuroscienze, Università degli Studi di Genova, Genova

Ruggero Capra, Centro Regionale SM Presidio di Montichiari, Spedali Civili di Brescia, Brescia, Italia

Renzo Guerrini, Federico Melani Dipartimento di Neuroscienze, Ospedale Pediatrico Meyer, Firenze, Italia

PREMESSE E OBIETTIVI

L'esordio della sclerosi multipla (SM) prima dei 18 anni si verifica nel 3-10 % della totalità dei pazienti con SM. Circa il 30% dei bambini e adolescenti con SM manifestano deficit cognitivi, in particolare a carico dell'attenzione e della velocità di elaborazione delle informazioni, della memoria, delle funzioni esecutive e delle funzioni visuo-motorie, domini che sono frequentemente colpiti anche nella SM degli adulti. Il linguaggio può essere coinvolto soprattutto nei casi infantili ad esordio più precoce. Il deficit cognitivo nella SM pediatrica può avere un profondo impatto negativo sulle attività della vita quotidiana e sul rendimento scolastico, indipendentemente dalla disabilità fisica. Nonostante il crescente interesse della ricerca scientifica in questo campo, nessun intervento specifico (né farmacologico né riabilitativo) si è dimostrato sicuramente efficace nella popolazione di SM pediatrica.

L'obiettivo primario di questo studio multicentrico, randomizzato, controllato in doppio cieco è valutare la fattibilità e preliminarmente l'efficacia di un training computerizzato dell'attenzione, specificatamente sviluppato per questo proposito, in pazienti con SM a esordio pediatrico. Gli obiettivi secondari sono a) la valutazione di eventuali miglioramenti in funzioni cognitive non specificamente incluse nel programma di riabilitazione, b) la valutazione "ecologica" degli effetti del programma sulle attività della vita quotidiana e scolastiche, c) la valutazione dei predittori clinici e demografici di risposta al trattamento, inclusi gli indicatori di riserva cognitiva del soggetto; d) in un sottogruppo di pazienti, lo studio con RM strutturale e funzionale delle modifiche del pattern di attivazione cerebrale e della plasticità strutturale dopo il training, da interpretarsi in combinazione coi risultati neuropsicologici. Dopo una fase preliminare all'avvio dello studio, necessaria per la messa a

punto dell'applicazione, il suo test preliminare su un campione limitato di soggetti sani e malati, lo studio prevede una fase di training comune degli operatori coinvolti per standardizzare tra i centri la valutazione neuropsicologica dei soggetti, e le istruzioni da fornire per l'uso dell'applicazione, quindi l'implementazione del trial randomizzato, il follow up dei soggetti, l'analisi e pubblicazione dei risultati.

RISULTATI
Il training è stato somministrato a un gruppo di 30 controlli sani (10 maschi, 20 femmine con età media di 15.8 anni con deviazione standard di 2.21; età media di scolarizzazione di 12,3 anni con deviazione standard di 1,7) per la messa a punto dell'applicazione (compliance e fattibilità).
Ad oggi tutti i centri coinvolti nello studio hanno ottenuto l'approvazione del Comitato etico. La tabella 1 riassume lo stato di arruolamento.

TABELLA 1. CENTRI PARTECIPANTI E STATO DELL'ARRUOLAMENTO

CENTRI PARTECIPANTI	PZ SCREENATI	PZ ARRUOLATI
Azienda Ospedaliera Universitaria Meyer	5	5
Università degli Studi di Bari	12	12
Spedale Civile di Brescia	5	3
Università degli Studi di Cagliari	4	0
Ospedale San Antonio Abate, Gallarate	4	1
Università degli Studi di Genova	2	0
Università Vita-Salute San Raffaele, Milano	5	2

Home-based, computer-assisted cognitive rehabilitation for attention in pediatric onset Multiple Sclerosis: a pilot multicenter study

INTRODUCTION AND AIMS

Onset of MS before the age of 18 accounts for 3-10% of the whole MS population. Approximately 30% of children and adolescents with MS experience CI, particularly in the domains of attention and speeded processing, memory, executive functions and visuomotor functions, which are also commonly involved in adult-onset MS (AOMS). Language may be also involved, particularly in POMS with younger age at onset. CI in POMS can have a profound negative impact on patients' lifestyle and school achievements, also independent from physical disability. Despite the growing interest in the field, so far no specific intervention (neither pharmacological nor rehabilitative) tailored for the needs of the pediatric population has pro-

ved to be effective. The primary aim of this multicentric randomized, double blind, controlled study is to preliminarily evaluate the feasibility and effectiveness of a computer-based training of attention, specifically developed for this purpose. Secondary objectives are a) the evaluation of possible improvements in cognitive functions not specifically included in the rehabilitation program, b) the "ecological" evaluation of the effects of the program on daily and school life activities c) assessment of demographic and clinical predictors of treatment response, including proxies of the subject cognitive reserve; d) in a sub-group of subjects, structural and fMRI analyses of changes in the pattern of brain activations and structural plasticity after the training

program, to be interpreted in combination with neuropsychological results.

RESULTS

The training was administered to a group of 30 healthy controls (10 male, 20 females with a mean age of 15.8

and SD of 2.21; Mean education, years 12.3 and SD of 2.21) for the development of the application (compliance and feasibility).

To date, all the centers involved in the study have obtained approval from the Ethics Committee. The table 1 show the enrollment status.

TABLE 1. ENROLLMENT STATUS

PARTICIPATING CENTERS	PT SCREENED	PT ENROLLED
<i>Azienda Ospedaliera Universitaria Meyer</i>	5	5
<i>Università degli Studi di Bari</i>	12	12
<i>Spedale Civile di Brescia</i>	5	3
<i>Università degli Studi di Cagliari</i>	4	0
<i>Ospedale San Antonio Abate, Gallarate</i>	4	1
<i>Università degli Studi di Genova</i>	2	0
<i>Università Vita-Salute San Raffaele, Milano</i>	5	2



PUBBLICAZIONI / PUBLICATIONS

- Amato MP, Langdon D, Montalban X et al. Treatment of cognitive impairment in multiple sclerosis: position paper. *J Neurol.* 2013 Jun;260(6):1452-68
- Amato MP, Krupp LB, Charvet LE, Penner I, Till C. Pediatric multiple sclerosis: Cognition and mood. *Neurology.* 2016 Aug 30;87(9 Suppl 2):S82-7
- Ruano L, Branco M, Portaccio E et al. Patients with paediatric-onset multiple sclerosis are at higher risk of cognitive impairment in adulthood: An Italian collaborative study. *Mult Scler.* 2017 Jun 1
- Amato MP, Goretti B, Ghezzi A et al. Cognitive and psychosocial features of childhood and juvenile MS. *Neurology.* 2008 May 13;70(20):1891-7
- Amato MP, Goretti B, Ghezzi A et al. Cognitive and psychosocial features in childhood and juvenile MS: two-year follow-up. *Neurology.* 2010 Sep 28;75(13):1134-40
- Amato MP, Goretti B, Ghezzi A et al. Neuropsychological features in childhood and juvenile multiple sclerosis: five-year follow-up. *Neurology.* 2014 Oct 14;83(16):1432-8. Tacchino A, Pedullà L, Bonzano L et al. A New App for At-Home Cognitive Training: Description and Pilot Testing on Patients with Multiple Sclerosis. *JMIR Mhealth Uhealth.* 2015 Aug 31;3(3):e85

Progetto speciale di ricerca FISM finanziato nel 2017 per l'ammontare di 220.000 €
FISM Research special project funded in 2017 for an amount of € 220,000

La sinaptopatia infiammatoria come bersaglio dell'esercizio terapeutico nella lotta alla SM



Diego Centonze

IRCCS Istituto Neurologico Mediterraneo Neuromed, Pozzilli (Is), Dipartimento di Medicina dei Sistemi, Università degli Studi di Roma Tor Vergata, Roma, Italia

COLLABORATORI / COLLABORATORS

Mario Stampanoni Bassi, Ennio Iezzi, Ilaria Simonelli, *IRCCS Istituto Neurologico Mediterraneo Neuromed, Pozzilli (Is), Italia*

Luana Gilio, *IRCCS Istituto Neurologico Mediterraneo Neuromed, Pozzilli (Is), Dipartimento di Medicina dei Sistemi, Università degli Studi di Roma Tor Vergata, Roma, Italia*

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

Antonietta Gentile, *Laboratorio di Immunopatologia Sinaptica, IRCCS San Raffaele Pisana, Roma, Italia*

PREMESSE E OBIETTIVI

La sclerosi multipla (SM) è una malattia autoimmune cronica neurodegenerativa del sistema nervoso centrale. Il bersaglio farmacologico nella SM sono i linfociti T, cellule del sistema immunitario, che danno vita alla reazione autoimmune che porta alla neurodegenerazione. Studi clinici e preclinici hanno dimostrato che uno dei meccanismi di morte neuronale nella SM è la cosiddetta sinaptopatia infiammatoria, ovvero un'alterazione della trasmissione nervosa causata dall'infiammazione che avviene in maniera precoce in aree cerebrali deputate alle funzioni cognitive e del controllo motorio ed emozionale. La sinaptopatia infiammatoria porta a neurodegenerazione, ma, essendo un fenomeno reversibile, rappresenta un potenziale bersaglio terapeutico. Modelli chimerici di incubazione di linfociti T di pazienti SM con neuroni murini hanno messo in evidenza che i linfociti T causano sinaptopatia infiammatoria, rivelando così l'importanza di terapie che interferiscano con l'asse immuno-sinaptico. Il trattamento della SM oggi include non solo terapie farmacologiche ma anche riabilitative. L'esercizio fisico si è dimostrato in grado di apportare grossi benefici ai pazienti SM, migliorando la qualità della vita e alcuni deficit clinici, come la capacità motoria e le funzioni cognitive. Ciononostante, l'impatto dell'esercizio sulla malattia, ovvero la capacità di modificarne il decorso clinico, e sui meccanismi di sinaptotossicità non sono ancora chiari. L'ipotesi di questo studio è che l'esercizio fisico, abbassando

i livelli delle molecole infiammatorie rilasciate dai linfociti T, possa interferire con i meccanismi di tossicità innescati dall'infiammazione sulla trasmissione sinaptica nel cervello di pazienti SM, contribuendo al recupero motorio e cognitivo.

Il presente progetto si basa su uno studio longitudinale di pazienti SM che valuta se l'esercizio fisico sia in grado di contrastare la sinaptopatia infiammatoria e di favorire fenomeni di neuroprotezione e ripresa funzionale. In questi pazienti verrà valutato all'inizio (t0), al termine (t1) e dopo un periodo di follow up (t2) l'impatto dell'esercizio fisico sulla disabilità motoria, l'umore, la modulazione della plasticità sinaptica e dell'attività corticale e i livelli di TNF e IL-1b rilasciati dai linfociti T isolati dal sangue periferico. Inoltre, sfruttando il modello chimerico di incubazione di linfociti T di pazienti SM su fettine cerebrali di topo valuteremo l'effetto dell'esercizio stesso sull'infiammazione e sulla sinaptopatia infiammatoria indotta dai linfociti T.

RISULTATI

Dopo una prima fase di studio in cui abbiamo identificato la popolazione target, è iniziato il reclutamento di pazienti con la forma progressiva di SM (SMP). Dei 16 pazienti arruolati, 13 (7 femmine, 6 maschi; età media 56 ± 10), hanno completato le valutazioni al t1, di cui 6 anche le valutazioni al t2 presso l'Istituto Neuromed (Pozzilli). L'emergenza Covid-19 ha causato perdita di time-points di soggetti reclu-

tati all'inizio dello studio e un drastico rallentamento nel reclutamento, ma la recente ripresa delle attività cliniche a pieno regime ci permetterà il corretto svolgimento degli obiettivi prefissati nel progetto. Ulteriori reclutamenti sono ancora in corso.

Tutti i pazienti reclutati, che hanno mostrato elevata compliance allo studio, sono sottoposti ad un programma riabilitativo di 3 ore/giorno, 6 sedute/settimana per 4 settimane. L'analisi delle indagini neurofisiologiche non è ancora completa, ma la valutazione neuropsicologica indica importanti effetti della riabilitazione su diverse scale atte a valutare la qualità della vita e la sfera umorale dei pazienti. Attraverso il test Multiple Sclerosis Quality of Life (MSQoL-54) è emerso che nella sottoscala fisica, le sottocomponenti inerenti il funzionamento fisico, l'energia e la fatica percepita, migliorino significativamente dopo il ciclo di esercizio terapeutico, così come, dal punto di vista della salute mentale, risulta migliorato il punteggio sulla percezione della qualità della vita.

Inoltre, anche il test indagante la destrezza manuale e la funzionalità dell'arto superiore dominante (9-HOLE) mostra un significativo miglioramento nella performance.

Dal punto di vista emotivo, i livelli di ansia sono stati valutati utilizzando lo State-Trait Anxiety Inventory Form Y (STAI-Y). In tutti i pazienti i livelli di ansia percepiti sono significativamente migliorati.

Infine, dall'analisi della Multiple Sclerosis Impact Scale

(MSIS-29), uno strumento che misura l'impatto fisico e psicologico della sclerosi multipla, è emerso un miglioramento della percezione degli effetti sulla vita quotidiana dei sintomi presenti dal punto di vista psicologico.

L'analisi della concentrazione di TNF e IL1-b rilasciato dai linfociti T ai diversi time-points verrà realizzata tramite test ELISA al raggiungimento di un adeguato numero campionario. Lo studio dell'attività sinaptica dei linfociti T presi al t1 sembra indicare che l'esercizio fisico sia in grado di indurre delle modifiche sull'attività sinaptica neuronale eccitatoria. Le indagini elettrofisiologiche sono tuttora in corso per ampliare la variabilità biologica in termini di numerosità di pazienti e stiamo valutando anche l'effetto dei linfociti T sull'ippocampo un'altra area cerebrale colpita dalla SM e coinvolta nei meccanismi cognitivi.

CONCLUSIONI

Sebbene non sia possibile trarre conclusioni sull'effetto dell'esercizio su parametri clinici di disabilità, plasticità sinaptica e funzione immunitaria, i dati neuropsicologici raccolti indicano un effetto benefico dell'esercizio sulla qualità della vita e lo stato di ansia. L'ulteriore reclutamento e la conseguente raccolta dati permetteranno nel breve termine di valutare l'impatto globale clinico dell'esercizio. Gli studi sul modello chimerico, tuttora in corso, suggeriscono un effetto dell'esercizio fisico sull'asse immuno-sinaptico e quindi il potenziale terapeutico dell'esercizio nei pazienti SMP.

The inflammatory synaptopathy as a target of exercise therapy in the fight against MS

INTRODUCTION AND AIMS

Multiple sclerosis (MS) is a chronic neurodegenerative autoimmune disease of the central nervous system. The pharmacological target in MS are T lymphocytes, cells of the immune system, which give rise to the autoimmune reaction that leads to neurodegeneration. Clinical and preclinical studies have shown that one of the mechanisms of neuronal death in MS is the so-called inflammatory synaptopathy, an alteration of the synaptic transmission caused by inflammation that occurs early in the brain areas responsible for cognitive, motor functions and emotional control. The inflammatory synaptopathy leads to neurodegeneration, but being a reversible phenomenon, it represents a potential therapeutic target. A chimeric model of incubation of T cells of MS patients with mouse neurons has highlighted that T cells cause inflammatory synaptopathy, thus revealing the relevance of therapies that interfere with the immune-synaptic axis. MS treat-

ment includes pharmacological and rehabilitative therapies. It has been demonstrated that exercise has beneficial effects in MS patients, improving the quality of life and clinical outcome, such as motor and cognitive functions. Nonetheless, the impact of the exercise on the disease, or its ability to modify the clinical course, and the mechanisms of synaptotoxicity are still unclear.

The hypothesis of this study is that exercise, by lowering the levels of inflammatory molecules released by T cells, may interfere with the mechanisms of toxicity triggered by inflammation on the synaptic transmission in the brain of MS patients, contributing to motor and cognitive recovery.

This project is a longitudinal study of MS patients to assess whether physical exercise is able to counteract inflammatory synaptopathy, thus promoting neuroprotection and functional recovery. The impact of exercise will be evaluated on several clinical outcomes, including motor disabili-

lity, mood, neurophysiological parameters and the levels of pro-inflammatory cytokines IL1-b and TNF released by T lymphocytes isolated from peripheral blood of MS patients at the beginning (t0) and at the end of rehabilitative program (t1) and after a follow up period (t2). Furthermore, taking advantage of the chimeric model of incubation of MS patients T cells on cerebral mouse slices, we will evaluate the effect of the exercise on inflammation and inflammatory synaptopathy induced by T lymphocytes.

RESULTS

Following a first phase of the study where we identified the MS population target, we started the recruitment of patients with the progressive form of MS (PMS). To date 16 PMS patients were recruited at the Neuromed Institute (Pozzilli). 13 patients (7 females, 6 males; aged 56 ± 10) completed the evaluations at t1 while only 6 patients completed also t2 assessments. The COVID-19 emergency caused a loss of the time-points of subjects recruited at the beginning of the study and the recruitment phase went through a drastic slowdown. The recent restart of clinical activities will allow the correct implementation of the objectives planned in the project. Further recruitments are still ongoing.

All recruited patients, who showed high compliance with the study, underwent a 3-hour/day rehabilitation program, 6 sessions/week for 4 weeks. Neurophysiological assessments are still incomplete, but neuropsychological evaluation denotes a beneficial effect of rehabilitation on quality of life and mood of patients with MS. The Multiple Sclerosis Quality of Life (MSQoL-54) test revealed that in the physical functioning, energy and perceived fatigue, significantly improved after the rehabilitation program in PMS patients. More generally, the evaluation of the perception of quality

of life was improved. In addition, the manual skill and the functionality of the dominant upper limb (9-HOLE) showed a significant improvement in performance.

Anxiety levels were assessed using the State-Trait Anxiety Inventory Form Y (STAI-Y). Perceived anxiety levels were significantly reduced in MS patients after rehabilitation.

The analysis of the Multiple Sclerosis Impact Scale (MSIS-29), a tool that measures the physical and psychological impact of MS, showed an improvement in the perception of the effects on daily life of the psychological symptoms.

The analysis of the levels of TNF and IL1-b released by T cells at the different time-points will be carried out by ELISA when an adequate sample size is reached. The study of T cell-mediated synaptic activity at t1 suggests that exercise is able to induce changes in the excitatory synaptic transmission. The electrophysiological investigations are ongoing to expand the biological variability in terms of physiological differences among subjects. Finally, we are also evaluating the effect of T lymphocytes on the hippocampus, a brain area involved in cognitive dysfunction in MS.

CONCLUSIONS

Although it is not possible to draw conclusions on the effects of exercise on clinical parameters of disability, synaptic plasticity and immune function, the neuropsychological data suggest a beneficial effect of exercise on quality of life and an improvement of anxiety state. The further recruitment and the consequent data collection will allow the evaluation of the global clinical impact of exercise. Studies on the chimeric model, still undergoing, suggest a beneficial effect of exercise on the immune-synaptic axis and therefore the therapeutic potential of exercise in PMS patients.



PUBBLICAZIONI E COMUNICAZIONI A CONGRESSI PUBLICATIONS AND CONGRESS PRESENTATIONS

- Stampanoni Bassi M, Iezzi E, Buttari F, Gilio L, Simonelli I, Carbone F, Micillo T, De Rosa V, Sica F, Furlan R, Finardi A, Fantozzi R, Storto M, Bellantonio P, Pirolo P, Di Lemme S, Musella A, Mandolesi G, Centonze D, Matarese G. Obesity worsens central inflammation and disability in multiple sclerosis. *Mult Scler.* 2020 Sep;26(10):1237-1246. doi: 10.1177/1352458519853473
- Centonze D, Leocani L, Feys P. Advances in physical rehabilitation of multiple sclerosis. *Curr Opin Neurol.* 2020 Jun;33(3):255-261. doi: 10.1097/WCO.0000000000000816
- Stampanoni Bassi M, Buttari F, Maffei P, De Paolis N, Sancesario A, Gilio L, Pavone L, Pasqua G, Simonelli I, Sica F, Fantozzi R, Bellantonio P, Centonze D, Iezzi E. Practice-dependent motor cortex plasticity is reduced in non-disabled multiple sclerosis patients. *Clin Neurophysiol.* 2020 Feb;131(2):566-573. doi: 10.1016/j.clinph.2019.10.023
- Freseghna 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. doi: 10.3390/cells9102290
- 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. doi: 10.3390/ijms21197336
 - Bruno A, Dolcetti E, Rizzo FR, Fresegna D, Musella A, Gentile A, De Vito F, Caioli S, Guadalupi L, Bullitta S, Vanni V, Balletta S, Sanna K, Buttari F, Stampanoni Bassi M, Centonze D, Mandolesi G. Inflammation-Associated Synaptic Alterations as Shared Threads in Depression and Multiple Sclerosis. *Front Cell Neurosci*. 2020 Jun 23;14:169. doi: 10.3389/fncel.2020.00169
 - Stampanoni Bassi M, Buttari F, Nicoletti CG, Mori F, Gilio L, Simonelli I, De Paolis N, Marfia GA, Furlan R, Finardi A, Centonze D, Iezzi E. Interleukin-1 β Alters Hebbian Synaptic Plasticity in Multiple Sclerosis. *Int J Mol Sci*. 2020 Sep 23;21(19):6982. doi: 10.3390/ijms21196982. IF: 4.556
 - Stampanoni Bassi M, Buttari F, Gilio L, De Paolis N, Fresegna D, Centonze D, Iezzi E. Inflammation and Corticospinal Functioning in Multiple Sclerosis: A TMS Perspective. *Front Neurol*. 2020 Jul 7;11:566. doi: 10.3389/fneur.2020.00566
 - Musella A, Fresegna D, Rizzo FR, Gentile A, De Vito F, Caioli S, Guadalupi L, Bruno A, Dolcetti E, Buttari F, Bullitta S, Vanni V, Centonze D, Mandolesi G. 'Prototypical' proinflammatory cytokine (IL-1) in multiple sclerosis: role in pathogenesis and therapeutic targeting. *Expert Opin Ther Targets*. 2020 Jan;24(1):37-46. doi: 10.1080/14728222.2020.1709823
 - Stampanoni Bassi M, Iezzi E, Drulovic J, Pekmezovic T, Gilio L, Furlan R, Finardi A, Marfia GA, Sica F, Centonze D, Buttari F. IL-6 in the Cerebrospinal Fluid Signals Disease Activity in Multiple Sclerosis. *Front Cell Neurosci*. 2020 Jun 23;14:120. doi: 10.3389/fncel.2020.00120
 - 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. doi: 10.3390/cells9051290
 - 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. doi: 10.3390/genes11101152
 - 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. doi: 10.3390/genes11101152
 - Kooij G, Troletti CD, Leuti A, Norris PC, Riley I, Albanese M, Ruggieri S, Libreros S, van der Pol SMA, van Het Hof B, Schell Y, Guerrero G, Buttari F, Mercuri NB, Centonze D, Gasperini C, Battistini L, de Vries HE, Serhan CN, Chiurchiù V. Specialized pro-resolving lipid mediators are differentially altered in peripheral blood of patients with multiple sclerosis and attenuate monocyte and blood-brain barrier dysfunction. *Haematologica*. 2020 Aug;105(8):2056-2070. doi: 10.3324/haematol.2019.219519

SM progressiva

Progressive MS



Sviluppo di un brevetto per nuovi modulatori di GPR17, un recettore chiave nei processi di rimielinizzazione



Maria Pia Abbraccio, Ivano Eberini*

Dipartimento di Scienze Farmaceutiche, Sezione di Farmacologia e Bioscienze "Simonetta Nicosia";

*Dipartimento di Scienze Farmacologiche e Biomolecolari, Università degli Studi di Milano, Milano, Italia

COLLABORATORI / COLLABORATORS

Marta Fumagalli, Chiara Parravicini, Dipartimento di Scienze Farmacologiche e Biomolecolari, Università degli Studi di Milano, Milano, Italia

Davide Lecca, Davide Marangon, Dipartimento di Scienze Farmaceutiche, Sezione di Farmacologia e Bioscienze "Simonetta Nicosia", Università degli Studi di Milano, Milano, Italia

PREMESSE E OBIETTIVI

I farmaci immunomodulatori sono efficaci nella terapia della sclerosi multipla recidivante-remittente ma non sono attivi nelle forme progressive della malattia, per la quale non è attualmente disponibile alcuna cura. Per le forme progressive sono in via di sviluppo strategie mirate alla riparazione del danno e alla ri-mielinizzazione. Nostri studi precedenti hanno riconosciuto il recettore di membrana GPR17, un attore cruciale nella transizione dei precursori oligodendrogliali a cellule mature mielinizzanti, come un bersaglio con un potenziale riparativo da perseguire per la cura delle forme progressive. Obiettivo di questo progetto è lo sviluppo di un brevetto dedicato a tre nuove famiglie chimiche di composti in grado di attivare GPR17 e di indurre mielinizzazione dei precursori oligodendrogliali.

RISULTATI

I dati sperimentali prodotti ci hanno permesso di ottenere la concessione di questo brevetto in Italia, Giappone, Cina e USA, Unione Europea, Israele e Corea. Alcuni dei composti selezionati si sono mostrati molto attivi, sia attivando GPR17 umano in saggi in colture cellulari sia inducendo mielinizzazione in un modello di colture miste di precursori oligodendrogliali e neuroni. Una molecola estremamente selettiva (nome di fantasia: Galinex) per GPR17, scelta come prototipo sulla base di studi farmacocinetici *in silico* ed *in vivo*, ha ritardato significativamente l'insorgenza della malattia nel modello sperimentale di riferimento per la sclerosi multipla (encefalomielite autoimmune sperimentale). In questo stesso modello, stiamo inoltre valutando

l'eventuale effetto sinergico di galinex, caratterizzato da attività protettiva della mielina, con fingolimod, farmaco immunomodulante di riferimento già in uso per il trattamento della sclerosi multipla.

In parallelo, abbiamo riconsiderato un database di composti molto numeroso (approssimativamente un milione di sostanze) generato negli anni precedenti sempre nell'ambito del progetto che ha dato origine a galinex, con lo scopo di sviluppare nuove molecole caratterizzate da originalità chimica, attraverso un'analisi di clustering e prioritizzazione chemoinformatica al computer. Prima di procedere con la sintesi chimica, abbiamo predetto il loro profilo farmacocinetico e la potenziale attività a livello del sistema nervoso centrale attraverso metodi di farmacocinetica computazionale. Le molecole più promettenti tra quelle selezionate, sono state sintetizzate e valutate nei saggi di riferimento su colture cellulari, nei quali si sono dimostrate molto attive sul recettore di nostro interesse, GPR17. Sulla base dei risultati ottenuti, abbiamo sviluppato un modello al computer di relazione quantitativa struttura-attività in grado di valutare molto velocemente l'attività di numerose altre molecole su GPR17, basandosi sull'analisi della struttura chimica. Per cercare di identificare quali delle molecole attive potranno essere portate avanti nello sviluppo, abbiamo applicato il metodo computazionale innovativo, SPILLO-PBSS, che è servito a stimare quale delle molecole valutate avesse meno probabilità di interagire con altri bersagli, oltre che con GPR17, cercando con questo di ridurre al minimo quelli che si definiscono effetti off-target e quindi potenzialmente tos-

sici, collaterali o inattesi. Questo metodo ci ha suggerito particolari decorazioni chimiche, la cui presenza sembra in grado di rendere le molecole molto selettive per GPR17. Abbiamo trovato almeno 15 delle 50 molecole originali idonee per essere testate nel modello sperimentale di SM, l'encefalomielite autoimmune sperimentale (ed eventualmente anche in altri modelli di mielinizzazione).

CONCLUSIONI

La dimostrazione dell'attività delle molecole di sintesi più promettenti in modelli sperimentali fornirà a UniMI/FISM un portfolio che includa brevetti di sintesi ed uso.

Al fine di valorizzare tale portfolio e trasferirlo in un ambito di ricerca più avanzato e clinico, nelle varie fasi di sviluppo del pacchetto preclinico, FISM - con il supporto dei ricercatori di UniMI - si sta occupando di contattare potenziali stakeholder e di coordinare un'attività di negoziazione del brevetto d'uso con venture capital dedicati proprio allo sviluppo di farmaci ri-mielinizzanti nella sclerosi multipla.

Inoltre, un'analisi di anteriorità brevettuale della nostra chemoteca ha permesso di identificare alcune molecole già descritte in letteratura come coinvolte nella modulazione di meccanismi molecolari in altre patologie.

Patent development of new modulators of GPR17, a key receptor in remyelinating processes

INTRODUCTION AND AIMS

Immunomodulating drugs are effective in the therapy of relapsing-remitting multiple sclerosis but not in the progressive forms of the disease, for which no treatment is presently available. Strategies aiming at damage repair and at re-myelination are currently being developed to address new therapies for the progressive forms. Our earlier studies recognized membrane receptor GRP17, a crucial player in the transition from oligodendroglial precursors to mature myelin-producing cells, as a target with a reparative potential on which to focus for the treatment of progressive forms. The goal of this project is the deployment of a patent devoted to three novel chemical families of molecules able to activate GPR17 and to induce myelination of oligodendroglial precursor cells.

RESULTS

The experimental data produced so far have led to the granting of a patent, awarded in Italy, Japan, China, USA, European Union, Israel and Korea. Some of the selected compounds appear very effective, both activating human GPR17 in cell culture assays and inducing myelination in mixed cultures of oligodendroglial precursors and neurons. An extremely GPR17 selective molecule (fantasy name: Galinex), chosen as a prototype on the ground of *in vitro* and *in vivo* pharmacokinetic studies, significantly delayed the onset of the disease when utilized in a reference experimental model of multiple sclerosis (i.e., experimental immune encephalomyelitis, EAE). In this model, we are currently evaluating a possible synergistic effect between galinex and the reference immunomodulatory drug fingolimod already in use for the treatment of multiple sclerosis.

In parallel to the above, we have re-screened a huge che-

mical database (containing approximately one million molecules) that had been produced earlier as part of the same project leading to Galinex. The aim was to develop novel, chemically original molecules, by means of *in silico* clustering analysis and chemoinformatic prioritization. Before carrying out their chemical synthesis, we predicted with computational procedures the pharmacokinetic profile and the potential activity of such molecules at the level of the central nervous system. The most promising selected compounds were then synthesized and tested in reference assays on cell cultures, in which they appeared very active on the receptor of our interest, i.e. GPR17. On the ground of the results we had obtained, we developed a quantitative structure-activity relationship model able to assess very rapidly the activity on GPR17 of several more molecules, making reference to their chemical structure. In order to try identifying which of the active molecules could be further developed, we applied the innovative method SPILLO-PBSS that helps evaluating which of the molecules being assessed has the least probability of interacting with targets other than GPR17, in an attempt to reduce to a minimum off-target, hence potentially toxic, collateral or unexpected effects. This approach suggested us specific chemical decorations whose presence seems to sharpen the affinity of the molecules for GPR17. We came up with at least 15 out of 50 original molecules eligible for testing in the EAE model (and possibly in other models of myelination).

CONCLUSIONS

This results will provide UniMI/FISM with a portfolio that includes patents of synthesis and use. In order to add value to such portfolio and to transfer it to a more advanced, clinically oriented environment through the different

steps of its development, FISM – with the support of scientists at UniMI – is contacting potential stakeholders and coordinating negotiation with venture capitals devoted to the development of re-myelinating drugs for multiple sclerosis.

In addition, the analysis of patent priority on our chemical databases allowed the identification of some molecules already described to be involved in the modulation of different molecular mechanisms in other pathologies.



PUBBLICAZIONI E COMUNICAZIONE A CONGRESSI / PUBLICATIONS AND CONGRESS PRESENTATIONS

- Lecca D, Raffaele S, Abbracchio MP, Fumagalli M. Regulation and signaling of the GPR17 receptor in oligodendroglial cells. *Glia*. 2020 Oct;68(10):1957-1967. doi: 10.1002/glia.23807
- Parravicini C, Lecca D, Marangon D, Coppolino GT, Daniele S, Bonfanti E, Fumagalli M, Raveglia L, Martini C, Gianazza E, Trincavelli ML, Abbracchio MP, Eberini I. Development of the first in vivo GPR17 ligand through an iterative drug discovery pipeline: A novel disease-modifying strategy for multiple sclerosis. *PLoS One*. 2020 Apr 22;15(4):e0231483. doi: 10.1371/journal.pone.0231483. eCollection 2020
- Capelli D, Parravicini C, Pochetti G, Montanari R, Temporini C, Rabuffetti M, Trincavelli ML, Daniele S, Fumagalli M, Saporiti S, Bonfanti E, Abbracchio MP, Eberini I, Ceruti S, Calleri E, Capaldi S. Surface Plasmon Resonance as a Tool for Ligand Binding Investigation of Engineered GPR17 Receptor, a G Protein Coupled Receptor Involved in Myelination. *Front Chem*. 2020 Jan 10;7:910. doi: 10.3389/fchem.2019.00910. eCollection 2019
- Coppolino GT, Marangon D, Negri C, Menichetti G, Fumagalli M, Gelosa P, Dimou L, Furlan R, Lecca D, Abbracchio MP. Differential local tissue permissiveness influences the final fate of GPR17-expressing oligodendrocyte precursors in two distinct models of demyelination. *Glia*. 2018 May;66(5):1118-1130. doi: 10.1002/glia.23305. Epub 2018 Feb 9
- Fumagalli M, Lecca D, Coppolino GT, Parravicini C, Abbracchio MP. Pharmacological Properties and Biological Functions of the GPR17 Receptor, a Potential Target for Neuro-Regenerative Medicine. *Adv Exp Med Biol*. 2017;1051:169-192. doi: 10.1007/5584_2017_92. Review
- Bonfanti E, Gelosa P, Fumagalli M, Dimou L, Viganò F, Tremoli E, Cimino M, Sironi L, Abbracchio MP. The role of oligodendrocyte precursor cells expressing the GPR17 receptor in brain remodeling after stroke. *Cell Death Dis*. 2017 Jun 8;8(6):e2871. doi: 10.1038/cddis.2017.256
- Boccazzi M, Lecca D, Marangon D, Guagnini F, Abbracchio MP, Ceruti S. A new role for the P2Y-like GPR17 receptor in the modulation of multipotency of oligodendrocyte precursor cells in vitro. *Purinergic Signal*. 2016 Dec;12(4):661-672. Epub 2016 Aug 20

Progetto speciale di ricerca FISM finanziato nel 2013 per l'ammontare di 401.805 €
FISM Research special project funded in in 2013 for an amount of € 401,805

Una biobanca e un laboratorio dedicati alla raccolta e alla distribuzione di campioni biologici di SMPP, alla replicazione e condivisione di dati e alla validazione di metodi biologici



Antonio Bertolotto

Neurologia -CRESM; Neuroscience Institute Cavalieri Ottolenghi (NICO), AOU San Luigi Gonzaga, Orbassano (TO), Italia

COLLABORATORI / COLLABORATORS

Fabiana Marnetto, Paola Valentino, Antonella Ficorilli

PREMESSE E OBIETTIVI

Nonostante i considerevoli investimenti nella ricerca clinica, pochi risultati di laboratorio si traducono nello sviluppo di nuovi farmaci. Questo è spesso dovuto alla scarsa riproducibilità dei dati pubblicati (per mancanza di rigore nella raccolta dei campioni biologici), alla insufficiente validazione dei metodi usati e alla limitata condivisione dei risultati.

La disponibilità di campioni biologici e di dati raccolti e conservati secondo rigorosi standard di qualità rappresenta una condizione fondamentale nel campo della ricerca biomedica e traslazionale, al fine di comprendere la patogenesi delle malattie, di identificare biomarcatori di diagnosi, prognosi e risposta ai trattamenti farmacologici. Per queste ragioni le biobanche rappresentano oggi un tassello fondamentale a supporto della ricerca clinica per il raggiungimento di questi obiettivi.

Il Centro di Riferimento Regionale per la Sclerosi multipla (CRESM) della AOU San Luigi Gonzaga di Orbassano (To), che ha in carico più di 2.000 pazienti affetti da SM ed altre patologie neuroimmunologiche, ha lavorato dal 2013 con il supporto di FISM per trasformare la collezione storica di campioni biologici e dati raccolti per scopi diagnostici e di ricerca in una biobanca strutturata, al servizio della ricerca sulla SM e su altre patologie neurologiche ed autoimmuni. Uno dei principali obiettivi del finanziamento 2020/S/5 è quello di promuovere l'importanza del biobancaggio fra i ricercatori ed i centri di ricerca che svolgono progetti finanziati dalla FISM, al fine di potenziare la ricerca sulla SM attraverso l'utilizzo di campioni biologici e dati raccolti e conservati in qualità.

RISULTATI

La Biobanca del CRESM (BB-CRESM) è una struttura no profit in gran parte sostenuta da FISM.

In accordo con le indicazioni dell'Infrastruttura di Ricerca Europea delle Biobanche e delle Risorse BioMolecolari (BBMRI-ERIC), le fasi per l'istituzione della BB-CRESM sono state: i) riconoscimento istituzionale nel gennaio 2020; ii) stesura del Regolamento che definisce le finalità, la struttura, la *governance* della Biobanca; iii) stesura dei documenti e delle procedure che riguardano gli aspetti etici, legali e sociali (ELSI) in linea con il Regolamento Generale per la Protezione dei Dati (GDPR, 679/16); iv) stesura del Manuale delle Procedure Operative Standard (SOP).

Il principale organo gestionale della BB-CRESM è il Comitato Scientifico, composto da un membro nominato dalla Direzione della AOU San Luigi Gonzaga, un neurologo con comprovata esperienza nella gestione di pazienti con SM, un rappresentante delle associazioni dei pazienti, un rappresentante degli enti che finanziano la biobanca. Il Comitato Scientifico gestisce e supervisiona tutte le attività della BB-CRESM, indica le linee d'indirizzo della biobanca, valuta i progetti di ricerca che richiedono l'utilizzo di campioni e dati conservati nella biobanca.

Il Direttore della BB-CRESM verifica che tutte le attività si svolgano in accordo con le linee d'indirizzo indicate dal Comitato Scientifico.

Il Responsabile della Qualità e il Responsabile del Materiale Biologico sono le figure che gestiscono l'attività quotidiana della biobanca, sotto la supervisione del Direttore: il contatto con i partecipanti, l'organizzazione della raccolta, del processamento, dello stoccaggio e del trasferimento dei campioni biologici e dei dati, il controllo di qualità, l'aggior-

namento continuo delle procedure operative.

I soggetti che partecipano alla BB-CRESM (pazienti affetti da SM o altre patologie neurologiche o autoimmuni o soggetti sani) svolgono un colloquio con il personale della biobanca e ricevono un foglio informativo nel quale vengono descritte nel dettaglio le finalità della biobanca, le modalità di partecipazione, le modalità di raccolta e conservazione dei campioni biologici e dati. Al termine del colloquio possono formalizzare la loro partecipazione alla BB-CRESM firmando il modulo di espressione del consenso informato. I campioni biologici e i dati associati conservati nella BB-CRESM possono essere distribuiti a centri di ricerca, università, istituzioni pubbliche o private che ne facciano richiesta per svolgere studi di ricerca nell'ambito della SM o di altre patologie neurologiche ed autoimmuni.

I ricercatori possono richiedere campioni e/o dati inoltrando al Direttore della Biobanca l'apposita richiesta. Campioni biologici e dati potranno essere distribuiti dalla BB-CRESM solo se: i) il progetto di ricerca è già stato approvato dal Comitato Etico competente; ii) il progetto di ricerca ha ricevuto parere favorevole da parte del Comitato Scientifico; iii) il ricercatore approva e firma il documento di accordo di trasferimento di campioni e dati con la biobanca (MDTA); iv) il ricercatore acconsente a comunicare alla Biobanca i dati grezzi ottenuti sui campioni; v) il ricercatore contribuisce alle spese di mantenimento della BB-CRESM.

