

La ricerca sulla sclerosi multipla

Research on multiple sclerosis

**Finanziata dalla Fondazione
Italiana Sclerosi Multipla**

Funded by the Italian Multiple
Sclerosis Foundation

COMPENDIO 2025

**SCLE
ROSI
MULT
iPLA**
associazione
italiana

un mondo
libero dalla SM

AISM. INSIEME, UNA CONQUISTA DOPO L'ALTRA

La ricerca sulla sclerosi multipla

Research on
multiple sclerosis

**Finanziata dalla Fondazione Italiana
Sclerosi Multipla**

*Funded by the Italian Multiple Sclerosis
Foundation*

Associazione Italiana Sclerosi Multipla - APS/ETS

A cura di:

Roberta Guglielmino

Area Ricerca Scientifica AISM-FISM

Progetto e coordinamento editoriale:

Manuela Capelli

Area Comunicazione e Ufficio Stampa AISM

Copyright FISM ETS 2024

Pubblicato e distribuito da:

Associazione Italiana Sclerosi Multipla - APS/ETS

Via Operai, 40 - 16149 Genova

Tutti i diritti sono riservati.

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

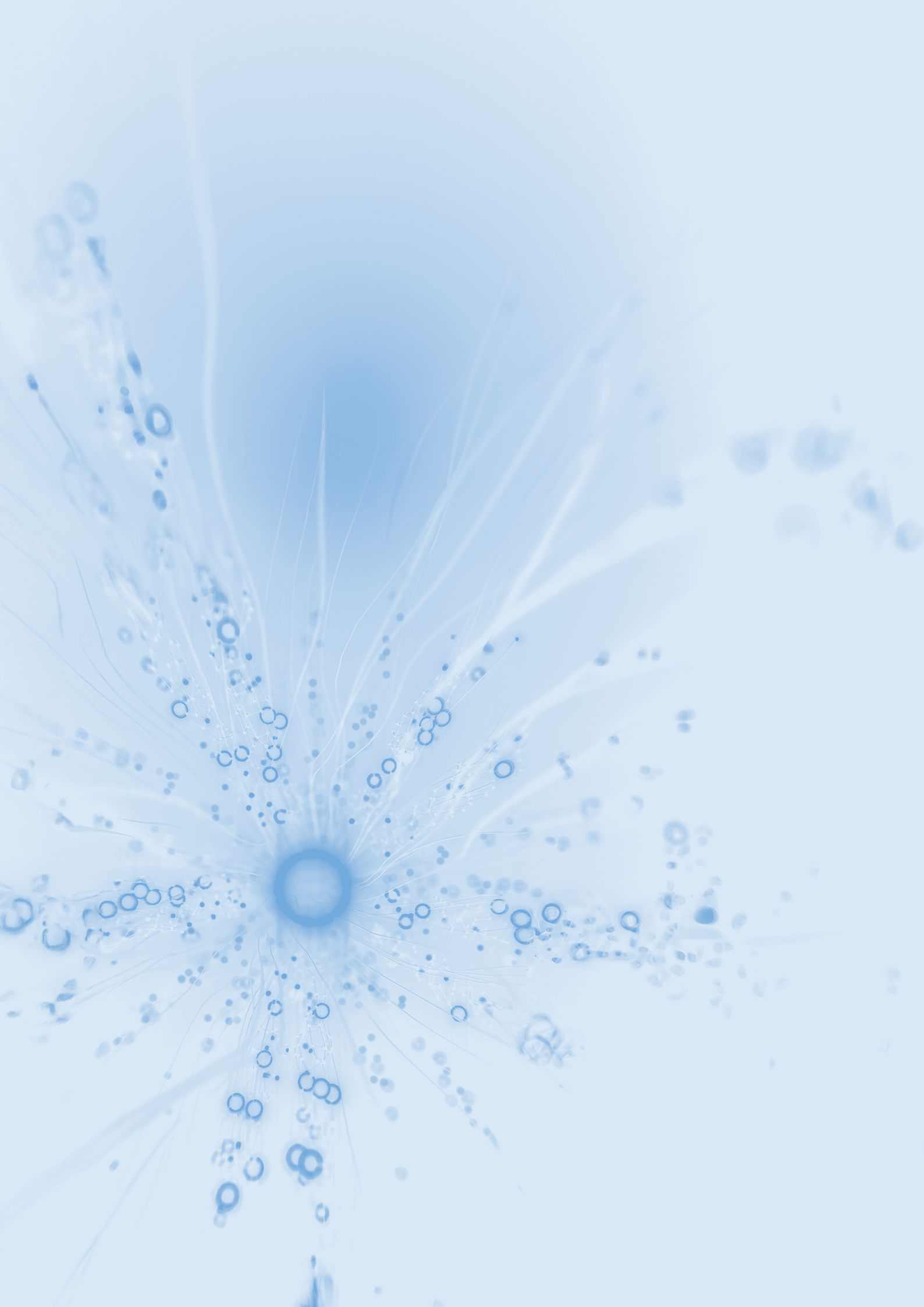
Progetto grafico e impaginazione:

Carlo Alberto Liga

Finito di stampare nel mese di maggio 2025

da Ditta Lang Srl - Genova

ISBN 978-88-7148-184-5



Introduzione / Introduction

Il presente della ricerca scientifica è sempre più orientato dalle persone: fare ricerca, oggi, significa partire dalla scienza della persona e con la persona, come ci ha insegnato il Progetto MULTI-ACT.

Fare ricerca, oggi, è un impegno multidisciplinare e interdisciplinare, che richiede forti interconnessioni e ha come scopo quello di fermare la sclerosi multipla, trovare strumenti per ricostituire la funzione e migliorare la qualità di vita delle persone, percorrere strade innovative per riuscire a prevenire la sclerosi multipla, prima che porti a danni irreversibili, e consentire finalmente alle persone di vivere libere dalla sclerosi multipla una volta per sempre.

La strategia di AISM e la sua Fondazione è la stessa che guida le scelte dell'agenda internazionale della ricerca nel selezionare e seguire passo dopo passo l'andamento dei progetti che supporta e che trovano espressione in questo nuovo Compendio. Ciascuno di questi progetti è figlio di un articolato processo di selezione, che misura col contributo di tutti i componenti dei Comitati Scientifici FISM, il livello di innovazione e rilevanza rispetto allo stato dell'arte della ricerca, la metodologia con cui vengono raccolti e analizzati i dati, il percorso del ricercatore e del gruppo che presenta il progetto e la rilevanza del progetto nella prospettiva delle persone.

In questo Compendio rendicontiamo la ricerca finanziata da FISM e conclusa nel 2024, che risponde alle priorità scientifiche dell'Agenda 2025. I risultati ottenuti dai progetti sulla comprensione delle cause genetiche e ambientali e dei fattori di rischio della SM tra cui il ruolo dei virus e delle cellule immunitarie (prevenzione primaria- end MS), su nuovi marcatori di risonanza magnetica per il monitoraggio della malattia, le ricerche per migliorare la qualità della vita delle persone e gli studi volti a trovare nuovi trattamenti neuroriabilitativi (prevenzione terziaria-restore MS) e terapeutici. (prevenzione secondaria-stop MS).

Sono anche presentati i progetti di ricerca realizzati a partire dai dati clinici del Registro Italiano Sclerosi Multipla, che nel 2025 compie i suoi primi dieci anni di vita. Un'altra scelta strategica condivisa da AISM e dai Centri clinici italiani, che sta aprendo nuove prospettive a partire dai dati della real life.

Siamo, ormai, in presenza di un nuovo cambio di paradigma: il futuro della ricerca e della cura sarà sempre più guidato dai dati.

La scienza mette a disposizione un numero talmente vasto di informazioni di letteratura scientifica, mediche, cliniche, di imaging, genetiche, di dati auto-riportati dalle persone derivanti anche dall'uso di dispositivi indossabili, da rendere già oggi indispensabile l'utilizzo di sistemi di intelligenza artificiale. Se sapremo farne un uso responsabile analizzeremo ed individueremo nuove strade su cui indirizzare la ricerca stessa per trovare risposte alle domande ancora insolite e persino per individuare nuove domande cui non si era arrivati per avere nuovi trattamenti in particolare per le forme progressive di sclerosi multipla.

Siamo tutti ingaggiati e tutti protagonisti in questi percorsi che, nei desideri delle persone con sclerosi multipla, principali stakeholder della ricerca scientifica promossa da AISM con la sua Fondazione, devono portare a mettere la parola fine alla sclerosi multipla.

The present of scientific research is increasingly people-driven: doing research today means starting with and for the science of the person, as the MULTI-ACT Project has taught us.

Doing research today is a multidisciplinary and interdisciplinary commitment that requires strong interconnections. Its goal is to stop multiple sclerosis, find tools to restore function and improve people's quality of life, explore innovative ways to prevent multiple sclerosis before it causes irreversible damage, and finally allow people to live free from multiple sclerosis once and for all.

The strategy of AISM and its Foundation is the same that guides the international research agenda's choices in selecting and closely monitoring the progress of the projects it supports, which are showcased in this new Compendium. Each of these projects is the result of an articulated selection process. This process, with the contribution of all components of the FISM Scientific Committees, measures the level of innovation and relevance compared to the state of the art in research, the methodology used to collect and analyse data, the background of the researcher and the group presenting the project, and the project's relevance from the perspective of the people with MS.