A partire dal 2013 sono più di 1.000 i partecipanti che hanno aderito alla BB-CRESM (pazienti e soggetti sani); i campioni biologici conservati (sangue, siero, plasma, DNA, RNA, cellule del sangue, liquido cefalorachidiano, cellule del liquido cefalorachidiano) sono più di 15.000. Nell'anno

2020 circa 400 campioni sono stati richiesti e distribuiti a ricercatori di 2 università italiane e a ricercatori del CRESM. La BB-CRESM è stata incaricata dalla FISM di organizzare una rete di biobanche focalizzate sulla ricerca sulla SM fra i vari centri che sono stati finanziati dall'Associazione, con l'obiettivo finale di assicurare che tutti i campioni ed i dati utilizzati per svolgere studi finanziati da FISM vengano raccolti e conservati seguendo standard di qualità riconosciuti. La BB-CRESM sta lavorando per analizzare lo stato attuale delle modalità di raccolta e processamento dei campioni biologici impiegate nei vari centri SM. I dati ottenuti da questa analisi preliminare rappresenteranno la base per impostare la discussione e la condivisione di procedure e protocolli impiegati in diversi centri, per portare a una procedura comune standardizzata per la raccolta, il processamento, lo stoccaggio e il trasferimento di campioni biologici e dati.

CONCLUSIONI

Grazie al supporto di FISM la BB-CRESM è oggi la prima Biobanca strutturata interamente dedicata alla SM e ad altre patologie neurologiche ed autoimmuni, con l'obiettivo di raccogliere, conservare e distribuire campioni biologici e dati associati seguendo rigorosi criteri di qualità.

La BB-CRESM sta lavorando con il supporto di FISM per promuovere la nascita di una rete di biobanche al servizio della ricerca sulla SM, con l'obiettivo di garantire alla ricerca scientifica finanziata da FISM i massimi livelli di qualità nel rispetto dei diritti dei soggetti coinvolti.

I ricercatori possono contattare la BB-CRESM all'indirizzo biobanca.cresm@sanluigi.piemonte.it.

A bio-bank and laboratory dedicated to collection and supply of biological samples of PPMS for replication and sharing of data, as well as validation of biological methods

INTRODUCTION AND AIMS

Despite considerable investment in clinical research, very few laboratory results are transformed into drugs. Due to lack of rigor in the collection of biological samples, insufficient validation of the methods and limited sharing of data, research in MS suffers from poor reproducibility of data. Therefore, the availability of biological samples collected and stored following strict quality standards is a crucial tool in the field of biomedical and translational research to better understand disease pathogenesis, identify biomarkers of diagnosis, prognosis and track treatment

response. Biobanks are an indispensable tool to achieve these aims.

The Regional Reference Multiple Sclerosis Center (CRESM) at the University Hospital San Luigi Gonzaga, which provides comprehensive care for more than 2000 MS patients, has been operational since 2013 in transforming the reserve of biological samples into a structured biobank fully devoted to research in MS and other neurological and autoimmune diseases.

One of the main aims of this project is establishing the importance of biobanking among researchers and FISM

funded research centers involved in MS studies to facilitate research through the utilization of quality samples and data.

RESULTS

The CRESM Biobank (BB-CRESM) is a non-profit organization mainly supported by the Italian Multiple Sclerosis Foundation. BB-CRESM has been formally recognized by the University Hospital San Luigi Gonzaga (Orbassano, Turin, Italy) in January 2020.

According to guidelines by the “Biobanking and Biomolecular Resources and Research Infrastructure” (BBMRI), the steps for the BB-CRESM establishment were: Institutional commitment; Biobank management and staffing; Development of procedures to address ethical, legal, and social issues (ELSI), according to the General Data Protection Regulation (GDPR), in collaboration with a bioethicist. All technical procedures were included into the Standard Operating Procedures (SOP) Manual. The BB-CRESM governance includes the Scientific Committee, which comprises a member of San Luigi Hospital, a neurologist with a prolonged experience in MS treatment, an MS patient representative, and a representative of the main funders. The Scientific Committee oversees and manages all the activities of the BB-CRESM, and is also involved in evaluating research applications, ensuring community participation in the process. The Director of the BB-CRESM has the main responsibility of the proper functioning of the Biobank. The Quality manager and the Responsible of biological material are involved in the routine activity of the Biobank: contact with participants (MS patients or healthy subjects), daily management of biological samples and data (collection, processing, sharing), quality control of biological materials and data, update of the SOP Manual.

A detailed description of the biobank is explained in-person to each patient or healthy subject with the help of a leaflet; following which the informed consent is obtained. The Ethical Committee has approved both the leaflet and the informed consent model.

All samples and data stored in the BB-CRESM can be distributed to several research centers, universities, public or private institutions that may require them to perform research studies in the field of MS or other neurological or autoimmune diseases. Scientists can apply to the director of BB-CRESM specifying number, types and quantity of

required samples and data. The samples can be distributed if a) they are used for a research project approved by an Ethic Committee; b) the research project is approved by the Scientific Committee; c) the scientist signs the Material Transfer Agreement; d) scientist agrees to share the raw data with BB-CRESM e) scientist contributes to BB-CRESM collection and shipment expenses. Since 2013, more than 1,000 participants (healthy controls and MS patients) joined the BB-CRESM; over 15,000 samples of biological material (cerebrospinal fluid, serum, plasma, PBMCs, RNA and DNA) have been collected and stored. Since 2020, about 400 samples from healthy subjects and MS patients have been requested and used by researchers from 2 Universities in Italy and from CRESM researchers. BB-CRESM has been designated by FISM to organize a network of biobanks focused on MS research in order to ensure that scientific projects funded by FISM are performed using samples and data collected and processed following rigorous and standardized quality criteria. BB-CRESM is working to analyze the current status of samples collections among other MS centers involved in research projects funded by FISM. Data obtained by this analysis will be the basis for a future discussion and sharing of procedures and protocols between different centers, which could lead to the creation of guidelines for a common and standardized procedure of samples and data collection, storage and sharing.

CONCLUSIONS

Thanks to FISM support, BB-CRESM is now the first structured Italian biobank focused on MS research with aims to collect, store and distribute human biological samples and associated data following criteria of quality, organization and destination. The available samples and data could be shared among the broader European BBMRI infrastructure as well. BB-CRESM thus contributes to many and important MS research studies, based on samples and data collected in a structured and standardized manner, favoring data sharing and results reproducibility.

BB-CRESM will promote a network of biobanks focused on MS, in order to improve the excellence of FISM funded research at highest level of quality and respect of subjects involved.

MS researchers can contact BB-CRESM at: biobanca.cresm@sanluigi.piemonte.it.



PUBBLICAZIONI E COMUNICAZIONE A CONGRESSI / PUBLICATIONS AND CONGRESS PRESENTATIONS

- F. Marnetto, P. Valentino, C. Bava, F. Brescia, S. Martire, A. Bertolotto: "sNFL as a biomarker for routine management of MS patients: the role of disease-based biobank." Europe Biobank Week 2020: Awarded as best poster in the session "Disease-based biobanking: paving the way for improved clinical practice"
- A. Bertolotto, P. Valentino, M. Caldano, A. Ficorilli, A. Paudice, F. Marnetto "BB-CRESM: An institutional biobank to support quality research in Multiple Sclerosis" 51° SIN congress virtual edition, poster
- P. Valentino, F. Marnetto, S. Martire, C. Bava, M. Popovic, A. Bertolotto "Normal serum NFL levels: a proposal of cut-off strategy definition for the clinical practice", LB1219, Multiple Sclerosis Journal 2020; 26: (S3) 43-117
- P. Valentino, F. Marnetto, C. Bava, S. Martire, A. Bertolotto "Real-life experience with sNFL in multiple sclerosis patients, as monitoring and treatment decision biomarker". LB1220, Multiple Sclerosis Journal 2020; 26: (S3) 43-117
- A. Bertolotto, S. Malucchi, F. Marnetto, S. Martire, P. Valentino "Applicability of sNFL in multiple sclerosis as additional measure in clinical practice and implications in NEDA-3". LB1221, Multiple Sclerosis Journal 2020; 26: (S3) 43-117
- F. Marnetto, P. Valentino, M. Caldano, A. Ficorilli, A. Paudice, A. Bertolotto. "BB-CRESM: a structured institutional biobank for quality research in multiple sclerosis" LB1245, Multiple Sclerosis Journal 2020; 26: (S3) 43-117
- Bertolotto A., Valentino P., Martire S., Bava C.I., Popovic M., Marnetto F. "Normal serum NFL levels: a proposal of cut-off strategy definition for the clinical practice". 51° SIN congress virtual edition, oral presentation
- Bertolotto A., Marnetto F., Martire S., Bava C.I., Valentino P. "Real-life experience with sNFL in MS patients, as monitoring and treatment decision biomarker" 51° SIN congress virtual edition, oral presentation
- A. Bertolotto, S. Malucchi, F. Marnetto, S. Martire, P. Valentino "Applicability of sNFL in Multiple Sclerosis as additional measure in clinical practice and implications in NEDA-3 evaluation". Poster presentation 51° SIN congress virtual edition
- A. Bertolotto, M. Capobianco, A. Paudice, P. Zaratina, Foglia, F. Marnetto, P. Valentino "La Biobanca del CRESM: un servizio per potenziare la ricerca sulla Sclerosi Multipla". Webinar at European Biotech Week (EBW2020)
- P.Valentino "Real-life experience with sNFL in Multiple Sclerosis at CRESM: from cut-off values definition to application in the monitoring of MS patients". Invited speaker at Simoa Success Webinars 2020

Progetto speciale di ricerca FISM finanziato nel 2018 per l'ammontare di 249.600 €
FISM Research special project funded in 2018 for an amount of € 249,600

Trapianto di cellule staminali neurali in pazienti con sclerosi multipla: studio di fase I



Gianvito Martino

Unità di Neuroimmunologia, INSPE, Divisione di Neuroscienze, IRCCS Ospedale San Raffaele, Università Vita-Salute San Raffaele, Milano, Italia

On behalf of the components of the **STEM Trial**

PREMESSE E OBIETTIVI

La sclerosi multipla (SM) è una malattia infiammatoria cronica del sistema nervoso centrale caratterizzata da demielinizzazione e conseguente perdita assonale. Si distinguono diversi fenotipi clinici di malattia, corrispondenti a differenti meccanismi fisiopatologici. Il fenotipo recidivante-remittente si riscontra in circa l'80% dei pazienti con SM e, circa 2/3 di essi dopo 10-15 anni dall'esordio, si evolve nella forma secondariamente progressiva, caratterizzata da un lento accumulo di disabilità. Nel 20% dei casi, la SM presenta un decorso primariamente progressivo fin dall'esordio dei sintomi. Per le forme a ricadute e remissioni, caratterizzate da un'elevata attività infiammatoria, esistono numerosi trattamenti modificanti il decorso di malattia. Al contrario, per le forme progressive – in cui prevalgono fenomeni neurodegenerativi a fronte di una minima attività infiammatoria cronica – non sono attualmente disponibili strategie terapeutiche realmente efficaci. Il razionale per l'utilizzo di cellule staminali neurali fetali umane eterologhe (hNPCs) nella SM, si basa su evidenze che dimostrano la capacità di queste cellule di adattare il loro comportamento alle caratteristiche del microambiente del sistema nervoso centrale, promuovendo meccanismi di neuroprotezione e riparazione tissutale, strutturale e funzionale, attraverso diversi meccanismi. Le hNPCs sono infatti in grado di migrare nelle aree del sistema nervoso centrale interessate dal processo patologico, ove promuovono fenomeni di neurogenesi e gliogenesi. Inoltre, esercitano un'azione neuroprotettiva e immunomodulante, interagendo con astrociti e microglia, tramite il rilascio di molecole solubili.

STEMS è uno studio clinico di fase I volto a valutare fattibilità, sicurezza e tollerabilità della somministrazione intratecale, tramite rachicentesi, di dosi crescenti di hNPCs in pazienti adulti con SM progressiva (SMP), con la prospettiva di sviluppare un'innovativa strategia terapeutica.

RISULTATI

Il protocollo clinico STEMS

Nel protocollo STEMS sono stati arruolati 12 pazienti, divisi in 4 coorti di trattamento, ognuno dei quali ha ricevuto una singola dose di hNPCs a dosaggio crescente fra ciascuna coorte (da $0.7 \times 10^6 \pm 10\%$ cellule a $5.7 \times 10^6 \pm 10\%$ cellule pro-kilo). La sperimentazione clinica proposta è stata disegnata per valutare la sicurezza di un Investigational Advanced Therapy Medicinal Product e di procedure e trattamenti ad esso associati. Il potenziale rischio associato all'uso di una nuova tecnologia, alla procedura e al regime d'immunosoppressione, è ben bilanciato dal potenziale beneficio di una terapia innovativa per pazienti a cui non possono essere offerte altre opzioni terapeutiche. Dopo la firma del consenso informato e una fase di screening per valutare i criteri di inclusione/esclusione, i pazienti hanno iniziato il pre-trattamento immunosoppressivo con tacrolimus, associato ad adeguata profilassi antibiotica e antivirale, per prevenire il rigetto delle hNPCs, come previsto in caso di trapianti eterologhi. Prima dell'infusione, il paziente è stato trattato con prednisone - con lo scopo di ridurre il rischio di reazioni allergiche/infusionali - e, in assenza di controindicazioni, è stata eseguita l'infusione intratecale lenta delle hNPCs in regime ospedaliero. Ciascun paziente è stato strettamente valutato durante il follow-up di 96 settimane (13 visite) e dopo 8 settimane dalla chiusura del protocollo. Il monitoraggio clinico ha previsto visite neurologiche, controlli neuro-radiologici, Potenziali evocati multimodali e tomografia a coerenza ottica (OCT). Sono inoltre state effettuate, al baseline e 3 mesi dopo il trapianto, analisi del liquor e del plasma dei nostri pazienti, volte alla valutazione longitudinale dell'assetto proteomico, metabolomico e citochinico. Gli endpoint di sicurezza utilizzati per raggiungere l'obiettivo primario sono stati classificati in:

a) Endpoint a breve termine (0-24 ore) con lo scopo di

escludere rischi legati alla procedura, all'iniezione di cellule e ad eventuali reazioni allergiche (sopravvivenza globale, sicurezza generale e tollerabilità, cambiamenti nelle condizioni neurologiche non correlate alla malattia, percentuale di successo della procedura di somministrazione intratecale).

b) Endpoint a medio termine (giorno 1-14) con lo scopo di escludere la presenza di infezioni o lo sviluppo di tumori, rischi minimizzati grazie ad un'attenta preparazione e valutazione in vitro del prodotto medicinale secondo 'Good Manufacturing Practice' (sopravvivenza globale, sicurezza generale e tollerabilità, cambiamenti nelle condizioni neurologiche non correlate alla malattia).

c) Endpoint a lungo termine (settimana 2-96): sopravvivenza globale, sicurezza generale e tollerabilità, incidenza a lungo termine di tumori maligni, percentuale di soggetti con mortalità correlata al trattamento, valutazione della qualità di vita, cambiamenti nelle condizioni neurologiche. Dall'approvazione della sperimentazione clinica STEMS (05/2017) a oggi (02/2021), sono stati trapiantati tutti i 12 pazienti previsti. Nessun evento avverso acuto di grado ≥ 3 che potrebbe essere correlato alla somministrazione di hNPCs, alla procedura o alla somministrazione di immunosoppressivi è stato ad oggi registrato nei 12 pazienti trattati. Durante lo studio sono stati analizzati parametri biochimici, clinici, e neuroradiologici. Sono stati raccol-

ti campioni biologici per future indagini da effettuarsi a completamento del protocollo clinico.

CONCLUSIONI

Le cellule staminali neurali rappresentano una novità nelle neuroscienze rigenerative grazie al loro potenziale terapeutico. In particolare, studi preclinici e i più recenti studi su pazienti con patologie neurodegenerative, hanno aperto enormi speranze sul possibile impiego di queste cellule nella pratica clinica. Dai dati di sicurezza fino ad ora disponibili non emergono effetti collaterali di rilievo direttamente correlabili al trattamento con cellule staminali. Nel nostro studio, il monitoraggio dei pazienti trattati ha evidenziato la sicurezza del trattamento immunosoppressivo introdotto per favorire l'attecchimento delle cellule, e della via di somministrazione intratecale che pone le cellule staminali in un ambiente più fisiologico rispetto alla via endovenosa, con minori rischi di eventi avversi sistemici. Pur non potendo prevedere i possibili effetti terapeutici delle cellule staminali, questo studio fornisce importanti dati di sicurezza e metodologici per valutare la reale fattibilità della terapia cellulare nella SMP. Le evidenze cliniche ottenute e dati preliminari su un interessante rimodellamento proteomico e chitochinico liquorale, pongono le basi per futuri studi su più ampie casistiche di pazienti.

Neural Stem Cell Transplantation in multiple sclerosis patients: a phase I study

INTRODUCTION AND AIMS

Multiple sclerosis (MS) is a chronic, immune-mediated, inflammatory disease of the central nervous system (CNS), characterized by demyelination and consequent axonal loss. Three major forms of the disease, corresponding to different pathophysiological mechanisms, have been described: relapsing-remitting MS (RRMS) is found in about 80% of patients and, in 2/3 of them, after 10-15 years from the onset, it evolves into the secondary progressive MS (SPMS) characterized by a slow accumulation of disability. In about 20% of cases, MS has a primary progressive course from the onset of symptoms (PPMS). Although highly effective disease-modifying treatments (DMTs) are available for RRMS, characterized by highly inflammatory activity, treatments for subjects with progressive MS - in which neurodegenerative phenomenon prevail against a minimal chronic inflammatory activity - are mostly limited to symptomatic therapies. Human fetal Neural Precursor Cells (hNPCs) represent a valuable option in MS, leveraging their extensively pre-clinically assessed therapeutic

by-stander potential. Indeed, hNPCs are able to adapt their behavior to the CNS microenvironment, promoting neuroprotection and structural and functional tissue repair via different mechanisms. Since hNPCs show a pathotropism, migrating and homing to injured areas of the CNS, they promote neurogenesis and gliogenesis. Moreover, they exert neuroprotective and immunomodulatory properties, interacting with CNS infiltrating inflammatory cells, astrocytes and microglia through the release of soluble molecules, the so called "bystander" effect. The primary objective of the STEMS Trial was to evaluate the feasibility, safety and tolerability of intrathecally administered hNPCs in patients affected by progressive MS.

RESULTS

The STEMS clinical protocol

In the STEMS clinical protocol have been enrolled 12 subjects, divided in four treatment cohorts. Each cohort received a single escalating dose of cells, ranging from $0.7 \times 10^6 \pm 10\%$ cells to $5.7 \times 10^6 \pm 10\%$ cells/kg of body wei-

ght. The clinical study has been designed to evaluate the safety of an Investigational Advanced Therapy Medicinal Product, and its associated procedures and treatments. The potential risk associated to a new technology, procedure and immunosuppression regimen, is well balanced by the potential benefit of a innovative therapy for patients with no available effective therapeutic options. Patients that met inclusion criteria and signed the informed consent, started an immunosuppressive pretreatment with Tacrolimus, associated with adequate antibiotic and antiviral prophylaxis, to prevent hNPCs rejection, as expected in case of heterologous transplants. Before the infusion, patients were re-evaluated, treated with prednisone - with the aim of reducing the risk of allergic/infusion reactions - and, in the absence of contraindications, slow intrathecal infusion of hNPCs was performed in hospital. Follow up was conducted for 96 weeks after administration and clinical monitoring for survival, safety, tolerability and overall changes in the neurological status, was assessed through neurological examinations, MRI scans, Multimodal Evoked Potential and Optical Coherence Tomography studies. Further, longitudinal (before and three months after transplant) cerebrospinal fluid (CSF) and plasma analyses (proteins, metabolites and cytokines) were performed. The safety endpoints used to achieve the primary objective were classified into:

- a) Short term endpoint (0-24 hours) aimed to exclude risks related to the cell injection procedure and to allergic reactions to the medicinal product (global survival, general safety and tolerability, changes in neurological conditions not related to the disease percent of successful intrathecal infusion).
- b) Medium term endpoint (1-14 days) with the purpose to exclude the presence of infections due the non-sterility of the cell product, a risk very much minimized by the extensive in vitro examinations of the medicinal product, and tumor formation, risk minimized by the in vivo evidences obtained by infusion of supra maximal doses of cells in immunosuppressed mice (global survival, general safety and

tolerability, changes in neurological conditions not related to the disease).

- c) Long term endpoint (2-96 weeks): global survival, general safety and tolerability, long term incidence of malignant cancer, percent of subjects with mortality associated to the treatment, quality of life, changes in neurological conditions.

Since the approval of the clinical study STEMS (05/2017), all 12 planned patients received the treatment. Until now, no severe adverse reactions (grade ≥ 3), which could be related to the hfNPC administration, the procedure, or the immunosuppressive treatment, have been reported. The analysis of biochemical, clinical, and neuroradiological parameters is ongoing. Biological samples have been collected for future analysis.

CONCLUSIONS

Neural stem cells play a crucial role in CNS tissue repair and represent a novelty in regenerative neuroscience. The therapeutic potential of NSCs has been demonstrated in many preclinical studies, and several clinical trials are in progress for neurodegenerative diseases, opening new avenues to the therapeutic use of these cells in the clinical practice. From the safety data available up to now, there are no significant side effects directly correlated to stem cell treatment. Overall, the monitoring of treated patients highlighted the safety of the immunosuppressive treatment used to favor cell engraftment, and of the intrathecal route of administration, which places the stem cells in a more physiological environment than the intravenous route, with lower risks of systemic adverse events. Although reserving judgment on the therapeutic effects of stem cells, we conclude that the therapy is feasible, safe and tolerable. Based on those clinical evidences and acknowledging some interesting remodeling of the metabolic CSF profile of the subjects treated so far, we believe that a Phase II clinical trial on a larger cohort of subjects with a unique high dose of cells is worthy.



PUBBLICAZIONI / PUBLICATIONS

- Mozafari, L; Starost, L; Manot-Saillet, Blandine; Garcia-Diaz, B; Kang T. Xu, Y; Roussel, D; Levy, M.J.F.; Ottoboni, L; Kim K-P; Schöler, HS; Kennedy, TE; Antel, J. P. Martino, G; Angulo, M. C.; Kuhlmann, T; Baron-Van Evercooren, A. Multiple sclerosis iPS-derived oligodendroglia conserve their properties to functionally interact with axons and glia in vivo. *Science Advances* 04 Dec 2020: Vol. 6, no. 49, eabc6983
- Ottoboni L, von Wunster B, Martino G. Therapeutic Plasticity of Neural Stem Cells. *Front Neurol.* 2020 Mar 20;11:148. doi: 10.3389/fneur.2020.00148. eCollection 2020
- Butti E, Bacigaluppi M, Chaabane L, Ruffini F, Brambilla E, Berera G, Montonati C, Quattrini A, Martino G. Neural Stem Cells of the Subventricular Zone Contribute to Neuroprotection of the Corpus Callosum after Cuprizone-Induced Demyelination. *J Neurosci.* 2019 Jul 10;39(28):5481-5492. doi: 10.1523/JNEUROSCI.0227-18.2019. Epub 2019 May 28

Progetto speciale di ricerca FISM finanziato nel 2017 per l'ammontare di 560.000 €
FISM Research special project funded in 2017 for an amount of € 560,000

Verso nuovi trattamenti

Towards
new treatments



Uso della genetica per identificare bersagli terapeutici e selezionare composti in grado di modularli nella sclerosi multipla



Francesco Cucca

Dipartimento di Scienze Biomediche dell'Università degli Studi di Sassari, Istituto di Ricerca Genetica e Biomedica (IRGB) del Consiglio Nazionale delle Ricerche (CNR), Sassari

COLLABORATORI / COLLABORATORS

Edoardo Fiorillo, Matteo Floris, Laura Idda, Marco Masala, Mara Marongiu, Stefania Olla, Andrea Angius, Valeria Orrù, Mauro Pala, Clelia Peano, Maristella Pitzalis, Carlo Sidore, Maristella Steri, Magdalena Zoledziewska

COLLABORAZIONI CON ALTRI GRUPPI / COLLABORATIONS WITH OTHER GROUPS

Eleonora Cocco, *Università degli Studi di Cagliari e Responsabile del Centro SM Regionale all'Ospedale Binaghi, Cagliari, Italia*

Rachael Bashford-Rogers, *University of Oxford, UK*

Kylie James, *Sanger Center, Cambridge, UK*

Nicola Segata, *Laboratorio di Metagenomica Computazionale, Università degli Studi di Trento, Trento, Italia*

PREMESSE E OBIETTIVI

Il progetto ha lo scopo di delucidare il coinvolgimento dell'immunità mucosale nel processo patogenetico della sclerosi multipla (SM). Esso si basa su nostre evidenze preliminari che suggeriscono il coinvolgimento di specifiche cellule dell'immunità associate all'intestino (Gut-Associated Lymphoid Tissue, GALT) e di geni che ne regolano i livelli nel sangue periferico (cellule PB-GALT), nella patogenesi della SM. Il GALT rappresenterebbe il sito di espansione primaria di cellule autoreattive che, attraverso il circolo ematico, raggiungerebbero il sistema nervoso centrale provocando danni responsabili dell'insorgenza della SM.

Per chiarire le cellule specifiche implicate, il progetto prevede la caratterizzazione di sottotipi di cellule GALT mediante citofluorimetria policromatica, in individui della popolazione generale (coorte ProgeNIA), già profondamente caratterizzati geneticamente e, contemporaneamente, la raccolta di DNA da tutta la Sardegna per estendere la coorte di casi SM e controlli. Le analisi statistiche su tali dati identificheranno varianti genetiche associate all'insorgenza della SM e consentiranno di comprendere come controllano i livelli ematici delle cellule GALT e i fattori solubili nel sangue periferico.

Sono stati inoltre previsti esperimenti ed analisi per: i)

stabilire attraverso il sequenziamento dell'RNA i profili di espressione genica e la loro regolazione genetica (eQTL) nei tipi cellulari maggiormente correlati alla SM ii) valutare se le specie batteriche intestinali sono differenzialmente rappresentate in individui con elevati livelli di cellule GALT e con genotipi di predisposizione alla SM rispetto a individui con bassi livelli di cellule GALT e con genotipi di protezione alla SM. iii) in pazienti con SM alla diagnosi sequenzieremo il repertorio dei recettori dei linfociti B (BCR) e l'intero trascrittoma a livello di singole cellule nel Liquor Cefalorachidiano (CSF, liquor) e parallelamente il profilo del BCR tramite sequenziamento mirato ("targeted sequencing") nel sangue periferico: questo ci permetterà di verificare direttamente lo scambio di cloni di cellule GALT B tra il sangue periferico e il liquor e stabilire se in quest'ultimo esista un arricchimento di cloni di linfociti B provenienti dal GALT, a supporto del coinvolgimento di queste cellule nell'autoreattività alla base della SM. Il profilo dell'intero trascrittoma delle singole cellule nel CSF ci permetterà di identificare i marcatori specifici delle cellule con un ruolo primario nell'insorgenza della patologia.

RISULTATI

La pandemia da Covid-19 ha inciso sui tempi della ricerca,

rallentandone in quest'anno le attività in generale, ma soprattutto a quelle legate all'arruolamento dei pazienti SM. Per questo la caratterizzazione ad alta densità della coorte caso-controllo (4.000 pazienti SM e 5.000 controlli) mediante chip di genotipizzazione Illumina Global Screening Array (GSA) è ancora in corso.

Abbiamo focalizzato l'attività di ricerca alle analisi citofluorimetriche delle cellule dell'immunità mucosale portando a circa 4.000 individui (700 in più rispetto alla proposta progettuale) la quantificazione del profilo immunologico per le cellule B e per le cellule T helper follicolari (TFh) per un totale di 3.000 tratti immunologici. Sono stati attualmente analizzati 792 immunofenotipi riguardanti le conte cellulari (espressi in termini di conte cellulari o loro percentuali rispetto a tratti parentali e gran parentali) mediante GWAS. Sono state mappate 359 varianti genetiche ($p\text{-value} < 5 \times 10^{-8}$) in 130 loci indipendenti, per un totale di 1.225 associazioni tratto-variante genetica e 468 (59%) immunofenotipi coinvolti. Novantotto associazioni in 28 loci sono risultate sovrapposte con segnali già noti per tratti quantitativi o patologie complesse, in particolare 5 per la SM.

Nell'ambito delle molecole circolanti implicate nella regolazione del sistema immunitario e nell'insorgenza della sclerosi multipla, sono stati quantificati i livelli circolanti di tre molecole chiave quali il CD27, il CD40L e il CD40 su un campione di circa 3.500 individui. Abbiamo focalizzato la nostra attenzione su tali molecole in quanto la loro espressione è influenzata geneticamente da varianti di predisposizione per diverse patologie autoimmuni, inclusa la SM. È stata conclusa la raccolta di cellule mononucleate del sangue periferico (PBMC) da 300 volontari Progenia che

permetteranno la selezione e l'esecuzione di esperimenti RNAseq in specifiche cellule GALT maggiormente correlate alla SM. È invece tutt'ora in corso la raccolta di campioni di liquido cefalorachidiano (CSF) e PBMC di pazienti SM all'esordio della malattia (finora 12 arruolati), per la profilazione dell'intero trascrittoma e del repertorio BCR/TCR usando la tecnologia RNAseq a risoluzione di singola cellula (scRNAseq). Infine, riguardo l'analisi del microbioma, abbiamo completato l'estrazione del DNA da materiale fecale (con fondi provenienti da altri progetti) di 1.200 volontari e prevediamo di sequenziare i campioni entro i prossimi 6 mesi. Analisi funzionali (quali CRISPR-Cas9, saggi di luciferasi, RT-PCR, Western blotting) sono in svolgimento per chiarire il meccanismo biologico sottostante l'associazione dei geni CD40 e CD27 nella SM.

CONCLUSIONI

Con l'analisi condotta sui primi 792 tratti dell'immunità mucosale (dei 3.000 raccolti), abbiamo identificato 5 associazioni genetiche correlate sia con tratti dell'immunità mucosale che con l'insorgenza per la SM ed individuato dei geni i cui prodotti proteici rappresentano dei potenziali bersagli terapeutici. Poiché abbiamo determinato che l'ereditabilità familiare dei tratti è circa del 40%, con il completamento delle analisi confidiamo di trovare ulteriori associazioni genetiche che co-localizzano con la SM. Le altre analisi proposte invece, come lo studio cloni autoreattivi e del microbioma consentiranno di rinforzare i apporti di causa ed effetto rispetto all'insorgenza della malattia e apriranno nuove strade per la sua cura e prevenzione.

Genetic-driven druggable target identification and selection of modulating compounds in multiple sclerosis

INTRODUCTION AND AIMS

The molecular mechanisms involved in the pathogenetic process of multiple sclerosis (MS) are still unclear and largely unknown. This project proposes to elucidate them by studying the involvement of immunity associated with the intestine (Gut-Associated Lymphoid Tissue, GALT).

It represents the production site of self-reactive cells that, through the bloodstream, can reach the central nervous system causing MS onset and her progression. The project is based on our preliminary results that suggest the involvement of specific GALT cells, and genes that control their levels in peripheral blood (PB-GALT cells) in the MS pathogenesis. To clarify the specific cells involved, the project

foresees a three-year activity. In the first work package, it is planned to implement a detailed characterization of GALT cell subtypes by polychromatic cytofluorimetry, to quantify on serum a wide spectrum of rare molecules in individuals of the Progenia general population (already deeply characterized genetically), to extend case-control DNA collections from all over Sardinia and to genetically characterize them. Statistical analyses will identify both genetic variants that control the blood levels of GALT cells and blood-soluble factors and new loci of genetic overlap with MS.

Subsequently, experiments and analyses are planned to: i) establish through RNA sequencing the gene expression

profiles and their genetic regulation (eQTL) in the cell types most related to MS ii) assess whether intestinal bacterial species are differently represented in individuals with high levels of GALT cells and genotypes of MS predisposition compared to individuals with low levels of GALT cells and genotypes of protection to MS iii) in MS patients at diagnosis we will simultaneously sequence the B lymphocyte receptor repertoire (BCR) and the entire transcriptome at the level of individual cells in the CSF (Cerebrospinal fluid) and in parallel the BCR profile by targeted sequencing in the peripheral blood: this will allow us to directly verify the exchange of GALT B cell clones between peripheral blood and CSF and to determine whether there is an enrichment of B lymphocyte clones from GALT in the CSF to support the involvement of these cells in the self-reactivity underlying MS. The profile of the entire transcriptome of the single cells in the CSF will allow us to identify the specific markers of the cells that have a primary role in the onset of the disease. The cells and markers identified through the combination of all project's points, will constitute the specific therapeutic targets for compounds able to modulate them and at the same time will allow us to develop cellular assays to evaluate their effectiveness.

RESULTS

The health emergency caused by COVID-19 delayed the experimental activities, mostly those regarding the enrolment of MS patients and the characterization of the genotype of the case-control cohort (4,000 MS patients and 5,000 controls).

On about 4,000 ProgeNIA volunteers (700 more than those planned in the proposal), we profiled the mucosal immunity - B and follicular T helper (TFh) cells, for a total of 3,000 immunological traits- by cytofluorimetric analyses. Thus far, we analyzed 792 immunological traits (expressed as the number of the cells and ratio with respect to the respective parental populations) by GWAS. We mapped 359 genetic variants ($p\text{-value} < 5 \times 10^{-8}$) in 130 loci, for a total of 1,225 traits-genetic variant associations pairs and 468 (59%) with at least one associated variant. 98 as-

sociations in 28 loci were overlapping with GWAS signals, in particular 5 for MS.

Qualitative and normalization analyses of traits measured during the last two years were compared to previously acquired data, to ensure the necessary robustness of statistical results. Moreover, in the context of circulating molecules implicated in the regulation of the immune system and in the onset of multiple sclerosis, we have quantified the circulating levels of three key molecules such as CD27, CD40L and CD40 on a sample of about 3500 individuals. We focused our attention on these molecules because they are associated with genetic variants overlapping with autoimmune diseases GWAS signals, including MS. We collected PBMCs samples from 300 Progenia volunteers to be profiled with RNAseq in specific GALT cells correlated with MS. Regarding MS patients, we are collecting the liquor (CSF) and PBMCs at the onset before treatment (thus far 12 MS patients enrolled) to characterize the BCR/TCR repertoire and the exchange from peripheral blood, by using a combined approach of bulk and single cell sequencing (scRNAseq). To dissect the biological mechanism underlying the genetic association of the MS in the CD40 and CD27 loci, we are conducting functional analysis studies (such as CRISPR-Cas9, luciferase assays, RT-PCR, Western blotting).

CONCLUSIONS

With the analysis conducted on the first 792 mucosal immunity traits (of the 3,000 collected), we identified 5 genetic associations correlated with both mucosal immunity traits and MS onset and identified genes whose protein products represent potential therapeutic targets.

Since we have determined that the familial heritability of the traits is about 40%, with the completion of the analyses we are confident of finding further colocalizing genetic associations with MS. Other proposed analyses, such as the study of autoreactive clones and of the microbiome, will allow us to strengthen the cause and effect relationships with the onset of the disease and open up new strategies for its treatment and prevention.

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 Matarese¹, Luca Battistini²

¹Istituto 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

²IRCCS Fondazione Santa Lucia, Roma

COLLABORAZIONI CON ALTRI GRUPPI / COLLABORATION WITH OTHER GROUPS

Vincenzo Brescia Morra e **Roberta Lanzillo**, Dipartimento di Neuroscienze e Scienze Riproduttive 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 (IS), Italia

Claudio Gasperini, 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

PREMESSE E OBIETTIVI

Dati sperimentali dimostrano che sia il digiuno acuto che la restrizione calorica (RC) cronica sono in grado di migliorare l'encefalomielite sperimentale autoimmune (ESA), il modello animale di sclerosi multipla (SM), sia attraverso la riduzione dell'infiammazione che attraverso l'induzione della produzione di citochine neuroprotettive. Inoltre, dati recenti hanno mostrato che regimi alimentari associati alla rimozione di alimenti "pro-infiammatori" come il latte vaccino, i derivati del latte e il glutine, possono avere un impatto positivo su malattie autoimmunitarie, come le malattie infiammatorie croniche intestinali (IBD) ed il diabete giovanile autoimmunitario, cambiando la composizione del microbiota intestinale e riducendo l'infiammazione. Studi epidemiologici longitudinali hanno evidenziato un'aumentata incidenza di SM in popolazioni in cui si registra un alto consumo di prodotti a base di latte e derivati. Inoltre, in uno studio norvegese, sono stati rilevati anticorpi contro il glutine nel sangue dei pazienti affetti da SM con una maggiore frequenza rispetto a soggetti di controllo. A supporto di questi dati, infine, è stato anche riportato che una dieta priva di glutine durante la gravidanza è in

grado di prevenire lo sviluppo del diabete autoimmunitario in un modello animale di malattia. Molti di questi problemi possono essere ricondotti al mimetismo molecolare un fenomeno per cui le proteine di alimenti come il latte e il glutine sono simili a molecole dell'organismo e questa somiglianza può causare una cross-reattività che porta a disturbi autoimmunitari con rottura della tolleranza come nel caso della SM, la celiachia (CD) e la neuromielite ottica. Nonostante sia stato evidenziato che sia il digiuno acuto che la restrizione calorica cronica sono in grado di migliorare il decorso della SM in modelli animali di questa patologia, non sono stati mai condotti studi specifici nell'uomo volti a determinare a livello cellulare e molecolare il meccanismo d'azione della RC nel contesto della SM. Inoltre, ad oggi non esistono ancora dati sperimentali definitivi sull'effetto della rimozione di alimenti quali il latte vaccino e il glutine sul decorso della SM. Lo scopo del nostro progetto è quello di comprendere come la restrizione calorica sia in grado di controllare i meccanismi alla base della patogenesi della SM e con particolare attenzione ai processi che regolano la funzione delle cellule T regolatorie (Treg), una popolazione linfocitaria di "cellule senti-

nella" che hanno un ruolo nello sviluppo delle patologie autoimmunitarie.

RISULTATI

Lo studio ha come obiettivo principale quello di valutare l'effetto della restrizione calorica sull'andamento della SM, quindi, a tutti i pazienti arruolati sottoposti a trattamento con dimetilfumarato (DMF), è stata effettuata una visita nutrizionale per una completa valutazione del soggetto e, le nutrizioniste, sulla base di questi dati, hanno elaborato dei profili nutrizionali specifici e personalizzati al fine di ridurre l'introito calorico del paziente (restrizione calorica del 15-20 % rispetto alle calorie medie assunte normalmente) con o senza rimozione di alimenti altamente infiammatori quali il glutine e il latte vaccino. Dopo l'arruolamento è stato anche effettuato un prelievo ematico a tutti i pazienti per la valutazione della composizione e della percentuale delle diverse popolazioni del sistema immunitario e per lo studio del numero e della funzione delle cellule Treg. I pazienti vengono monitorati periodicamente dalle nutrizioniste tramite impedenziometria per la verifica dell'aderenza al protocollo nutrizionale e viene anche compilato un diario nutrizionale; essi effettuano un prelievo ematico ogni 6 mesi per valutare gli effetti della

modifica del regime alimentare sull'assetto immunometabolico.

Infine, questo studio aderisce al progetto Multiact per il coinvolgimento attivo dei pazienti con SM e delle figure coinvolte nello studio (nutrizioniste, neurologi, ricercatori, psicologi, etc) nella ricerca legata al progetto.

CONCLUSIONI

L'essenza della nostra idea è quella di migliorare l'andamento della SM e l'efficacia dei trattamenti farmacologici di prima linea (per esempio dimetilfumarato), modificando lo stato metabolico del paziente tramite restrizione calorica con o senza rimozione di specifici alimenti altamente antigenici (glutine/latte) con lo scopo di riequilibrare le risposte immunitarie/infiammatorie dei pazienti con SM. Questo progetto potrebbe aiutare ad acquisire nuove informazioni sulla patogenesi della SM e dovrebbe fornire le basi molecolari che spiegano, almeno in parte, la ragione della crescente prevalenza della SM negli stati più ricchi e sviluppati. Inoltre, i dati ottenuti da questo progetto potrebbero aiutare lo sviluppo di nuovi protocolli terapeutici basati su un approccio nutrizionale in grado di modulare la progressione e l'attività della SM.

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

Autoimmune diseases are disabling disorders that lead to the destruction of components and organs of our body due to the loss of immunological self-tolerance. For example, multiple sclerosis (MS) is characterized by destruction of the myelin that is responsible for the conduction of nerve impulses. The frequency of these pathologies appears to be constantly increasing in advanced and affluent societies, but the specific reasons are not fully understood and despite the great research progress, the mechanisms underlying the loss of immunological self-tolerance are not yet fully identified.