In this Compendium, we report on the research funded by FISM and concluded in 2024, which addresses the scientific priorities of Agenda 2025. The results obtained from projects focus on understanding the genetic and environmental causes and risk factors of MS, including the role of viruses and immune cells (primary prevention - end MS), new MRI markers for disease monitoring, research to improve people's quality of life, and studies aimed at finding new neurorehabilitation (tertiary prevention - restore MS) and therapeutic treatments (secondary prevention - stop MS).

Also presented are research projects based on clinical data from the Italian Multiple Sclerosis and Related Disorders Register, which will celebrate its tenth anniversary in 2025. This is another strategic choice shared by AISM and Italian Clinical Centres, which is opening up new perspectives based on real-life data.

We are now witnessing a new paradigm shift: the future of research and care will be increasingly data-driven. Science provides such a vast amount of information—from scientific literature, medical data, clinical data, imaging, genetics, and self-reported data from individuals, including those from wearable devices—that the use of artificial intelligence systems is already indispensable. If we can use it responsibly, we will analyse and identify new avenues for research to find answers to unresolved questions and even identify new questions that had not been considered, leading to new treatments, particularly for progressive forms of multiple sclerosis.

We are all engaged and play a leading role in these journeys which, according to the wishes of people with multiple sclerosis—the primary stakeholders in scientific research promoted by AISM with its Foundation—must lead to putting an end to multiple sclerosis.

Mario Alberto Battaglia
*Chairman of the Italian
Multiple Sclerosis Foundation*

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

8,6 milioni / **8.6** million €

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

222

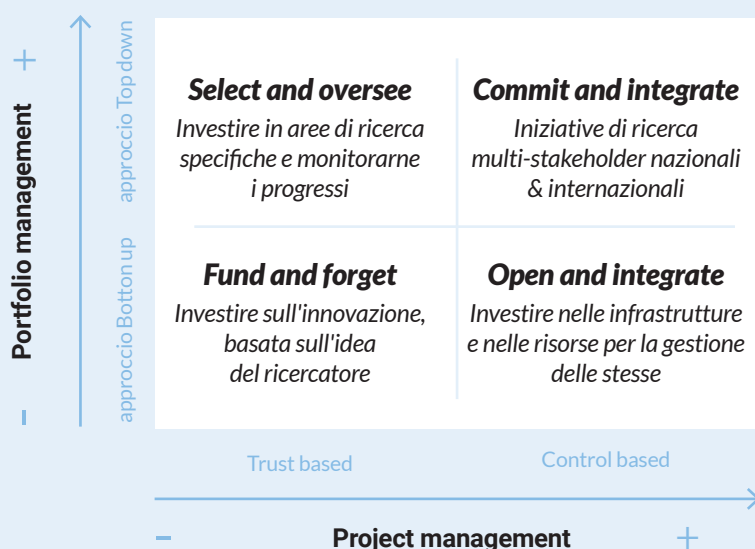
gruppi di ricerca attivi
active research groups

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

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

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

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



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

pubblicazioni
publications

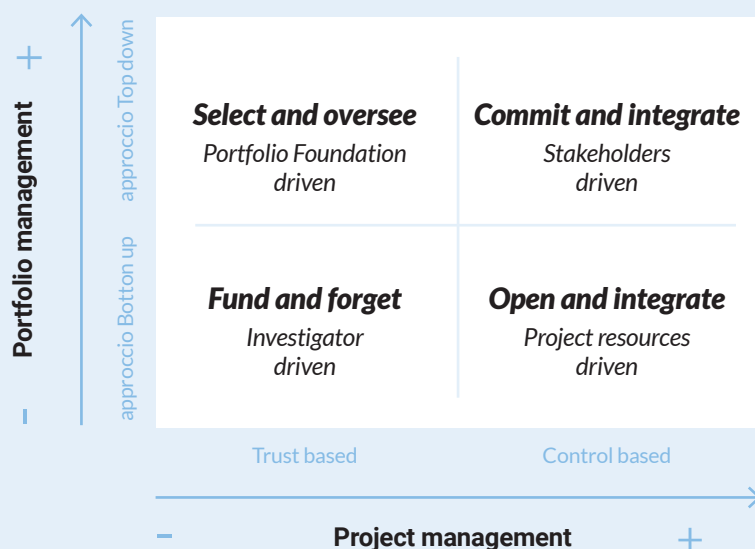
con impact factor medio di 6,6
with an average impact factor of

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

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

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

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



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

Lista degli autori / List of Authors

Angelini Gabriele
Bandiera Paolo
Barnaba Vincenzo
Barresi Giacinto
Bergamaschi Roberto
Bezzini Daiana
Bove Marco
Brambilla Roberta
Brichetto Giampaolo
Cantone Irene
Casadio Maura
Centonze Diego
Cossarizza Andrea
Cucca Francesco
De Meo Ermelinda
Deriu Franca
Di Sapio Alessia
Fallarino Francesca
Filippi Massimo
Furlan Roberto
Ghezzi Angelo
Gianni Costanza
Giovannetti Ambra Mara
Gran Bruno
Grasso Maria Grazia

Haggiag Shalom
Isernia Sara
Leone Maurizio
Maludrottu Stefano
Mancorda Tommaso
Matteoli Michela
Pagnini Francesco
Patti Francesco
Pedullà Ludovico
Pizzini Francesca Benedetta
Podda Jessica
Portaccio Emilio
Previtali Stefano
Procaccini Claudio
Prosperini Luca
Ristori Giovanni
Ronchi Francesca
Sette Claudio
Simone Marta
Solari Alessandra
Tacchino Andrea
Tortorella Carla
Turano Ermanna
Ulivelli Monica
Volpe Elisabetta

Indice / Index

PROGETTI BANDO FISM TERMINATI NEL 2024	14
FISM CALL PROJECTS ENDED IN 2024	
SCOPRIRE LE CAUSE DELLA SM E I FATTORI DI RISCHIO /	15
DISCOVERING THE CAUSES OF MS AND RISK FACTORS	
Claudio Sette	16
Ruolo della modulazione dell'espressione genica da parte di proteine di legame all'RNA sulle caratteristiche infiammatorie della sclerosi multipla	
Impact of gene expression modulation by RNA binding proteins on inflammatory features in multiple sclerosis	
Irene Cantone	19
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	
Bruno Gran	22
Interazione tra la risposta immunitaria a CMV e EBV nella sclerosi multipla	
Interaction between the immune response to CMV and EBV in multiple sclerosis	
Roberto Furlan	25
Neutrofili immunoregolatori in neuroinfiammazione	
Immunoregulatory neutrophils during neuroinflammation	
Roberta Brambilla	27
Disfunzione cognitiva nella sclerosi multipla: ruolo del TNFR2 signaling astrocitario	
Cognitive dysfunction in multiple sclerosis: role of astroglial TNFR2 signaling	
Michela Matteoli	31
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	
Gabriele Angelini	34
Caratterizzazione dell'infiammazione meningeale durante encefalomielite autoimmune sperimentale: un ruolo per l'interazione neutrofilo-macrofago	
Characterisation of meningeal inflammation during experimental autoimmune encephalomyelitis: a role for neutrophil-macrophage interplay	
Vincenzo Barnaba	37
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	
Claudio Procaccini	41
Ruolo di specifici nutrienti nel controllo della tolleranza immunologica al self in corso di EAE	
Nutrient-specific control of immunological self-tolerance in experimental autoimmune encephalomyelitis (EAE)	
DIAGNOSI E MONITORAGGIO DELLA MALATTIA /	44
DIAGNOSIS AND MONITORING OF THE DISEASE	
Francesca Benedetta Pizzini	45
Gradient Echo Plural Contrast Imaging (GEPCI): un nuovo biomarker RMI di neurodegenerazione in sclerosi multipla. Studio pilota su controlli sani	
Gradient Echo Plural Contrast Imaging (GEPCI) technique: a novel MRI biomarker of neurodegeneration in multiple sclerosis. Pilot study on healthy controls	
Costanza Gianni	48
L'associazione tra la neuroinfiammazione cronica e la degenerazione della sostanza bianca nella sclerosi multipla: uno studio combinato 11C-PBR28 PET-MRI	
The association between white matter chronic neuroinflammation and degeneration in multiple sclerosis: a combined 11C-PBR28 PET-MRI study	

NEURORIABILITAZIONE E QUALITÀ DELLA VITA / NEUROREHABILITATION AND QUALITY OF LIFE

51

Alessandra Solari

52

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)

Francesco Pagnini

57

Il ruolo delle aspettative di malattia nella sclerosi multipla

The Role of illness expectations in the course of multiple sclerosis

Luca Prosperini

61

Utilizzo dell'exergaming domiciliare per migliorare la funzione cognitiva nella sclerosi multipla: studio multicentrico, randomizzato, di non inferiorità

Using home-based exergames to improve cognitive function in multiple sclerosis: a multicenter, randomized, non-inferiority trial

Marco Bove

64

Monitoraggio e supporto attraverso un ausilio protesico con biofeedback del percorso riabilitativo in persone con sclerosi multipla

Monitoring and integrating the rehabilitative process of persons with multiple sclerosis by means of a prosthetic aid with biofeedback