Experimental data show that both acute fasting and chronic calorie restriction (RC) are able to improve progression of experimental autoimmune encephalomyelitis (EAE), the animal model of MS, through the reduction of inflammation and the induction of neuroprotective cytokine production. In addition, recent data suggest that dietary

regimens associated with the removal of "pro-inflammatory" foods such as cow's milk and gluten may have a positive impact on autoimmune diseases, such as chronic inflammatory bowel disease (IBD) and autoimmune juvenile diabetes, changing the composition of the intestinal microbiota and reducing inflammation. Longitudinal epidemiological studies have shown an increased incidence of MS in populations with high consumption of milk-based products and derivatives. In addition, a Norwegian study reported the presence of antibodies against gluten in the blood of MS patients more frequently than in control subjects. Finally, it has also been reported that a gluten-free diet during pregnancy is able to prevent the development of autoimmune diabetes in an animal model of disease. Many of these reactions can be ascribed to molecular mimicry a phenomenon whereby the proteins of foods such as milk and gluten are similar to the body's molecules and this similarity can cause a cross-reactivity that

leads to autoimmune disorders with the break of immune tolerance as in the case of MS, celiac disease (CD) and optic neuromyelitis. Although, several disease-modifying drugs have been approved for MS treatments and have shown to reduce relapse rates by modulating immune responses, their impact on long-term disease progression and accrual of irreversible neurological disability remains largely unclear, underlining the need for novel therapeutic strategies.

Although it has been shown that both acute fasting and chronic caloric restriction (RC) are able to improve the course of MS in animal models of this pathology, no specific studies have been performed to dissect at the cellular and molecular level the mechanism of action of CR in the context of autoimmunity and MS.

Furthermore, to date, there are no experimental data on the effect of removal of foods such as cow's milk and gluten on the course of MS. The aim of our project is to understand how mild caloric restriction is able to control the mechanisms underlying the pathogenesis of MS with particular attention to the processes regulating the function of regulatory T (Treg) cells, a lymphocyte population of "sentinel cells" that play a key role in the development of autoimmune diseases.

RESULTS

The main objective of this study is the evaluation of the effect of caloric restriction on the progression of MS, therefore, the nutritionists performed a nutritional visit to each MS patient (starting dimethyl fumarate-DMF treatment) at the enrolment for a complete evaluation of the subject and, on the basis of these data, it has been developed a specific and personalized nutritional profile in order to reduce the patient's caloric intake (caloric restriction of

15-20% compared to the average calories normally consumed) with or without the removal of highly inflammatory foods such as gluten and cow's milk. After enrolment, it has been also performed a blood sampling from all patients to evaluate the composition and percentage of the different populations of the immune system and to study the number and function of Treg cells. Patients are monitored periodically by nutritionists by impedancemetry to verify adherence to the nutritional protocol and every 6 months is performed a blood sampling for the evaluation of the effects of caloric restriction on the immune-metabolic asset.

Finally, this study is 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 the research related to the project.

CONCLUSIONS

The essence of our idea is to improve the outcome of MS and the efficacy of first line drug treatments (i.e. dimethyl-fumarate) by altering the metabolic state of the host via calorie restriction with or without removal of specific highly antigenic foods (Gluten/milk) with the aim to re-equilibrate immune/inflammatory responses of MS patients. This project should help to obtain new information on the pathogenesis of MS and should provide the molecular basis explaining, at least in part, the reason for the growing prevalence of MS in the more developed countries. Furthermore, the data obtained from this project could help the development of new therapeutic protocols based on a nutritional approach able to modify the progression and activity of MS.



PUBBLICAZIONI / PUBLICATIONS

- 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
- 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 Dec;63(12):2699-2712
- 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 Dec 1;130(12):6261-6277
- 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, Matarese G. Immunometabolism and autoimmunity. *Curr Opin Immunol.* 2020 Dec;67:10-17
- 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
- de Candia P, Prattichizzo F, Garavelli S, Matarese G. T Cells: Warriors of SARS-CoV-2 Infection. *Trends Immunol.* 2020 Nov.
- Procaccini C, Matarese G. Where Mitochondria Meet Autoimmunity: The Treg Cell Link. *Cell Metab.* 2020 Oct 6;32(4):507-509
- 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 Murbrey Patient With Specific TRIM37 Mutations. *Front Immunol.* 2020 Sep 18;11:1742
- 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
- Vuotto C, Battistini L, Caltagirone C, Borsellino G. Gut Microbiota and Disorders of the Central Nervous System. *Neuroscientist.* 2020 Oct-Dec;26(5-6):487-502. doi: 10.1177/1073858420918826. Epub 2020 May 22
- Guerrera G, Ruggieri S, Picozza M, Piras E, Gargano F, Placido R, Gasperini C, Salvetti M, Busscarino 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. doi: 10.1212/NXI.0000000000000876
- Kunkl M, Amormino C, Frasca S, Sambucci M, De Bardi M, Caristi S, Arcieri S, Battistini L, Tuosto 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. doi: 10.3389/fimmu.2020.590964
- Di Rita A, Angelini DF, Maiorino T, Caputo V, Cascella R, Kumar M, Tiberti M, Lambrughini 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
- 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, Volume 24, Issue 5, 21 May 2021, 102492.* <https://doi.org/10.1016/j.isci.2021.102492>
- 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, deCandia 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

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

Vaccino con bacillo di Calmette Guerin nella sindrome radiologicamente isolata



Giovanni Ristori

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

LISTA DEI PARTECIPANTI AL PROGETTO / LIST OF THE PARTECIPANTS INVOLVED IN THE PROJECT

Giovanni Ristori, 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
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 importanti per i pazienti. Approcci sicuri che possono essere utilizzati dall'inizio (biologico) della malattia, senza importanti rischi di effetti collaterali, non sono ancora alla portata della comunità scientifica.

Il vaccino contenente Bacille Calmette-Guérin (BCG) può avere queste caratteristiche poiché è risultato avere un effetto benefico in pazienti con SM precoce e in soggetti con primo episodio demielinizante. Essendo sicuro, economico e di facile utilizzo, abbiamo proposto il suo uso per prevenire la progressione del processo demielinizante 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 of BCG and 50 una singola dose di placebo. I due gruppi saranno sottoposti alle seguenti procedure al 'baseline' e 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, ai mesi 6, 12, 24, 36.

L'end-point primario dello studio sarà il numero di lesioni "attive" in risonanza magnetica dell'encefalo durante il follow-up. L'end point secondario sarà il tempo di occorrenza del primo evento clinico durante i 3 anni di follow-up. Saranno anche ottenuti altri end-point secondari di risonanza magnetica dell'encefalo. Un'analisi multiparametrica 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

Dopo un ritardo iniziale dovuto alla mancata disponibilità del vaccino dalle fonti precedentemente utilizzate (Pasteur and Danish strains), è stato acquisito un ceppo polacco che ha consentito l'inizio dello studio a fine 2019.

La procedura, che ha comunque richiesto un tempo prolungato, è stata implementata in parallelo con l'identificazione di 20 Centri partecipanti al processo di reclutamento, che coprono l'intero territorio nazionale. Questo consentirà di ottimizzare il processo di reclutamento, per nulla scontato, considerando la rarità della condizione delle persone con RIS.

Il protocollo e la documentazione allegata è stata sottomessa e approvata da AIFA Osservatorio e dal Comitato Etico del PI. Il Centro del PI ha incluso attualmente 3 persone.

Il protocollo sarà presto sottomesso al Comitato Etico degli altri Centri identificati dopo la preparazione di un emendamento non sostanziale.

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 concern for the patients. 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 resulted beneficial in early MS and first demyelinating episodes. Being safe, cheap and handy, we propose to investigate its use to prevent progression of the demyelinating process in radiologically isolated syndrome (RIS: asymptomatic persons with brain MRI highly suggestive of MS; Okuda et al. 2009).

A multicentric, double-blind, placebo-controlled trial will be conducted in the context of the activity of the Center for Experimental Neurological Therapies (CENTERS - a special project by the Fondazione Italiana Sclerosi Multipla - FISM). We will randomize 100 persons with RIS according to Okuda criteria (Neurology 2009): 50 to receive a single dose of BCG and 50 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 (Galgani et al Diabetes 2013; Carbone et al. Nat Med 2014) 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 secondary endpoint will be the time to the first clinical event over the 3 years period. 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. Safety and feasibility of this approach will be assessed.

RESULTS

The start of the project was delayed because of the unavailability of the BCG vaccine just concomitantly to the project approval. After initial availability from the historical sources (Pasteur and Danish strains) of BCG vaccine, it became clear that the vaccine would not be accessible for experimental use. So we implemented in collaboration with the study CRO a research in European countries (to avoid long and expensive procedures to obtain the vaccine outside Europe) and a Polish firm was at last identified. While the anyway long procedure to obtain the Polish strain was implemented in collaboration with the CRO and AISM, a nationwide effort was carried out to include available MS Centers from Italy to recruit RIS people. That was an important step given the rarity of the condition under study. Currently twenty-one Centers were identified all over Italy. The dossier has been submitted and accepted to AIFA Osservatorio and the PI's Ethic Committee. The PI's Center has included 3 people.

The dossier is being submitted to the other Centers identified, after the preparation of a protocol's amendment.



PUBBLICAZIONI / PUBLICATIONS

- Ristori G, Faustman D, Matarese G, Romano S, Salvetti M. Bridging the gap between vaccination with Bacille Calmette-Guérin (BCG) and immu-

nological tolerance: the cases of type 1 diabetes and multiple sclerosis. *Curr Opin Immunol.* 2018 Dec;55:89-96

Progetto speciale di ricerca FISM finanziato nel 2017 per l'ammontare di 279.959 €
FISM Research special project funded in 2017 for an amount of € 279,959

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, Università degli Studi di Siena, Siena

COLLABORATORI / COLLABORATOR

Federica Ginanneschi, Daiana Bezzini, Pasquale Annunziata

COLLABORAZIONI CON ALTRI GRUPPI / COLLABORATION WITH OTHER GROUPS

Marco Capobianco, CDO neurologia, AOUS San Luigi, Orbassano (TO), Italia

Marco Salvetti, Università La Sapienza 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, Italia

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

Elio Scarpini, Fondazione Ca' Granda, IRCCS Ospedale Maggiore Policlinico, Milano, Italia

Luca Massacesi, Ospedale Universitario Careggi, Università degli Studi di Firenze, Firenze, Italia

Alessandra Lugaresi, UOSI Riabilitazione Sclerosi Multipla, Ospedale Bellaria, Bologna, Italia

Roberta Lanzillo Università degli Studi di Napoli Federico II, Napoli, Italia

Sauro Severi, Ospedale San Donato, Arezzo, Italia

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

Giuseppe Meucci, Presidio ospedaliero di Livorno, Livorno, Italia

Mario Falcini, Ospedale Misericordia e Dolce, Prato, Italia

Katrin Plewnia, Ospedale della Misericordia Grosseto, Grosseto, Italia

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

Nicola De Stefano, Dipartimento Scienze Mediche, Chirurgiche e Neuroscienze, Università di Siena, Siena, Italia

Cristina Frittelli, Ospedale Felice Lotti, Pontedera, Italia

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

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

Luisa Maria Caniatti, U.O. di Neurologia Azienda Ospedaliera universitaria S. Anna, Ferrara, Italia

Livia Pasquali, Dipartimento di Medicina sperimentale e Clinica Università degli Studi di Pisa, Pisa, Italia

Le persone con SM possono avere una maggiore suscettibilità alle infezioni rispetto alla popolazione generale a causa di alterazioni del sistema immunitario correlate all'uso di farmaci e al grado di disabilità. L'uso di farmaci immu-

nosoppressori e/o immunomodulanti richiede una certa attenzione sulla possibilità di eventi infettivi. Inoltre, alcuni agenti infettivi possono scatenare ricadute della malattia. Per questo motivo, la conoscenza dello stato di suscettibi-

lità 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. Considerate le gravi complicanze infettive associate all'uso di immunosoppressori usati per trattare la SM, sarebbe consigliabile l'adozione di specifici registri e database per raccogliere e valutare dati riguardanti la sicurezza in questi ambiti dopo l'approvazione dei farmaci. La sicurezza di molti vaccini nei soggetti 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 soggetti 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 della vaccinazione nel periodo di rischio definito. In particolare saranno considerate le vaccinazioni contro epatite A e B, morbillo, rosolia, parotite, varicella, difterite, tetano, pertosse, influenza stagionale, herpes zoster, meningococco e pneumococco. L'attività e la progressione

della SM saranno valutate prendendo in considerazione la presenza di ricadute o di progressione della disabilità entro 6 mesi dalla vaccinazione e utilizzando il tasso di ricadute annuo e il suo trend durante il periodo di studio.

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 soggetti 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 2021. 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, confermata a 6 mesi dal vaccino. Questi dati potrebbero far luce sulla relazione tra vaccinazione e SM, aggiungendo nuove informazioni sulla loro sicurezza.

Conoscere lo stato di immunizzazione è cruciale nella pratica clinica per la gestione dei nuovi farmaci modificanti la malattia e per la salute pubblica in generale, ed ha la finalità di porre l'attenzione su un'eventuale necessità di una campagna di vaccinazione mirata ai pazienti con SM.

Ad oggi, 22 Centri clinici hanno ricevuto l'approvazione allo studio da parte del rispettivo comitato etico ed iniziato l'arruolamento, mentre 3 sono in attesa di risposta.

È stata inoltre approvata dal comitato scientifico del Registro Italiano SM la richiesta di estrazione di dati riguardanti le caratteristiche anagrafiche e di malattia dei pazienti arruolati nello studio e già inseriti nel Registro.

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

Multiple sclerosis patients are maybe more susceptible to infections than the general population in relation to some specific therapies or increasing disability. The use of immunosuppressant or immunomodulatory drugs requires particular attention with respect to the possibility of occurrence of infectious events. Moreover, some infectious agents may

trigger exacerbations of the disease. So, the knowledge of overall susceptibility to infections in patients is necessary for therapeutic decision-making and to help policy makers 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 patients susceptible to infections, considering those unvaccinated or never exposed to natural infections. Concerning the severe infective complications associated with the immunosuppressant agents used to treat MS, the adoption of specific registries and databases to collect and evaluate infection/vaccine safety data after drug approval is advisable. The safety of most 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 on 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 of the relevance of vaccinations in the clinical practice.

The aim of the current project on MS patients is two-fold: 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. In particular, any vaccination against hepatitis A and B, measles, mumps, rubella, varicella, tetanus, diphtheria, pertussis, seasonal influenza, herpes zoster virus, meningococcal and pneumococcal bacteria will be considered. MS activity and progression will be assessed evaluating the occurrence of relapse or disability progression within 6 months from 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 MS subjects 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 2020 will be enrolled. Available data on natural immunization, expressed as specific serum antibodies 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 will be analyzed. The study follow-up period will be between 2 and up to 6 months following vaccination: the 2-month period is considered as 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 on their safety. The knowledge of the immunization status is crucial for the clinical practice in the management of the new disease modifying drugs (DMDs), and for the public health to establish the possible need of a vaccine campaign targeted to MS patients.

Currently, 22 MS centers have received ethics committee approval and started the enrollment of patients whereas 3 are waiting for a favorable opinion.

The Scientific Committee of the Italian MS Registry also 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.



PUBBLICAZIONI E COMUNICAZIONI A CONGRESSI / **PUBLICATIONS AND CONGRESS PRESENTATIONS**

- Bezzini D, Battaglia MA, Olivelli 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 per l'ammontare di 80.570,5 €
FISM Research special project funded in 2017 for an amount of € 80,570.5

Validazione e studio funzionale di varianti genetiche implicate nella risposta alla terapia con fingolimod



Federica Eva Esposito

Centro Sclerosi Multipla e Unità di Neuroriabilitazione, Laboratorio di Genetica Umana delle Malattie Neurologiche, Istituto di Neurologia Sperimentale, Ospedale San Raffaele, Milano, Italia

COLLABORATORI / COLLABORATOR

Laura Ferrè, Elisabetta Mascia, Melissa Sorosina, Silvia Santoro, Ferdinando Clarelli, Lucia Moiola, Vittorio Martinelli, Massimo Filippi

COLLABORAZIONI CON ALTRI GRUPPI / COLLABORATION WITH OTHER GROUPS

Giorgio Valentini, Dipartimento di Informatica, Università degli Studi di Milano, Milano, Italia

David Brassat, Béatrice Pignolet, Toulouse University Hospital, Toulouse, France

Philip De Jager, Columbia University, New York, USA

Nell'ultimo decennio abbiamo assistito a un significativo aumento delle terapie disponibili per i pazienti affetti da sclerosi multipla a ricadute e remissioni (SMRR). La risposta alle terapie è però altamente imprevedibile e variabile da paziente a paziente, rendendo difficoltosa la definizione del trattamento più adatto al singolo soggetto fin dalle primissime fasi della malattia. Ad oggi infatti la risposta ai farmaci per la SM viene valutata in corso di terapia sulla base della comparsa di nuovi sintomi e/o nuove lesioni alla risonanza magnetica nucleare (RMN). In questo contesto si inserisce la nostra ricerca farmacogenetica, che si propone di studiare il rapporto tra la componente genetica e la propensione a rispondere a un determinato trattamento. Tale approccio potrebbe portare ad un avanzamento nella gestione del paziente con SM, verso un'ottimizzazione della terapia, permettendo di definire se un paziente risponderà in maniera adeguata al farmaco scelto alla luce del suo profilo genetico. È importante considerare che approcci simili vengono già correntemente utilizzati nella terapia di alcuni tipi di tumore e permettono di personalizzare le cure sulla base delle caratteristiche individuali di ciascun paziente.

Un precedente studio condotto presso il nostro centro SM, sempre grazie al supporto di FISM, ha consentito di identificare dei marcatori genetici capaci di predire con buona accuratezza la risposta al trattamento con fingolimod partendo da una coorte di 255 pazienti con SMRR. Nello specifico i pazienti sono stati seguiti all'interno dello studio per 2 anni, al termine dei quali la risposta al trattamento è stata valutata considerando due diversi criteri

clinici: da un lato i pazienti sono stati suddivisi in responsivi e non responsivi alla terapia, alla luce del verificarsi di ricadute cliniche e/o dell'evidenza di lesioni attive alla RMN dell'encefalo eseguita durante i primi due anni di trattamento; il secondo criterio utilizzato era volto invece a valutare l'intervallo di tempo che intercorre tra l'inizio del trattamento e il verificarsi della prima ricaduta di malattia. Dopo aver classificato i pazienti abbiamo quindi valutato se vi fossero delle differenze genetiche tra i soggetti che rispondono al trattamento rispetto a chi presenta attività di malattia e attraverso un'analisi condotta su oltre 700.000 varianti genetiche distribuite su tutto il genoma abbiamo identificato degli ipotetici marcatori di risposta. Inoltre, grazie alla collaborazione con il Prof. Giorgio Valentini dell'Università degli Studi di Milano, abbiamo utilizzato un approccio di machine learning per costruire un modello di predizione di risposta alla terapia con fingolimod. Questo studio ci ha permesso di identificare due gruppi di marcatori genetici, rispettivamente costituiti da 22 e 48 marcatori, che permettono di determinare con elevata accuratezza quali pazienti risponderanno al trattamento e quali invece sono a rischio di presentare una riattivazione di malattia.

Alla luce dei risultati ottenuti nella prima fase dello studio abbiamo quindi sottoposto a FISM il presente progetto, che è la diretta continuazione del precedente, volto a confermare i risultati ottenuti in gruppi indipendenti di pazienti SMRR in terapia con fingolimod, anch'essi seguiti per 2 anni dall'inizio del trattamento. A tal fine abbiamo arruolato un secondo gruppo di 109 pazienti SMRR ita-

liani, seguiti presso il Centro Sclerosi Multipla dell'Ospedale San Raffaele di Milano; abbiamo inoltre creato una collaborazione con il Prof. Philip De Jager, della Columbia University di New York, che ha contribuito al progetto con 163 pazienti americani seguiti presso il Brigham and Women's Hospital (Boston, USA) e con il Prof. David Brassat, del Centro Ospedaliero Universitario di Tolosa (Tolosa, Francia), che ha contribuito con 108 pazienti SMRR francesi.

I dati clinici sono già stati raccolti e confermano l'efficacia della terapia con fingolimod; a 2 anni dall'inizio della terapia infatti circa l'85% dei pazienti non ha presentato ricadute cliniche e solo il 5% dei pazienti ha dovuto interrompere la terapia per inefficacia. È stata quindi effettuata l'analisi genetica della casistica di replicazione italiana, francese e americana. Le analisi definitive volte a validare i marcatori precedentemente individuati e a identificare potenziali nuovi marcatori sono ancora in corso. Una prima meta-analisi effettuata tra i pazienti italiani e quelli americani ha permesso di identificare due regioni

cromosomiche associate al tempo alla prima ricaduta. Tali segnali risultano significativi anche dopo la correzione per test multipli, facendo ritenere che si tratta di risultati attendibili. Nella fase successiva del progetto ci si propone di studiare dal punto di vista funzionale le varianti genetiche direttamente selezionate e le regioni cromosomiche coinvolte, al fine di definire meglio i meccanismi patogenetici coinvolti nel determinare la risposta a fingolimod, attraverso anche la valutazione del ruolo di fenomeni regolatori.

In parallelo stiamo lavorando per confermare l'affidabilità e riproducibilità dei 22 e 48 marcatori genetici precedentemente identificati nel distinguere i pazienti che più probabilmente risponderanno bene al farmaco rispetto a quelli che non risponderanno alla terapia. Se confermati, questo set di marcatori potrebbe essere utilizzato anche nella pratica clinica, per contribuire a identificare fin dalle fasi precoci di malattia quei pazienti che potrebbero maggiormente giovare del trattamento con fingolimod.

Validation and functional assessment of genetic variants implicated in the response to fingolimod treatment

In the last decade there was a dramatic increase in therapies approved for the treatment of relapsing remitting multiple sclerosis (RRMS). Nonetheless, response to therapy is highly heterogeneous and unpredictable, differing for patient to patient, and the identification of the more suitable drug for each patient since the early phase of the disease remains a challenging issue. In fact, as for now, the response to treatment is defined based on the evidence of new symptoms or active lesions at brain MRI performed during therapy. In this setting, pharmacogenetics, that is the discipline studying the relationship between genes and response to drugs, is an approach for optimizing treatment options. The research in this field could in fact allow an improvement in the management for MS patients, identifying patients more likely to respond to a specific drug based on their genetic background. Of note, similar approaches are already applied to cancer treatment, allowing a more personalized approach based on individual patient's characteristics.

In a previous study performed at our MS center thanks to the financial support of FISM, we applied a pharmacogenomics approach to identify genetic markers that predict with good accuracy the response to fingolimod treatment in a set of 255 RRMS patients. Specifically,

we followed the patients for 2 years and at the end of this observation period treatment response was evaluated considering two different criteria: first, we classified patients in responders and non-responders based on the evidence of clinical relapses and/or active lesions at the brain MRI performed during the 2-year follow-up; second, we considered the interval of time between the treatment start and the occurrence of the first clinical relapse. After classifying patients according to these criteria we assessed the presence of genetic differences between patients with a good response to drug and patients that showed persistent disease activity despite therapy; thanks to this approach that evaluated more than 700,000 genetic variants distributed along the entire genome, we identified some promising genetic markers of responses. Moreover, thanks to the collaboration with Prof. Valentini, from the University of Milan (Milan, Italy), we also applied a machine learning approach to build a predictive model of response to fingolimod treatment. This approach led to the identification of two sets of genetic markers, based on 22 and 48 markers respectively, that yield high accuracy in predicting patients that respond to therapy and patients that do not.

Based on these results, we decided to present the cur-

rent project to FISM, that is the direct continuation of the previous one, aimed to confirm the observed results in independent cohorts of RRMS subjects, treated with fingolimod and followed for 2 years from treatment start. For this purpose, we enrolled an independent group of 109 Italian RRMS patients followed at the MS center of the San Raffaele Hospital (Milan, Italy); moreover we started a collaboration with Prof. Philip De Jager, from the Columbia University, who contributed with 163 American RRMS patients followed at the Brigham and Women's Hospital (Boston, USA), and with Prof. David Brassat from Toulouse University Hospital (Toulouse, France), who contributed with 108 French patients.

Clinical data confirm the efficacy of fingolimod treatment with 85% of patients free from clinical relapses at 2 years and only 5% of patients discontinuing the drug due to lack of efficacy. The genetic assessment has been performed for all the three replication cohorts and the genetic analyses aimed to validate the markers previously selected and

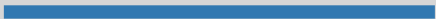
to identify potential new predictive markers are ongoing. A meta-analysis involving the Italian and American cohorts led to the identification of two interesting signals associated with the time to first relapse; of note, these signals are significant also after correction for multiple testing. The following part of the project is aimed to perform functional experiments on the variants selected from the genetic study, in order to define the mechanisms involved in the response to fingolimod and to assess also the role of regulatory mechanisms.

In parallel we are currently testing the two sets of 22 and 48 genetic markers in the replication cohorts, to verify their accuracy and reproducibility in identifying patients that will respond to fingolimod treatment. If confirmed, these markers could be used in the clinical setting, in order to contribute to identify those patients that would benefit more from fingolimod therapy since the early phases of the disease.



Progetto speciale FISM finanziato nel 2019 per l'ammontare di 84.000 €
FISM Special project funded in 2019 and the amount of € 84,000

DATA SHARING



Registro Italiano sclerosi multipla

Italian Multiple
Sclerosis Register



Indice / Index

REGISTRO ITALIANO SCLEROSI MULTIPLA 126

MULTIPLE SCLEROSIS ITALIAN REGISTER

Progetti terminati / Ended projects

EPIDEMIOLOGIA DESCRITTIVA / DESCRIPTIVE EPIDEMIOLOGY 128

Paola Mosconi 128

Valutazione della progressione della disabilità, non correlata a riacutizzazione, utilizzando "EDSS roving" verso "EDSS basale": una validazione real world attraverso i dati del Registro Italiano SM

The use of a roving EDSS reference value to enhance detection of EDSS worsening events:
A real world evaluation through the Italian MS Register

Maria Trojano 131

INTEREST. Verso la definizione di sclerosi multipla secondariamente progressiva:
uno studio del Registro Italiano SM

INTEREST: Italian Multiple Sclerosis Registry non interventional retrospective analysis in secondary progressive MS

OTTIMIZZAZIONE DELLE TERAPIE / THERAPY OPTIMIZATION 135

Maria Pia Amato 135

Valutare l'efficacia e la sicurezza dei trattamenti nella SM progressiva
Assessing efficacy and safety of treatments in progressive MS

Damiano Paolicelli 138

Studio di coorte acquisita retrospettivamente sulla valutazione dell'impatto nel lungo termine di differenti strategie terapeutiche su outcomes di disabilità nella SM remittente.

Registro Italiano iMedWeb. Studio RE.LO.DI.MS

Retrospective study to evaluate the long-term impact of different treatment strategies on disability outcomes in patients with relapsing multiple sclerosis. Italian iMedWeb MS Registry. RE.LO.DI.MS Study

Maria Trojano 141

Delineare le scelte di trattamento nella SM durante due epoche diverse: una valutazione della pratica clinica utilizzando il Registro Italiano SM

Profiling treatment choices in MS during two different eras: a real world assessment in the Italian MS Registry

Francesco Patti 144

Studio pilota retrospettivo sugli effetti a lungo termine di Cladribina in pazienti affetti da sclerosi multipla recidivante remittente o sindrome clinicamente isolata.

Retrospective pilot study on long-term Cladribine effects in patients with relapsing remitting multiple sclerosis or clinically isolated syndrome

Diana Ferraro 147

Rischi associati alla durata del wash-out nel passaggio da fingolimod a farmaci depletivi

Risks associated with wash-out duration when switching from fingolimod to cell-depleting agents

Maria Trojano 150

INSPIRA - Analisi del Registro Italiano di Sclerosi Multipla per studiare il concetto di progressione indipendente dall'attività di ricaduta

INSPIRA - Italian analysis of the National multiple sclerosis registry Studying the concept of Progression Independent from Relapse Activity

Maria Trojano	154
Confronto tra un algoritmo di trattamento basato su un approccio terapeutico aggressivo rispetto alla classica terapia di escalation nella sclerosi multipla recidivante	
Early-aggressive treatment algorithm versus classical escalation therapy in relapsing multiple sclerosis	
Marzia Romeo	158
Fattori predittivi di progressione di disabilità in un'ampia coorte italiana di pazienti affetti da sclerosi multipla	
Predictive factors of disability progression in a large cohort of italian multiple sclerosis patients	
FORME RARE DI SM / RARE FORMS OF MS	161
Maria Pia Amato	161
E-MUSIC: Early MULTiple Sclerosis Italian Cohort	
E-MUSIC: Early MULTiple Sclerosis Italian Cohort	
Damiano Baroncini	164
Valutare il decorso clinico della sclerosi multipla a esordio pediatrico in ere differenti di trattamento: stiamo davvero modificando la malattia?	
Assessing the clinical course of pediatric onset multiple sclerosis in different treatment eras: are we really modifying the disease?	

Il Registro Italiano della Sclerosi Multipla è realizzato con il contributo di FISM, 5permille e donazioni, e delle aziende:

The Italian Multiple Sclerosis Registry is supported by the contribution of FISM, the Italian "5x1000" Income tax, donations, and the following companies:



Registro Italiano Sclerosi Multipla

Il Registro Italiano Sclerosi Multipla è uno dei Progetti Speciali di punta della ricerca sostenuta da AISM e dalla sua Fondazione che è stato avviato con 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.

Nel 2015 è stata ufficialmente lanciata una Unità di ricerca specifica per il Registro Italiano SM, nata sulla base di un Accordo di Programma firmato nel 2014 tra FISM e l'Università degli Studi di Bari (centro coordinatore del più grande database clinico italiano sulla SM).

Oltre 154 Centri Clinici Italiani hanno aderito al progetto e ad oggi, il Registro Italiano SM raccoglie i dati demografici e clinici di oltre 70.000 persone seguite dai Centri clinici italiani. È dunque pronto a diventare un vero strumento di ricerca scientifica che può essere utile per lo sviluppo di studi epidemiologici e clinici e di programmazione sanitaria.

I dati del Registro Italiano Sclerosi Multipla saranno utili per promuovere l'equità di accesso alle cure confrontando le pratiche assistenziali dei diversi centri nonché studiare/valutare politiche assistenziali di carattere nazionale e locale.

Il Comitato scientifico del Progetto Registro Italiano SM ha individuato due linee di ricerca strategica prioritarie:

1. PROGETTI IN SANITÀ PUBBLICA

Necessità di impostare un censimento universale dei pazienti che venga 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 e valutazione dell'assistenza sanitaria sul territorio italiano.

2. PROGETTI DI RICERCA

Necessità di raccogliere informazioni utili per la pianificazione di studi di ricerca per specifiche progettualità. In particolare studi di farmacovigilanza volti a identificare sicurezza, tollerabilità ed efficacia associata nel breve e lungo termine ai trattamenti immunosoppressivi e immunomodulanti, nonché studi su fattori prognostici e biomarcatori relativi alla progressione di malattia, alla risposta al trattamento e alla mortalità.

La linea strategica dei Progetti di Ricerca comprende 3 aree di studio principali:

Epidemiologia descrittiva

Studia la frequenza, la distribuzione e i determinanti della SM nella popolazione.

Ottimizzazione della terapia

Studio e analisi delle terapie SM. Comprende tre ambiti di lavoro:

- Analisi sulle terapie
- Progetti specifici
- Fattori prognostici e modelli predittivi di risposta alla terapia

Forme rare di SM

Incentrato su diverse forme SM: forme benigne, RIS, CIS, PP, SM a esordio pediatrico, forme aggressive

Attualmente sono stati attivi 38 progetti sulle tre aree principali della linea strategica di ricerca.

Di seguito riportiamo una sintesi dei progetti terminati nel 2020.

Italian Multiple Sclerosis Register

The Italian Multiple Sclerosis Registry is one of the main Research Special Projects supported by AISM and its Foundation, which was launched with the aim of creating a multicentric organized infrastructure to collect the data of all patients with multiple sclerosis followed in the various multiple sclerosis (MS) centers in Italy. In 2015 a specific Research Unit was launched for the Italian SM Registry, established on the basis of a Program Agreement signed between the Italian MS Foundation (FISM) and the University of Bari (coordinating center of the largest Italian MS clinical database) in 2014. Over 154 Italian clinical centers have joined the project and to date, the Italian SM Registry collects demographic and clinical data of over 70,000 people followed by Italian clinical centers.

Data from the Italian Multiple Sclerosis Registry will be useful to promote the equity of access to care by comparing the welfare practices of the different Centers and to study / evaluate national and local welfare policies.

The Scientific Committee of the Italian Register SM Project has identified two strategic research priorities:

1. PROJECTS IN PUBLIC HEALTH

Need to set up a universal census of patients that is systematic and continuous update, in order to obtain accurate estimates of prevalence and incidence of the disease at regional and national level for the pursuit of prevention, diagnosis, treatment, health planning, verification of the quality of care and assessment of health care in Italy.

2. RESEARCH PROJECTS

Need to gather useful information for the planning of research studies for specific projects. In particular, pharmacovigilance studies aimed at identifying the safety, tolerability and efficacy associated, in the short and long term, with immunosuppressive and immunomodulatory treatments, as well as studies on prognostic factors and biomarkers related to disease progression, response to treatment and mortality.

The strategic research projects priorities include 3 main areas of study:

Descriptive epidemiology

Studies the frequency, the distribution and the determinants of MS in populations.

Therapy optimization

Study and analysis of MS therapies. Includes three areas of work:

- Analysis of therapies
- Specific projects
- Prognostic factors and predictive models of therapy response

Rare forms of MS

Focus on the different MS forms: benign forms, RIS, CIS, PP, paediatrics MS onset, aggressive forms

Currently 38 Projects have been active on the three main areas of the strategic research line. Below is a summary of the projects completed in 2020.

Valutazione della progressione della disabilità, non correlata a riacutizzazione, utilizzando "EDSS roving" verso "EDSS basale": una validazione real world attraverso i dati del Registro Italiano SM



Paola Mosconi

*on behalf of the Italian Multiple Sclerosis Register Centers Group, and the Scientific Committee of Italian Multiple Sclerosis Register
Istituto di Ricerche Farmacologiche Mario Negri IRCCS, Milano*

COLLABORATORI / COLLABORATORS

Vito Lepore, Cristina Bosetti, Claudia Santucci *Istituto di Ricerche Farmacologiche Mario Negri IRCCS, Milano*

COLLABORAZIONI CON ALTRI CENTRI / COLLABORATIONS WITH OTHER CENTERS

Pietro Iaffaldano, Maria Trojano, *Centro SM Dipartimento di Scienze Mediche di Base, Neuroscienze ed Organi di Senso Università di Bari, Bari*

PREMESSE E OBIETTIVI

Questo studio retrospettivo basato sui dati del progetto Registro Italiano Sclerosi Multipla ha rappresentato una delle opportunità per analizzare i dati raccolti dimostrando quindi quanto questo tipo di raccolta dati, standardizzato e multicentrico, sia utile per raccogliere e restituire significative informazioni alla comunità dei ricercatori e dei clinici, e quindi dei pazienti. Tutto il campione disponibile è stato considerato per l'analisi, al momento dell'analisi relativo a 55.000 soggetti con sclerosi multipla (SM).

Nella pratica clinica e nella ricerca clinica, la disabilità delle persone con SM viene misurata attraverso un approccio standardizzato utilizzando il sistema EDSS, Expanded Disability Status Scale. Nel Registro Italiano Sclerosi Multipla una valutazione con EDSS ogni 6 mesi (24 settimane) è considerata uno standard di riferimento.

La prevenzione della disabilità e la gestione dei cambiamenti della disabilità sono obiettivi molto importanti sia per la pratica clinica sia per la ricerca clinica. Recentemente la letteratura scientifica ha suggerito che i termini "peggioramento" e "progressione", in riferimento a variazioni della disabilità misurate con EDSS, debbano essere distinti. Con il termine "peggioramento" si descrive un aumento

della disabilità dovuto a ricadute, mentre il termine "progressione" è riservato ad un aumentare progressivo della disabilità non correlato a una ricaduta.

Utilizzando i dati disponibili nel database del Registro Italiano Sclerosi Multipla questo progetto ha portato a convalidare le analisi relative alle misure di progressione della disabilità non correlate alla ricaduta utilizzando le variazioni dell'EDSS. Come proposto nell'articolo di riferimento di Kappos et al, sono stati analizzati i valori di EDSS facendo riferimento sia ai valori "basali" sia ai valori "roving (nomade)" che ripristinano il punteggio di riferimento dopo una conferma di 24-48 settimane di un nuovo punteggio. Nello studio, sono stati considerati i pazienti con valutazione EDSS almeno ogni 6 mesi e un follow-up di almeno due anni. La coorte ha incluso i pazienti con SM recidivante-remittente (SMRR).

RISULTATI

I pazienti con sclerosi multipla recidivante-remittente con almeno tre punteggi EDSS a intervalli di sei mesi (+/- 90 giorni) sono stati considerati nell'analisi insieme alle seguenti variabili: anno all'inclusione nel registro, data di nascita, sesso, data di insorgenza della malattia, informazioni

su tutte le recidive riportate, punteggi EDSS, date di inizio e fine di tutti i trattamenti modificanti la malattia (DMT). I pazienti nella coorte finale hanno accumulato anni-persone di follow-up a partire dalla data di ingresso nella coorte - cioè dalla prima valutazione EDSS - fino alla prima data tra gli eventi di interesse: progressione a sclerosi multipla progressiva secondaria (SPMS), interruzione della valutazione EDSS (definita come un intervallo di nove o più mesi tra due valutazioni), morte o interruzione del follow-up. In accordo ai criteri di inclusione, la coorte dello studio ha compreso un totale di 7.964 pazienti con sclerosi multipla recidivante remittente seguiti per due o più anni, con punteggi EDSS registrati ogni sei mesi. I dettagli delle analisi e dei risultati ottenuti sono stati pubblicati sulla rivista *European Journal of Neurology*. Utilizzando un riferimento EDSS "basale", la probabilità cumulativa di eventi di peggioramento della disabilità confermati complessivamente a sei anni è stata del 33,2%; quella degli eventi non correlati alla ricaduta è stata del 10,9% (33% degli eventi di peggioramento della disabilità complessivamente confermati). Utilizzando un EDSS "roving (nomade)" le proporzioni erano rispettivamente del 35,2% e del 21,3% (61% degli eventi di peggioramento della disabilità complessivamente confermati).

Le analisi della probabilità cumulativa a sei anni di peggioramento complessivo, utilizzando un riferimento EDSS "roving (nomade)" in accordo alle caratteristiche basali dei pazienti, hanno indicato che gli eventi erano più frequen-

ti nei pazienti più anziani rispetto a quelli più giovani, in quelli con un punteggio EDSS basale ≥ 2 rispetto a quelli con un punteggio inferiore e in quelli con una durata della malattia più lunga rispetto a quelli con una più breve.

CONCLUSIONI

Questo studio condotto in un contesto di pratica reale come quello del Registro Italiano Sclerosi Multipla, conferma che un riferimento "roving (nomade)" per la valutazione EDSS è più accurato del punteggio EDSS "basale" per rilevare la progressione della disabilità confermata non correlata alle recidive nei pazienti con sclerosi multipla recidivante-remittente. In un contesto reale, nei pazienti con sclerosi multipla recidivante-remittente i punteggi di riferimento EDSS "roving (nomade)" sembrano essere più sensibili nel rilevare eventi confermati di peggioramento della disabilità non correlati alla ricaduta. Gli autori, a fronte dei risultati ottenuti, pensano che siano necessari comunque anche altri strumenti per valutare sempre meglio la progressione della disabilità - come risultati riferiti direttamente dal paziente, misure cognitive, valutazioni dei cambiamenti del volume cerebrale tomografia ottica, nonché nuovi biomarcatori. Tutti questi dovrebbero essere implementati nella pratica clinica e in contesti sperimentali, per descrivere meglio l'impatto e l'evoluzione multifforme della sclerosi multipla.