Maura Casadio

68

Valutazione e esercizio personalizzato delle capacità di guida in persone con sclerosi multipla

Assessment and personalized training of driving skills in people with multiple sclerosis

Franca Deriu

72

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

Maria Grazia Grasso

75

Valutazione dell'efficacia della riabilitazione logopedica con aggiunta della stimolazione elettrica neuromuscolare vs logopedia da sola in persone con SM 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

Sara Isernia

77

L'utilizzo del metodo Lee Silvermann Voice Treatment (LSVT)-Loud in teleriabilitazione: studio pilota sulla fattibilità e gli effetti del trattamento sull'intensità vocale e sulla qualità della voce

A feasibility pilot study on Lee Silvermann Voice Treatment (LSVT)-Loud on voice intensity and voice use in daily living in people with multiple sclerosis: a telerehabilitation approach

VERSO NUOVI TRATTAMENTI / TOWARDS NEW TREATMENTS

80

Stefano Previtali

81

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 multiple sclerosis

Elisabetta Volpe

83

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?

Ermanna Turano

86

Somministrazione intranasale di vescicole extracellulari da cellule staminali adipose nel modello sperimentale di encefalomielite autoimmune sperimentale: una nuova strategia terapeutica per la SM

Intranasal administration of extracellular vesicles derived from adipose mesenchymal stem cells (ASC-EVs) in experimental autoimmune encephalomyelitis: a novel therapeutic strategy for MS

Francesca Fallarino

89

La proteina prionica un nuovo target farmacologico nella sclerosi multipla

Targeting cellular prion protein in multiple sclerosis

Francesca Ronchi

92

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

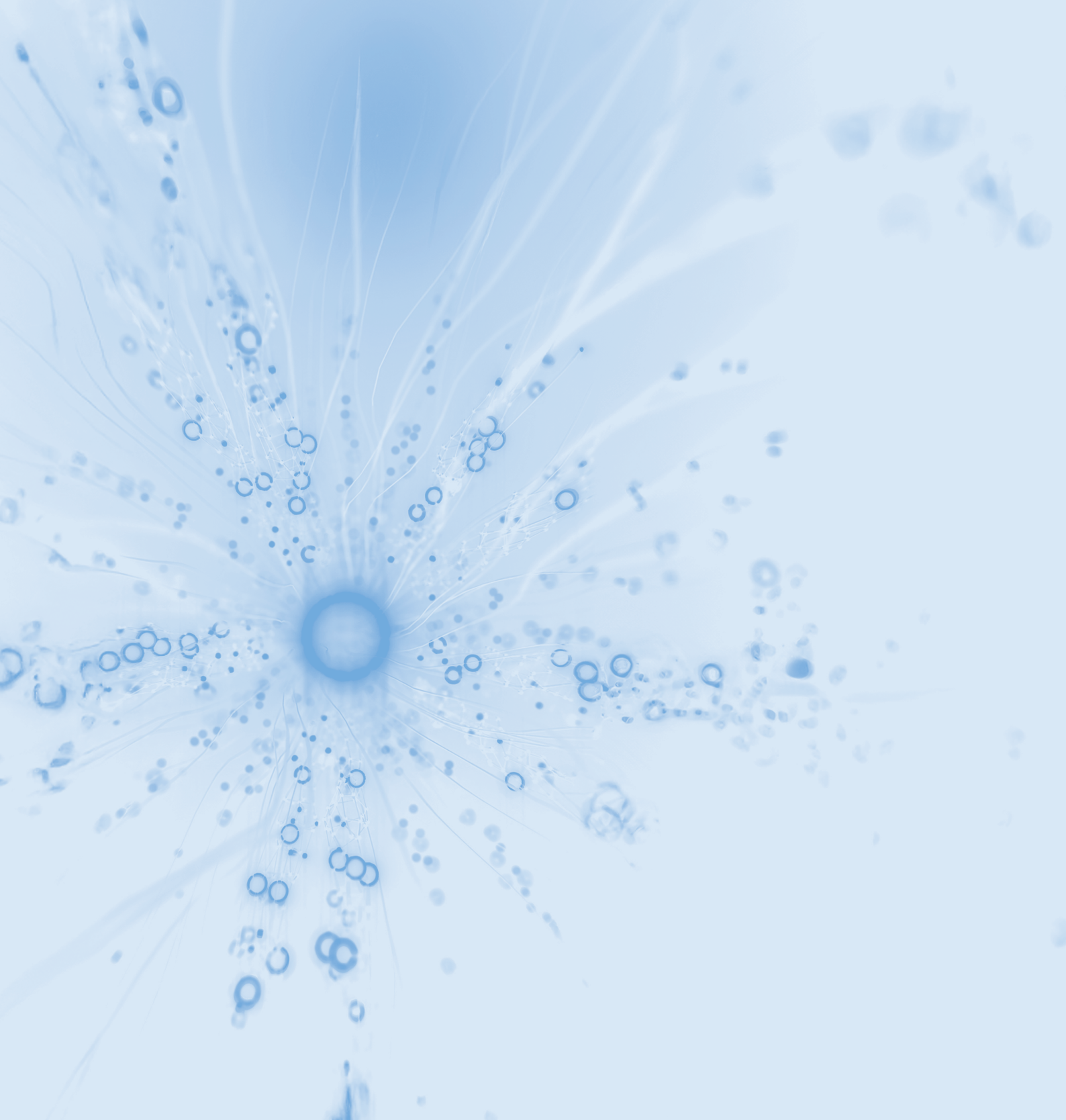
PROGETTI SPECIALI	95
SPECIAL PROJECTS	
Introduzione / Introduction	96
COVID 19 e SM / COVID 19 AND MS	97
Francesco Cucca	98
Impatto dei fattori genetici e dei farmaci utilizzati nel trattamento della sclerosi multipla sulle risposte immunitarie cellulari e umorali dopo la vaccinazione contro Sars-Cov-2	
Impact of genetic factors and drugs used in the treatment of multiple sclerosis on cellular and humoral immune responses after vaccination against SARS-CoV-2	
Andrea Cossarizza	102
Ruolo e la funzionalità delle cellule T specifiche per SARS-CoV-2 in pazienti con sclerosi multipla vaccinati	
Unravelling the role and functionality of T cells in treated multiple sclerosis SARS-CoV-2 vaccinated patients	
ADVOCACY / ADVOCACY	106
Tommaso Manacorda, Paolo Bandiera	107
Validazione di un questionario per la misurazione dell'esperienza dei pazienti con SM su integrazione e centralità della persona nella presa in carico	
Validation of a questionnaire for measuring the experience of MS patients of integrated and patient-centred care	
Tommaso Manacorda, Paolo Bandiera	110
I Centri Clinici per la sclerosi multipla in Italia: un'indagine sull'organizzazione dell'assistenza e le sfide future	
Multiple sclerosis clinical centers in Italy: a survey on the organization of care and future challenges	
Daiana Bezzini	113
Descrizione dell'aderenza alle principali campagne di medicina preventiva nelle persone con sclerosi multipla	
Description of adherence to the main preventive health campaigns of persons with multiple sclerosis	
MEDICINA PERSONALIZZA / PERSONALIZED MEDICINE	116
Ambra Mara Giovannetti	117
Allestimento italiano del programma "REsilience and Activity every DaY for MS", degli outcomes, e valutazione pilota di efficacia mediante impiego di metodologia mista (READY- It-MS)	
Italian set up of the program "REsilience and Activity every DaY for MS", of outcomes, and pilot assessment of efficacy using a mixed methodology (READY-It-MS)	
Giampaolo Bricchetto	123
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 multiple sclerosis (PROMOPRO-MS)	
Stefano Maludrottu, Giacinto Barresi	126
ENACT. Impiegare soluzioni neuroergonomiche per attenuare il tremore cerebellare	
ENACT. Employing neuroergonomic solutions to attenuate the cerebellar tremor	
Ludovico Pedullà	130
Interazioni virtuose tra riabilitazione ed esercizio fisico per affrontare il problema della fatica nella sclerosi multipla: un approccio neurofisiologico	
Virtuous interactions between rehabilitation and exercise to address the problem of fatigue in multiple sclerosis: a neurophysiological approach	
Jessica Podda	133
Design, sviluppo e test di usabilità di un'app per l'autovalutazione e il monitoraggio dei disturbi cognitivi nelle persone con sclerosi multipla: DIGICOG-MS®	
Design, development and usability of a mHealth app for self-assessment and monitoring of cognitive impairment in people with Multiple Sclerosis: DIGICOG-MS®	
Andrea Tacchino	137
Riabilitazione delle funzioni cognitive e motorie al tempo della salute digitale: spunti di teleriabilitazione per persone con sclerosi multipla. (REMOTE-MS)	
REhabilitation of cognitive and MOtor functions in the era of digital health: hints of TELerehabilitation for people with Multiple Sclerosis. (REMOTE-MS)	