The use of a roving EDSS reference value to enhance detection of EDSS worsening events: A real world evaluation through the Italian MS Register

INTRODUCTION AND AIMS

Disease registries are recognized as providing meaningful information on the burden, natural history, and long-term safety and effectiveness of treatments for patients with chronic diseases. Data collected in a register are also useful for observational research on sample populations treated and followed in real-world conditions. The result provided in the study reported below is an indirect validation of the Italian Multiple Sclerosis Register data collection, and support for the usefulness of the standardized collection of data on large groups of subjects, promoting ever greater quality and completeness of data records.

In relapsing-remitting multiple sclerosis patients (RRMS) disability progressively accumulates over time. The aim of this study is to compare, in a real-world setting of the Italian Multiple Sclerosis Register, the cumulative probability of six-month confirmed disability-worsening events

using a fixed baseline or a roving EDSS (Expanded Disability Status Scale) according to Kappos's model (*Multiple Sclerosis Journal* 2018; 24: 963).

RESULTS

Data used for the present analysis derive from the Italian Multiple Sclerosis Register, where, at the time of data analysis, were collected more than 55,000 patients. RRMS patients with at least three EDSS scores at six-month intervals (± 90 days) were retrieved together with the following variables: calendar year at inclusion, date of birth, sex, date of disease onset, all reported relapses, EDSS scores, start and end dates for all disease-modifying treatments (DMTs). Patients in the final cohort accumulated person-years of follow-up starting from the date of entering the cohort, i.e. the first EDSS rating, until the earliest date among the events of interest: progression to

secondary progressive multiple sclerosis (SPMS), discontinuation of EDSS assessment (defined as a gap of nine or more months between two assessments), death, or end of follow-up. At the end of the selection, the study cohort comprised 7,964 RRMS patients followed for two or more years, with EDSS scores recorded every six months.

Details of the analysis and results obtained are published on European Journal of Neurology. Using a fixed baseline EDSS reference, the cumulative probability of six-year overall confirmed disability-worsening events was 33.2%; that of events unrelated to relapse was 10.9% (33% of overall confirmed disability-worsening events). Using a roving EDSS the proportions were respectively 35.2% and 21.3% (61% of overall confirmed disability-worsening events). Analyses of the six-year cumulative probability of overall worsening using a roving EDSS reference in strata of patients' baseline characteristics indicated that events were more frequent in older than younger patients, in those with a baseline EDSS score ≥ 2 than in those with a lower

EDSS score, and in those with a longer disease duration than in those with a shorter one.

CONCLUSIONS

This study carried out in a real-world setting such as the Italian Multiple Sclerosis Register, confirms that a roving reference for EDSS evaluation is more accurate than the baseline EDSS score for detecting confirmed disability progression unrelated to relapses in RRMS patients. In a real-world setting, in RRMS patients roving EDSS reference scores appear to be more sensitive for detecting confirmed disability-worsening events unrelated to relapse. Other tools are needed for assessing disability progression, such as patient-reported and patient-generated outcomes, cognition measures, MRI brain volume changes, optical coherence tomography measures, and new biomarkers, and should be implemented in clinical practice and in experimental settings, to better describe the multifaced impact and evolution of multiple sclerosis.



PUBBLICAZIONI E COMUNICAZIONI A CONGRESSI / PUBLICATIONS AND CONGRESS PRESENTATIONS

- Lepore V, Bosetti C, Santucci C, Iaffaldano P, Trojano M, Mosconi P. Detection of disability worsening in relapsing-remitting multiple sclerosis patients. A real-world roving EDSS-Expanded Disability Status Scale reference analysis from the Italian Multiple Sclerosis Register. *European Journal of Neurology* 2021; 28 (2): 567-578 <https://doi.org/10.1111/ene.14589>

INTEREST. Verso la definizione di sclerosi multipla secondariamente progressiva: uno studio del Registro Italiano SM



Maria Trojano

on behalf of the Italian MS Register

Centro SM Dipartimento di Scienze Mediche di Base, Neuroscienze ed Organi di Senso Università di Bari, Bari

COLLABORATORI / COLLABORATORS

Pietro Iaffaldano, Tommaso Guerra, Bianca Orlando, Damiano Paolicelli

COLLABORAZIONI CON ALTRI GRUPPI / COLLABORATION WITH OTHER GROUPS

Giuseppe Lucisano, Center for Outcomes Research and Clinical Epidemiology (CORESEARCH), Pescara; Dipartimento di scienze mediche di base, Neuroscienze ed organi di senso, Università degli Studi di Bari, Bari

Massimo Filippi, Giancarlo Comi, Francesca Sangalli, Dipartimento di Neurologia, Centro SM, Istituto Scientifico San Raffaele, Milano

Marco Onofri, Giovanna De Luca, Clinica Neurologica, Università G. D'Annunzio, Policlinico SS Annunziata, Chieti

Francesco Patti, Clara Grazia Chisari, Centro SM, Azienda Ospedaliera-Universitaria, Policlinico Vittorio Emanuele, Università degli Studi di Catania, Catania

Vincenzo Brescia Morra, Antonio Carotenuto, Centro di Cura e Ricerca Clinica per la SM; Dipartimento di Neuroscienze (NSRO), Università Federico II, Napoli

Mauro Zaffaroni, Damiano Baroncini, Centro SM di Gallarate, ASST della Valle Olona, Gallarate (VA) Carlo Pozzilli, Centro SM, Ospedale S. Andrea, Sapienza Università di Roma, Roma

Eleonora Cocco, Dipartimento di Scienze Mediche e Salute Pubblica, Università di Cagliari, Centro SM, Cagliari

Patrizia Sola, Dipartimento di Neuroscienze, Unità di Neurologia Università degli Studi di Modena e Reggio Emilia, Nuovo Ospedale Civile S. Agostino/Estense, Modena

Giuseppe Salemi, Dipartimento di Biomedicina, Neuroscienze e Diagnostica Avanzata, Università degli Studi di Palermo, Palermo

Matilde Inglese, Dipartimento Di Neuroscienze, Riabilitazione, Oftalmologia, Genetica E Scienze Materno-Infantili (DINOEMI), Università degli Studi di Genova, Ospedale Policlinico San Martino, IRCCS, Genova

Roberto Bergamaschi, IRCCS Fondazione Mondino, Pavia

Simonetta Galgani, Centro SM, Azienda Ospedaliera S. Camillo Forlanini, Roma

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

Antonella Conte, Dipartimento di Neuroscienze Umane, Sapienza Università di Roma, Roma; IRCCS Istituto Neurologico Mediterraneo (INM) Neuromed, Pozzilli

Marco Salvetti, CENTERS Centro Neurologico Terapie Sperimentali - Sapienza Università Di Roma, Azienda Ospedaliera S. Andrea, Roma

Giacomo Lus, Centro SM, II Divisione di Neurologia, Dipartimento di Medicina Clinica e Sperimentale, Seconda Università di Napoli, Napoli

Ciro Florio, Centro regionale SM, Ospedale A. Cardarelli, Napoli

Rocco Totaro, Centro Malattie Demyelinizzanti - Clinica Neurologica, Ospedale San Salvatore - L'Aquila

Marika Vianello, O.U. Neurologia, Ospedale "Ca' Foncello", Unità SM, Treviso

Franco Granella, Unità di Neuroscienze, Dipartimento di Medicina e Chirurgia, Università degli Studi di Parma, Parma

Elisabetta Ferraro, Centro SM, PO San Filippo Neri, ASL Roma 1, Roma

Umberto Aguglia, Ambulatorio Sclerosi Multipla - Grande Ospedale Metropolitano Bianchi Melacrino Morelli, Reggio Calabria

Maurizia Gatto, Centro Malattie Demyelinizzanti, Ospedale Generale Regionale F. Miulli, Acquaviva delle Fonti (Bari)

Delia Colombo, Mihaela Nica, Novartis

PREMESSE E OBIETTIVI

La distinzione tra SM recidivante-remittente (RR) e fenotipi progressivi rimane una sfida critica per il neurologo nella pratica clinica reale: attualmente non ci sono parametri specifici o biomarcatori validati per superare il dubbio diagnostico, che rimane affidato all'esperienza clinica. Infatti, nella pratica clinica la SM secondaria progressiva (SP) è tipicamente confermata retrospettivamente, a seguito di una storia di progressivo peggioramento dell'EDSS, dopo un decorso iniziale recidivante, secondo la definizione di Lublin (Lublin F et al. 1996, 2014).

La mancanza di una definizione universalmente accettata e la difficoltà nel distinguere SMRR e SMSP come entità separate complicano la gestione di una patologia già complessa. Recentemente, alcuni studi hanno proposto una definizione oggettiva di SMSP (Lorscheider J et al. Brain 2016). Lo studio EXPAND, uno studio multicentrico volto a indagare l'efficacia e la sicurezza di Siponimod in pazienti con SPMS, ha delineato una diversa definizione di SP.

L'obiettivo primario di questo studio è confrontare, in termini di prestazioni diagnostiche, due definizioni data-driven, quella basata su una versione modificata dell'algoritmo di Lorscheider (Iaffaldano P et al. MSJ 2020) (DDA) e quella basata sui criteri di inclusione EXPAND, con la "definizione del neurologo" (ND), attualmente considerato il gold standard nella pratica clinica. Lo scopo dello studio è anche quello di delineare meglio le caratteristiche epidemiologiche e cliniche delle forme progressive: incidenza e prevalenza annuale, strategie di trattamento, esito e storia naturale.

RISULTATI

Lo studio longitudinale retrospettivo è stato condotto utilizzando i dati clinici del Registro Italiano della SM. I pazienti con SMRR con un follow-up ≥ 5 anni, con un'età attuale ≥ 18 anni e con ≥ 3 punteggi EDSS registrati sono stati selezionati dal Registro Italiano SM. L'incidenza annuale di conversione SPMS è stata riportata come numero di pazienti che convertono a SP ogni 100 pazienti/anno. Sono state utilizzate tre diverse definizioni di SPMS. Le definizioni data-driven basate sull'algoritmo di Lorscheider (DDA) e sui criteri di inclusione dello studio EXPAND sono state validate, utilizzando l'ND come gold standard, in termini di cali-

brazione, discriminazione e bontà di adattamento calcolando sensibilità, specificità, valore predittivo positivo (PPV), valore predittivo negativo (NPV), il criterio informativo di Akaike (AIC), l'area sotto la curva (AUC).

La calibrazione complessiva delle definizioni data-driven è stata valutata dal test della pendenza di calibrazione. La coorte finale era composta da 10240 pazienti con SMRR. Secondo la ND 880 (8,59%) pazienti sono stati classificati come SMSP.

Applicando la definizione DDA di transizione a SP 1806 (17,64%) pazienti sono stati classificati come SP, mentre 1134 (11,07%) pazienti sono stati classificati come SMSP utilizzando la definizione EXPAND. Il tasso annuale di conversione a SMSP durante il follow-up è stato di 0,74 ogni 100 pazienti/anno sulla base della ND, 1,57 ogni 100 pazienti/anno utilizzando la DDA e 0,94 ogni 100 pazienti/anno applicando la definizione EXPAND. Nella nostra coorte, il tempo mediano per la conversione alla forma SP è stato 10 anni, secondo tutte le definizioni. La definizione EXPAND identifica i pazienti con SMSP con la più alta età di conversione, con meno recidive nel periodo pre-conversione e con bassa attività di malattia post-conversione a SP, portando a una diagnosi successiva della fase progressiva della malattia rispetto alla ND e la definizione DDA. Ciò è evidenziato anche dalla percentuale di pazienti trattati con DMT, che è inferiore in questo sottogruppo di pazienti identificato dalla definizione EXPAND rispetto ai sottogruppi identificati dalla definizione ND e DDA. Il numero totale di pazienti identificati come SP sia dalla definizione basata sui dati che dal giudizio del neurologo era 1.569, mentre 604 pazienti sono stati identificati come SP sia applicando i criteri di inclusione dello studio EXPAND sia la ND. Entrambe le definizioni data-driven erano ben calibrate, con un valore p del test della pendenza di calibrazione superiore a 0,05 (DDA=0,55; EXPAND=0,57). L'AIC (DDA=4301; EXPAND=5510) e il quadrato R (DDA=0,15 vs EXPAND=0,05), erano a favore del DDA, che ha mostrato un maggiore potere di discriminazione (AUC: 0,83 vs 0,65) ed è stato associata a una maggiore sensibilità (77,1% vs 38,0%). Entrambe le definizioni hanno mostrato una specificità simile (88,0% vs 91,5%). Il PPV e il NPV erano entrambi più alti utilizzando la DDA rispetto a quelli ottenuti dalla definizione EXPAND (37,5% vs 29,5%; 97,6% vs

94,0%, rispettivamente). Rispetto al gold standard (ND), la definizione data-driven basata sui criteri EXPAND mostra una bassa sensibilità (38%), a causa dell'esclusione di eventi di peggioramento dell'EDSS legati alle ricadute. Tuttavia, questi criteri restrittivi consentono di raggiungere alti livelli di specificità, con un basso rischio di identificare pazienti SP che sono ancora nella fase RR della malattia.

Entrambi i criteri non sono in grado di raggiungere livelli di sensibilità e specificità tali da indurli a considerarli un valido sostituto al giudizio del neurologo: non abbiamo trovato una metodica che possa essere individuata come un possibile nuovo gold standard. Tuttavia, tra i due algoritmi, quello più vicino alla definizione di SP giudicata dal clinico è quello del DDA, con una sensibilità del 77,1%.

CONCLUSIONI

In conclusione, è necessaria una definizione accurata della transizione a SP per un trattamento tempestivo ed efficace dei pazienti con SMSP. I dati del mondo reale del Registro Italiano SM suggeriscono che le definizioni data-driven avevano una maggiore capacità di catturare la transizione a SMSP rispetto alla definizione del neurologo. Inoltre, i nostri risultati indicano che l'accuratezza globale della DDA sembra essere superiore a quella di una definizione basata sui criteri di inclusione dello studio EXPAND.

INTEREST: Italian Multiple Sclerosis Registry non interventional retrospective analysis in secondary progressive multiple sclerosis

INTRODUCTION AND AIMS

The distinction between relapsing-remitting (RR) MS and progressive phenotypes remains a critical challenge for the neurologist in real clinical practice: currently there are not specific parameters or validated biomarkers to address the diagnostic doubt, which remains entrusted to clinical experience. In fact, in clinical practice secondary progressive (SP) MS is typically confirmed retrospectively, following an history of gradual EDSS worsening, after an initial relapsing course, according to the Lublin definition (Lublin F et al. 1996, 2014).

The lack of a single universally accepted definition and the difficulty in distinguishing RRMS and SPMS as a separate entity complicate the management of an already complex pathology. Recently, some studies have proposed an objective definition of SPMS (Lorscheider J et al. Brain 2016). The EXPAND trial, a multicenter study aimed to investigate the efficacy and safety of Siponimod in patient with SPMS, delineated a different definition of SP.

The primary objective of this study is to compare, in terms of diagnostic performances, two data-driven definitions, the one based on a modified version of the Lorscheider algorithm (Iaffaldano P et al. MSJ 2020) (DDA) and the one based on the EXPAND inclusion criteria, with the "neurologist's definition" (ND), currently considered the gold standard in clinical practice. The aim of the study is also to better outline the epidemiological and clinical characteristics of progressive forms: annual incidence and prevalence, treatment strategies, outcome and natural history.

RESULTS

The study has been conducted using longitudinal, retrospectively acquired clinical data extracted from the Italian MS register. Patient with RRMS with a follow-up ≥ 5 years, with a current age ≥ 18 years, and with ≥ 3 EDSS scores recorded were selected from the Italian MS Registry. Annual incidence of SPMS conversion was reported as number of patients converting to SP every 100 patients/year. Three different SPMS definitions have been used. Data-driven definitions based on the Lorscheider's algorithm (DDA) and on the EXPAND trial inclusion criteria were validated, using the ND as gold standard, in terms of calibration, discrimination and goodness of fit by calculating sensitivity, specificity, Positive Predictive Value (PPV), Negative Predictive Value (NPV), the Akaike information criterion (AIC), the Area Under the Curve (AUC). The overall calibration of the data-driven definitions was evaluated by the Calibration Slope test.

The final cohort was composed of 10,240 RRMS patients. According the ND 880 (8.59%) patients were classified as SPMS. Applying the DDA definition of SP transition 1,806 (17.64%) patients were classified as SP, whereas 1,134 (11.07%) patients were classified as SPMS by using the EXPAND definition. The annual rate of conversion to SPMS during the follow-up was 0.74 every 100 patients/year based on the ND, 1.57 every 100 patients/year using the DDA and 0.94 every 100 patients/year applying the EXPAND definition.

In our cohort, the median time for conversion to the SP form

is 10 years, according to all three definitions. The EXPAND definition identifies SPMS patients with the highest conversion age, with fewer relapses in the pre-conversion period, and with low disease activity post-conversion to SP, leading to a later diagnosis of the progressive phase of the disease in comparison to the ND and the DDA definition. This is also evidenced by the percentage of patients treated with DMT, which is lower in this subgroup of patients identified by the EXPAND definition in comparison to the subgroups identified by the ND and the DDA definition. The total number of patients identified as SP by both the data-driven definition and the neurologist's judgement was 1,569, whereas 604 patients were identified as SP both by applying the EXPAND trial inclusion criteria and by the neurologist's decision. Both the data-driven definitions were well calibrated, with a p-value of the Calibration Slope test higher than 0.05 (DDA=0.55; EXPAND definition=0.57). The AIC (DDA=4301; EXPAND definition=5510) and the R-Square (DDA=0.15 vs EXPAND definition=0.05), were in favour of the DDA, which showed a greater discrimination power (AUC: 0.83 vs 0.65) and was associated with a higher sensibility (77.1% vs 38.0%). Both the definition showed a similar specificity (88.0% vs 91.5%). The PPV and the NPV were both higher using the DDA than those obtained by the EXPAND definition (37.5% vs 29.5%; 97.6% vs

94.0%, respectively). Compared to the gold standard (ND), the data-driven definition based on the EXPAND criteria shows a low sensitivity (38%), because of the exclusion of EDSS worsening events related to relapses. However, these restrictive criteria allow to reach high levels of specificity, with a low risk of identifying as SP patients who are still in the RR phase of the disease. Both criteria are not able to reach levels of sensitivity and specificity that can lead to consider them a valid replacement to the judgment of the neurologist: we have not found a method that can be identified as a possible new gold standard. However, between the two algorithms, the one that is closer to the definition of SP judged by the clinician is that of the DDA, with a sensitivity of 77.1%.

CONCLUSIONS

In conclusion, an accurate definition of SP transition is needed for a timely and efficacious treatment of SPMS patients. Real-world data from the Italian MS Registry suggests that data-driven definitions had a greater ability to capture SPMS transition than neurologist's definition. Moreover, our results indicate that the global accuracy of the DDA seems to be higher than that of a definition based on the EXPAND trial inclusion criteria.



PUBBLICAZIONI E COMUNICAZIONI A CONGRESSI / PUBLICATIONS AND CONGRESS PRESENTATIONS

- *How to define Secondary Progressive Multiple Sclerosis using different data driven definitions: A validation study from the Italian MS Register. Oral presentation at 51° SIN Congress, Milano 2020*
- *Towards a validated Secondary Progressive Multiple Sclerosis definition: A study from the Italian MS Register. Poster presentation at the 8th JOINT ACTRIMS-ECTRIMS Congress, September 2020*

Valutare l'efficacia e la sicurezza dei trattamenti nella sclerosi multipla progressiva



Maria Pia Amato

Dipartimento NEUROFARBA, Divisione di Riabilitazione Neurologica, Azienda Ospedaliero-Universitaria Careggi; IRCCS Fondazione Don Carlo Gnocchi, Firenze

COLLABORATORI / COLLABORATORS

Mattia Fonderico, Emilio Portaccio, Luisa Pastò, Lorenzo Razzolini, Angelo Bellinvia, Matteo Betti, Ilaria Addazio

PREMESSE E OBIETTIVI

Ad eccezione di ocrelizumab, i precedenti trial clinici randomizzati controllati di fase III non hanno riscontrato benefici dall'uso di farmaci modificanti il decorso di malattia (DMTs) nei pazienti affetti dalla sclerosi multipla primariamente progressiva (SMPP). Anche gli studi del "mondo reale" (cosiddetti di "real world") sono giunti alla medesima conclusione, non trovando alcuna sostanziale differenza tra pazienti primariamente progressivi trattati e non trattati. Tuttavia, alcuni recenti studi hanno evidenziato che una sostenuta esposizione ai farmaci DMTs, soprattutto se questi sono somministrati in età precoce ed in pazienti con attività infiammatoria, può esercitare un ruolo protettivo riducendo il rischio di raggiungere gradi elevati di disabilità.

I risultati dei trial clinici sono infatti difficilmente generalizzabili alla popolazione in toto e studiano l'effetto terapeutico per una finestra temporale che raramente va oltre i due anni di studio. Inoltre, variabili come la durata dell'esposizione al DMT o il ritardo all'inizio del trattamento non sono prese in considerazione nel setting del trial ma possono essere determinanti nella pratica clinica reale. In assenza di farmaci precedentemente autorizzati nelle forme SMPP, i DMTs sono stati utilizzati off-label e, studi basati su registri nazionali ed internazionali rappresentano una fonte preziosa di informazioni per valutarne sicurezza ed efficacia.

Utilizzando i dati raccolti nel Registro Italiano di Sclerosi Multipla abbiamo ipotizzato che, tra i pazienti affetti da forma SMPP, coloro che avevano una malattia attiva al basale o che avevano avuto ricadute cliniche sovrapposte durante il decorso di malattia, potessero beneficiare dei farmaci DMTs. Inoltre, al fine di meglio comprendere l'eventuale effetto terapeutico, abbiamo valutato il tipo di DMT, il

tempo all'inizio del trattamento e la durata dell'esposizione al farmaco. Abbiamo utilizzato come outcome il tempo al raggiungimento dell'EDSS 7.0, ovvero un grado di disabilità che costringe il paziente all'utilizzo della sedia a rotelle anche per brevi spostamenti.

RISULTATI

Abbiamo estratto dal Registro Italiano di Sclerosi Multipla pazienti affetti da SMPP con almeno tre valutazioni dell'Expanded Disability Status Scale (EDSS) ed almeno tre anni di follow-up. Il basale dello studio è stato definito come la data di inizio del trattamento, per coloro che avevano assunto il farmaco, la data del primo EDSS, per coloro che invece non avevano mai assunto alcun farmaco DMT. Abbiamo incluso 1.139 pazienti, di cui 629 (55%) femmine con un'età media, al basale di 48.3 ± 11.1 anni ed un livello medio di EDSS di 4.1 ± 1.8 . Settecento quarantasei (65%) pazienti avevano ricevuto un DMT durante il follow-up. Dopo una media di $11.8 (\pm 6.3)$ anni, 438 (38%) pazienti avevano raggiunto l'EDSS 7.0.

Nell'analisi multivariata di Cox, l'utilizzo dei DMT, analizzato come variabile dicotomica, non ha modificato significativamente il rischio di raggiungere l'EDSS 7.0 (aHR = 1.09, 95% CI 0.88-1.36, $p = 0.417$). Tuttavia, nei pazienti che avevano esperito ricadute superimposte al decorso primariamente progressivo, l'esposizione ad un farmaco DMT riduceva sensibilmente il rischio di rimanere costretti alla sedia a rotelle (aHR = 0.61, 95% CI 0.42-0.87, $p = 0.007$). Questo studio ha inoltre suggerito che, tra i "buoni rispondenti" alla terapia con DMT, coloro che avevano assunto il farmaco per più a lungo e coloro che avevano assunto il farmaco più precocemente avevano ottenuto il beneficio maggiore

(aHR = 0.45, 95% CI 0.29-0.71, $p = 0.001$). La validità di questi risultati è stata confermata anche dopo aver accoppiato i pazienti sulla base della loro propensione a ricevere o non ricevere il farmaco (propensity score matching).

CONCLUSIONI

I risultati di questo studio suggeriscono che l'attività infiammatoria di malattia rappresenti una componente modificabile che contribuisce a determinare la disabilità a lungo ter-

mine, anche nei pazienti affetti dal fenotipo primariamente progressivo. Inoltre, grazie a questo studio è possibile ipotizzare che tanto più precoce e continuo è il trattamento con farmaci DMTs, tanto maggiore è il beneficio del paziente nel lungo periodo. Saranno necessari ulteriori studi per meglio comprendere il beneficio del trattamento e per meglio informare futuri trial clinici che abbiano quale obiettivo primario la riduzione della progressione della disabilità.

Assessing efficacy and safety of treatments in progressive multiple sclerosis

INTRODUCTION AND AIMS

Except for ocrelizumab, previous phase-III randomized controlled trials largely failed in finding benefit of disease modifying drugs (DMDs) among patients affected by primary progressive multiple sclerosis (PPMS). Consistently with these findings, most of the Real world studies drove to the same conclusion, finding no substantial differences between treated and untreated patients in the real clinical setting. However, some recent results highlighted that a sustained exposure to DMDs, especially when the drug is administered at a young age and in patients with inflammatory activities, may exert a protective role, reducing the risk of hard disability milestones.

RCTs suffer from low generalizability and explore the effect of therapy for a time-window that rarely cover more than two years. Moreover, variables like the duration of DMT exposure or the delay in treatment initiation are not evaluated in the setting of clinical trials, but they may be crucial in the real-world setting.

In the absence of previous licensed therapeutic options, DMTs have been used off-label in PPMS patients, and registry-based cohort study represents a major source of real-world data to elucidate the above issues.

We hypothesized that, among PPMS patients, those who had active disease at baseline or experienced superimposed relapses during follow-up might benefit from DMT. Moreover, to better understand the effects of DMTs, we evaluated the type of DMT, the delay in treatment initiation and the duration of DMT exposure.

RESULTS

Using the Italian MS Registry, we selected PPMS patients with at least three EDSS evaluations and three years of follow-up. Study baseline was defined as the first EDSS evaluation for untreated patients and the date of the first DMT initiation for treated patients.

Of the 1139 patients we included (629 females, mean $\pm$ Standard Deviation [SD] baseline age 48.3 ± 11.1 years, mean EDSS score 4.1 ± 1.8), 746 (65%) received a DMT during the follow-up. In the whole sample, after a mean (SD) follow-up of $11.8 (\pm 6.3)$ years, 438 (38%) reached the EDSS 7.0. In the multivariable Cox regression models, the use of DMT, analysed as dichotomous variable, did not influence the risk of reaching EDSS 7 (aHR = 1.09, 95% CI 0.88-1.36, $p = 0.417$). However, in patients with superimposed relapses, DMT exposure significantly reduced the risk of reaching EDSS 7 (aHR = 0.61, 95% CI 0.42-0.87, $p = 0.007$). Moreover, we found that, among good responders to DMT, those who persisted on treatment had the most beneficial effect (aHR = 0.45, 95% CI 0.29-0.71, $p = 0.001$). These results have been confirmed after propensity-score matching.

CONCLUSIONS

This study suggests that inflammatory activity may be a modifiable component of long-term disability outcomes in PPMS patients. Moreover, in PPMS patients who have inflammatory activity during follow-up, longer exposure to DMT may increase the beneficial effect of treatment. To optimize treatment decision-making in PPMS further profiling of the best candidates to treatment is needed.



PUBBLICAZIONI E COMUNICAZIONI A CONGRESSI / PUBLICATIONS AND CONGRESS PRESENTATIONS

Oral presentations

- Fonderico M. "Disease modifying treatment may delay time to wheelchair in primary progressive multiple sclerosis: a real-life cohort". 8th Joint ACTRIMS-ECTRIMS MEETING, 11th September 2020
- Fonderico M. "Disease modifying treatment may delay time to wheelchair in primary progressive multiple sclerosis: a real-life cohort". 51° National Congress of Italian Society of Neurology, Milan, 28-30th November 2020

Studio di coorte acquisita retrospettivamente sulla valutazione dell'impatto nel lungo termine di differenti strategie terapeutiche su outcomes di disabilità nella SM remittente. Registro Italiano iMedWeb. Studio RE.LO.DI.MS.



Damiano Paolicelli

Centro Sclerosi Multipla, Dipartimento di Scienze Mediche di Base, Neuroscienze e Organi di Senso, Università degli Studi di Bari, Policlinico di Bari, Bari

COLLABORAZIONI CON ALTRI CENTRI / COLLABORATIONS WITH OTHER CENTERS

Carlo Avolio, Dipartimento Scienze Mediche e Chirurgiche, Università degli Studi di Foggia, Foggia

Simona Bonavita, Giacomo Lus, Centro SM, Università della Campania "L. Vanvitelli", Napoli

Vincenzo Brescia Morra, Centro Sclerosi Multipla, Dipartimento di Neuroscienze, Scienze della Riproduzione e Odontostomatologia, Università Federico II, Napoli

Marco Capobianco, Centro Regionale di riferimento per la SM, Unità Neurologica, Ospedale Universitario San Luigi, Orbassano, TO

Eleonora Cocco, Dipartimento di Scienze Mediche e Salute Pubblica, Università di Cagliari, Centro SM, Cagliari

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

Giovanna De Luca, Università degli Studi Gabriele D'annunzio, Clinica Neurologica, Dipartimento di Neuroscienze e Imaging Università "G. D'Annunzio", Chieti, Pescara

Francesca De Robertis, Ospedale Vito Fazzi, Lecce

Claudio Gasperini, Dipartimento di Neuroscienze, Azienda Ospedaliera San Camillo-Forlanini, Roma

Maurizia Gatto, Neurologia e Stroke Unit, Ente Ecclesiastico, Ospedale Generale Regionale Mulli, Acquaviva delle Fonti (BA)

Paola Gazzola, Centro Sclerosi Multipla, ASL3 Genovese, Ospedale P.A. Micone, Genova

Antonio Iaffaldano, Ospedale Antonio Perrino, Università degli studi di Bari, Bari

Alessia Manni, Pietro Iaffaldano, Maria Trojano, Dipartimento di scienze mediche di base, Neuroscienze ed organi di senso, Università degli Studi di Bari, Bari

Giuseppe Lucisano, Center for Outcomes Research and Clinical Epidemiology (CORESEARCH), Pescara; Dipartimento di scienze mediche di base, Neuroscienze ed organi di senso, Università degli Studi di Bari, Bari

Davide Maimone, Centro SM, Neurologia, Azienda Ospedaliera Garibaldi, Catania

Giulia Mallucci Dipartimento di Neurologia, IRCCS Fondazione Istituto Neurologico Nazionale C. Mondino, Pavia

Giorgia Teresa Maniscalco, Neurologia, Ospedale Cardarelli, Centro Regionale per la Sclerosi Multipla, Napoli

Girolama Alessandra Marfia, Clinica Neurologica, Dipartimento di Neuroscienze, Policlinico Tor Vergata, Roma

Francesco Patti, Centro SM, Azienda Ospedaliera-Universitaria, Policlinico Vittorio Emanuele, Università degli Studi di Catania, Catania

Ilaria Pesci, Centro SM, UO Neurologia, Ospedale Fidenza, Fidenza

Carlo Pozzilli, Centro SM, Ospedale S. Andrea, Sapienza Università di Roma, Roma

Marco Rovaris, Fondazione Don Carlo Gnocchi, Milano

Giuseppe Salemi, Dipartimento di Biomedicina, Neuroscienze e Diagnostica Avanzata, Università degli Studi di Palermo, Palermo

Marco Salvetti, CENTERS Centro Neurologico Terapie Sperimentali, Sapienza Università di Roma, Azienda Ospedaliera S. Andrea, Roma

Daniele Spitaleri, Dipartimento di Neurologia, Azienda Ospedaliera S. G. Moscati, Avellino

Rocco Totaro, Centro Malattie Demyelinizzanti presso la Clinica Neurologica, Ospedale San Salvatore, L'Aquila

Mauro Zaffaroni, Centro SM di Gallarate, ASST della Valle Olona, Gallarate (VA)

Giancarlo Comi, Dipartimento di Neurologia, Centro SM, Istituto Scientifico San Raffaele, Milano

Maria Pia Amato, Dipartimento NEUROFARBA, Divisione di Riabilitazione Neurologica, Azienda Ospedaliero-Universitaria Careggi; IRCCS Fondazione Don Carlo Gnocchi, Firenze

PREMESSE E OBIETTIVI

L'aumento dei farmaci modificanti la malattia (DMD) consente la personalizzazione del trattamento nella sclerosi multipla recidivante remittente (SMRR); tuttavia, l'impatto a lungo termine delle diverse sequenze di trattamento non è ben stabilito. Ciò è particolarmente rilevante per i pazienti con SM che potrebbero dover posticipare strategie DMD più aggressive. Valutare diverse strategie terapeutiche e i loro risultati di efficacia a lungo termine, misurati come ricadute cliniche e progressione confermata della disabilità (CDP), in contesti clinici "real-life". Lo studio di coorte multicentrico, osservazionale, acquisito retrospettivamente, valuta l'impatto a lungo termine di diverse strategie di trattamento sugli esiti della disabilità nei pazienti con SMRR nel Registro Italiano della SM.

RISULTATI

Sono stati valutati 1.152 pazienti SMRR naïve al trattamento dopo aggiustamento mediante propensity-score.

I pazienti inclusi stavano assumendo: interferone beta-1a (IFN-β1a) 44 µg che passavano a fingolimod (FTY); IFN β1a -switchers; n = 97); solo terapia con FTY (FTY-stayers; n = 157); solo terapia con IFN-β1a (IFN β1a - stayers; n = 849). CDP e recidive non differivano tra pazienti FTY-stayers e IFN β1a -switchers [HR (95% CI) 0,99 (0,48-2,04), p = 0,98 e 0,81 (0,42-1,58), p = 0,55, rispettivamente]. Tuttavia i pazienti IFN β1a- stayers hanno mostrato un aumento del rischio di recidive rispetto ai FTY- stayers [HR (95% CI) 1,46 (1,00-2,12), p = 0,05].

CONCLUSIONI

La scelta del trattamento ideale per la SM sta diventando sempre più complessa, con la necessità di bilanciare benefici e rischi. I nostri risultati suggeriscono che iniziare con FTY influisce sull'esito della malattia a lungo termine in modo simile alla sequenza terapeutica di escalation da IFN-β1a a FTY.

Retrospective study to evaluate the long-term impact of different treatment strategies on disability outcomes in patients with relapsing multiple sclerosis. Italian IMedWeb MS Registry. RE.LO.DI.MS Study

INTRODUCTION AND AIMS

The increase in disease-modifying drugs (DMDs) allows individualization of treatment in relapsing multiple sclerosis (RMS); however, the long-term impact of different treatment sequences is not well established. This is particularly relevant for MS patients who may need to postpone more aggressive DMD strategies.

To evaluate different therapeutic strategies and their long-term outcomes, measured as relapses and confirmed disability progression (CDP), in MS 'real-world' settings.

The multicentre, observational, retrospectively acquired cohort study evaluate the long-term impact of different treatment strategies on disability outcomes in patients with RMS in the Italian MS Register.

RESULTS

We evaluated 1,152 RMS-naïve patients after propensity-score adjustment. Patients included were receiving: interferon beta-1a (IFN- β 1a) 44 μ g switching to fingolimod (FTY; IFN-switchers; n = 97); FTY only (FTY-stayers; n = 157); IFN- β 1a only (IFN-stayers; n = 849). CDP and relapses did not differ between FTY-stayers and IFN-switchers [HR (95% CI) 0.99 (0.48–2.04), p = 0.98 and 0.81 (0.42–1.58), p = 0.55, respectively]. However, IFN-stayers showed increased risk of relapses compared with FTY-stayers [HR (95% CI) 1.46 (1.00–2.12), p = 0.05].

CONCLUSIONS

The ideal treatment option for MS is becoming increasingly complex, with the need to balance benefit and risks. Our results suggest that starting with FTY affects the long-term disease outcome similarly to escalating from IFN- β 1a to FTY.



PUBBLICAZIONI E COMUNICAZIONI A CONGRESSI / PUBLICATIONS AND CONGRESS PRESENTATIONS

- Paolicelli D, Lucisano G, Manni A, Avolio C, Bonavita S, Brescia Morra V, Capobianco M, Cocco E, Conte A, De Luca G, De Robertis F, Gasperini C, Gatto M, Gazzola P, Lus G, Iaffaldano A, Iaffaldano P, Maimone D, Mallucci G, Maniscalco GT, Marfia GA, Patti F, Pesci I, Pozzilli C, Rovaris M, Salemi G, Salvetti M, Spitaleri D, Totaro R, Zaffaroni M, Comi G, Amato MP, Trojano M; Italian MS

Register. Retrospectively acquired cohort study to evaluate the long-term impact of two different treatment strategies on disability outcomes in patients with relapsing multiple sclerosis (RE.LO.DI.MS): data from the Italian MS Register. *J Neurol.* 2019 Dec;266(12):3098-3107. doi: 10.1007/s00415-019-09531-6

Delineare le scelte di trattamento nella SM durante due epoche diverse: una valutazione della pratica clinica utilizzando il Registro Italiano SM



Maria Trojano

on behalf of the Italian MS Register

Centro SM, Dipartimento di Scienze Mediche di Base, Neuroscienze ed Organi di Senso Università degli Studi di Bari, Bari

COLLABORATORI / COLLABORATORS

Pietro Iaffaldano, Damiano Paolicelli

COLLABORAZIONI CON ALTRI CENTRI / COLLABORATIONS WITH OTHER CENTERS

Giuseppe Lucisano, Center for Outcomes Research and Clinical Epidemiology (CORESEARCH), Pescara; Dipartimento di scienze mediche di base, Neuroscienze ed organi di senso, Università degli Studi di Bari, Bari

Giovanna De Luca, Clinica Neurologica, Università G. D'Annunzio, Policlinico SS Annunziata Chieti

Vincenzo Brescia Morra, Centro di Cura e Ricerca Clinica per la SM, Dipartimento di Neuroscienze (NSRO), Università Federico II, Napoli

Francesco Patti, Centro SM, Dipartimento di Scienze Mediche e Chirurgiche e Tecnologie Avanzate, Università degli Studi di Catania, Catania

Eleonora Cocco, Dipartimento di Scienze Mediche e Salute Pubblica, Università di Cagliari, Centro SM, Cagliari

Giuseppe Salemi, Dipartimento di Biomedicina, Neuroscienze e Diagnostica Avanzata, Università degli Studi di Palermo, Palermo

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

Mauro Zaffaroni, Angelo Ghezzi, Centro SM di Gallarate, ASST della Valle Olona, Gallarate (VA)

Elisabetta Di Monte, Unità di Neurologia, Presidio Ospedaliero Madonna delle Grazie, Matera

Davide Maimone, Centro SM, Neurologia, Azienda Ospedaliera Garibaldi, Catania

Maurizia Gatto, Centro Malattie Demielinizzanti, Ospedale Generale Regionale F. Miulli, Acquaviva delle Fonti, BA

Francesca De Robertis, Unità di Neurologia, Ospedale Vito Fazzi, Lecce

Gianfranco Costantino, Centro SM, Azienda Ospedaliero-Universitaria "Ospedali Riuniti" di Foggia, Foggia

Roberto Bergamaschi, IRCCS Fondazione Mondino, Pavia

Carlo Avolio, Dipartimento Scienze Mediche e Chirurgiche, Università degli Studi di Foggia, Foggia

Bonaventura Ardito, Ambulatorio di Neurologia, Ospedale della Murgia Fabio, Altamura, BA

Carlo Pozzilli, Centro SM, Ospedale S. Andrea, Sapienza Università di Roma, Roma

Giancarlo Comi, Dipartimento di Neurologia, Centro SM, Istituto Scientifico San Raffaele, Milano

PREMESSE E OBIETTIVI

Le opzioni di trattamento per le persone con sclerosi multipla (SM) sono aumentate notevolmente negli ultimi 20 anni. L'obiettivo di questi trattamenti modificanti la malattia (DMT) è la prevenzione di ulteriori ricadute e dell'accumulo di disabilità. Nell'Unione Europea neurologi e pazienti

possono attualmente scegliere tra diversi DMT autorizzati, rendendo sempre più difficile per i pazienti e i loro medici scegliere tra trattamenti all'esordio della malattia e in caso di mancata risposta al trattamento.

Gli obiettivi principali di questo studio sono stati: valutare i cambiamenti nell'approccio terapeutico in due diverse

epoche di trattamento e confrontare l'efficacia clinica delle diverse scelte di prima linea nei pazienti con SM recidivante-remittente (RR) naïve al trattamento.

RISULTATI

Il 14 dicembre 2016 il nostro gruppo di ricerca, per conto di 18 centri italiani di SM, ha notificato al Registro Italiano SM il protocollo di studio. Successivamente, in data 23 marzo 2017, il Comitato Scientifico del Registro Italiano SM ha concesso l'approvazione a tale progetto e l'approvazione all'uso dei dati.

Utilizzando i dati ottenuti dal Registro Italiano SM abbiamo estratto due coorti di pazienti naïve RRMS che hanno ricevuto il primo DMT:

- 1a coorte: prima prescrizione di DMT nei 2 anni precedenti la commercializzazione di Teriflunomide in Italia (Old Era);
- 2a coorte: prima prescrizione di DMT nei 12 mesi successivi alla commercializzazione del Dimetilfumarato in Italia (New Era).

I predittori della scelta del trattamento sono stati valutati mediante modelli di regressione con una matrice di correlazione non strutturata per tenere conto della natura gerarchica dei dati (pazienti raggruppati all'interno dell'area geografica (nord, centro e sud)). Il coefficiente di correlazione intra-classe (ICC) è stato calcolato per valutare la variazione nell'uso della scelta del trattamento tra l'area geografica; un maggiore impatto dell'area geografica è dimostrato da valori ICC più elevati. Il rischio di ricaduta durante l'esposizione al primo DMT prescritto nella coorte New Era, stratificato per il punteggio EDSS basale (≤ 3 , > 3), è stato valutato utilizzando un modello di regressione di Poisson.

La prima coorte (Old Era) era composta da 1795 pazienti con RRMS, 422 dei quali hanno ricevuto glatiramer acetato (GA) come primo DMT. La presenza o l'assenza di comorbidità, l'età e la durata della malattia al momento della prima prescrizione del DMT erano tutti fattori associati alla prima scelta di trattamento quando erano disponibili solo DMT

iniettabili come farmaco di prima linea. Inoltre, la variazione nell'uso della scelta del trattamento tra aree geografiche come impatto dell'ICC era compresa tra il 2 e il 20%. L'interferone beta è stato prescritto più frequentemente come DMT di prima linea nelle regioni del sud dell'Italia.

La seconda coorte era composta da 1097 pazienti con SM, 338 dei quali con DMT orali di prima linea. Nessun predittore significativo è stato associato alla scelta del dimetilfumarato. Teriflunomide è stata prescritta in modo più significativo nei pazienti con bassi tassi di comorbidità, che erano più anziani e con una durata della malattia più lunga rispetto ai pazienti che hanno ricevuto il trattamento iniettabile o dimetilfumarato. La variazione nell'uso della scelta del trattamento orale tra le aree geografiche come impatto dell'ICC è stata misurata nell'ordine del 7%.

Il rischio di ricaduta durante l'esposizione al primo DMT prescritto nella coorte New Era è stato valutato in due modelli separati sulla base del punteggio EDSS di base. Nei pazienti con un EDSS basale > 3 è stato riscontrato un rischio di ricaduta più elevato nei pazienti più giovani. Nei pazienti con un EDSS al basale ≤ 3 , età e durata della malattia aumentate all'inizio del trattamento e la scelta del dimetilfumarato erano associati a un minor rischio di ricaduta. Un numero maggiore di recidive prima della prima prescrizione di DMT e la scelta di teriflunomide come primo DMT erano associati a un aumento del rischio di ricaduta.

CONCLUSIONI

I nostri risultati indicano che in Italia il GA è stato utilizzato più frequentemente nei pazienti più anziani e con più comorbidità rispetto ai pazienti trattati con Interferone Beta prima dell'introduzione dei DMT orali di prima linea. I nuovi DMT orali di prima linea sono stati utilizzati più frequentemente in pazienti senza comorbidità rispetto ai DMT iniettabili. Quest'ultimo risultato è stato più pronunciato nei pazienti trattati con teriflunomide. Nei pazienti meno disabili (EDSS ≤ 3) l'uso di dimetilfumarato è stato associato a un ridotto rischio di recidiva rispetto alla teriflunomide.

Profiling treatment choices in MS during two different eras: a real world assessment in the Italian MS Registry

INTRODUCTION AND AIMS

The treatment options for people with multiple sclerosis (MS) have expanded dramatically during the past 20 years. The objective of these disease-modifying treatments (DMTs) is the prevention of further relapses and accumulation of disability. In the European Union neurologists and patients can currently choose from different licensed DMTs, making it increasingly difficult for patients and

their physicians to choose between treatments at disease onset and in case of non-response to treatment.

The main objectives of this study were: to evaluate the changes in therapeutic approach in 2 different treatment epochs and to compare the clinical efficacy of the different first line choices in treatment-naïve relapsing-remitting (RR)MS patients.

RESULTS

On 14th December 2016 our research group, on behalf of 18 Italian MS centers, notified to the Italian MS Register the study protocol. Subsequently, on 23rd March 2017 the Scientific Committee of the Italian MS Register granted the approval to this project and the approval of data use.

By using data obtained from the Italian MS Register we extracted two cohorts of naïve RRMS patients receiving the 1st DMT:

- 1st cohort: first DMT prescription during the 2 years prior to the marketing of Teriflunomide in Italy (Old Era);

- 2nd cohort: first DMT prescription during the 12 months after the marketing of Dimethylfumarate in Italy (New Era).

Predictors of treatment choice have been evaluated by regression models with an unstructured correlation-type matrix to account for the hierarchical nature of the data (patients clustered within geographic area (north, center and south)). The intra-class correlation coefficient (ICC) was calculated to assess the variation in the use of treatment choice among geographic area; a greater impact of the geographic area is shown by higher ICC values. The relapse risk during the course of the first DMT prescribed in the New Era cohort, stratified by the baseline EDSS score (≤ 3 , >3), has been evaluated using a Poisson regression model.

The first cohort (Old Era) was composed by 1,795 RRMS patients, 422 of whom received glatiramer acetate (GA) as first DMT. The presence or lack of comorbidities, the age and the disease duration at the time of the 1st DMT prescription were all factors associated with the first treatment choice when only injectables DMT were available as first line drug. Furthermore, the variation in the use of treatment choice among geographic area as impact of ICC was comprised between 2 and 20%. Interferon Beta was more frequently prescribed as first-line DMT in the south of Italy.

The second cohort was composed by 1,097 MS patients, 338 of whom with first line Oral DMTs. No significant predictors were associated to the dimethylfumarate choice. Teriflunomide was more significantly prescribed in patients with low rates of comorbidities, who were older and with a longer disease duration than patients who received the injectables or the dimethylfumarate treatment. Variation in the use of oral treatment choice among geographic areas as impact of ICC was 7%.

The relapse risk during the course of the first DMT prescribed in the New Era cohort was evaluated in two separated models based on the baseline EDSS score. In patients with a baseline EDSS > 3 a higher relapse risk was found in younger patients. In patients with a baseline EDSS ≤ 3 increasing age and disease duration at the treatment start, and choice of dimethylfumarate were associated with a lower risk of relapse. A higher number of relapses before the first DMT prescription and the choice of teriflunomide as first DMT were associated with an increased risk of relapse.

CONCLUSIONS

Our results indicate that in Italy GA was used more frequently in patients older and with more comorbidities than patients treated with IFNB before the introduction of oral first-line DMTs.

The new first line oral DMTs have been more frequently used in patients without comorbidities in comparison to injectable DMTs. This latter finding was more pronounced in patients treated with teriflunomide. In less-disabled patients (EDSS ≤ 3) the use of dimethylfumarate was associated with a reduced risk of relapse in comparison to teriflunomide.



PUBBLICAZIONI E COMUNICAZIONI A CONGRESSI / PUBLICATIONS AND CONGRESS PRESENTATIONS

- Poster at XLVIII Congresso Nazionale SIN, Napoli 14-17 ottobre 2017

Studio pilota retrospettivo sugli effetti a lungo termine di Cladribina in pazienti affetti da sclerosi multipla recidivante remittente o sindrome clinicamente isolata



Francesco Patti

Centro Sclerosi Multipla, Azienda Ospedaliera-Universitaria, Policlinico Vittorio Emanuele, Università degli Studi di Catania, Catania

COLLABORAZIONI CON ALTRI CENTRI / COLLABORATIONS WITH OTHER CENTERS

Andrea Visconti, Antonio Capacchione Merck Serono S.p.A., Roma, affiliata a Merck KGaA, Darmstadt, Germany

Sanjeev Roy, Merck, Aubonne, Switzerland, divisione di Merck KGaA, Darmstadt, Germany

Maria Trojano, Centro SM, Dipartimento di Scienze Mediche di Base, Neuroscienze ed Organi di Senso Università di Bari, Bari

CLARINET-MS STUDY GROUP:

Maria Pia Amato, Dipartimento NEUROFARBA, Divisione di Riabilitazione Neurologica, Azienda Ospedaliero-Universitaria Careggi; IRCCS Fondazione Don Carlo Gnocchi, Firenze

Eleonora Cocco, Centro Regionale per la diagnosi e la cura della Sclerosi Multipla ASL8, Università degli Studi di Cagliari, Cagliari

Maura Chiara Danni Centro Sclerosi Multipla, Clinica Neurologica, Ospedali Riuniti, Ancona

Massimo Filippi, Dipartimento di Neurologia e Neurofisiologia, Centro SM, Neuroimaging Research Unit, Istituto Scientifico San Raffaele, Milano

Claudio Gasperini, Centro Sclerosi Multipla, Azienda Ospedale S. Camillo Forlanini, Roma,

Matilde Inglese, Dipartimento di Neuroscienze, Riabilitazione Oftalmologia, Genetica e Scienze Materno-Infantili (DINOEMI), Ospedale Policlinico San Martino-IRCCS, Genova

Giovanna De Luca, Clinica Neurologica, Università G. D'Annunzio, Ospedale clinicizzato SS. Annunziata, Chieti

Giacomo Lus, Centro SM, II Clinica Neurologica, Università della Campania "Luigi Vanvitelli", Napoli

Giulia Mallucci, IRCCS Fondazione Mondino, Pavia

Girolama Alessandra Marfia, Centro di Riferimento Regionale per la SM Policlinico Tor Vergata, Roma

Francesco Patti, Centro SM, Azienda Ospedaliera-Universitaria, Policlinico Vittorio Emanuele, Università degli Studi di Catania, Catania

Ilaria Pesci, Centro SM, UO Neurologia, Ospedale Fidenza, Fidenza

Martina Petruzzo, Centro Regionale SM, Unità Operativa Semplice, AOU Policlinico Federico II, Napoli

Carlo Pozzilli Centro SM, Ospedale S. Andrea, Sapienza Università di Roma, Roma

Giovacchino Tedeschi I Clinica Neurologica, Dipartimento di Scienze Mediche e Chirurgiche Avanzate, Università della Campania "Luigi Vanvitelli", Napoli

Maria Trojano, Centro SM, Dipartimento di Scienze Mediche di Base, Neuroscienze ed Organi di Senso Università di Bari, Bari

Mauro Zaffaroni, Centro SM ASST della Valle Olona, Ospedale di Gallarate, Gallarate (VA)

PREMESSE E OBIETTIVI

Questo studio mira a raccogliere dati sul follow-up nella pratica clinica dopo il trattamento con Cladribina, limitato a pazienti reclutati in centri italiani. I dati anonimizzati saranno raccolti in modo retrospettivo

tramite iMedWeb. Il periodo di studio sarà il tempo necessario per l'estrazione di tutti i pazienti dal database. La raccolta dei dati, utilizzando il database iMed, dovrebbe durare fino a circa 3 mesi. Le fonti di informazioni saranno i dati raccolti dal database iMed. I dati verranno inseriti nel modulo elettronico di segnalazione, da parte del personale del sito. Sono previsti circa 161 soggetti (studi ORACLE 67 pazienti, CLARITY 66 pazienti, ONWARD 28 pazienti).

Le analisi di questo studio avranno due obiettivi esplorativi: in primo luogo verranno valutati la fattibilità di un grande studio retrospettivo finalizzato alla valutazione dei trattamenti post-trial e del corso di malattia in pazienti con sindrome clinicamente isolata o con sclerosi multipla recidivante e remittente arruolati in studi randomizzati di efficacia. Questa valutazione sarà basata sulla valutazione complessiva della percentuale di pazienti persi per il follow-up e sulla qualità e completezza dei dati recuperati. In secondo luogo, le informazioni descrittive ottenute da questo studio sui trattamenti post-trial e sul corso della malattia saranno anche critici per la progettazione dello studio osservazionale su larga scala. Per l'endpoint primario, l'analisi del tempo per il trattamento sarà valutata mediante classica curva di sopravvivenza di Kaplan Meier.

Questa valutazione sarà completata da analisi concorrenziale dei rischi, in cui le ragioni di fine trattamento saranno considerate separatamente. Le incidenze cumulative dei motivi concorrenti per il fine trattamento saranno opportunamente calcolate tenendo conto di: inizio di una nuova

terapia, nessun ulteriore trattamento (dopo un anno dall'ultimo ciclo di Cladribina, morte, sconosciuto).

RISULTATI

Il periodo di tempo sotto osservazione nel Registro Italiano della SM è stato di 1–137 (media 80,3) mesi. Nella popolazione totale di pazienti italiani valutati ($n = 80$), le stime KM sulla la probabilità di essere liberi da ricadute a 12, 36 e 60 mesi dopo l'ultima dose di cladribina in compresse erano rispettivamente dell'84,8%, 66,2% e 57,2%. La probabilità corrispondente di essere liberi dalla progressione di malattia a 60 mesi dall'ultima dose era del 63,7%. La stima KM per la probabilità di non iniziare un altro trattamento modificante la malattia a 60 mesi dopo l'ultima dose di cladribina era del 28,1% e il tempo mediano al cambiamento del trattamento era di 32,1 (IC 95% 15,5–39,5) mesi.

CONCLUSIONI

Lo studio CLARINET-MS fornisce una misura indiretta dell'efficacia a lungo termine del trattamento con compresse di cladribina. I risultati dello studio hanno confermato l'efficacia delle compresse di cladribina dimostrata in precedenti studi clinici, ma con un periodo di osservazione più lungo e in un contesto reale. Oltre la metà dei pazienti con SM analizzati non ha avuto ricadute né ha avuto progressione della disabilità durante i 60 mesi di follow-up dall'ultima dose, suggerendo che le compresse di cladribina rimangono efficaci nel 3° e 4° anno dopo brevi cicli di trattamento orale all'inizio del primo e secondo anno, e in alcuni pazienti con SM recidivante remittente e secondariamente progressiva fino a 60 mesi dopo l'ultima dose.

Retrospective pilot study on long-term Cladribine effects in patients with relapsing remitting multiple sclerosis or clinically isolated syndrome.

INTRODUCTION AND AIMS

The aim of this Italian pilot study call CLARINET-MS study is to explore the feasibility of the retrospective approach for evaluating effectiveness in subjects previously treated with Cladribine and then followed as per clinical practice.

The CLARINET-MS study assessed the long-term effectiveness of cladribine tablets by following patients with multiple sclerosis (MS) in Italy, using data from the Italian MS Registry. Real-world data (RWD) from Italian MS patients who participated in cladribine tablets randomised clinical trials (RCTs; CLARITY, CLARITY Extension, ONWARD or

ORACLEMS) across 17 MS centres were obtained from the Italian MS Registry. RWD were collected during a set observation period, spanning from the last dose of cladribine tablets during the RCT (defined as baseline) to the last visit date in the registry, treatment switch to other disease-modifying drugs, date of last Expanded Disability Status Scale recording or date of the last relapse (whichever occurred last). Time-to-event analysis was completed using the Kaplan–Meier (KM) method. Median duration and associated 95% confidence intervals (CI) were estimated from the model.

RESULTS

Time span under observation in the Italian MS Registry was 1–137 (median 80.3) months. In the total Italian patient population ($n = 80$), the KM estimates for the probability of being relapse-free at 12, 36 and 60 months after the last dose of cladribine tablets were 84.8%, 66.2% and 57.2%, respectively. The corresponding probability of being progression-free at 60 months after the last dose was 63.7%. The KM estimate for the probability of not initiating another disease-modifying treatment at 60 months after the last dose of cladribine tablets was 28.1%, and the median time-to-treatment change was 32.1 (95% CI 15.5–39.5) months.

CONCLUSIONS

CLARINET-MS provides an indirect measure of the long-term effectiveness of cladribine tablets. Over half of MS patients analysed did not relapse or experience disability progression during 60 months of follow-up from the last dose, suggesting that cladribine tablets remain effective in years 3 and 4 after short courses at the beginning of years 1 and 2, and in some patients with RRMS and relapsing SPMS up to 60 months after the last dose.



PUBBLICAZIONI E COMUNICAZIONI A CONGRESSI / PUBLICATIONS AND CONGRESS PRESENTATIONS

- Patti F, Visconti A, Capacchione A, Roy S, Trojano M; CLARINET-MS Study Group. Long-term effectiveness in patients previously treated with cladribine tablets: a real-world analysis of the Italian multiple sclerosis registry (CLARINET-MS) *Ther Adv Neurol Disord.* 2020 Jun 10;13:1756286420922685. doi: 10.1177/1756286420922685. eCollection 2020

Rischi associati alla durata del wash-out nel passaggio da fingolimod a farmaci depletivi



Diana Ferraro

Centro Malattie Demyelinizzanti - Clinica Neurologica dell'Università di Modena e Reggio Emilia, Ospedale Civile S. Agostino Estense, Modena

COLLABORATORI / COLLABORATORS

Patrizia Sola, Francesca Vitetta

COLLABORAZIONI CON ALTRI CENTRI / COLLABORATIONS WITH OTHER CENTERS

Maria Trojano, Pietro Iaffaldano, Tommaso Guerra and Damiano Paolicelli, Centro SM, Dipartimento di Scienze Mediche di Base, Neuroscienze ed Organi di Senso Università di Bari, Bari
Matilde Inglese, Maria Cellerino, Dipartimento di Neuroscienze, Riabilitazione Oftalmologia, Genetica e Scienze Materno-Infantili (DINOEMI), Ospedale Policlinico San Martino-IRCCS, Genova
Antonio Bertolotto, Marco Capobianco, Centro Regionale di riferimento per la SM, Unità Neurologica, Ospedale Universitario San Luigi, Orbassano, TO

Vincenzo Brescia Morra, Centro SM - AOU Policlinico Federico II, Napoli

Mauro Zaffaroni, Centro Sclerosi Multipla, Ospedale Gallarate, ASST della Valle Olona, Gallarate (VA)

Massimiliano Mirabella, Fondazione Policlinico Universitario A. Gemelli IRCCS, Rome and Università Cattolica del Sacro Cuore, Roma

Giacomo Lus, Centro SM, II Clinica Neurologica, Università della Campania "L. Vanvitelli", Napoli

Francesco Patti Centro Sclerosi Multipla, Azienda Ospedaliera-Universitaria, Policlinico Vittorio Emanuele, Università degli Studi di Catania, Catania

Paola Cavalla, Centro SM, Dipartimento di Neuroscienze, Università degli Studi di Torino, Torino

PREMESSE E OBIETTIVI

Le decisioni riguardanti la durata dell'intervallo libero da terapie ("washout"), nel passaggio da un farmaco immunomodulante/immunosoppressivo ("disease-modifying therapies" - DMT) a un altro, nei pazienti con sclerosi multipla (SM) devono tenere conto, da un lato, del rischio di riattivazione di malattia e, dall'altro, del rischio di immunosoppressione dovuto alla sovrapposizione degli effetti immunologici di farmaci consecutivi.

Il fingolimod (FTY) è un DMT orale approvato per le forme attive di SM recidivante-remittente (RR). Induce il sequestro di linfociti B e T negli organi linfoidi secondari, con un calo dei numeri assoluti di linfociti del 70-80% rispetto ai valori basali nell'arco di 3-7 giorni. In seguito alla sospensione, la conta linfocitaria aumenta progressivamente e rientra nei limiti di normalità in circa la metà dei pazienti entro sei settimane e raggiunge l'80% del valore basale entro 12 settimane.

In seguito alla pubblicazione sulla mancata risposta di casi

clinici, all'alemtuzumab, al rituximab e all'ocrelizumab in seguito alla sospensione di FTY, è stato ipotizzato che l'efficacia di questi ultimi potesse essere incompleta in relazione al recupero parziale della conta linfocitaria ed al fatto che i linfociti sequestrati potessero essere protetti dall'azione depletiva intravascolare dei farmaci. Studi su coorti più numerose, tuttavia, hanno mostrato una buona efficacia dell'alemtuzumab e del rituximab in seguito alla sospensione di FTY e non hanno trovato un'associazione tra l'efficacia e la conta linfocitaria o la durata del washout. Vista la cinetica della ricostituzione linfocitaria, è plausibile che il rischio di un recupero parziale della conta linfocitaria possa essere maggiore nelle prime 6-8 settimane dalla sospensione del farmaco. Questo rischio potenziale, tuttavia, va bilanciato con il rischio di un ritorno dell'attività di malattia, di una persistente attività di malattia o, addirittura, di un "rebound" di malattia a partire da 4 settimane dalla sospensione di FTY.

Considerata la complessità crescente delle scelte tera-

peutiche, è importante raccogliere informazioni sulla sequenza più appropriata dei DMT e sulla durata ottimale del washout tra un farmaco e l'altro.

Lo scopo di questo studio è stato quello di valutare il rischio di ricadute in seguito alla sospensione di FTY e l'inizio di un farmaco ad azione depletiva sui linfociti B/T (alemtuzumab, cladribina o anti-CD20 – ocrelizumab e rituximab) in relazione alla durata del washout, utilizzando i dati del Registro Italiano della SM.

RISULTATI

Di 61.625 cartelle di pazienti estratti (in data 14/11/2019), un totale di 329 pazienti sono stati inclusi nelle analisi (226F, 103M; età media 41±10 anni).

Novanta pazienti hanno avuto ricaduta durante il periodo di washout e 72 durante il successivo trattamento depletivo. Durante il trattamento depletivo, il rapporto del tasso di incidenza (IRR) delle ricadute era significativamente più elevato nei pazienti con washout di 12-17 settimane [IRR (95%CI): 2.4 (1,1-5,5); $p=0.037$] e ≥ 18 settimane [6.0

(2.8-12.7); $p<0.001$] rispetto al periodo di riferimento (<6 settimane).

L'analisi multivariata di Cox ha mostrato che il tempo alla ricaduta (hazard ratio – HR) era significativamente influenzato dalla presenza di ricadute durante il trattamento con FTY [HR (95%CI): 1.4 (1.2-1.7); $p<0.001$]. Inoltre, la durata di washout di 6-11, 12-17 e ≥ 18 settimane erano associate ad un rischio più elevato di una ricaduta rispetto a washout di durata inferiore a 6 settimane [3.7 (1.1-12.7), $p=0.041$; 5.7 (1.6-20.6), $p=0.008$; 15.9 (4.6-54.6), $p<0.001$, rispettivamente].

CONCLUSIONI

I risultati di questo studio sottolineano il rischio di riattivazione della malattia, che aumenta all'aumentare della durata di washout nel passaggio da FTY a farmaci ad azione depletiva sui linfociti. Studi "real-life" su ampie popolazioni o su registri di malattia, come il presente studio, possono fornire dati utili per guidare i clinici nelle strategie migliori per potere effettuare cambi ("switch") di terapia.

Risks associated with wash-out duration when switching from fingolimod to cell-depleting agents

INTRODUCTION AND AIMS

Decisions regarding the duration of washout periods between disease-modifying therapies (DMTs) in multiple sclerosis (MS) patients need to take both the risk of disease reactivation and safety issues regarding overlapping immunological mechanisms of action into account.

Fingolimod is an oral DMT, approved for the treatment of highly active relapsing-remitting (RR) MS. It induces sequestration of B and T lymphocytes in secondary lymphoid organs, with decrease of absolute lymphocyte counts (ALC) to 20%–30% of baseline values between days 3 and 7 of treatment initiation. After FTY discontinuation ALC progressively increase and return within the normal range for approximately half the patients by six weeks and to approximately 80% of pre-treatment values by 12 weeks.

Following the publication of case-series and case-reports on the lack of response to alemtuzumab, rituximab and ocrelizumab following FTY withdrawal, it has been hypothesized that their efficacy may be incomplete if commenced before ALC has recovered, possibly because sequestered lymphocytes are protected from cell-depleting agents. Studies on larger cohorts, however, have found both alemtuzumab and rituximab to be an effective option after FTY withdrawal, and that disease activity during alemtuzumab did not correlate with the baseline ALC or with the washout interval.

Seeing the kinetics of lymphocyte reconstitution, it is plausible to think that the risk of incomplete lymphocyte recovery is greater in the first 6-8 weeks following FTY discontinuation. This potential risk, however, has to be balanced with the risk of return of disease activity/persisting disease activity or even of a rebound syndrome, starting from 4 weeks after ceasing FTY.

Given the growing complexity of treatment choices it is important to gather information on drug sequencing and on the most appropriate washout duration between drugs. Aim of this study was, therefore, to assess the risk of relapses following FTY discontinuation and the initiation of a B/T cell-depleting agent (alemtuzumab, cladribine or anti-CD20 agents – ocrelizumab and rituximab) in relation to the duration of washout, using data from the Italian MS Register.

RESULTS

Out of 61,625 patient records available at the time of data extraction (on November 14th 2019), a total of 329 patients were included in the analysis (226F, 103M; mean age 41±10 years).

Ninety patients relapsed during the washout period and 72 during the subsequent cell-depleting therapy. During the cell-depleting treatment, the incidence rate ratio (IRR) for a relapse was significantly greater in patients with a

washout-period of 12-17 (IRR (95%CI): 2.4 (1.1-5.5); $p=0.037$) and ≥ 18 weeks (6.0 (2.8-12.7); $p<0.001$) compared to the reference period (<6 weeks).

The multivariable Cox analysis showed that the time to a relapse (hazard ratio - HR) was significantly influenced by the occurrence of relapses during FTY treatment [HR (95%CI): 1.4 (1.2-1.7); $p<0.001$]. Moreover, washout durations of 6-11, 12-17 and ≥ 18 weeks were associated with a higher risk of a relapse in comparison to washout durations shorter than 6 weeks [HR: 3.7 (1.1-

12.7), $p=0.041$; 5.7 (1.6-20.6), $p=0.008$; 15.9 (4.6-54.6), $p<0.001$, respectively].

CONCLUSIONS

Results of the present study underline the risk of disease reactivation, which increases with the duration of washout when switching from FTY to lymphocyte-depleting agents. Real-life studies on large populations and on MS registries such as this one can provide useful data to guide clinicians on strategies for treatment switches.



PUBBLICAZIONI E COMUNICAZIONI A CONGRESSI / PUBLICATIONS AND CONGRESS PRESENTATIONS

- *Risks associated with wash-out duration when switching from fingolimod to cell-depleting agents. Poster (P0913), MSVirtual2020 ECTRIMS, Multiple Sclerosis Journal 2020; 26: (S3) 552-659*
- *Risks associated with wash-out duration when switching from fingolimod to cell-depleting agents. Comunicazione orale, Congresso Società Italiana di Neurologia virtuale 2020, Neurol Sci (2020) 41 (Suppl 1):S1-S347*

INSPIRA - Analisi del Registro Italiano di Sclerosi Multipla per studiare il concetto di progressione indipendente dall'attività di ricaduta



Maria Trojano

on behalf of the Italian MS Register

Centro SM, Dipartimento di Scienze Mediche di Base, Neuroscienze ed Organi di Senso
Università di Bari, Bari

COLLABORATORI / COLLABORATORS

Pietro Iaffaldano, Damiano Paolicelli, Mariaclara Achille

COLLABORAZIONI CON ALTRI CENTRI / COLLABORATIONS WITH OTHER CENTERS

Giuseppe Lucisano, Center for Outcomes Research and Clinical Epidemiology (CORESEARCH), Pescara; Dipartimento di scienze mediche di base, Neuroscienze ed organi di senso, Università degli Studi di Bari, Bari

Francesco Patti, Centro SM, Azienda Ospedaliera-Universitaria, Policlinico Vittorio Emanuele, Università degli Studi di Catania, Catania

Vincenzo Brescia Morra, Centro di Cura e Ricerca Clinica per la SM; Dipartimento di Neuroscienze (NSRO), Università Federico II, Napoli

Giovanna De Luca, Clinica Neurologica, Università G. D'Annunzio, Policlinico SS Annunziata Chieti
Alessandra Lugaresi, Riabilitazione Sclerosi Multipla, IRCCS Istituto delle Scienze Neurologiche di Bologna; Dipartimento di Scienze Biomediche e Neuromotorie, Università degli Studi di Bologna, Bologna

Mauro Zaffaroni, Centro SM di Gallarate, ASST della Valle Olona, Gallarate (VA)

Matilde Inglese, Dipartimento Di Neuroscienze, Riabilitazione, Oftalmologia, Genetica E Scienze Materno - Infantili (DINOEMI), Università degli Studi di Genova, Ospedale Policlinico San Martino, IRCCS, Genova

Giuseppe Salemi, Dipartimento di Biomedicina, Neuroscienze e Diagnostica Avanzata, Università degli Studi di Palermo, Palermo

Eleonora Cocco, Dipartimento di Scienze Mediche e Salute Pubblica, Università di Cagliari, Centro SM, Cagliari

Antonella Conte, Dipartimento di Neuroscienze Umane, Sapienza Università di Roma, Roma; IRCCS Istituto Neurologico Mediterraneo (INM) Neuromed, Pozzilli

Diana Ferraro, Dipartimento di Neuroscienze, Unità di Neurologia, Università degli Studi di Modena e Reggio Emilia; Nuovo Ospedale Civile Sant'Agostino Estense in Baggiovara, Modena

Simonetta Galgani, Centro SM, Azienda Ospedaliera S. Camillo Forlanini, Roma

Roberto Bergamaschi, IRCCS Fondazione Mondino, Pavia

Carlo Pozzilli, Centro SM, Ospedale S. Andrea, Sapienza Università di Roma, Roma

Giacomo Lus, Centro SM, II Divisione di Neurologia, Dipartimento di Medicina Clinica e Sperimentale, Seconda Università di Napoli, Napoli

Marco Rovaris, Fondazione Don Carlo Gnocchi, Milano

Giorgia Teresa Maniscalco, Neurologia, Ospedale Cardarelli, Centro Regionale per la Sclerosi Multipla, Napoli

Francesco Ottavio Logullo, UOC Neurologia Macerata, Area Vasta 3, ASUR Marche, Macerata

Giuseppina Marrazzo, **Valeria Lovato**, Roche S.p.A., Monza

Giancarlo Comi, **Massimo Filippi**, Dipartimento di Neurologia, Centro SM, Istituto Scientifico San Raffaele, Milano

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

PREMESSE E OBIETTIVI

Ad oggi, la sclerosi multipla secondaria progressiva (SPMS) viene diagnosticata retrospettivamente dai neurologi, secondo la definizione di Lublin: una storia di progressione graduale della disabilità, indipendente dalle recidive, dopo un decorso iniziale di tipo recidivante-remittente. Non sono disponibili marcatori biologici o clinici per rendere più sensibile e affidabile l'identificazione della conversione a forma SP. Pertanto, è difficile stabilire la data esatta di conversione da un decorso all'altro, principalmente perché, dal punto di vista clinico, le forme recidivante-remittente (RR) e SP sono un continuum della malattia con un confine indistinto tra loro. Recentemente, sono state proposte definizioni oggettive di SPMS. Le definizioni data-driven si basano sull'applicazione di algoritmi alle valutazioni del punteggio EDSS registrate longitudinalmente nei registri di malattie o nei database clinici.

La maggior parte degli studi finora condotti per valutare i fattori di rischio per la transizione a SPMS sono stati condotti su coorti cliniche in cui la definizione di SPMS era basata sul giudizio soggettivo dei neurologi. Il modo in cui viene definita la conversione in SPMS potrebbe influenzare la valutazione dei fattori di rischio, incluso l'effetto delle terapie modificanti la malattia (DMT), potenzialmente associate alla transizione del decorso della malattia. In questo studio abbiamo confrontato i fattori di rischio per la transizione dal decorso RR a SP in un'ampia coorte di persone con SM ad esordio recidivante seguita prospetticamente nel Registro Italiano SM, utilizzando due diverse definizioni di SPMS: la prima era basata sulla decisione soggettiva presa dal neurologo curante e la seconda si basava su un algoritmo data-driven. Sono stati valutati anche i fattori di rischio per il raggiungimento di un punteggio EDSS irreversibile 6.0 dopo la transizione SP.

RISULTATI

Il 20 settembre 2018 il Comitato Scientifico del Registro Italiano SM ha concesso l'approvazione al progetto ed all'uso dei dati. Dopo aver ricevuto tutte le autorizzazioni necessarie, abbiamo eseguito l'estrazione dei dati utilizzando il dataset Italiano globale aggiornato al 31 maggio 2018. I pazienti con SM a esordio recidivante ($n = 19.318$) sono stati estratti dal Registro Italiano SM. I fattori di rischio per SPMS e per il raggiungimento di EDSS 6.0 irreversibile, dopo la transizione SP, sono stati stimati utilizzando modelli di regressione di Cox multivariabile.

Sono state utilizzate due definizioni SPMS:

1. Definizione di neurologo (ND). Una definizione basata sulla decisione soggettiva presa dai neurologi secondo i criteri di Lublin per SP. Per questa definizione è stata utilizzata la data di conversione SP, inserita dai neurologi nel software (iMed®).
2. Algoritmo data driven (DDA). Un algoritmo basato su una precedente definizione pubblicata con alcune modifiche: peggioramento del punteggio EDSS a 3 strati (aumento di 1,5 punti se l'EDSS di base era 0, aumento di 1,0 punti se l'EDSS di base era 1,0- 5,5, aumento di 0,5 punti se l'EDSS basale era > 5,5) con un punteggio EDSS minimo

di 4,0 e un punteggio del sistema funzionale (FS) piramidale minimo di 2,0 al momento della conversione in SPMS confermato a 3 mesi e alla fine del follow-up (ultimo Punteggio EDSS $\geq 4,0$; ultimo punteggio FS piramidale $\geq 2,0$). Al fine di ridurre l'impatto delle modifiche EDSS transitorie dovute a recidive, sono stati esclusi tutti i punteggi EDSS raccolti durante una ricaduta (± 30 giorni).

Gli SPMS identificati dalla DDA ($n = 2.343$, 12,1%) erano più anziani, più disabili e con una progressione più rapida verso la disabilità grave ($p < 0,0001$), rispetto a quelli identificati dal ND ($n = 3.868$, 20,0%). In entrambi i gruppi, i fattori di rischio più consistenti ($p < 0,05$) per SPMS erano un esordio multifocale, un'età di esordio > 40 anni, un punteggio EDSS basale più alto e un numero più alto di recidive; il fattore protettivo più consistente era l'esposizione ai DMT. L'esposizione ai DMT durante la fase SP della malattia, non ha influito sul rischio di raggiungere l'EDSS irreversibile 6.0.

CONCLUSIONE

Il nostro studio suggerisce che una definizione più oggettiva di SPMS basata su una definizione data driven è più affidabile per identificare i pazienti con un decorso SP più aggressivo rispetto a un giudizio soggettivo retrospettivo del neurologo curante. Questi risultati potranno aiutare a selezionare una popolazione più omogenea di pazienti con SPMS da includere in futuri studi clinici o studi osservazionali per valutare l'effetto dei DMT durante la fase SP della malattia. Inoltre, i nostri risultati forniscono ulteriori approfondimenti sui fattori prognostici più robusti associati alla transizione SPMS confermati utilizzando diversi criteri di SPMS. È interessante notare che i risultati confermano anche il ruolo dell'esposizione ai DMT nel ridurre questo rischio, ma non nel prevenire l'accumulo di disabilità dopo il passaggio alla SPMS.

I registri nazionali SM, come il Registro Italiano SM, rappresentano strumenti formidabili per fornire importanti informazioni sul decorso della malattia e sugli effetti dei DMT nelle diverse fasi della malattia.

INSPIRA - Italian analysis of the National Multiple Sclerosis Registry Studying the concept of Progression Independent from Relapse Activity

INTRODUCTION AND AIMS

To date, secondary-progressive multiple sclerosis (SPMS) is diagnosed retrospectively by neurologists, according to the Lublin' definition: a history of a gradual disability progression, independent of relapses, after an initial relapsing course. No biological nor clinical markers are available to make more sensitive and reliable the identification of the SP conversion. Thus, it is difficult to establish the exact date of conversion from one course to the other one, mainly because, on a clinical standpoint, the relapsing-remitting (RR) and the SP forms are a continuum of disease with the boundary between them being somewhat indistinct. Recently, objective definitions of SPMS have been proposed. The data driven definitions are based on the application of algorithms to the EDSS score evaluations longitudinally recorded in disease registry or clinical databases.

The majority of the studies so far performed to assess the risk factors for SPMS transition have been conducted on clinical cohorts in which the SPMS definition was based on the subjective judgement of the neurologists. The way the conversion to SPMS is defined might affect the evaluation of risk factors, including the effect of disease modifying therapies (DMTs), potentially associated with the disease course transition.

In this study we compared the risk factors for the transition from RR to SP course in a large cohort of relapsing onset MS prospectively followed-up in the Italian MS Registry, using two different SPMS definitions: the first was based on the subjective decision made by the treating neurologist, and the second was based on a more recently proposed data-driven algorithm. Risk factors for reaching an irreversible EDSS score 6.0 after the SP transition were also evaluated.

RESULTS

On 20th September 2018 the Scientific Committee of the Italian MS Registry granted the approval to this project and the approval of data use. After receiving all the approval needed, we performed the data extraction using the global Italian dataset updated at 31st May 2018. Relapsing onset MS patients (n=19,318) were extracted from the Italian MS Registry. Risk factors for SPMS and for reaching irreversible EDSS 6.0, after SP transition, were estimated by using multivariable Cox regression models. Two SPMS definitions were used:

1. Neurologist Definition (ND). A definition based on the

subjective decision made by the neurologists according to the Lublin criteria for SP. For this definition the date of SP conversion, entered by the neurologists in the (iMed®) software, was used.

2. Data-Driven Algorithm (DDA). An algorithm based on a previous published definition with some modifications: a 3-strata progression magnitude (1.5-point increase if the baseline EDSS was 0, 1.0-point increase if the baseline EDSS was 1.0-5.5, 0.5-point increase if the baseline EDSS was > 5.5) with a minimum EDSS score of 4.0 and a minimal pyramidal FS score of 2.0 at the time of conversion to SPMS confirmed at 3 months and at the end of follow-up (last EDSS score $\geq$ 4.0; last pyramidal FS score $\geq$ 2.0). In order to reduce the impact of transient EDSS modifications due to relapses, all the EDSS scores collected during a relapse ($\pm$ 30 days) were excluded.

SPMS identified by the DDA (n=2,343, 12.1%) were older, more disabled and with a faster progression to severe disability ($p<0.0001$), than those identified by the ND (n=3,868, 20.0%). In both groups, the most consistent risk factors ($p<0.05$) for SPMS were a multifocal onset, an age at onset >40 years, higher baseline EDSS score and a higher number of relapses; the most consistent protective factor was the DMT exposure. DMT exposure during SP, the did not impact the risk of reaching irreversible EDSS 6.0.

CONCLUSIONS

Our study suggests that a more objective definition of SPMS based on a DDA is more reliable to identify patients with a more aggressive SP course in comparison to a retrospective subjective judgment of the treating neurologist. These findings can help to select more homogeneous population of SPMS patients to be included in future clinical trials or observational studies to evaluate the effect of DMTs during the SP phase of the disease. Moreover, our results provide further insights on the most robust prognostic factors associated to the SPMS transition confirmed by using different criteria of SPMS. It is noteworthy that the results also confirm the role of DMT exposure in reducing this risk, but not in preventing the disability accumulation after the transition to SPMS.

National MS registries, such as the Italian MS Registry, represent formidable tools to provide important information on the disease course and the effect of DMTs in the different phases of the disease.