PREVENZIONE / PREVENTION	140
Angelo Ghezzi	141
Identificazione dei fattori di rischio genetici ed ambientali ed interazione geni-ambiente nella sclerosi multipla pediatrica (PEDiatric Italian Genetic and enviRonmental ExposurE) (PEDIGREE study)	
Identification of genetic/environmental risk factors and interaction between genetic and environmental factors in pediatric multiple sclerosis (PEDiatric Italian Genetic and enviRonmental ExposurE) (PEDIGREE study)	
Giovanni Ristori	148
Vaccino con bacillo di Calmette Guerin nella sindrome radiologicamente isolata	
Bacille Calmette Guerin (BCG) vaccine in radiologically isolated syndrome (RIS)	
Monica Ulivelli	150
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	
Alessia Di Sapia	153
La Biobanca BB-CRESM: un'infrastruttura strategica per la ricerca sulla sclerosi multipla	
BB-CRESM Biobank: a strategic infrastructure for multiple sclerosis research	
VERSO NUOVI TRATTAMENTI / TOWARDS NEW TREATMENTS	157
Diego Centonze	158
Effetti della stimolazione transcranica con campo magnetico statico (tSMS) nella sclerosi multipla progressiva	
Transcranial Static Magnetic Field Stimulation (tSMS) in progressive Multiple Sclerosis	
DATA SHARING / DATA SHARING	161
NETWORK ITALIANO DI NEUROIMAGING (INNI) /	162
THE ITALIAN NEUROIMAGING NETWORK INITIATIVE (INNI)	
Massimo Filippi	163
Network italiano di neuroimaging (INNI) per l'ottimizzazione dell'utilizzo di tecniche avanzate di risonanza magnetica in pazienti con sclerosi multipla	
The italian neuroimaging network initiative (INNI) to optimize the use of advanced mri techniques in patients with multiple sclerosis	
REGISTRO ITALIANO SCEROSI MULTIPLA	170
ITALIAN MULTIPLE SCLEROSIS AND RELATED DISORDERS REGISTER	
Introduzione / Introduction	173
Progetti terminati / Ended projects	190
EPIDEMIOLOGIA ANALITICA / ANALYTICAL EPIDEMIOLOGY	190
Roberto Bergamaschi	190
L'inquinamento atmosferico come fattore di rischio della sclerosi multipla. Uno studio ecologico nella popolazione italiana (studio AIRMUS)	
Air pollution as a risk factor of multiple sclerosis. An ecological study in the Italian population (The AIRMUS study)	
Maurizio Leone	192
Integrazione di dati genetici e fenotipici tra il data-base PROGEMUS e il Registro Italiano Sclerosi Multipla e patologie correlate	
Integrating genetic and phenotypic data from the PROGEMUS data-base and the Italian Multiple Sclerosis and related disorders Register	
Francesco Patti	195
Pazienti con sclerosi multipla secondaria progressiva attiva e non attiva presentano una progressione della disabilità simile: risultati di uno studio del Registro Italiano SM (ASPERA)	
Active and non-active Secondary Progressive Multiple Sclerosis patients exhibit similar disability progression: results of an Italian MS Registry study (ASPERA)	

EPIDEMIOLOGIA DESCRITTIVA / DESCRIPTIVE EPIDEMIOLOGY	198
Emilio Portaccio	198
Verso una definizione unificata di progressione indipendente dall'attività di ricaduta nella sclerosi multipla Towards a unified definition of progression independent of relapse activity in relapsing multiple sclerosis	
Shalom Haggiag	201
Confronto tra Cladribina e modulatori del recettore S1P nei pazienti naive al trattamento con sclerosi multipla recidivante: studio retrospettivo con il Propensity Score Matching Real-World comparison of Cladribine and S1P receptor modulators in treatment, naive relapsing MS: a Propensity Score, matched study	
DECORSI DI SM E PATOLOGIE CORRELATE / MS AND RELATED DISORDER COURSES	207
Carla Tortorella	207
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 factors in Neuromyelitis Optica Spectrum Disorders (NMOSD) and Myelin Oligodendrocyte Glycoprotein Antibody-Associated Disease (MOGAD). A cohort analysis by Italian MS National Registry through the implementation of a specific data set	
TERAPIA-EFFICACIA - SICUREZZA A BREVE E LUNGO TERMINE / THERAPY - SHORT AND LONG-TERM TREATMENT EFFECTIVENESS	213
Francesco Patti	213
Studio retrospettivo sulle caratteristiche cliniche e radiologiche dei pazienti ad esordio tardivo di sclerosi multipla (LOMS) Clinical and neuroradiological findings in patients with late-onset multiple sclerosis (LOMS)	
Marta Simone	216
Studio multicentrico, prospettico/retrospettivo, randomizzato, in aperto e pragmatico per confrontare l'efficacia e la sicurezza dell'interferone beta-1a (IFN beta-1a) somministrato settimanalmente per via intramuscolare e del glatiramer acetato (GA) in pazienti pediatriche affette da sclerosi multipla Multicentre, prospective/retrospective, randomised, open label pragmatic trial to compare the effectiveness and safety of interferon beta-1a (IFN beta-1a) administered weekly i.m. and glatiramer-acetate (GA) in pediatric patients affected by multiple sclerosis	
Francesco Patti	218
Valutazione dell'efficacia di Rituximab nei pazienti affetti da Sclerosi Multipla recidivante precedentemente trattati con farmaci ad elevata efficacia (RENEGADE) Effectiveness of Rituximab in relapsing Multiple Sclerosis patients previously treated with highly-Active Disease modifying therapies (RENEGADE study)	
TERAPIA-FATTORI PROGNOSTICI E MODELLI PREDITTIVI DI RISPOSTA ALLE TERAPIE / THERAPY - PROGNOSTIC FACTORS AND PREDICTIVE MODELS OF TREATMENT RESPONSE	221
Ermelinda De Meo	221
Fenotipi di peggioramento della disabilità nella SM a esordio recidivante: un approccio basato sui dati dal Registro Italiano della SM Clinical and neuroradiological findings in patients with late-onset multiple sclerosis (LOMS)	
PROGETTI DI RICERCA E BORSE DI STUDIO FINANZIATI DA FISM 2024, 2023	223
FISM FUNDED RESEARCH PROJECTS AND FELLOWSHIPS 2024, 2023	
COMITATO SCIENTIFICO FISM 2024, 2023	232
FISM SCIENTIFIC COMMITTEE 2024, 2023	