PUBBLICAZIONI E COMUNICAZIONI A CONGRESSI / PUBLICATIONS AND CONGRESS PRESENTATIONS

Publications

The full paper which present the complete results of this study has published by Multiple Sclerosis Journal and an Editorial has been dedicated to our work:

- Iaffaldano P, Lucisano G, Patti F, Brescia Morra V, De Luca G, Lugaresi A, Zaffaroni M, Inglese M, Salemi G, Cocco E, Conte A, Ferraro D, Galgani S, Bergamaschi R, Pozzilli C, Salvetti M, Lus G, Rovaris M, Maniscalco GT, Logullo FO, Paolicelli D, Achille M, Marrazzo G, Lovato V, Comi G, Filippi M, Amato MP, Trojano M; Italian MS Register. Transition to secondary progression in relapsing-onset multiple sclerosis: Definitions and risk factors. *Mult Scler.* 2021 Mar;27(3):430-438. doi: 10.1177/1352458520974366
- Lorscheider J. When does a heap become a heap? *Mult Scler.* 2021 Mar;27(3):329-330. doi: 10.1177/1352458520988459

Presentations

- Defining the risk factors for the conversion to secondary progressive multiple sclerosis: a retrospective cohort study of the Italian MS Register. 35th ECTRIMS Congress, Stockholm, Sweden 11-13 September 2019. This presentaion has been selected for the congress highlights
- Evaluating the risk factors for the conversion to secondary progressive multiple sclerosis: a retrospective cohort study of the Italian MS Register. 50°congresso SIN Bologna 2019

Confronto tra un algoritmo di trattamento basato su un approccio terapeutico aggressivo rispetto alla classica terapia di escalation nella sclerosi multipla recidivante



Maria Trojano

on behalf of the Italian MS Register

Centro SM, Dipartimento di Scienze Mediche di Base, Neuroscienze ed Organi di Senso Università di Bari, Bari

COLLABORATORI / COLLABORATORS

Pietro Iaffaldano, Damiano Paolicelli, Francesca Caputo

COLLABORAZIONI CON ALTRI CENTRI / COLLABORATIONS WITH OTHER CENTERS

Giuseppe Lucisano, Center for Outcomes Research and Clinical Epidemiology (CORESEARCH), Pescara; Dipartimento di scienze mediche di base, Neuroscienze ed organi di senso, Università degli Studi di Bari, Bari

Francesco Patti, Centro Sclerosi Multipla, Azienda Ospedaliera-Universitaria, Policlinico Vittorio Emanuele, Università degli Studi di Catania, Catania

Mauro Zaffaroni, Centro SM di Gallarate, ASST della Valle Olona, Gallarate (VA)

Vincenzo Brescia Morra, Centro di Cura e Ricerca Clinica per la SM; Dipartimento di Neuroscienze (NSRO), Università Federico II, Napoli

Carlo Pozzilli, Centro SM, Ospedale S. Andrea, Sapienza Università di Roma, Roma

Giovanna De Luca, Clinica Neurologica, Università G. D'Annunzio, Policlinico SS Annunziata Chieti

Matilde Inglese, Dipartimento Di Neuroscienze, Riabilitazione, Oftalmologia, Genetica E Scienze Materno - Infantili (DINOEMI), Università degli Studi di Genova, Ospedale Policlinico San Martino, IRCCS, Genova

Giuseppe Salemi, Dipartimento di Biomedicina, Neuroscienze e Diagnostica Avanzata, Università degli Studi di Palermo, Palermo

Giorgia Teresa Maniscalco, Neurologia, Ospedale Cardarelli, Centro Regionale per la Sclerosi Multipla, Napoli

Eleonora Cocco, Dipartimento di Scienze Mediche e Salute Pubblica, Università di Cagliari, Centro SM, Cagliari

Patrizia Sola, Dipartimento di Neuroscienze, Unità di Neurologia Università degli Studi di Modena e Reggio Emilia, Nuovo Ospedale Civile S. Agostino/Estense, Modena

Giacomo Lus, Centro SM, II Divisione di Neurologia, Dipartimento di Medicina Clinica e Sperimentale, Seconda Università di Napoli, Napoli

Valentina Torri Clerici, U.O. Neuroimmunologia e Malattie Neuromuscolari, Fondazione IRCCS Istituto Neurologico C. Besta, Milano

Roberto Bergamaschi, IRCCS Fondazione Mondino, Pavia

Davide Maimone, Centro Sclerosi Multipla - UOC di Neurologia - ARNAS Garibaldi, Catania, Italia

Elio Scarpini, Centro Sclerosi Multipla, UOSD Malattie Neurodegenerative, IRCCS Ospedale Maggiore Policlinico, Università degli Studi di Milano, Milano

Marco Capobianco, Centro Regionale di riferimento per la SM, Unità Neurologica, Ospedale Universitario San Luigi, Orbassano, TO

Giancarlo Comi, Massimo Filippi, Dipartimento di Neurologia, Centro SM, Istituto Scientifico San Raffaele, Milano

PREMESSE E OBIETTIVI

L'obiettivo più importante dei trattamenti modificanti la malattia (DMT) nella Sclerosi Multipla (SM) è prevenire l'accumulo di disabilità a lungo termine. Negli ultimi 20 anni lo scenario terapeutico nella SM Recidivante Remittente (SMRR) si è notevolmente ampliato. Tuttavia, la scelta terapeutica nella SMRR sta diventando sempre più complessa a causa della necessità di bilanciare il rapporto rischio/beneficio dei diversi DMT disponibili. Ad oggi la strategia terapeutica più adottata dai clinici per i pazienti con SMRR che devono iniziare un DMT è la strategia di escalation. Tale strategia consiste nell'iniziare con un farmaco a moderata efficacia ma con un migliore profilo di sicurezza, e passare ad un farmaco a più alta efficacia ma con un profilo di sicurezza più complesso solo in caso di mancata risposta al primo trattamento. La superiorità dei DMT ad alta efficacia, come natalizumab, alemtuzumab, ocrelizumab, cladribina, mitoxantrone o fingolimod, nel ridurre le misure di attività di malattia in termini di attività clinica e di risonanza magnetica rispetto alle tradizionali terapie di prima linea, come interferone (IFN) β , glatiramer acetato (GA), teriflunomide o dimetilumarato sono stati provati da diversi studi clinici randomizzati e/o studi osservazionali. Inoltre, confronti indiretti da fasi di estensione e analisi di sottogruppi di studi randomizzati suggeriscono che le terapie ad alta efficacia sono associate a un migliore controllo dell'attività di ricaduta quando avviate precocemente dopo l'esordio della SM.

Tuttavia, se i pazienti che iniziano con un DMT ad alta efficacia traggano un beneficio maggiore in termini di accumulo di disabilità a lungo termine rispetto a quelli che iniziano con agenti ad efficacia moderata resta un dibattito aperto. Recenti studi osservazionali hanno dimostrato che l'avvio precoce di una terapia altamente efficace nei pazienti con SMRR può fornire maggiori benefici rispetto ad un approccio di escalation nel ridurre il rischio di sviluppare progressione secondaria e accumulo di disabilità. In questo studio retrospettivo osservazionale basato sui dati del progetto Registro Italiano Sclerosi Multipla abbiamo confrontato l'effetto a lungo termine di un inizio precoce rispetto a un inizio tardivo (approccio di escalation) di un DMT ad alta efficacia sulle traiettorie di disabilità in una grande popolazione di pazienti con SMRR naïve al trattamento che hanno avviato il primo trattamento entro il primo anno dall'insorgenza della malattia e sono stati seguiti longitudinalmente fino a dieci anni.

RISULTATI

Secondo le regole del Registro Italiano Sclerosi Multipla, il nostro gruppo di lavoro ha chiesto e ottenuto l'autorizzazione a condurre questo progetto, utilizzando i dati del Registro Italiano Sclerosi Multipla il 5 febbraio 2018. Nello studio, sono stati inclusi i pazienti con SMRR con una durata di follow-up di almeno 5 anni, una prima visita entro 3 anni dall'insorgenza della malattia e almeno 3 EDSS dopo l'avvio del primo DMT. I pazienti sono stati divisi in due gruppi: il gruppo esposto ad un trattamento intensivo precoce (EIT) se il loro primo trattamento è stato

uno dei sei DMT ad alta efficacia (natalizumab, alemtuzumab, mitoxantrone, fingolimod, cladribina o ocrelizumab) e il gruppo di trattamento di escalation (ESC) se la loro prima terapia è stata un DMT di moderata efficacia (IFN β , GA, teriflunomide, dimetilumarato o azatioprina) seguito da un'escalation a un DMT ad alta efficacia, a causa della mancanza di efficacia dopo almeno un anno di trattamento. I pazienti sono stati appaiati attraverso la procedura del propensity score (PS) 1:1 per caratteristiche demografiche e cliniche al primo DMT.

Sono state costruite delle traiettorie di disabilità applicando un modello statistico longitudinale per misure ripetute. L'effetto dell'inizio precoce verso un inizio ritardato di un DMT ad alta efficacia è stato valutato attraverso i cambiamenti dell'EDSS medio annuale confrontati ai valori di EDSS al basale (delta-EDSS) nei 2 gruppi di pazienti: EIT ed ESC.

I dati clinici longitudinali di 53010 pazienti provenienti da 89 centri MS erano disponibili nel Registro Italiano Sclerosi Multipla al momento dell'estrazione dei dati (novembre 2019). Dopo aver applicato i criteri di inclusione e di esclusione abbiamo ottenuto un campione di 2702 pazienti RRMS da 62 centri italiani SM. In questa coorte, 365 pazienti hanno ricevuto un trattamento classificabile come approccio EIT, mentre un campione più ampio di 2337 pazienti è stato trattato secondo la strategia ESC. La procedura di PS matching ha prodotto 363 coppie di pazienti con avvio di una prima terapia entro 13 mesi dall'esordio di malattia e seguiti per un numero mediano (IQR) di 8.5 (6.5-11.7) anni. Tutti i delta-EDSS medi annuali sono risultati statisticamente significativamente ($p < 0.02$) maggiori nei pazienti trattati con una strategia di escalation rispetto ai pazienti trattati sin da subito con un DMT ad elevata efficacia. In particolare, le differenze dei delta-EDSS medi tra i due gruppi hanno avuto una tendenza ad aumentare da un punteggio di 0.1 (0.01-0.19, $p = 0.03$) al primo anno a 0.30 (0.07-0.53, $p = 0.009$) a 5 anni fino a 0.67 (0.31-1.03, $p = 0.0003$) a 10 anni. La differenza massima di delta-EDSS media è stata di 0,72 (0,40-1,04, $p < 0,001$) misurata a 9 anni.

CONCLUSIONI

Questo studio condotto in un contesto di pratica reale indica come le traiettorie di disabilità siano più favorevoli per i pazienti il cui primo farmaco è un DMT ad alta efficacia rispetto a quelli trattati secondo una strategia di escalation. Sebbene siano necessari ulteriori studi, soprattutto mirati a stabilire il profilo di sicurezza a lungo termine dell'inizio precoce di DMT ad alta efficacia, questi dati possono guidare il neurologo nella pratica clinica nella scelta del primo farmaco soprattutto per quei pazienti con SMRR con fattori di prognosi negativi all'esordio di malattia.

Early-aggressive treatment algorithm versus classical escalation therapy in relapsing multiple sclerosis

INTRODUCTION AND AIMS

The most important goal of multiple sclerosis (MS) therapy is the prevention of long-term disability accumulation. The therapeutic scenario for relapsing–remitting MS (RRMS) has widely expanded during the past 20 years. Choosing the MS therapy has become increasingly complex, due to the difficulties in weighing the risk/benefit ratio of several different available disease modifying therapies (DMTs). To date, except for individuals expressing poor clinical and radiological features at baseline, the most applied treatment algorithm for early naïve MS is based on an escalation strategy. According to this approach, patients start with safe moderate-efficacy DMTs and switch to high-efficacy immunotherapies with a more complex safety profiles in case of first treatment failure. The superiority of high-efficacy DMTs, such as natalizumab, alemtuzumab, ocrelizumab, cladribine, mitoxantrone or fingolimod, in reducing measures of clinical and MRI disease activity in comparison to the traditional first-line MS therapies, such as interferon (IFN) β , glatiramer acetate (GA), teriflunomide or dimethylfumarate have been consistently proven by different randomized clinical trials (RCTs) and/or observational studies. Moreover, indirect comparisons from extension arms and subgroup analyses of randomized trials suggest that high-efficacy therapies are associated with improved control of relapse activity when initiated earlier after MS onset. Whether patients initiating therapy with high-efficacy DMTs derive a greater long-term benefit on disability accumulation than those who start with moderate-efficacy agents, remains a matter of debate. Recent observational studies showed evidence that early initiation of highly effective therapy in RRMS may provide more benefit than an escalation approach in decreasing the risk of developing secondary progression and disability accrual, at least in a medium-term of 5–6 years of follow-up. In this study, we compared the long-term effect of an early versus a late start (escalation approach) of high-efficacy DMTs on disability trajectories in a large population of naïve RRMS who started the first treatment within the first year from the disease onset and longitudinally followed up to 10 years.

RESULTS

According to the Registry rules, on February 5th 2018, the Scientific Committee of the Italian MS Registry granted the approval to conduct this project and extract and use the registry data. Patients with relapsing onset MS, with a follow-up duration of at least 5 years, a first visit within 3 years from disease onset and at least 3 Expanded Disability

Status Scale (EDSS) score evaluations after the first DMT start were extracted from the Italian MS Registry database. Patients meeting the eligibility criteria were divided in two groups: the early intensive treatment (EIT) group if their first treatment was one of the six high-efficacy DMTs (natalizumab, alemtuzumab, mitoxantrone, fingolimod, cladribine or ocrelizumab) and the escalation treatment (ESC) group if their first therapy was a moderate-efficacy DMT (IFN β , GA, teriflunomide, dimethylfumarate or azathioprine) followed by escalation to a high-efficacy DMT, due to a lack of efficacy, after at least one year of treatment.

Patients were 1:1 propensity score (PS)-matched for characteristics at the first DMT. The disability trajectories were evaluated by applying a longitudinal model for repeated measures. The effect of early versus late start of high-efficacy DMT was assessed by the mean annual EDSS changes compared to baseline values (delta-EDSS) in EIT and ESC groups.

Longitudinal clinical data of 53,010 patients from 89 MS centers were available in the Italian MS Registry at the time of data extraction (November 2019). After applying the inclusion and the exclusion criteria we retrieved 2,702 RRMS patients from 62 Italian MS centers. In this cohort, 365 patients received a treatment classifiable as EIT approach, while a larger sample of 2,337 patients was treated according to the ESC strategy. The PS matching procedure produced 363 pairs of patients. Mean annual delta-EDSS were all significantly ($p < 0.02$) higher in the ESC group compared to the EIT group. In particular, the mean estimated delta-EDSS differences between the two groups tend to increase from 0.1 (0.01–0.19, $p = 0.03$) at 1 year, to 0.30 (0.07–0.53, $p = 0.009$) and to 0.64 (0.35–0.93, $p < 0.001$) at 5 and 8 years respectively, while at 10 years (the last year of study observation) it was 0.67 (0.31–1.03, $p = 0.0003$). The maximum mean delta-EDSS difference was 0.72 (0.40–1.04, $p < 0.001$) measured at 9 years.

CONCLUSIONS

The results of our real-world study indicate that the long-term disability trajectories are more favorable with an EIT strategy than with moderate-efficacy DMTs followed by escalation to high-efficacy DMTs. Although further studies are necessary, especially to establish the long-term safety risks of the EIT approach, these findings may drive the treatment decisions of physicians, in particular in the cases of naïve patients with poor prognosis factors at the onset of disease.



PUBBLICAZIONI E COMUNICAZIONI A CONGRESSI / PUBLICATIONS AND CONGRESS PRESENTATIONS

Publications

- Iaffaldano P, Lucisano G, Caputo F, Paolicelli D, Patti F, Zaffaroni M, Brescia Morra V, Pozzilli C, De Luca G, Inglese M, Salemi G, Maniscalco GT, Cocco E, Sola P, Lus G, Conte A, Amato MP, Granella F, Gasperini C, Bellantonio P, Totaro R, Rovaris M, Salvetti M, Torri Clerici V, Bergamaschi R, Maimone D, Scarpini E, Capobianco M, Comi G, M.Filippi, Trojano M, on behalf of the Italian MS Register. Long term disability trajectories in relapsing Multiple Sclerosis patients treated with early intensive or escalation treatment strategies. *Therapeutic Advances in Neurological Disorders*, 2021 – In press.

Presentation

- Comparison of disability trajectories in relapsing Multiple Sclerosis patients treated with early intensive or escalation treatment strategies. MSVIRTUAL2020: 8th joint ACTRIMS-ECTRIMS Meeting. Virtual Meeting 11-13 September 2020
- Comparing disability trajectories in relapsing Multiple Sclerosis patients treated with early intensive or escalation treatment strategies. 51° Congresso della Società Italiana di Neurologia. Congresso virtuale. 28-30 novembre 2020

Fattori predittivi di progressione di disabilità in un'ampia coorte italiana di pazienti affetti da sclerosi multipla



Marzia Romeo

Centro Sclerosi Multipla, Ospedale San Raffaele, Milano

COLLABORATORI / COLLABORATORS

M. Romeo,¹ L. Leocani,¹ V. Martinelli,¹ L. Moiola,¹ M. Filippi^{1,2} G. Comi¹; *on behalf of the Italian MS Register.*

¹ *Department of Neurology, Institute of Experimental Neurology, Division of Neuroscience, San Raffaele Hospital, Milan*

² *Neuroimaging Research Unit, Institute of Experimental Neurology, Division of Neuroscience, San Raffaele Scientific Institute, Milan*

PREMESSE E OBIETTIVI

La sclerosi multipla (SM) è una malattia infiammatoria cronica demielinizzante del sistema nervoso centrale ed è la causa più comune, non traumatica, di disabilità nei giovani adulti. La maggior parte dei pazienti presenta, nella fase iniziale della malattia, un andamento caratterizzato da episodi acuti di peggioramento clinico, definiti ricadute o esacerbazioni, seguiti da una fase di remissione della malattia (SM-RR). La fase secondariamente progressiva di malattia (SM-SP), segue la fase a ricadute e remissioni dopo un tempo variabile dall'esordio di malattia ed è caratterizzata da progressivo accumulo della disabilità senza remissione. Una percentuale minore di pazienti (10-15%) presenta, invece, un decorso progressivo sin dall'esordio della malattia in assenza di episodi clinici acuti. Questa forma di malattia è definita sclerosi multipla primariamente progressiva (SM-PP).

Nella pratica clinica quotidiana l'identificazione del cambio di decorso di malattia avviene spesso in ritardo. Il ritardo nella diagnosi è anche imputabile all'assenza di markers di laboratorio o test specifici per la diagnosi di SM-SP e all'assenza di chiari predittori clinici di progressione di disabilità. La diagnosi precoce permetterebbe di introdurre nella breve finestra di opportunità d'intervento (la fase di transizione verso un decorso progressivo) farmaci con potenziale effetto neuro-protettivo. L'ocrelizumab e il siponimod (BAF312) sono i primi farmaci a essersi dimostrati efficaci nelle forme progressive di malattia.

Pertanto, l'obiettivo dello studio è quello di identificare i fattori predittivi della progressione della disabilità nei pa-

zienti RR-MS ad alta disabilità e nei pazienti con decorso progressivo di SM inclusi nel Registro Italiano Sclerosi Multipla. L'identificazione precoce di pazienti con variabili predittive sfavorevoli consentirà di trattare i pazienti con le nuove terapie per la SM (ocrelizumab e siponimod).

La popolazione è rappresentativa della popolazione con sclerosi multipla del nostro Paese e comprende un gran numero di pazienti.

RISULTATI

Il presente studio è retrospettivo e longitudinale ed include un'ampia coorte di pazienti affetti da SM inseriti nel Registro Italiano Sclerosi Multipla. I pazienti inclusi presentavano con decorso secondario progressivo, primario progressivo e a ricadute e remissioni, una disabilità calcolata con la scala di disabilità EDSS > 4.0 e con un periodo di osservazione presso i centri di almeno 6 mesi. La prima visita presso i centri è il punto di riferimento (baseline) per l'inizio dell'osservazione. Sono stati inclusi nello studio i pazienti che hanno effettuato la prima visita neurologica presso i centri prima di giugno 2016. Il periodo di osservazione medio è stato di 22 mesi. L'end-point primario dello studio è la progressione della disabilità sostenuta e confermata alla fine del follow-up e definita come aumento del punteggio EDSS > 1.0 punti se l'EDSS basale è ≤ 5 e 0.5 se la EDSS basale è > 6.0.

I tre gruppi di pazienti (SM-RR, SM-SP, SM-PP) sono stati confrontati durante il follow-up di 2 anni per determinare i fattori predittivi di progressione della disabilità.

Sono stati inclusi 5.031 pazienti (3.169 donne e 1.862

maschi), 1.887 con SM-SP, 1096 con SM-PP e 2.048 con SM-RR. Su un totale di 5.031 pazienti, 1.587 (32 %) ha avuto una progressione di disabilità dopo una media di 15,4 mesi.

Nei tre gruppi di pazienti abbiamo confrontato al baseline i pazienti con progressione della disabilità con i pazienti stabili. In tutti e tre i gruppi i pazienti con peggioramento della disabilità erano più anziani all'esordio della malattia rispetto ai pazienti stabili [gruppo SM-SP: 32 vs 30 anni ($p<0.001$); Gruppo SM-PP: 41 vs 39 anni ($p<0.05$); Gruppo SM-RR 34 vs 32 anni ($p<0.005$)]. Nei gruppi con SM progressiva i pazienti con progressione della disabilità avevano una durata della malattia più breve rispetto ai pazienti stabili [gruppo SM-SP: 191 vs 219 mesi ($p<0.0001$); Gruppo SM-PP: 110 vs 128 mesi ($p<0.004$)]. Infine in tutti e tre i gruppi i pazienti con progressione della disabilità avevano un EDSS inferiore rispetto ai pazienti stabili [gruppo SM-SP: EDSS medio 5.6 vs 5.8 punti ($p<0.0001$); Gruppo SM-

PP: 5,4 vs 5,7 punti ($p<0,0001$); Gruppo SM-RR 4.9 vs 5.0 punti ($p<0.06$)].

Nel gruppo di pazienti con SM-RR i pazienti con peggioramento della disabilità avevano anche un numero inferiore di ricadute nell'anno precedente alla visita basale ($p<0.018$).

Tuttavia, l'analisi multivariata non ha confermato questi dati nei gruppi di pazienti SM-SP e SM-PP. Invece nel gruppo di pazienti SM-RR l'analisi multivariata ha confermato l'associazione tra progressione della disabilità e l'età avanzata all'esordio.

CONCLUSIONE

In conclusione lo studio non ha evidenziato dei forti fattori predittivi clinici di progressione della disabilità, è quindi necessario concentrare la ricerca sull'individuazione di biomarcatori umorali predittivi di peggioramento della disabilità nella popolazione di pazienti con SM.

Predictive factors of disability progression in a large cohort of italian multiple sclerosis patients

INTRODUCTION AND AIMS

Multiple sclerosis (MS) is one of the most common cause of neurological disability in young adults globally. It is a chronic degenerative illness and therefore carries a high economic and quality of life burden associated with it. One of the principal objectives in the care of people with MS is, therefore, to reduce the irreversible accumulation of neurological disability.

The diagnosis of progressive MS is clinical and retrospective because based on the patient's history and the neurological exam. In everyday clinical practice, the identification of the change in disease course is often late and there are no applicable predictors of disability progression.

While group data exist that are prognostic for patients with MS, there are no individually applicable predictors of disease course or severity. This produces considerable anxiety and concern for patients, difficulty for clinicians in providing accurate information to patients and a lack of clear guidance on when and how to treat progressive MS. Therefore, the objective of the study is to identify the predictive factors of disability progression in RR-MS patients with high disability and patients with progressive course of MS included in the datasets of the Italian MS registry. The early identification of patients with unfavorable predictive variables will allow treating patients with the new therapies for MS (ocrelizumab and siponimod).

The population of the Italian MS registry is representative of MS population of our Country and includes a large number of patients.

RESULTS

This is a retrospective, longitudinal study that enrolling a large cohort of MS patients of the Italian MS registry with secondary progressive MS (SP-MS), primary progressive MS (PP-MS) and relapsing-remitting MS (RR-MS) with Expanded Disability Status Scale (EDSS) > 4.0 and with an observation period at the centers of at least 6 months. The first visit to the centers is the reference point (baseline) for the beginning of observation. We included patients who performed the first visit in the centers before June 2016. Primary end-point is the disability progression (increase of EDSS score >1.0 point if baseline EDSS ≤ 5 and 0.5 if baseline EDSS was > 6.0) sustained and confirmed at the end of follow-up. The 3 groups of patients have been compared during 2-year follow-up to determine predictive factors of disability progression.

We included 5,031 patients (3,169 females and 1,862 males), 1,887 with SP-MS, 1096 with PP-MS and 2,048 with RR-MS. Of the 5,031, 1,587 (32 %) had a disability progression after a mean of 15.4 months. The mean of follow-up was 22 months.

At baseline we compared in the three MS groups patients

with disability progression vs stable patients. The patients with disability worsening were older at disease onset compared with stable patients in all three groups [SP-MS group: 32 vs 30 years ($p:0.001$); PP-MS group: 41 vs 39 years ($p:0.05$); RR-MS group 34 vs 32 years ($p:0.005$)]. In progressive MS groups patients with disability progression had a shorter disease duration compared with stable patients [SP-MS group: 191 vs 219 months ($p<0.0001$); PP-MS group: 110 vs 128 months ($p:0.004$)]. Finally, patients with disability progression had a lower EDSS compared with stable patients in all three groups [SP-MS group: mean EDSS 5.6 vs 5.8 points ($p<0.0001$); PP-MS group: 5.4 vs 5.7 points ($p<0.0001$); RR-MS group 4.9 vs

5.0 points ($p:0.06$)]. In the RR-MS group the patients with disability worsening had also a lower numbers of relapses 1 year before baseline ($p:0.018$). However, the multivariable analysis not confirmed these data in SP-MS and PP-MS groups. In the RR-MS group the multivariable analysis confirmed the association between disability progression and older age at onset.

CONCLUSIONS

The study not found strong clinical predictive factors of disability progression. It is necessary to identify fluid biomarkers probably more predictive of disability.

E-MUSIC: Early Multiple Sclerosis Italian Cohort



Maria Pia Amato

on behalf of the Italian Multiple Sclerosis Register Centers Group

Dipartimento NEUROFARBA, Divisione di Riabilitazione Neurologica, Azienda Ospedaliero-Universitaria Careggi; IRCCS Fondazione Don Carlo Gnocchi, Firenze

COLLABORATORI / COLLABORATORS

Mattia Fonderico, Emilio Portaccio, Luisa Pastò, Lorenzo Razzolini, Elio Prestipino, Angelo Bellinva, Laura Tudisco, Roberto Fratangelo

COLLABORAZIONI CON ALTRI CENTRI / COLLABORATIONS WITH OTHER CENTERS

Pietro Iaffaldano, Maria Trojano, *Dipartimento di scienze mediche di base, Neuroscienze ed organi di senso, Università degli Studi di Bari, Bari*

Giuseppe Lucisano, *CORESEARCH Srl, Pescara; Dipartimento di scienze mediche di base, Neuroscienze ed organi di senso, Università degli Studi di Bari, Bari*

PREMESSE E OBIETTIVI

La Sclerosi Multipla (SM) è una malattia infiammatoria demielinizzante del sistema nervoso centrale caratterizzata da infiammazione, demielinizzazione ed alterazioni degenerative. La maggior parte degli individui ricevono diagnosi di SM ad un'età compresa tra i 20 ed i 40 anni di età. La SM ad esordio pediatrico (POMS), che esordisce prima del diciottesimo anno di età, rappresenta circa il 3-10% della totalità di malati con SM mentre la SM ad esordio tardivo (LOMS), che esordisce oltre i cinquant'anni di età, comprende circa il 3-5% di tutte le diagnosi di SM. L'età all'esordio gioca un ruolo prognostico molto importante, tuttavia poco conosciuto, che sembra impattare sia il decorso di malattia che la risposta al trattamento.

Studi clinici e di popolazione avevano suggerito che l'inizio della fase progressiva di malattia ed il raggiungimento di tappe di disabilità fondamentali (come l'EDSS 6.0, ovvero la necessità di utilizzare un appoggio monolaterale per deambulare) fossero età-correlati, indipendenti dal decorso iniziale di malattia. Sia nella POMS che nella SM ad esordio in età adulta (AOMS), il fattore prognostico più importante nel determinare la disabilità sembrava essere l'età all'esordio della malattia: più precoce l'esordio di malattia, più giovane l'età alla quale il paziente raggiunge disabilità importanti (EDSS 6.0 o EDSS 7.0). Inoltre, l'età all'esordio sembra influenzare la risposta ai farmaci modi-

ficanti il decorso di malattia (DMT). In particolare, alcuni recenti studi hanno sottolineato come l'efficacia della terapia tenda a ridursi con l'avanzare dell'età.

Nonostante una significativa percentuale di pazienti riceva la diagnosi di SM in età "estreme" (pediatrica, prima dei 18 anni, e tardiva, dopo i 50 anni), mancano trial clinici randomizzati e controllati che valutino l'efficacia dei DMT in queste categorie di pazienti. Risulta quindi molto difficile per il neurologo valutare il rapporto rischio-beneficio in queste fasce di età. Tuttavia, dal momento che una considerevole percentuale di pazienti viene trattata nel mondo reale, è possibile, attraverso studi di registro, cercare di ottenere informazioni riguardo l'efficacia dei farmaci in queste età estreme.

Lo domanda a cui questo studio multicentrico, retrospettivo, basato sui dati raccolti nel registro italiano SM ha cercato di rispondere è se ed in che misura la risposta al trattamento differisce in tre coorti di pazienti SM definiti dall'età all'esordio: POMS (età d'esordio < 18 anni), AOMS (età d'esordio tra 18 - 49 anni) e LOMS (età d'esordio ≥ 50 anni).

RISULTATI

Abbiamo incluso pazienti con sclerosi multipla recidivante-remittente, almeno 5 anni di follow-up, almeno 3 valutazioni EDSS ed una prima valutazione neurologica a

3 anni dall'esordio della SM. Abbiamo utilizzato modelli multivariati secondo COX per valutare il rischio di raggiungere una prima progressione della disabilità confermata a 12 mesi e per valutare il rischio di raggiungere l'EDSS 4.0. L'effetto del trattamento è stato valutato in termini di quartili di esposizione.

Abbiamo scoperto che i DMTs riducevano il rischio della disabilità confermata a 12 mesi ed il rischio di raggiungere l'EDSS 4.0. Nei pazienti ad esordio pediatrico e adulto, l'effetto protettivo del trattamento era tanto maggiore quanto maggiore era stata l'esposizione al farmaco. Nei pazienti ad esordio tardivo invece abbiamo notato una tendenza, tuttavia la riduzione del rischio "dose-dipendente" non era statisticamente significativa. Questo stu-

dio ha inoltre mostrato che le ricadute cliniche erano un fattore di rischio per l'incremento della disabilità in tutte e tre le coorti e che il sesso femminile esercitava un ruolo protettivo solo nella coorte ad esordio tardivo.

CONCLUSIONI

Questo studio ha messo in evidenza che un'esposizione sostenuta ai farmaci DMT ha ridotto il rischio di progressione della disabilità, in maniera apparentemente dose-dipendente. Conferma che i DMTs sono più efficaci nelle fasce di età più giovani (pediatrica e adulta) mentre la loro efficacia è minore, ma tuttavia ancora presente, nei pazienti a esordio tardivo.

E-MUSIC: Early Multiple Sclerosis Italian Cohort

INTRODUCTION AND AIMS

Multiple sclerosis (MS) is an inflammatory demyelinating disease of the central nervous system (CNS) that is characterized by inflammation, demyelination, and degenerative changes. Most individuals are diagnosed with MS at age 20–40 years. Pediatric-onset MS (POMS), before the age of 18, represents 3–10% of the whole MS population, while late-onset MS (LOMS), after the age of 50, now accounts for 3–5% of all MS diagnosis. Age at onset plays an important prognostic role, not fully understood, and may impact disease course and treatment response. Clinic- and population- based studies suggested that the onset of the progressive phase and time to Expanded Disability Status Scale (EDSS) milestones is an age-dependent phenomenon, independent of the initial course of MS. Nevertheless, predicting disability accumulation just upon chronologic age would be an oversimplification. In both POMS and Adult-Onset MS (AOMS), the strongest predictor for reaching the EDSS milestones is age at clinical onset: the earlier the onset of disease, the younger the age at which the main disability milestones are reached.

Additionally, age at onset influences the response to disease-modifying therapy (DMT). A recent meta-analysis of the main Randomized Clinical Trials (RCTs) demonstrated that the efficacy of DMTs on disability worsening has an inverse correlation with increasing age. As the prevalence of LOMS is increasing, data regarding DMT effectiveness in this group of patients are warranted. This is even more relevant due to comorbidity and possibly higher risks of treatment-related adverse events in this age group. As for the pediatric counterpart, clinical trials in POMS subjects are extremely limited, also due to ethical considerations on the use of placebo owing to highly active disease in this population. Although most of the DMTs are not licen-

sed for POMS, their off-label prescription is increasing in this sub-population. Therefore, benefit to risk balance and treatment decision-making in these extreme age populations present unique age- and disease-related challenges. Since a sizeable proportion of pediatric and older patients are treated in the real-world setting, registry-based cohort studies represent a major source of data to elucidate the above issues.

The research question, addressed in this multicenter study based on the Italian MS register, was whether and how treatment response differs in three cohorts of RRMS patients defined by age at onset: POMS (≤ 18 years), AOMS (18 - 49 years) and LOMS (≥ 50 years).

RESULTS

We included patients with a relapsing-remitting phenotype, ≥ 5 years follow-up, ≥ 3 Expanded Disability Status Scale evaluations and a first neurological evaluation within 3 years from the first demyelinating event. Multivariate Cox regression models (adjusted hazard ratio with 95% confidence intervals) were used to assess the risk of reaching a first 12-month confirmed disability worsening and the risk of reaching a sustained Expanded Disability Status Scale of 4.0.

The effect of disease-modifying drugs was assessed as quartiles of time exposure. We found that disease-modifying drugs reduced the risk of 12-month confirmed disability worsening, with a progressive risk reduction in different quartiles of exposure in pediatric-onset and adult-onset patients [adjusted Hazard Ratios in non-exposed versus exposed $>62\%$ of the follow-up time: 8.0 (3.5–17.9) for pediatric-onset and 6.3 (4.9–8.0) for adult-onset, $p < 0.0001$] showing a trend in late-onset patients [adjusted Hazard Ratio = 1.9 (0.9–1.4), $p = 0.07$]. These results

were confirmed for a sustained Expanded Disability Status Scale score of 4.0. We also found that relapses were a risk factor for 12-month confirmed disability worsening in all the three cohorts and female sex exerted a protective role in the late-onset cohort.

CONCLUSIONS

This study provides evidence that sustained exposure to disease-modifying drugs decreases the risk of disability accumulation, seemingly in a dose-dependent manner. It confirms that the effectiveness of disease-modifying drugs is lower in late-onset patients, although still detectable.



PUBBLICAZIONI E COMUNICAZIONI A CONGRESSI / PUBLICATIONS AND CONGRESS PRESENTATIONS

Publications

- Amato MP, Fonderico M, Portaccio E, Pastò L, Razzolini L, Prestipino E, Bellinva A, Tudisco L, Fratangelo R, Comi G, Patti F, De Luca G, Brescia Morra V, Cocco E, Pozzilli C, Sola P, Bergamaschi R, Salemi G, Inglese M, Millefiorini E, Galgani S, Zaffaroni M, Ghezzi A, Salvetti M, Lus G, Florio C, Totaro R, Granella F, Vianello M, Gatto M, Di Battista G, Aguglia U, Logullo FO, Simone M, Lucisano G, Iaffaldano P, Trojano M. Disease-modifying drugs can reduce disability progression in relapsing multiple sclerosis. *Brain*. 2020 Oct 1;143(10):3013-3024

Oral presentations

- Fonderico M. Exposure to disease modifying drugs reduces disability progression in pediatric-, adult- and late-onset relapsing multiple sclerosis: real world data from the early multiple sclerosis italian cohort (E-MUSIC). 50° National Congress of Italian Society of Neurology, Bologna 12-15 October 2019
- Fonderico M. Exposure to disease modifying drugs reduces disability progression in pediatric-, adult- and late-onset relapsing multiple sclerosis: real world data from the early multiple sclerosis italian cohort (E-MUSIC). *Ectrim* 2019, Stockholm, Sweden, 11-13 September 2019

Valutare il decorso clinico della sclerosi multipla a esordio pediatrico in ere differenti di trattamento: stiamo davvero modificando la malattia?



Damiano Baroncini

Centro SM di Gallarate, ASST della Valle Olona, Gallarate (VA)

COLLABORATORI / COLLABORATORS

Mauro Zaffaroni, Angelo Ghezzi

COLLABORAZIONI CON ALTRI CENTRI / COLLABORATIONS WITH OTHER CENTERS

Marta Simone, Lucia Margari, Unità di Neuropsichiatria Infantile, Dipartimento di Scienze Biomediche e Oncologia, Università di Bari, Bari

Pietro Iaffaldano, Centro SM, Dipartimento di Scienze Mediche di Base, Neuroscienze ed Organi di Senso Università di Bari, Bari

Vincenzo Brescia Morra, Roberta Lanzillo, Centro di Cura e Ricerca Clinica sulla SM, Dipartimento di Neuroscienze, Scienze della Riproduzione e Odontostomatologia, Università di Napoli Federico II, Napoli

Massimo Filippi, Dipartimento di Neurologia e Neurofisiologia, Centro SM, Neuroimaging Research Unit, Istituto Scientifico San Raffaele, Milano

Marzia Romeo, Dipartimento di Neurologia and Neuriabilitazione, IRCCS Istituto Scientifico San Raffaele, Milano

Francesco Patti, Clara Grazia Chisari, Centro SM, Azienda Ospedaliera-Universitaria, Policlinico Vittorio Emanuele, Università degli Studi di Catania, Catania

Eleonora Cocco, Giuseppe Fenu, Dipartimento di Scienze Mediche e Salute Pubblica, Università di Cagliari, Centro SM, Cagliari

Antonella Conte, Dipartimento di Neuroscienze Umane, Sapienza Università di Roma, Roma
Giuseppe Salemi, Paolo Ragonese Dipartimento di Biomedicina, Neuroscienze e Diagnostica avanzata, Università degli Studi di Palermo, Palermo

Matilde Inglese, Maria Cellerino, Dipartimento di Neuroscienze, Riabilitazione Oftalmologia, Genetica e Scienze Materno-Infantili (DINOEMI), Ospedale Policlinico San Martino-IRCCS, Genova

Giancarlo Comi, INSPE e Centro Sclerosi Multipla IRCCS, Ospedale San Raffaele Milano

PREMESSE E OBIETTIVI

La disponibilità di nuove terapie modificanti la malattia (DMT) e i cambiamenti dei paradigmi terapeutici hanno portato a un miglioramento generale della prognosi della sclerosi multipla (SM) negli adulti. Non è ancora chiaro se questo miglioramento coinvolga anche i pazienti con SM ad esordio pediatrico (POMS), la cui gestione è limitata da un basso numero di DMT approvati e, probabilmente, altri fattori come il deterioramento cognitivo, il necessario coinvolgimento della famiglia nelle decisioni terapeutiche e il rischio di una bassa aderenza ai farmaci.

Il nostro scopo era valutare se la prognosi dei pazienti con

POMS stesse migliorando nel tempo, in relazione ai cambiamenti negli standard gestionali e terapeutici.

Criteri d'inclusione: esordio della SM prima dei 18 anni di età, diagnosi confermata di SM prima del gennaio 2014, durata della malattia ≥ 3 anni all'ultima osservazione. Criteri di esclusione: decorso primariamente progressivo o indefinito, presenza di errori nell'immissione dei dati, punteggio EDSS ≥ 8 un anno dopo l'inizio della malattia, data di diagnosi mancante, meno di due valutazioni del punteggio EDSS.

Abbiamo confrontato il tempo per raggiungere una disabilità persistente moderata e severa (EDSS 4.0 e 6.0) per

epoca di diagnosi (<1993, 1993-1999, 2000-2006 e 2007-2013), inserendo nell'analisi multivariata dei fattori confondenti, alcuni legati alle valutazioni EDSS (numero valutazioni all'anno, periodo di valutazione e durata della malattia al primo punteggio EDSS eseguito), altri legati all'attività clinica di malattia (età di esordio, sesso, ARR nei primi tre anni, tipo di esordio clinico, distanza temporale dall'esordio alla diagnosi). Abbiamo quindi analizzato la differenza tra le quattro epoche di diagnosi per quanto riguarda le caratteristiche demografiche, l'attività clinica della malattia all'esordio e la gestione dei DMT.

RISULTATI

A maggio 2019, il Registro Italiano della SM comprendeva 59.278 pazienti, di cui 4.704 (7,9%) avevano avuto un esordio pediatrico. In base ai nostri criteri di inclusione ed esclusione, abbiamo arruolato 3.198 pazienti POMS, provenienti da 82 diversi centri SM italiani. La distribuzione dei pazienti tra le epoche di diagnosi era: 619 (19%) prima del 1993, 785 (25%) nel periodo 1993-1999, 934 (29%) nel 2000-2006 e 860 (27%) nel 2007-2013. L'età media di insorgenza di malattia era di 15,2 anni, il 69% era di sesso femminile, il tempo mediano alla diagnosi era 3,2 anni, il tasso annualizzato di recidiva nel primo anno/primi tre anni di malattia era 1,3 / 0,6, il follow-up medio era 21,8-11,7 anni. La maggior parte dei pazienti è stata trattata con DMT (88%), di questi il 40% con farmaci ad alta potenza (ad

es. natalizumab, fingolimod). Considerando l'intera coorte, solo il 22% aveva iniziato un trattamento in età pediatrica, ma se si considerava il sottogruppo con diagnosi pediatrica (1300 pazienti in totale) questa percentuale saliva al 53%. I tempi di sopravvivenza mediana per raggiungere un EDSS 4.0 e 6.0 erano di 31,7 e 40,5 anni. Il rischio cumulativo di avere una disabilità è gradualmente diminuito nel tempo, sia per raggiungere un EDSS 4.0 (HR 0.70 nel 1993-1999, 0.48 nel 2000-2006 e 0.44 nel 2007-2013) sia per un EDSS 6.0 (HR 0.72, 0.44 e 0.30). In epoche di diagnosi recenti, un maggior numero di pazienti con POMS è stato trattato con DMT, in particolare con farmaci ad alta potenza, che erano iniziati precocemente e, quindi, erano anche assunti per periodi più lunghi. Le caratteristiche demografiche e l'attività clinica della malattia all'esordio non sono cambiate in modo significativo nel tempo. Le analisi del sottogruppo di pazienti con diagnosi pediatrica hanno dato risultati simili.

CONCLUSIONI

Nella POMS il rischio di disabilità persistente è stato ridotto del 50-70% nelle recenti epoche di diagnosi, probabilmente a causa del miglioramento degli standard gestionali e terapeutici. Nei prossimi anni, un aumento dei DMT approvati in età pediatrica e il continuo monitoraggio della sicurezza di tali farmaci porterà probabilmente a un ulteriore miglioramento della prognosi in questi pazienti.

Assessing the clinical course of pediatric onset multiple sclerosis in different treatment eras: are we really modifying the disease?

INTRODUCTION AND AIMS

Availability of new disease modifying therapies (DMTs) and changes of therapeutic paradigms have led to a general improvement of multiple sclerosis (MS) prognosis in adults. It is still unclear if this improvement also involves pediatric-onset MS (POMS) patients, whose early management is limited by a low number of approved DMTs and, possibly, other factors, such as cognitive impairment, involvement of the family in therapeutic decisions and risk of low adherence to therapies.

Our aim was to evaluate if prognosis of POMS was getting better over time, in relation to changes in therapeutic and managing standards.

Inclusion criteria were: MS onset before 18 years of age, confirmed MS diagnosis before January 2014 and disease duration ≥ 3 years at last observation. Exclusion criteria were having primary progressive or undefined MS course,

crucial errors in data entry, EDSS score ≥ 8 one year after the onset of disease, missing diagnosis date and less than two EDSS score evaluations. We compared time to reach persistent disability milestones (EDSS 4.0 and 6.0) by epoch of MS diagnosis (<1993, 1993-1999, 2000-2006 and 2007-2013), adjusting for possible confounders linked to EDSS evaluations (EDSS score evaluations per year, period of EDSS assessment and disease duration at first EDSS evaluation) and clinical disease activity (age at onset, sex, ARR in the first three years, type of clinical onset, time from onset to diagnosis). We then analysed the difference among the four diagnosis epochs regarding demographic characteristics, clinical disease activity at onset and DMTs management.

RESULTS

At May 2019, the Italian MS Registry included 59,278 patients, of which 4,704 (7.9%) had MS onset before 18 years of age. According to our inclusion and exclusion criteria, we enrolled 3,198 POMS patients, coming from 82 different MS centers in Italy. Distribution of patients among diagnosis epochs was 619 (19%) in <1993, 785 (25%) in 1993-1999, 934 (29%) in 2000-2006 and 860 (27%) in 2007-2013. Mean age of onset was 15.2 years, 69% were female, median time to diagnosis was 3.2 years, annualized relapse rate in first one/three years was 1.3/0.6, the mean follow-up was 21.8-1.7 years. The majority of patients were treated with DMTs (88%), of these 40% with high potency drugs (e.g. natalizumab, fingolimod). Considering the whole cohort, only 22% started DMTs in pediatric age, but this percentage increases to 53% in the subgroup with pediatric-diagnosis (1300 patients). Median survival times to reach EDSS 4.0 and 6.0 were 31.7

and 40.5 years. The cumulative risk of reaching disability milestones gradually decreased over time, both for EDSS 4.0 (HR 0.70 in 1993-1999, 0.48 in 2000-2006 and 0.44 in 2007-2013) and 6.0 (HR 0.72, 0.44 and 0.30). In recent diagnosis epochs, a greater number of POMS patients were treated with DMTs, especially high potency drugs, that were given earlier and for a longer period. Demographic characteristics and clinical disease activity at onset did not change significantly over time. Analyses of the subgroup of patients with pediatric-diagnosis gave similar results.

CONCLUSIONS

In POMS the risk of persistent disability has been reduced by 50-70% in recent diagnosis epochs, probably due to improvement in therapeutic and managing standards. In the coming years, an increase of approved DMTs before 18 years of age and upgrades in drug safety will probably lead to a further improvement of prognosis in this population.



PUBBLICAZIONI E COMUNICAZIONI A CONGRESSI / PUBLICATIONS AND CONGRESS PRESENTATIONS

- Baroncini D, Iaffaldano P, Simone M., Brescia Morra V, Lanzillo R, Filippi M, Romeo M, Patti F, Chisari C.G., Cocco E., Fenu G., Salemi G., Ragonese P., Inglese M., Cellerino M., Comi G., Zaffaroni M. and Ghezzi A. Changes in management of pediatric-onset multiple sclerosis: are we really modifying the disease course? Data from the Italian MS registry. Accepted as oral presentation (abstract number: 3938) at 2020 American Academy of Neurology (Congress canceled due to COVID-19 pandemic)
- Baroncini D., Simone M., Iaffaldano P., Brescia Morra V., Lanzillo R., Filippi M., Romeo M., Patti F., Chisari C.G., Cocco E., Fenu G., Salemi G., Ragonese P., Inglese M., Cellerino M., Margari L., Comi G., Zaffaroni M. and Ghezzi A. The risk of persistent disability is decreasing over time in pediatric-onset multiple sclerosis patients. Accepted for publication in JAMA neurology in March 2021.

PROGETTI APPROVATI REGISTRO ITALIANO SM

APPROVED PROJECTS ITALIAN MS REGISTRY

EPIDEMIOLOGIA DESCRITTIVA / DESCRIPTIVE EPIDEMIOLOGY

Lorena Lorefice

Caratterizzazione clinica ed evoluzione della SM ad esordio tardivo: studio multicentrico retrospettivo

Clinical characteristics and disease outcomes of late onset MS: a retrospective multicenter study

Giuseppe Fenu

Variazione delle caratteristiche cliniche e demografiche dei pazienti affetti da SM con diagnosi tra il 1983 e il 2016

Changes of clinical and demographic characteristics in patients with MS diagnosis during the various decades between 1983 and 2016

Jessica Frau

Valutazione dei fattori prognostici al basale in un'ampia coorte italiana di pazienti affetti da SM

Evaluation of baseline prognostic factors in a large Italian cohort of patients with MS

Paola Mosconi on behalf of Scientific Committee

Valutazione della progressione della disabilità, non correlata a riacutizzazione, utilizzando "EDSS roving" verso "EDSS basale": una validazione real world attraverso i dati del Registro Italiano SM.

The use of a roving EDSS reference value to enhance detection of EDSS worsening events: A real world evaluation through the Italian MS Register

Maria Trojano

Analisi retrospettiva non interventistica del Registro Italiano SM sulle forme secondariamente progressive

INTEREST: Italian MS Registry non interventional retrospective analysis in secondary progressive MS

Mario Alberto Battaglia on behalf of Scientific Committee

Validazione di un metodo per l'identificazione di casi prevalenti e incidenti di SM utilizzando differenti sorgenti di dati. Un case study in alcune provincie della regione Emilia Romagna

Validate a case definition of MS using different electronic (health and social) record: case study on selected provinces of Emilia Romagna Region

Monica Ulivelli

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

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

Roberto Bergamaschi

L'inquinamento atmosferico come possibile fattore di rischio della SM. Uno studio ecologico sulla popolazione Italiana

Air pollution as a risk factor of MS. An ecological study in the Italian population (The AIRMUS study)

Maurizio Angelo Leone

Integrazione di dati genetici e fenotipici tra il data-base PROGEMUS e il Registro Italiano SM

Integrating genetic and phenotypic data from the PROGEMUS data-base and the Italian MS registry

Carla Tortorella

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.

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.

Maria Trojano

Fattori demografici, clinici e terapeutici associati al rischio ed alla severità di Covid-19 in persone con SM

Demographic, clinical and treatment factors associated with the risk and severity of Covid-19 in people with MS

Maria Pia Amato

Progressione silente in una coorte Italiana di pazienti con CIS e SM recidivante –remittente

Silent progression in an Italian CIS and Relapsing-Remitting MS cohort

Roberto Bergamaschi

Studio ETEROGENEITA'. L'espressione fenotipica della sclerosi multipla (SM) può essere condizionata dalle caratteristiche del centro SM di riferimento?

HETEROGENEITY Study. Are multiple sclerosis (MS) phenotypes influenced by the type of referral MS center?

OTTIMIZZAZIONE DELLE TERAPIE / THERAPY OPTIMIZATION

Maria Pia Amato

Valutare l'efficacia e la sicurezza dei trattamenti nella SM progressiva

Assessing efficacy and safety of treatments in progressive MS

Damiano Paolicelli

Studio di coorte acquisita retrospettivamente sulla valutazione dell'impatto nel lungo termine di differenti strategie terapeutiche su outcomes di disabilità nella SM remittente. Registro Italiano iMedWeb. Studio RE.LO.DI.MS

Retrospective study to evaluate the long-term impact of different treatment strategies on disability outcomes in patients with relapsing MS. Italian iMedWeb MS Registry. RE.LO.DI.MS Study

Maria Trojano

Definire le scelte di trattamento nella SM durante due differenti epoche: un'analisi della real life utilizzando il Registro Italiano SM

Profiling treatment choices in MS during two different eras: a real world assessment in the Italian MS Registry

Maria Trojano

Big MS Data (BMSD) network

Big MS Data (BMSD) network

Francesco Patti

Studio pilota retrospettivo sugli effetti a lungo termine di Cladribina in pazienti affetti da SM recidivante remittente o sindrome clinicamente isolata.

Retrospective pilot study on long-term Cladribine effects in patients with relapsing remitting MS or clinically isolated syndrome

Emanuele D'Amico

Confronto sull'efficacia delle prime linee terapeutiche dei pazienti con SM: risultati da uno studio multicentrico

Comparative effectiveness of initial treatment choices for MS: a multicentre study.

Emanuele D'Amico

Il fenotipo e il recupero delle ricadute nei pazienti con SM recidivante remittente: vecchie e nuove terapie modificanti il decorso a confronto.

Exploring phenotype and recovery from relapses in relapsing-remitting MS patients: old versus new disease-modifying therapies

Matilde Inglese

Trapianto autologo di cellule staminali ematopoietiche per il trattamento della SM secondariamente progressiva: studio comparativo con pazienti del Registro Italiano SM.

Autologous Hematopoietic Stem Cell Transplantation for secondary progressive MS: a comparative study with matched control patients from the Italian MS Register

Maria Trojano

Analisi retrospettiva non interventistica del Registro Italiano SM per valutare l'impatto dell'attività di malattia nelle scelte terapeutiche durante le fasi recidivante e progressiva attiva di SM

EPID-MS Evaluation of the drivers of the therapy switch in active RRMS and active SPMS patients

Damiano Paolicelli

Caratterizzare il rischio di eventi avversi gravi durante il sequencing dei trattamenti nei pazienti con SM: analisi di coorte basata sul Registro Italiano SM

PROfiling the risk of Severe Adverse Events during sequencing therapies in patients with MS: an observational cohort analysis based on Italian MS Registry

Antonio Gallo

Studio OCREVID (Utilizzo dell'OCRELizumab durante la pandemia di coVID-19 in Italia)

OCREVID Study (The management of OCRElizumab during the coVID-19 pandemic in Italy)

Francesco Patti

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

Evaluating the efficacy of Ocrelizumab in Primary Progressive Multiple Sclerosis: a multicenter retrospective study (OPPORTUNITY)

PROGETTI SPECIFICI / SPECIFIC PROJECT

Francesco Patti

Valutazione dell'efficacia di diversi schemi di somministrazione di Natalizumab in real world life: uno studio retrospettivo multicentrico italiano.

Comparative effectiveness of different Natalizumab dosing schedules in real world life: a retrospective Italian multicentre study.

Matilde Inglese

Il concetto di persistenza nel miglioramento di disabilità: un'applicazione del modello di Markov ai pazienti trattati del Registro Italiano.

The concept of persistence in disability improvement: an application of Markov model to treated patients from the Italian Registry

Marco Salvetti

Utilizzo di tecniche di Machine Learning per prevedere il decorso della SM recidivante-remittente nei singoli pazienti.

Use of Machine Learning techniques in predicting the course of relapsing-remitting MS in individual patients

Emanuele D'Amico

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

Stop or not the disease-modifying therapies in secondary progressive multiple sclerosis: a comparison study of disability accrual trajectory

FATTORI PROGNOSTICI E MODELLI PREDITTIVI DI RISPOSTA ALLA TERAPIA / PROGNOSTIC FACTORS AND PREDICTIVE MODELS OF RESPONSE TO THERAPY

Roberto Bergamaschi

Predire precocemente l'evoluzione sfavorevole dei pazienti con Sindrome Clinicamente Isolata (CIS). Lo studio RECIS (Risk Estimate for CIS)

Early prediction of unfavorable evolution of Clinically Isolated Syndrome (CIS) patients. RECIS (Risk Estimate for CIS) study

Maria Trojano

Analisi del Registro Italiano di SM per studiare

il concetto di progressione indipendente dalle ricadute

INSPIRA - Italian analysis of the National MS registry Studying the concept of Progression Independent from Relapse Activity

Maria Trojano

Confronto tra due diversi algoritmi di trattamento nella SM recidivante: approccio aggressivo sin dall'esordio in confronto al classico schema sequenziale

Early-aggressive treatment algorithm versus classical escalation therapy in relapsing MS.

Marzia Romeo

Fattori predittivi di progressione di disabilità in un'ampia coorte italiana di pazienti affetti da SM

Predictive factors of disability progression in a large cohort of Italian MS patients

FORME RARE DI SM / RARE FORMS OF MS

Maria Pia Amato

E-MUSIC: Early MS Italian Cohort

E-MUSIC: Early MS Italian Cohort

Damiano Baroncini

Valutare il decorso clinico della SM a esordio pediatrico in ere differenti di trattamento: stiamo davvero modificando la malattia?

Assessing the clinical course of pediatric onset MS in different treatment eras: are we really modifying the disease?

Maria Pia Amato

Definizione dei predittori precoci clinici e di risonanza magnetica di risposta al trattamento nei pazienti con SM pediatrica

Assessing early clinical and MRI predictors of treatment response in pediatric MS patient

Emanuele D'Amico

Il ruolo della gravidanza nei disturbi dello spettro della neuromielite ottica

The influence of pregnancy on neuromyelitis optical spectrum disorder

COMITATO SCIENTIFICO REGISTRO ITALIANO SM 2021

ITALIAN MS REGISTRY SCIENTIFIC COMMITTEE 2021

Maria Pia Amato

Dipartimento NEUROFARBA, Divisione di
Riabilitazione Neurologica, Azienda Ospedaliero-
Universitaria Careggi; IRCCS Fondazione Don Carlo
Gnocchi, Firenze
Mario Alberto Battaglia

Roberto Bergamaschi

IRCCS Fondazione Mondino, Pavia
Marco Capobianco
Centro Regionale di riferimento per la SM, Unità
Neurologica, Ospedale Universitario San Luigi,
Orbassano, TO

Giancarlo Comi

Università Vita-Salute San Raffaele, Istituto
Scientifico San Raffaele, Milano
Claudio Gasperini
Dipartimento di Neuroscienze, Azienda Ospedaliera
San Camillo-Forlanini, Roma

Paola Mosconi

Istituto di Ricerche Farmacologiche Mario Negri
IRCCS, Milano

Francesco Patti

Centro SM, Azienda Ospedaliera-Universitaria,
Policlinico Vittorio Emanuele, Università degli Studi
di Catania, Catania

Maura Pugliatti

Dipartimento di Neuroscienze e Riabilitazione,
Università degli Studi di Ferrara, Ferrara

Maria Trojano

Centro SM Dipartimento di Scienze Mediche di Base,
Neuroscienze ed Organi di Senso Università di Bari,
Bari

Monica Ulivelli

Dipartimento Di Scienze Mediche, Chirurgiche e
Neuroscienze, Università Di Siena, Siena

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

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.

Attualmente, sono presenti nel database i dati di 2173 soggetti di cui 1362 persone con SM e 811 controlli sani, con l'aumento di 446 scansioni RM durante l'ultimo anno. Per accedere ai dati, deve essere presentata al Comitato Scientifico per l'approvazione una proposta di ricerca, che

spiega nel dettaglio i principali obiettivi del progetto e il progresso nella conoscenza che ne seguirà. Al momento della registrazione, gli utenti avranno pieno accesso ai set di dati richiesti, e il diritto di utilizzo dei medesimi per scopi non commerciali.

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

- 1) Manutenzione ed 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.

Durante il secondo anno di finanziamento, sono state portate avanti molte azioni relative alle linee strategiche 1 e 2, mentre le attività della terza linea strategica saranno implementate nelle fasi successive dell'iniziativa.

Per quanto riguarda la seconda linea strategica sullo sviluppo di progetti di ricerca *ad hoc*, sono stati pianificati quattro diversi progetti di ricerca gestiti dai quattro centri partecipanti.

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

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 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.

To date 2173 subjects, have been uploaded in the INNI database: 811 healthy controls and 1362 patients with MS, with an increment of 446 MRI scans during last year. During the next three-year period, INNI will be acting 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).

During the second year of funding, several steps related to Actions 1 and 2 have been carried forward, while Action 3 will be implemented in later phases of the initiative.

Regarding action 2 on the development of ad-hoc research projects, four different research projects were planned by the four participating centers.

Quantificazione della misura dell'atrofia: dalla ricerca alla pratica clinica



Massimo Filippi

Neuroimaging Research Unit, University "Vita-Salute" San Raffaele, Milano

Arrestare la neurodegenerazione e promuovere la neuroprotezione nella sclerosi multipla (SM) è uno degli obiettivi più importanti delle attuali strategie terapeutiche. Le misure di risonanza magnetica (RM) dell'atrofia e la sua progressione nel tempo sono tra i metodi più studiati e accettati per quantificare la neurodegenerazione. Usando la risonanza magnetica, è stato dimostrato che l'atrofia della sostanza grigia (GM) è più rilevante dell'atrofia del cervello intero o della sostanza bianca (WM) nello spiegare la disabilità clinica e il deterioramento cognitivo nella SM. Anche il talamo si è rivelato una struttura di particolare interesse: numerosi studi hanno dimostrato una riduzione del volume del talamo non solo in tutti i fenotipi clinici della SM, ma anche nelle prime fasi della malattia. Pertanto, è necessario migliorare le tecniche di analisi delle immagini in modo che l'atrofia del cervello intero, della sostanza grigia e talamica possano essere attendibilmente stimate come utili in ambito clinico per aiutare nelle decisioni di trattamento individualizzate. È importante sottolineare che i risultati derivati da ampi set di dati di persone con SM e controlli sani che utilizzano queste tecniche potrebbero essere facilmente tradotti per altre condizioni neurodegenerative.

Dopo una fase iniziale di revisione della qualità dei dati strutturali di immagine di risonanza magnetica che sono già stati raccolti nell'ambito dell'iniziativa INNI, al fine di essere utilizzati per le misurazioni dell'atrofia, gli obiettivi del progetto sono:

- 1) confrontare i metodi disponibili per le misurazioni dell'atrofia del cervello intero e della GM e formulare linee guida per le procedure di acquisizione e analisi dell'atrofia a livello nazionale;
- 2) studiare le anomalie morfometriche nei pazienti con sclerosi multipla e definire le traiettorie longitudinali della loro progressione;
- 3) ottenere una segmentazione affidabile e automatica del talamo, confrontare i risultati con gli approcci automatici esistenti e formulare linee guida per la sua applicazione clinica.

Nel secondo anno di attività sono state raccolte, dal da-

tabase di INNI, le acquisizioni di immagini RM di 466 pazienti con SM e 279 controlli sani, incluse scansioni pesate in T1 e T2 ad alta risoluzione 3D. Le scansioni RM sono state tutte acquisite utilizzando lo scanner 3.0T.

Tutti i dati sono stati pre-elaborati durante il primo anno del progetto. Abbiamo selezionato il software da confrontare per la quantificazione dell'atrofia dell'intero cervello e della GM. Abbiamo deciso di includere metodi ben performanti (SPM e strumento FSL-SIENA (x)) in base ai risultati ottenuti da un precedente studio del nostro gruppo, ma anche di tenere conto dei recenti progressi nella quantificazione dell'atrofia: FSL-SIENA (x) -XL (Battaglini et al., 2018) e Jim8 (<http://www.xinapse.com/>). Al momento, stiamo applicandole le pipeline di atrofia trasversali precedentemente descritte (SPMv12, SIENA (x) e Jim8) alle acquisizioni RMI di base del set di dati selezionato. Le fasi successive implicheranno l'applicazione longitudinale delle pipeline di atrofia selezionate, secondo i criteri precedentemente descritti. Verranno forniti i risultati dei confronti tra i software, sia in sezione trasversale che longitudinalmente. Per l'obiettivo 2: valutazione trasversale dell'atrofia regionale, abbiamo prima esplorato l'influenza della selezione del set di dati sull'analisi regionale dell'atrofia in un contesto multicentrico in tutte le materie. È stata eseguita la Morfometria Voxel Based, VBM. È stato valutato il confronto Voxel Based della GM nei pazienti con SM rispetto ai controlli. I risultati dell'analisi VBM sono stati esaminati per ogni set di dati. Questi hanno mostrato differenze in base al set di dati e all'approccio statistico utilizzato. Il prossimo passo sarà la preparazione di un manoscritto che riporti l'analisi VBM. Per quanto riguarda la valutazione longitudinale dell'atrofia regionale, 186 pazienti con SM e 66 HC dal set di dati di base hanno avuto un'acquisizione di follow-up. L'analisi Voxel Based dei cambiamenti longitudinali è in corso.

Moving atrophy quantification for research setting to clinical practice

Halting neurodegeneration and promoting neuroprotection in MS is one of the most important goals of current therapeutic strategies. MRI measurements of atrophy and its progression over time are among the best-studied and accepted methods for quantifying neurodegeneration. Using MRI, it has been demonstrated that gray matter (GM) atrophy is more relevant than whole-brain or white matter (WM) atrophy in explaining clinical disability and cognitive impairment in multiple sclerosis (MS). The thalamus, also, proved to be a structure of particular interest: several studies showed a volume reduction of the thalamus not only in all clinical MS phenotypes, but also in the early phases of the disease. Therefore, there is a need to improve image analysis techniques in order that whole-brain, GM and thalamic atrophy can be reliably estimated to be of use in the clinical setting for helping in individualized treatment decisions. Importantly, results derived from large datasets of healthy control (HC) and MS patients using these techniques could be easily translated to other neurodegenerative conditions.

After an initial stage of revision of the image quality of structural MRI data that are already collected within the INNI initiative, in order to be used for atrophy measurements, aims of the project are:

- 1) to compare a set of available state of art methods for whole-brain and GM atrophy measurements and to formulate guidelines for acquisition procedures and analysis of atrophy at a national level;
 - 2) to study morphometric abnormalities in MS patient voxel-wise and to define the longitudinal trajectories of their progression;
 - 3) to obtain a reliable, automatic segmentation of the thalamus, to compare the results with existing automatic approaches and to formulate guidelines for its clinical application.
- In the second year of the project baseline MRI acquisitions of 466 MS patients and 279 HC, including high resolution

3D T1 and T2 weighted scans were collected from the INNI repository. MRI scans were all acquired using 3.0T scanners.

All data were preprocessed during the first year of the project. We selected the software to be compared for the quantification of atrophy of the whole brain and the GM. We decided to include well-performing methods (SPM and FSL-SIENA(x) tool) according to the results obtained by a previous study from our group, but also to take into account recent advances in atrophy quantification: FSL-SIENA(x)-XL (Battaglini et al., 2018) and Jim8 (<http://www.xinapse.com/>).

At present, we are applying the cross-sectional atrophy pipelines previously described (SPMv12, SIENA(x) and Jim8) to the baseline MRI acquisitions of the selected dataset. Next steps will involve the longitudinal application of the selected atrophy pipelines, according to the previously described criteria. The results on the comparisons among the software, both cross-sectionally and longitudinally will be provided.

For the aim 2: cross-sectional assessment of regional atrophy, we first explored the influence of data set selection on regional analysis of atrophy in a multicenter context in all subject. Voxel Based Morphometry was performed with SPM12 and the DARTEL toolbox for each dataset. Voxel based comparison of GM in MS patients versus s HC was assessed. The results from the VBM analysis were examined for each dataset. These showed differences according to the dataset and the statistical approach used. Next step will be the preparation of a manuscript reporting the VBM analysis.

For the longitudinal assessment of regional atrophy, from the baseline dataset, 186 MS patients and 66 HC had a follow up acquisition. The voxel-based analysis of the longitudinal changes is ongoing.

Valutazione multicentrica su larga scala del volume dell'ippocampo nei pazienti con sclerosi multipla



Nicola De Stefano

Dipartimento Medicina, Chirurgia e Neuroscienze, Università di Siena, Siena

Lavori recenti hanno mostrato correlazioni significative tra prestazioni insufficienti nei test cognitivi e perdita del volume dell'ippocampo nei pazienti con SM. Studi precedenti hanno utilizzato un approccio manuale o la segmentazione completamente automatizzata per ottenere volumi di ippocampi derivati da immagini RM. Entrambi questi approcci hanno pro e contro. Oltre alla perdita di tessuto, ci sono anche evidenze che nella SM ci sia un'espansione del giro dentato dell'ippocampo e che questa espansione sia correlata ai deficit della memoria e all'apprendimento visuo-spaziale nelle fasi più avanzate della malattia. In passato sono state condotte analisi utilizzando la segmentazione manuale in un piccolo gruppo di pazienti che dovrebbero essere confermate in una popolazione più ampia. Poiché la segmentazione manuale richiede molto tempo, sarebbe auspicabile un approccio automatico.

Gli obiettivi del progetto sono:

- 1) Utilizzare una procedura semi-automatica implementata in laboratorio per valutare i volumi dell'ippocampo in persone con SM recidivante remittente (RR) nelle prime fasi della malattia (durata della malattia <5 anni) per stabilire in un ampio set di dati multicentrico:
 - a) se i volumi dell'ippocampo delle persone con SMRR, nelle prime fasi di malattia, mostrano differenze con quelli dei controlli sani appaiati per età;
 - b) se volumi ippocampali ridotti sono correlati a deficit cognitivi, in particolare con deficit della memoria e della

capacità visuo-spaziali o di memoria verbale;

c) se esiste una relazione temporale tra la diminuzione dei volumi dell'ippocampo al basale e l'alterazione della memoria / attenzione misurata con i test neuropsicologici al follow-up;

2) Implementare un metodo automatico per la stima dei cambiamenti volumetrici del giro dentato dell'ippocampo e studiare i fattori che influenzano l'espansione del giro dentato dell'ippocampo nella SM.

I primi 12 mesi, di questo progetto triennale, sono stati dedicati alla selezione del set di dati di immagini RM da analizzare e al suo controllo di qualità. A questo proposito, abbiamo identificato circa 300 persone con SM in una fase iniziale di malattia. Su 100 di questi pazienti e circa 1000 controlli precedentemente selezionati, abbiamo eseguito l'analisi su tutte le scansioni RM 3D pesate in T1 e attualmente stiamo eseguendo la correzione manuale delle maschere del volume dell'ippocampo di tutti i pazienti (obiettivo 2).

Nel 2019 sono state collezionate e valutate con il controllo di qualità e analizzate per l'ippocampo le immagini 3D T1-W di 140 HC. Nel 2020, sono state prese altre immagini di 139 HC, valutate con il controllo di qualità e analizzate. Il database di immagini analizzato con il metodo Siena è ora costituito da 279 maschere del volume dell'ippocampo. Queste azioni rispondono agli obiettivi 1 e 2 del progetto. L'analisi statistica è in corso e dovrebbe essere completata entro la fine dell'anno.

Large-scale, multi-centre assessment of hippocampal volume in MS patients

Recent works have shown significant correlations between poor performance in cognitive tests and loss of hippocampal volume in MS patients. Previous works have utilized either a manual approach or the fully automated segmentation to obtain MRI-derived hippocampal volumes. Both of these approaches have pros and cons. In addition to tissue loss, there is also evidence of hippocampal dentate gyrus expansion in MS and that this correlates with deficits in memory and visuospatial learning in the more advanced stages of the disease. Previous analysis was conducted using manual segmentation, in a relative small group of patients and need to be confirmed in a larger population. Since manual segmentation is time consuming, an automatic approach would be desirable

Aims of the project are:

1) To use a semi-automated procedure implemented in the Lab to assess hippocampal volumes on RRMS patients at the early disease stages (disease duration < 5 years) to establish in a large, multi-centre dataset:

- a) whether hippocampal volumes of early RRMS show differences with those of age-sex matched HC;
- b) whether decreased hippocampal volumes correlate with cognitive impairments, particularly with deficit involving memory and visuo-spatial or verbal memory abilities;

c) whether there is a temporal relationship between the decrease of hippocampal volumes at baseline and the alteration in memory/attention as measured with the neuropsychological tests at follow-up;

2) To implement an automatic method for estimation of volumetric changes of hippocampal dentate gyrus and investigate the factors influencing hippocampal dentate gyrus expansion in MS.

As planned, the first 12 months of this 36-month study have been dedicated to the selection of the MRI dataset to analyze and its quality control. In this respect, we identified about 300 MS patients with an early-stage of MS (First Milestone). On about 100 of these patients and about 1000 previously selected HC, we run FIRST on all the preprocessed 3D T1-W MRI scans and we are presently performing the manual correction of hippocampal volume masks of all patients (part of the Second Milestone). During the second year: 3D T1-W images of 140 HC were received late in 2019, checked for quality control and analyzed, obtaining the hippocampus masks for each of them. Between 10 June and 8 July 2020, T1-W 3D images of 139 HC were received, checked for quality control, and analyzed. The database of images analyzed by Siena is now constituted by 279 hippocampus masks. These actions respond to the Milestone 1 and 2 of the project. The statistical analysis is ongoing and should be completed by the end of the year.

L'impatto dei cambiamenti della connettività funzionale sulla progressione della malattia e l'accumulo di disabilità



Patrizia Pantano

Dipartimento di Neuroscienze Umane, Sapienza Università di Roma, Roma

La disabilità clinica e il carico di malattia in singoli pazienti con sclerosi multipla (SM) potrebbero non coincidere. Perciò. Lo scopo del progetto è quello di validare un modello non lineare per spiegare, nella SM la combinazione del danno strutturale, la riorganizzazione funzionale e l'accumulo di disabilità nel tempo. Inoltre si propone determinare l'incremento lineare del danno strutturale con la progressione della malattia, la prima riorganizzazione funzionale che termina con un collasso funzionale e un aumento della disabilità clinica a partire dall'esaurimento del meccanismo funzionale adattivo.

Vogliamo convalidare il modello in una vasta popolazione di persone con SM e collegare il modello alla connettività funzionale (FC) tra strutture cerebrali specifiche, al fine di:

1. valutare se l'esaurimento dei meccanismi adattativi funzionali corrisponde all'inizio dell'accumulo di disabilità;
2. Individuare le strutture cerebrali per le quali il modello si adatta al meglio, per quanto possibile agli obiettivi terapeutici per la riabilitazione o la farmacoterapia.

Durante questo primo anno, abbiamo acquisito i dati RM di 970 pazienti e 395 controlli, e verificato che l'EDSS fosse disponibile per tutti i 970 pazienti (mediana e range 2,5, 0,0-9,0), mentre l'MFSC era disponibile per un massimo di 392 pazienti e 126 controlli.

Circa 150 di soggetti sono stati esclusi dalla successiva analisi per motivi tecnici. Durante il primo anno, abbiamo analizzato 150 pazienti e 133 controlli e verificato che non era necessaria alcuna correzione per le differenze nei

parametri RM tra i centri per l'analisi seed-based, a parte l'inclusione del centro di acquisizione come covariata di nessun interesse.

Durante il secondo anno, abbiamo concluso la pre-elaborazione della risonanza magnetica strutturale e funzionale sia dei pazienti che dei controlli ed eseguito i compiti pianificati (correlazioni, analisi delle proprietà globali, modelli e benchmarks).

Lo studio su un sottogruppo di 144 pazienti con SM e nessuna disabilità ha mostrato che il cervelletto sensomotorio riorganizza ampiamente i suoi legami funzionali con altre regioni del cervello: aree di ridotta connettività funzionale cerebellare legate al danno della sostanza bianca sono presenti anche in assenza di manifestazioni cliniche e possono rappresentare una condizione preclinica; le aree di maggiore connettività funzionale cerebellare correlata sia al carico della lesione che all'atrofia talamica o cerebellare probabilmente rappresentano una riorganizzazione compensativa dei circuiti cerebrali; infine, l'atrofia globale può influenzare i cambiamenti di connettività funzionale nelle aree corticali posteriori.

I risultati dello studio in esame sono stati presentati in un poster presentato al Congresso ECTRIMS (European Committee for Treatment and Research in Multiple Sclerosis) in una forma virtuale, l'MS Virtual 2020. Un paper è stato inviato e al momento è in corso di revisione sulla rivista scientifica Radiology, <https://pubs.rsna.org/journal/radiology>.

The impact of functional connectivity changes on disease progression and disability accumulation

Clinical disability and disease burden in single MS patients may not coincide. Therefore, there is the need to finalize and validate a model that combines structural damage, functional reorganization and disability over time.

The aim of the project is to validate a non-linear model to explain the combination of structural damage, functional reorganization and disability over time in MS. The non-linear model combines structural damage, functional reorganization and disability over time and designs a linear increment of structural damage with disease progression, an early uprising of functional reorganization ending in functional collapse and an increase in clinical disability starting when functional adaptive mechanism are exhausted. The main aim of this project is to validate the model in a large MS population and link the model to functional connectivity (FC) between specific brain structures, in order to:

1. evaluate whether the exhaustion of functional adaptive mechanisms corresponds to the begin of disability accumulation;
2. individuate brain structures for which the model fits at best, as possible of therapeutic targets for rehabilitation or pharmacotherapy.

During this first year, we have downloaded the MRI data of 970 patients and 395 controls (HC), and verified that EDSS was available for all 970 patients (median and range 2.5, 0.0-9.0), whereas MFSC was available for up to 392 patients and 126 controls.

At the end of the first year, we had downloaded the MRI data of 970 patients and 395 controls and verified that EDSS was available for all 970 patients (median and range

2.5, 0.0-9.0), whereas MFSC was available for up to 392 patients and 126 controls. A number of subjects (about 150) were excluded from subsequent analysis for technical reasons (e.g., they had fMRI acquisition with a TR of 1.5 ms instead of 3 ms). During the first year, we had preprocessed 150 patients and 133 HC and verified that no correction for differences in MRI parameters among centers is required for seed-based analysis, other than the inclusion of acquisition center as covariate of no interest.

During the second year, we concluded the preprocessing of structural and functional MRI of both patients and HC and performed the planned tasks (correlations, global properties analysis, models and benchmarks). The study on the subgroup of 144 patients with MS and no disability showed that the sensorimotor cerebellum extensively reorganizes its functional links with other brain regions: areas of decreased cerebellar functional connectivity related to WM damage are present even in the absence of clinical manifestations and may represent a preclinical condition; areas of increased cerebellar functional connectivity related to both lesion burden and thalamic or cerebellar atrophy likely represent a compensative reorganization of brain circuits; lastly, global atrophy may influence functional connectivity changes in posterior cortical areas.

Results of the under-review study were presented in a poster at the conference held by the European Committee for Treatment and Research in Multiple Sclerosis (ECTRIMS) in a virtual form, namely the MS Virtual 2020. A manuscript was submitted to and at the moment is under review in Radiology, <https://pubs.rsna.org/journal/radiology>.

Determinanti RM strutturali e funzionali di disequilibrio cognitivo-radiologico in pazienti con SM



Gioacchino Tedeschi

Dipartimento di Scienze Mediche, Chirurgiche, Neurologiche, Metaboliche e dell'Invecchiamento & Centro di Alti Studi di Risonanza Magnetica SUN-FISM, Università degli studi della Campania 'Luigi Vanvitelli', Napoli

Un'ampia percentuale di pazienti con sclerosi multipla presenta deficit cognitivi, con un coinvolgimento preminente dell'attenzione, della velocità di elaborazione delle informazioni, delle funzioni esecutive, della memoria e delle abilità visuo-spaziali.

L'uso della risonanza magnetica (RM) come misura di outcome nella pratica clinica, o anche come fattore prognostico, assume una stretta relazione tra le anomalie cerebrali misurate con la RM convenzionale e lo stato cognitivo nei pazienti con SM. Tuttavia, l'associazione tra prestazioni cognitive e misure derivate dalla risonanza magnetica del danno al tessuto cerebrale nella sclerosi multipla è più scarsa del previsto e deve essere meglio chiarita.

Utilizzando l'ampio, multicentrico e unico set di dati di RM del progetto INNI, il nostro obiettivo sarà quello di esplorare i substrati strutturali e funzionali del disadattamento cognitivo-radiologico osservato nei pazienti con SM. In particolare, esamineremo i cambiamenti strutturali e funzionali che portano a compromissione cognitiva nei pazienti con SM con diverso carico della malattia.

Sulla base della recente disponibilità di strumenti di intelligenza artificiale (AI) efficienti e affidabili per eseguire analisi di previsione complesse, abbiamo deciso di modificare la nostra pipeline di analisi originale, passando a utilizzare un approccio di analisi di machine learning (ML), per prevedere quale, tra le misure più utilizzate del danno strutturale focale (volume della lesione T2) e diffuso (cervello

intero, GM, WM, talamo, ippocampo, amigdala e gangli della base) sono più rilevanti nel predire lo stato cognitivo (misurato dal marker surrogato, SDMT) in un'ampia popolazione di SM, multicentrica e reale.

L'Unità ha costantemente lavorato, insieme al centro di coordinamento, sull'attuazione delle procedure che verranno utilizzate per selezionare e acquisire dalla piattaforma INNI i big data necessari per eseguire le analisi pianificate per il progetto specifico del centro.

Risultati preliminari con dati MRI strutturali:

Sono stati inclusi 389 pazienti con SM appartenenti al database INNI. Le metriche strutturali derivate dalla risonanza magnetica sono risultati buoni predittori dello stato cognitivo, misurato dall'SDMT (Symbol Digit Modalities Test), dei pazienti con SM. Tra le molte metriche strutturali derivate dalla risonanza magnetica, i volumi del cervello e del talamo erano più fortemente associati allo stato cognitivo, seguiti dall'età, dai punteggi EDSS, Volume GM e, quindi, volume lesioni focali T2, volume lesioni focali T2 non era la migliore metrica strutturale derivata dalla risonanza magnetica nella caratterizzazione dello stato cognitivo e questo potrebbe parzialmente spiegare il "paradosso clinico-radiologico".

Abbiamo presentato un poster con i risultati preliminari al Congresso Scientifico Annuale della Fondazione Italiana per la SM. Prevediamo di concludere le analisi entro la fine dell'anno. Infine, nei primi mesi del prossimo anno circolerà una bozza del paper.

Structural and functional MRI determinants of cognitive-radiological mismatch in MS patients

A large proportion of multiple sclerosis (MS) patients experience cognitive deficits, with prominent involvement of attention, information processing speed, executive functions, memory and visuo-spatial abilities. The use of MRI as an outcome measure in clinical practice, or even as a prognostic factor, assumes a close relationship between the extent of MRI-measured brain abnormalities and the cognitive status in MS patients. However, the association between cognitive performances and MRI-derived measures of brain tissue damage in MS is poorer than expected and needs to be better clarified.

Using the unique and very large, multicenter, structural and functional 3T-MRI dataset of the INNI project, our aim will be to explore the structural and functional substrates of the cognitive-radiological mismatch observed in MS patients. In particular, we will look at structural and functional changes leading to cognitive impairment in MS patients with different burden of the disease.

Based on the recent availability of efficient and reliable artificial intelligence (AI) tools to run complex prediction analyses, we decided to modify our original analysis pipeline, moving to use a machine learning (ML) analysis approach, to predict which, among most-used measures of focal (T2-lesion volume) and diffuse (whole brain, GM, WM, thalamus, hippocampus, amygdala and basal ganglia volumes) brain structural damage, are more relevant in predicting

the cognitive status (as measured by the surrogate marker, Symbol Digit Modalities Test, SDMT) in a large, multicenter, real-life, MS population. The Unit has been constantly working, together with the coordinating center, on the implementation of the procedures that will be used to select and download, from the INNI platform, the (big) data necessary to run the planned analyses for the center-specific project, using a ML approach in a nested cross-validation (CV), to allow an actual prediction on “unseen” patients.

Preliminary results with structural MRI data:

389 MS patients belonging to INNI have been included. Structural MRI-derived metrics were good predictors of the cognitive status, as measured by SDMT, of MS patients. Among many MRI-derived structural metrics, brain and thalamus volumes were most strongly associated with the cognitive status, followed by age, EDSS scores, GM volume and, then, T2 focal lesions volume. T2 focal lesions volume was not the best structural MRI-derived metric in the characterization of the cognitive status and this could partially explain the “clinico-radiological paradox”.

A poster with preliminary results has been presented at the Annual Scientific Congress of the Italian MS Foundation. We plan to conclude the analyses by the end of the year. Finally, a draft of the paper will be circulated during the first months of the next year.



PUBBLICAZIONI E COMUNICAZIONI A CONGRESSI PUBLICATIONS AND CONGRESS PRESENTATIONS

Publications

- Storelli L, Rocca MA, Pantano P, Pagani E, De Stefano N, Tedeschi G, Zaratin 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; 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; 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. 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* 2020 (in press) [epub ahead of print 14 September 2020. doi: 10.1177/1352458520958356
- Tommasin S, Iakovleva V, Rocca MA, Tedeschi G, De Stefano N, Pozzilli C, Filippi M, Pantano P, and the INNI network. Functional connectivity of sensorimotor cerebellar domain as compensatory mechanism in patients with multiple sclerosis and no disability. *Radiology* 2020 (submitted).
- Abstracts
- 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
- 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
- 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
- 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
- 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
- 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
- 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
- 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
- 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, poster 276, page 114*
- 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, Meani A, Valsasina P, Filippi M. Relationship between cognitive impairment and MRI brain abnormalities in benign multiple sclerosis: a multiparametric study. *IMSCOGS 2019, Amsterdam, 6th-7th 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
- Storelli L, Rocca MA, Pagani E, 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. 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
- Storelli L, Rocca MA, Pagani E, 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. *Mult Scler* 2019; 25 (S2): 480
- Storelli L, Rocca MA, Pagani E, 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. *Neurol Sci* 2019; 40 (Suppl October 2019): S286-S287
- 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
- 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
- Tommasin S, Iakovleva V, Rocca MA, Tedeschi G, De Stefano N, Pozzilli C, Filippi M, Pantano P, and the INNI network. Sensorimotor cerebellar functional connectivity changes as compensatory mechanisms of structural damage in multiple sclerosis patients with no disability. *European Committee for Treatment and Research in Multiple Sclerosis (ECTRIMS), MS Virtual 2020*

Fondi totali: 865.790 € per 3 anni (642.640 € per l'infrastruttura; 223.150 € per progetti specifici)
 Total fund: € 865,790 for 3 years (€ 642,640 for infrastructure; € 223,150 for specific projects)

**PROGETTI DI RICERCA
E BORSE DI STUDIO
FINANZIATI DA FISM 2020, 2019**
FUNDED RESEARCH PROJECTS
AND FELLOWSHIPS 2020, 2019



Progetti di ricerca e borse di studio finanziati da FISM 2020

FISM funded research projects and fellowships 2020

NEURORIABILITAZIONE E QUALITÀ DELLA VITA / NEUROREHABILITATION AND QUALITY OF LIFE

Franca Deriu

Università degli Studi di Sassari, Dipartimento di Scienze Biomediche, Sassari

Misurazione dell'impatto di comuni programmi di esercizio sulla fatica soggettiva e oggettiva durante le attività della vita quotidiana in persone con sclerosi multipla

Measuring the impact of common exercise programs on subjective and objective fatigue during daily living activities in people with multiple sclerosis

Progetto di Ricerca / Research Project
€ 118.314 - 2 anni / years

Marco Cambiaghi

Università degli Studi di Verona, Neuroscienze, Biomedicina e Movimento, Verona

Depressione e sclerosi multipla: uno studio pilota per esaminare gli effetti della tDCS sull'interazione neurone-glia nel modello EAE

Depression and multiple sclerosis: a pilot study to explore the effects of tDCS on neuro-glia interaction in the EAE model

Progetto di Ricerca / Research Project
€ 25.650 - 1 anno / year

Francesco Pagnini

Università Cattolica del Sacro Cuore di Milano, Dipartimento di Psicologia, Milano

Il Ruolo delle Aspettative di Malattia nella Sclerosi Multipla

The Role of Illness Expectations in the Course of Multiple Sclerosis

Progetto di Ricerca / Research Project
€ 59.400 - 2 anni / years

Micaela Porta

Università degli Studi di Cagliari, Department of Mechanical Chemical and Materials Engineering, Monserrato (Cagliari)

Un approccio quantitativo per il monitoraggio della capacità fisica e della salute occupazionale in donne affette da sclerosi multipla

Women at work! A quantitative approach to monitor physical capability and occupational health in women with multiple sclerosis

Borsa di Ricerca / Research Fellowship
€ 58.000 - 2 anni / years

Alessandra Solari

Fondazione IRCCS Istituto Neurologico Carlo Besta, Direzione Scientifica, Servizio di Neuroepidemiologia, Milano

Pianificazione Condivisa delle Cure nella Sclerosi Multipla: Studio pilota (ConCure-SM Phase 2 Study)

Advance Care Planning in Multiple Sclerosis: Pilot study (ConCure-SM Phase 2 Study)

Progetto di Ricerca / Research Project
€ 89.187 - 2 anni / years

PATOGENESI E FATTORI DI RISCHIO / PATHOGENESIS AND RISK FACTORS

Roberto Bergamaschi

IRCCS Istituto Neurologico Nazionale C. Mondino e Università degli Studi di Pavia, Centro Sclerosi Multipla, Pavia

L'inquinamento Atmosferico come Possibile trigger di Infiammazione nella sclerosi multipla (API)

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

Progetto di Ricerca / Research Project
€ 65.843 - 2 anni / years

Irene Cantone

Università degli Studi di Napoli "Federico II",
Dipartimento di Medicina Molecolare e Biotecnologie
Mediche, Napoli

Comprendere le origini genetiche ed epigenetiche delle differenze tra i sessi nella Sclerosi Multipla mediante lo studio dell'inattivazione del cromosoma X umano

Understanding Sex-Bias in Multiple Sclerosis by human X chromosome inactivation

Borsa alla Carriera Rita Levi Montalcini / Rita Levi Montalcini Career Fellowship
€ 359.250 - 3 anni / years

Bruno Gran

Nottingham University Hospitals, NHS Trust, Queen's Medical Centre, Nottingham, UK

Interazione tra la risposta immunitaria a CMV e EBV nella sclerosi multipla

Interaction between the immune response to CMV and EBV in multiple sclerosis

Progetto di Ricerca / Research Project
€ 215.388,39 - 2 anni / years

Enzo Tramontano

Università degli Studi di Cagliari, Dipartimento Scienze della Vita e dell'Ambiente, Cagliari

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

Progetto di Ricerca / Research Project
€ 30.000 - 1 anno/ year

Rachele Bigi

Sapienza Università di Roma, Dipartimento di Neuroscienze Salute Mentale e Organi di Senso NESMOS, Roma

Ricerca di effettori decisivi delle alterazioni del regoloma nella SM: disregolazione LMP1-mediata di AID nella patogenesi della SM

Looking for final effectors or regulome alterations in MS: LMP1-mediated dysregulation of AID in MS pathogenesis

Progetto di Ricerca / Research Project
€ 30.000 - 1 anno/ year

Roberta Brambilla

University of Miami, Neurological Surgery, The Miami Project To Cure Paralysis, Miami FL (US)

Disfunzione cognitiva nella sclerosi multipla: ruolo del TNFR2 signaling astrocitario

Cognitive dysfunction in multiple sclerosis: role of astroglial TNFR2 signaling

Progetto di Ricerca / Research Project
€ 201.193- 3 anni/ years

Elisabetta Volpe

IRCCS Fondazione Santa Lucia, Neuroimmunologia Molecolare, Roma

Astroцити e Interleuchina-9: un nuovo asse che regola neuroinfiammazione e neurodegenerazione in sclerosi multipla progressiva?

Astrocytes and interleukin-9: a novel axis regulating neuroinflammation and neurodegeneration in progressive multiple sclerosis?

Progetto di Ricerca / Research Project
€ 120.000 - 3 anni/ years

Roberto Furlan

Istituto Scientifico San Raffaele, Istituto di Neurologia Sperimentale - INSPE, Unità di Neuroimmunologia Clinica, Milano

Neutrofili immunoregolatori in neuroinfiammazione

Immunoregulatory neutrophils during neuroinflammation

Progetto di Ricerca / Research Project
€ 240.000 - 3 anni/ years

Mario Galgani

Consiglio Nazionale delle Ricerche, Istituto per l'Endocrinologia e l'Oncologia Sperimentale "G. Salvatore", Napoli

Cellule regolatorie TR3-56: una nuova popolazione cellulare nella patogenesi della sclerosi multipla

Regulatory TR3-56 cells: unexplored immune cell population in the pathogenesis of multiple sclerosis

Progetto di Ricerca / Research Project
€ 160.000 - 3 anni/ years

Matilde Inglese

Università degli Studi di Genova, Dipartimento di Neurologia, Genova

Indagine sui meccanismi patogenetici associati alla depressione nella sclerosi multipla: disconnettività funzionale e strutturale dei nuclei neurotrasmettitoriali

Exploring pathogenic mechanisms associated with depression in multiple sclerosis: functional and structural disconnectivity of neurotransmitter-related nuclei

Progetto di Ricerca / Research Project
€ 160.125 - 2 anni/ years

DIAGNOSI E MONITORAGGIO DELLA MALATTIA / DIAGNOSIS AND MONITORING OF THE DISEASE

Sirio Cocozza

Università "Federico II" di Napoli, Dipartimento di Scienze Biomediche Avanzate, Napoli

Imaging quantitativo di ferro e mielina come indici di progressione di malattia in pazienti affetti da sclerosi multipla: uno studio longitudinale clinico e di risonanza magnetica

Quantitative biomarkers of iron and myelin concentration as indices of disease progression in MS: a longitudinal clinical and MRI study

Progetto di Ricerca / Research Project
€ 127.291,5 - 3 anni/ years

Francesca De Vito

IRCCS Neuromed, Istituto Neurologico Mediterraneo, Unità di Neurologia, Pozzilli (IS)

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

Borsa di Ricerca Senior / Senior Research Fellowship € 68.000 - 2 anni/ years

Mario Picozza

Fondazione Santa Lucia IRCCS, Unità di Neuroimmunologia, Roma

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

Borsa di Ricerca / Research Fellowship
€ 62.000 - 2 anni/ years

VERSO NUOVI TRATTAMENTI / TOWARDS NEW TREATMENTS

Loretta Tuosto

Sapienza Università di Roma, Dipartimento di Biologia e Biotecnologie "Charles Darwin", Roma

Il CD28 come bersaglio di una strategia terapeutica per prevenire le risposte infiammatorie dei linfociti T helper indotte dai superantigeni virali e batterici nei pazienti con SM

Selective targeting of CD28 costimulatory molecule as a therapeutic strategy for preventing inflammatory responses of T helper cells induced by viral and bacterial superantigens in MS patients

Progetto di Ricerca / Research Project
€ 30.000 - 1 anno/ year

Mario Alberto Ugo - Stampanoni Bassi

IRCCS Neuromed, Neurologia e Neuroriabilitazione, Pozzilli (IS)

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

Progetto di Ricerca / Research Project
€ 55.274,4 - 2 anni/ years

Francesca Ronchi

University of Bern, Department for BioMedical Research, Bern (Switzerland)

L'asse intestino-cervello: come il microbiota e la dieta influenzano lo sviluppo e la protezione da sclerosi multipla

The gut-brain axis: How microbiota and diet influence multiple sclerosis development and protection

Progetto di Ricerca / Research Project
€ 200.000 - 3 anni/ years

Daniela Marasco

Università degli Studi di Napoli "Federico II", Dipartimento di Farmacia, Napoli

Progettazione e studi funzionali dell'efficacia terapeutica di nuovi mimetici di SOCS1 nella sclerosi multipla

Design and functional investigations of the therapeutic efficacy of novel SOCS1 mimetics in multiple sclerosis

Progetto di Ricerca / Research Project
€ 29.400 - 1 anno/ year

Placido Illiano

University of Miami, Miller School of Medicine, Department of Neurosurgery, The Miami Project to Cure Paralysis, Miami FL (US)

Studio dei meccanismi protettivi del recettore TNFR2 oligodendrocitario per la terapia della sclerosi multipla

Investigating the mechanisms of protective TNFR2 signaling in oligodendrocytes: implications for multiple sclerosis therapy

Borsa di Ricerca Senior / Senior Research Fellowship € 145.500 - 3 anni/ years

Stefano Previtali

Ospedale San Raffaele, Istituto di Neurologia Sperimentale (INSpe), Divisione di Neuroscienze, Milano

Modulare i meccanismi di senescenza per ridurre i processi neurodegenerativi nella sclerosi multipla progressiva

Targeting senescence to revert neurodegeneration in a mouse model of progressive MS

Progetto di Ricerca / Research Project

€ 294.000 - 3 anni/ years

Giuseppe Cappellano

Ospedale San Raffaele, Istituto di Neurologia Sperimentale (INSpe), Divisione di Neuroscienze, Milano

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

Legame di osteopontina al suo nuovo recettore ICOSL: caratterizzazione funzionale di tale interazione nell'EAE

Binding of osteopontin to its newly identified receptor ICOSL: exploring their Relevance and Activity IN EAE (BRAIN-EAE)

Progetto di Ricerca / Research Project

€ 29.800 - 1 anno/ year

Carlotta Granchi

Dipartimento di Farmacia, Università di Pisa, Pisa

Il sistema endocannabinoide come bersaglio per combattere la sclerosi multipla: degradazione della monoacilglicerolo lipasi da parte dei PROTACs

Targeting the endocannabinoid system to fight multiple sclerosis: monoacylglycerol lipase degradation by PROTACs

Progetto di Ricerca / Research Project

€ 30.000 - 1 anno/ year

Progetti di ricerca e borse di studio finanziati da FISM 2019

FISM funded research projects and fellowships 2019

NEURORIABILITAZIONE E QUALITÀ DELLA VITA / NEUROREHABILITATION AND QUALITY OF LIFE

Ambra Bisio

Università degli Studi di Genova,
Dipartimento di Medicina Sperimentale, Genova

L'osservazione d'azione e l'immaginazione motoria causano affaticamento nella SM? Valutazione della loro applicabilità nelle forme progressive

Can action observation and motor imagery training cause fatigability in MS? Assessment of their feasibility in the progressive forms

Progetto di Ricerca / Research Project
€ 52.845 - 1 anno / year

Laura Bonzano

Università degli Studi di Genova, DINOGMI,
Dipartimento di Neuroscienze, Riabilitazione, Oftalmologia,
Genetica e Scienze Materno-Infantili, Genova

Trasferimento interemisferico di informazioni nella sclerosi multipla: un approccio multimodale di coregistrazione TMS-EEG, MRI e coordinazione bimanuale

Interhemispheric information transfer in multiple sclerosis: a multimodal approach of TMS-EEG coregistration, MRI and bimanual coordination

Progetto di Ricerca / Research Project
€ 182.522 - 2 anni / years

Maria Grazia Grasso

Fondazione Santa Lucia,
Neuroriabilitazione 5, Roma

Valutazione dell'efficacia della riabilitazione logopedica con aggiunta della stimolazione elettrica neuromuscolare vs logopedia da sola in soggetti affetti da sclerosi multipla e disfagia

To evaluate the activity and the efficacy of traditional swallowing therapy (TST) plus neuromuscular electrostimulation (NMES) vs TST plus sham-NMES in MS patients with dysphagia

Progetto di Ricerca / Research Project
€ 210.000 - 2 anni / years

Giampiero Merati

Università degli Studi di Milano,
Dipartimento di Scienze Biomediche per la Salute,
Gallarate (VA)

Sensibilità al calore nella sclerosi multipla: uso combinato di questionari e test funzionali

Assessing heat sensitivity in multiple sclerosis: combined use of questionnaire and functional testing

Progetto di Ricerca / Research Project
€ 28.694,74 - 1 anno / year

PATOGENESI E FATTORI DI RISCHIO / PATHOGENESIS AND RISK FACTORS

Vincenzo Barnaba

Sapienza Università di Roma,
Dipartimento Medicina Interna e Specialità Mediche, Roma

Interazione tra cellule T autoreattive e cellule T regolatorie in pazienti con sclerosi multipla

Interplay between autoreactive T cells and regulatory T cells in multiple sclerosis patients

Progetto di Ricerca / Research Project
€ 174.000 - 3 anni / years

Enrica Boda

Università degli Studi di Torino,
Dipartimento di Neuroscienze "Rita Levi Montalcini",
Orbassano (TO)

Inquinamento dell'aria e sclerosi multipla: ruolo dell'esposizione al particolato (PM) e del traffico di vescicole extracellulari associato nella neuroinfiammazione e demielinizzazione

Air pollution and multiple sclerosis: role of particulate matter (PM) exposure and associated extracellular vesicle trafficking in neuroinflammation and demyelination

Progetto di Ricerca / Research Project
€ 30.000 - 1 anno / year

Giacomo Boffa

Institut du Cerveau et de la Moelle Epinière Hôpital Pitié Salpêtrière University, Hospital - Sorbonne University, Paris

Ruolo della demielinizzazione della sostanza grigia nel danno neuronale evidenziato con la tomografia ad emissioni di protoni [11C]Flumazenil nella sclerosi multipla

Contribution of grey matter demyelination to neuronal damage evaluated with [11C]Flumazenil positron emission tomography in multiple sclerosis

Borsa di Ricerca / Research Fellowship
€ 80.400 - 2 anni / years

Massimo Costanza

Fondazione IRCCS, Istituto Neurologico Carlo Besta, Dipartimento Neuroscienze Cliniche, Milano

Il ruolo del DNA extracellulare rilasciato dai linfociti T helper (THREDs) nell'infiammazione autoimmune e nella neurodegenerazione del sistema nervoso centrale

The role of T-helper-released extracellular DNAs (THREDs) in autoimmune inflammation and neurodegeneration of the central nervous system

Progetto di Ricerca / Research Project
€ 75.000 - 1 anno / year

Sandra D'Alfonso

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

Mappatura fine e caratterizzazione funzionale dei loci associati alla SM per analizzare il ruolo patogenetico dei geni bersaglio dei farmaci

Fine mapping and functional characterization of MS associated loci to dissect the pathogenetic role of drug target genes

Progetto di Ricerca / Research Project
€ 200.000 - 2 anni / years

Francesca Ietta

Università degli Studi di Siena, Dipartimento Scienze della Vita, Siena

Il ruolo della placenta sull'asse RANK-RANKL-OPG nella sclerosi multipla: uno studio pilota

The role of the placenta on the RANK-RANKL-OPG axis in multiple sclerosis: a pilot study

Progetto di Ricerca / Research Project
€30.000 - 1 anno / year

Giuseppe Locatelli

University of Bern, Theodor Kocher Institute, Bern, Swiss

Centralità patologica dei fagociti durante la sclerosi multipla: meccanismi di infiltrazione, funzionalità e ruolo regolatore di IGF-1

Deciphering phagocytes in multiple sclerosis: invading routes, in situ dynamics and regulation by insulin-like growth factor 1

Progetto di Ricerca / Research Project
€ 60.000 - 2 anni / years

Michela Matteoli

Humanitas University, Dipartimento di Scienze Biomediche, Pieve Emanuele (MI)

Un modello umanizzato di barriera ematoencefalica per investigare l'infiltrazione di cellule del sistema immunitario nella sclerosi multipla: verso un approccio di medicina personalizzata

A humanized model of blood brain barrier to investigate immune cells infiltration in multiple sclerosis: toward a personalized medicine approach

Progetto di Ricerca / Research Project
€ 200.000 - 3 anni / years

Elisabetta Coppi

Università degli Studi di Firenze, NEUROFARBA, Dipartimento di Neuroscienze, Psicologia, Area del Farmaco e Salute del Bambino, Sezione di Farmacologia e Tossicologia, Firenze

I recettori A2B per l'adenosina modulano correnti al K⁺ necessarie per la differenziazione oligodendrocitaria: possibile coinvolgimento della via di Sfingosina-1-fosfato

A2B adenosine receptors modulate K⁺ currents necessary to oligodendroglial differentiation and myelin deposition: involvement of Sphingosine-1-phosphate signaling pathway

Borsa di Ricerca Senior / Senior Research Fellowship
€ 52.000 - 2 anni / years

Christian Cordano

Università degli Studi di Genova, DINOGMI Dipartimento di Neuroscienze, Riabilitazione, Oftalmologia, Genetica e Scienze Materno-Infantili, Genova

Potenziati evocati visivi e tomografia a coerenza ottica nell'EAE - un modello per comprendere la neuropatologia della reazione immune a diversi antigeni nella SM

Visual evoked potential and optical coherence tomography in EAE - a model for understanding the neuropathology of the immune reaction to different antigens in MS 3

Borsa alla Carriera Rita Levi Montalcini / Rita Levi Montalcini Career Fellowship - € 420.000 - 3 anni / years

Elena Morandi

INSERM Centre de Physiopathologie Toulouse-Purpan (CTPP),
Equipe 5, Inflammatory diseases of the central nervous
system: mechanisms and therapies, Toulouse, France

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 functions

Borsa di Ricerca Senior / Senior Research Fellowship
€ 142.800 - 3 anni / years

Roberta Rizzo

Università degli Studi di Ferrara,
Dipartimento di Scienze Chimiche e Farmaceutiche, Ferrara

Infezioni da herpesvirus in pazienti con sclerosi multipla positivi per KIR2DL2: meccanismi che attivano l'autoimmunità

Herpesvirus infections in KIR2DL2 positive multiple sclerosis patients: mechanisms triggering autoimmunity

Progetto di Ricerca / Research Project
€ 90.000 - 2 anni / years

Antonio Uccelli

Ospedale Policlinico San Martino, IRCCS,
U.O. Clinica Neurologica, Genova

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

Progetto di Ricerca / Research Project
€ 240.000 - 3 anni / years

Elena Zenaro

Università degli Studi di Verona, Medicina, Verona

Caratterizzazione delle interazioni neutrofilo-astrocita nella encefalomyelite sperimentale autoimmune

Characterization of neutrophil-astrocyte interplay in experimental autoimmune encephalomyelitis

Progetto di Ricerca / Research Project
€ 24.000 - 1 anno / year

DIAGNOSI E MONITORAGGIO DELLA MALATTIA / DIAGNOSIS AND MONITORING OF THE DISEASE

Sara Baldini

Università degli Studi di Trieste, Dipartimento Universitario Clinico di Scienze Mediche Chirurgiche e della Salute+/-,
Unità Clinica Neurologica

Studio delle relazioni tra microstati di elettroencefalografia ad alta densità e riserva nei pazienti con sclerosi multipla.

Investigating relationships between high density-electroencephalography microstates and reserve in patients with multiple sclerosis.

Borsa di Ricerca Senior / Senior Research Fellowship
€ 32.300 - 1 anno / year

Maura Casadio

Università degli Studi di Genova, DIBRIS,
Dipartimento di Informatica, Bioingegneria,
Robotica e Ingegneria dei Sistemi, Genova

Metodi avanzati di analisi video per la diagnosi precoce, la valutazione quantitativa e il monitoraggio di deficit motori in persone con sclerosi multipla

Advanced video analysis to detect, measure and monitor motor deficits in people with multiple sclerosis

Progetto di Ricerca / Research Project
€ 30.000 - 1 anno / year

Pasquina Marzola

Università degli Studi di Verona,
Dipartimento Computer Science, Verona

Validazione dell'imaging funzionale come biomarker innovativo della progressione della patologia in un modello sperimentale di sclerosi multipla

Validation of rsfMRI as innovative biomarker for disease progression in a experimental model of multiple sclerosis

Progetto di Ricerca / Research Project
€ 30.000 - 1 anno / year

Paolo Preziosa

Fondazione Centro San Raffaele, INSPE,
Istituto di Neurologia Sperimentale,
Divisione di Neuroscienze, Unità di Neuroimaging della sostanza bianca del SNC, Milano

Il ruolo del NODDI per migliorare la definizione delle alterazioni microstrutturali della sostanza grigia nella sclerosi multipla: relazione con la disabilità clinica e la compromissione cognitiva

The role of NODDI to disentangle gray matter neuroanatomical microstructural abnormalities in multiple sclerosis: relation with clinical disability and cognitive impairment

Borsa di Ricerca Senior / Senior Research Fellowship
€ 102.000 - 3 anni / years

Maura Pugliatti

Università degli Studi di Ferrara, Dipartimento di Scienze Biomediche e Chirurgico Specialistiche, Sezione di Scienze Neurologiche Psichiatriche e Psicologiche, Ferrara

Sviluppo di uno strumento per identificare il ruolo prognostico di fattori di rischio ambientale modificabili sul decorso della sclerosi multipla nel contesto di ricerca internazionale (EnvIMS-Pro-Q)

Developing a tool for investigating the prognostic role of modifiable environmental risk factors in multiple sclerosis disease course in multinational research (EnvIMS-Pro-Q)

Progetto di Ricerca / Research Project
€ 26.540 - 1 anno / year

Loredana Storelli

Fondazione Centro San Raffaele, Istituto di Neurologia Sperimentale INSPE, Divisione di Neuroscienze, Neuroimaging Research Unit, Milano

Predizione della progressione di malattia nei pazienti con sclerosi multipla tramite modelli di intelligenza artificiale applicati a immagini di risonanza magnetica

A deep-learning approach to predict disease progression in multiple sclerosis using magnetic resonance imaging

Borsa di Ricerca / Research Fellowship
€ 26.000 - 1 anno / year

VERSO NUOVI TRATTAMENTI / TOWARDS NEW TREATMENTS

Marta Boccazzi

Università degli Studi di Milano, DiSFeB, Dipartimento di Scienze Farmacologiche e Biomolecolari, Milano

La differente risposta di precursori oligodendrocitari e oligodendrociti immaturi alla demielinizzazione: implicazioni per nuove strategie rimielinizzanti

Differential response of oligodendrocyte progenitor cells and immature oligodendrocytes to demyelination: implications for novel strategies to improve remyelination

Borsa di Ricerca Senior / Senior Research Fellowship
€ 69.500 - 2 anni / years

Francesca Fallarino

Università degli Studi di Perugia, Dipartimento di Medicina Sperimentale, Perugia

La proteina prionica un nuovo target farmacologico nella sclerosi multipla

Targeting cellular prion protein in multiple sclerosis
Progetto di Ricerca / Research Project
€ 216.500 - 3 anni / years

Matteo Gastaldi

Fondazione Istituto Neurologico "Casimiro Mondino", Laboratorio di Neuroimmunologia, Pavia

Anticorpi conformazionali contro proteine neurogliali di superficie in pazienti con sclerosi multipla: rivalutazione di vecchi target e identificazione di nuovi antigeni

Conformational antibodies against neuroglial surface proteins in patients with multiple sclerosis: re-evaluation of old targets and identification of novel antigens

Progetto di Ricerca / Research Project
€ 30.000 - 1 anno / year

Silvia Marenga

Fondazione Centro San Raffaele, INSPE Istituto di Neurologia Sperimentale, Milano

Applicazione della stimolazione di corrente diretta transcranica per prevenire il danno al nervo ottico e promuovere la remielinizzazione in modello di topo di encefalomielite autoimmune sperimentale

Transcranial direct current stimulation applied to prevent optic nerve damage and to promote remyelination in experimental autoimmune encephalomyelitis mouse model

Borsa di Ricerca Senior / Senior Research Fellowship
€ 68.800 - 2 anni / years

Anna Maria Pugliese

Università degli Studi di Firenze, NEUROFARBA, Dipartimento di Neuroscienze, Psicologia, Area del Farmaco e Salute del Bambino, Firenze

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

Progetto di Ricerca / Research Project
€ 110.000 - 2 anni / years

Progetti speciali finanziati da FISM 2020

FISM funded special projects 2020

MEDICINA PERSONALIZZATA/ PERSONALIZED MEDICINE

Federico Bozzoli

Fondazione Italiana Sclerosi Multipla, Genova

MyMood: sviluppo di nuovi patient-reported outcomes sui disturbi dell'umore nella SM. Un approccio di co-creazione tramite scienza basata sull' input del e con il paziente

MyMood: developing new patient-reported outcomes on mood disorders in MS. An approach of co-creation through science of and with patient input

Progetto Speciale/Special Project

2 anni / years € 60.000

Michela Ponzio

Fondazione Italiana Sclerosi Multipla, Genova

Progetto Family caregivers

Family caregivers Project

Progetto Speciale/Special Project

2 anni / years € 30.000

SM PROGRESSIVA/PROGRESSIVE MS

Antonio Bertolotto

Neurologia -CRESM; Neuroscience Institute Cavalieri Ottolenghi (NICO), AOU San Luigi Gonzaga, Orbassano (TO)

Una banca biologica ed un laboratorio dedicati alla raccolta ed alla distribuzione di campioni biologici di SMPP, la replicazione e la condivisione di dati e la validazione di metodi biologici

A bio-bank and a laboratory devoted to the collection and supply of biological samples of PPMS, the replication and sharing of data, and the validation of biological methods

Progetto Speciale/Special Project

1 anno / year € 100.000

COVID19 E SCLEROSI MULTIPLA/ COVID19 AND MULTIPLE SCLEROSIS

Massimo Filippi

Divisione di Neuroscienze, Dipartimento di Neurologia e Istituto di Neurologia Sperimentale (INSPE), IRCCS Ospedale San Raffaele, Milano

Roberto Furlan

Unità di Neuroimmunologia, Istituto di Neurologia Sperimentale (INSPE), IRCCS Ospedale San Raffaele, Milano

Pazienti fragili con Sclerosi Multipla e infezione da COVID-19 - FRAMUSCO

FRAGile Multiple Sclerosis patients and COVID-19 infection – FRAMUSCO

Progetto Speciale/Special Project

1 anno / year € 50.000

VERSO NUOVI TRATTAMENTI / TOWARDS NEW TREATMENTS

Matilde Inglese

Dipartimento di Neuroscienze, Riabilitazione, Oftalmologia, Genetica e Scienze Materno-Infantili -DINO GMI, Università degli studi di Genova, Genova

Nessuna evidenza di attività di malattia nell'intensa immunosoppressione seguita da trapianto autologo di cellule staminali ematopoietiche verso la migliore terapia a disposizione in casi aggressivi di Sclerosi Multipla (NET-MS): uno studio controllato e randomizzato di fase 2

No Evidence of Disease Activity in Autologous Hematopoietic Stem Cell Transplantation vs Best available therapy in aggressive forms of Multiple Sclerosis (NET-MS): a controlled randomized phase 2 study

Progetto Speciale/Special Project

2 anni / years € 562.000

Progetti speciali finanziati da FISM 2019

FISM funded special projects 2019

NEURORIABILITAZIONE E QUALITÀ DELLA VITA / NEUROREHABILITATION AND QUALITY OF LIFE

Diego Centonze

Unità di Neurologia e Neuroriabilitazione, Istituto Neurologico Mediterraneo Neuromed-IRCCS, Pozzilli (IS)

La sinaptopatia infiammatoria come bersaglio dell'esercizio terapeutico nella lotta alla sclerosi multipla

The inflammatory synaptopathy as a target of exercise therapy in the fight against multiple sclerosis

Progetto Speciale / Special Project
2 anni / years € 84.215,5

VERSO NUOVI TRATTAMENTI / TOWARDS NEW TREATMENTS

Francesco Cucca

Dipartimento di Biomedicina, Istituto di Ricerca Genetica e Biomedica, CNR, Monserrato (CA)

Un toolbox genetico nella scoperta di nuovi farmaci per la SM: lo sviluppo di brevetti di geni candidati

A genetic toolbox in MS drug discovery: patent development of candidate genes

Progetto Speciale / Special Project
3 anni / years € 1.050.000

Federica Eva Esposito

Dipartimento di Neurologia, INSPE, Fondazione Centro San Raffaele, Milano

Validazione e studio funzionale di varianti genetiche implicate nella risposta alla terapia con fingolimod

Validation and functional assessment of genetic variants implicated in the response to fingolimod treatment

Progetto Speciale / Special Project
2 anni / years € 84.000 (funds for the first year)

Monica Ulivelli

Scienze Mediche, Chirurgiche e Neuroscienze, Università degli Studi di Siena, UOC di Neurologia e Neurofisiologia Clinica, UOS Diagnosi e Terapia delle Malattie Demyelinizzanti, Siena

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

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

Progetto Speciale / Special Project
3 anni / years € 80.570,50

COMITATO SCIENTIFICO FISM 2020, 2019

FISM SCIENTIFIC
COMMITTEE 2020, 2019



Biomedical Research FISM Scientific Committee, 2020

Roberta Brambilla

University of Miami, The Miami Project To Cure Paralysis, Miller School of Medicine, Miami US

Gabriela Constantin

Dipartimento di Patologia e Diagnostica, Università degli Studi di Verona, Verona

Francesco Cucca

Dipartimento di Scienze Biomediche, Università degli Studi di Sassari, Sassari

Massimiliano Di Filippo

Centro Malattie Demyelinizzanti e Laboratori di Neurologia Sperimentale, Clinica Neurologica, Università degli Studi di Perugia, Perugia

Roberto Furlan

Unità di Neuroimmunologia Clinica, Istituto di Neurologia Sperimentale, Divisione di Neuroscienze, Istituto Scientifico San Raffaele, Milano

Matilde Inglese

*DINOGLI, Università degli Studi di Genova, Genova
Mount Sinai School of Medicine – New York, USA*

Catherine Lubetzki

Hôpital Pitié-Salpêtrière, Département des Maladies du Système Nerveux, Paris France

Giuseppe Matarese

Dipartimento di Medicina Molecolare e Biotecnologie Mediche, Università di Napoli "Federico II", Napoli

Miriam Mattosco

Imperial College London, London UK

Stefano Previtali

Ospedale San Raffaele, Milano

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

Antonio Scalfari

Imperial College London, London UK

Claudia Verderio

CNR Istituto di Neuroscienze, Dipartimento di Scienze Biomediche, Milano

Social & behavioural science research FISM Scientific Committee, 2020

Roberto Bergamaschi

Fondazione Istituto Neurologico Nazionale C Mondino, IRCCS, Pavia

Marco Bove

Dipartimento di Medicina Sperimentale (DIMES), Università degli Studi di Genova, Genova

Monica Falautano

Dipartimento di Neurologia, Servizio di Psicologia, Ospedale San Raffaele, Milano

Luca Prosperini

Dipartimento Neuroscienze, U.O.C. Neurologia e Neurofisiopatologia, Azienda Ospedaliera S. Camillo Forlanini, Roma

Maria Assunta Rocca

Fondazione San Raffaele, Milano

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

Biomedical Research FISM Scientific Committee, 2019

Roberta Brambilla

University of Miami, The Miami Project To Cure Paralysis, Miller School of Medicine, Miami US

Gabriela Constantin

Dipartimento di Patologia e Diagnostica, Università degli Studi di Verona, Verona

Francesco Cucca

Dipartimento di Scienze Biomediche, Università degli Studi di Sassari, Sassari

Massimiliano Di Filippo

Centro Malattie Demyelinizzanti e Laboratori di Neurologia Sperimentale, Clinica Neurologica, Università degli Studi di Perugia, Perugia

Roberto Furlan

Unità di Neuroimmunologia Clinica, Istituto di Neurologia Sperimentale, Divisione di Neuroscienze, Istituto Scientifico San Raffaele, Milano

Raju Kapoor

University College London Hospitals NHS, National Hospital for Neurology and Neurosurgery, London, UK

Matilde Inglese

*DINOEMI, Università degli Studi di Genova, Genova
Mount Sinai School of Medicine, New York, USA*

Catherine Lubetzki

Hôpital Pitié-Salpêtrière, Département des Maladies du Système Nerveux, Paris, France

Giuseppe Matarese

Dipartimento di Medicina Molecolare e Biotecnologie Mediche, Università di Napoli "Federico II", Napoli

Miriam Mattoscio

Imperial College London, London, UK

Stefano Previtali

Ospedale San Raffaele, Milano

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

Antonio Scalfari

Imperial College London, London, UK

Claudia Verderio

CNR Istituto di Neuroscienze, Dipartimento di Scienze Biomediche, Milano

Social & behavioural science research FISM Scientific Committee, 2019

Giovanni Abbruzzese

DINOGLMI, Università degli Studi di Genova, Genova

Roberto Bergamaschi

Fondazione Istituto Neurologico Nazionale C. Mondino, IRCCS, Pavia

Marco Bove

Dipartimento di Medicina Sperimentale (DIMES), Università degli Studi di Genova, Genova

Monica Falautano

Dipartimento di Neurologia, Servizio di Psicologia, Ospedale San Raffaele, Milano

Luca Prosperini

*Dipartimento Neuroscienze, U.O.C. Neurologia e Neurofisiopatologia,
Azienda Ospedaliera S. Camillo Forlanini, Roma*

Maria Assunta Rocca

Fondazione San Raffaele, Milano

Anders Guldhammer Skjerbæk

Development Manager Msc, Physiotherapist, MS Hospitals in Denmark

Alessandro Verri

DIBRIS, Università degli Studi di Genova, Genova

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), attraverso una prospettiva d'insieme che abbraccia il tema dei diritti delle persone con SM, i servizi sanitari e socio-sanitari, la promozione, l'indirizzo e il finanziamento della ricerca scientifica. 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 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.

AISM (Italian Multiple Sclerosis Society) is the national charity in Italy on Multiple Sclerosis (MS) whose vision is a world free from MS. It was founded in 1968 by a group of people with MS and their families, neurologists, social workers and volunteers. AISM mission is to act globally to promote, drive and finance scientific research on MS; to promote and provide national and local services for people with MS; to represent and defend rights of people with MS. AISM, through its Foundation, FISM (Italian Multiple Sclerosis Foundation), is the leading funding agency of research in MS field in Italy to better understand the causes of the illness, to improve the quality of life of people with MS, to provide better treatment towards a definitive cure for a MS. The research portfolio includes intramural research (performed in rehabilitation and public health) and extramural research (performed in neurobiology, genetic, neuroimmunology, neuroimaging, biomarkers, experimental models and new therapies) through an annual call for proposals conducted by to universities, public and not-for-profit research institutes in Italy and Italian top researchers.