PROGETTI BANDO FISM TERMINATI NEL 2024

FISM CALL PROJECTS
ENDED IN 2024



Scoprire le cause SM e i fattori di rischio

Discovering MS causes
and risk factors

Ruolo della modulazione dell'espressione genica da parte di proteine di legame all'RNA sulle caratteristiche infiammatorie della sclerosi multipla



Claudio Sette

Università Cattolica del Sacro Cuore, Roma, Italia

COLLABORATORI/COLLABORATORS

Maria Concetta Geloso, Eleonora Cesari, Luca Zupo, Elisabetta Volpe, Costanza Stacchiotti

PREMESSE E OBIETTIVI

I sintomi della sclerosi multipla (SM) dipendono da processi infiammatori immuno-mediati che causano aree di demielinizzazione in diverse regioni del sistema nervoso centrale (SNC). Inoltre, neurodegenerazione primitiva della sostanza grigia contribuisce alla malattia alterando i circuiti neuronali.

Sebbene molteplici cellule immunitarie contribuiscano alla patogenesi della SM, è emerso che il sottotipo CD4⁺ T helper (Th) 17 giochi un ruolo chiave nella patogenesi della malattia. In condizioni fisiologiche le cellule Th17 proteggono l'organismo dalle infezioni, ma nei pazienti con SM diventano patogene e promuovono un'infiammazione persistente. Infatti, il loro numero è aumentato nel sangue, nel liquido cerebrospinale e nelle lesioni cerebrali dei pazienti con SM, mentre diversi trattamenti modificanti la malattia ne riducono il numero parallelamente ai miglioramenti clinici. Inoltre, le cellule Th17 sono altamente encefalitogene nel modello murino di encefalomyelite sperimentale autoimmune (ESA) della SM, mentre il blocco del loro differenziamento rende i topi resistenti all'ESA. Pertanto, bloccare la polarizzazione di tali cellule può rappresentare una valida strategia terapeutica per la SM.

La regolazione dell'RNA è regolata da *RNA binding proteins* (RBPs), la cui attività alterata può promuovere l'insorgenza o la progressione di diverse malattie. Dati recenti supportano l'importanza del ruolo svolto dalle RBPs nell'ESA e nella SM, compresa la modulazione delle funzioni svolte dalle cellule T in condizioni patologiche. A questo proposito, il nostro gruppo ha recentemente scoperto i cambiamenti trascrizionali graduali che avvengono durante la differenziazione delle cellule Th17 umane, offrendo informazioni utili per la modulazione farmacologica delle risposte Th17-mediate. Inoltre, i nostri studi preliminari hanno evidenziato un ruolo importante di due RBP,

SLM2 e Sam68, nella modulazione delle caratteristiche funzionali delle cellule immunitarie. Infatti, l'espressione di SLM2 è indotta nelle cellule Th17 e gli animali privi di questa proteina [Slm2 knockout (ko)] mostrano un numero ridotto di cellule Th17 circolanti. D'altra parte, Sam68 promuove una risposta pro-infiammatoria nelle cellule immunitarie ed è necessaria per l'espressione di alcune proteine infiammatorie, come Saa3 e CXCL10, che sono direttamente coinvolte nei processi neuroinfiammatori nella SM e nell'ESA. Tuttavia, il ruolo di tali RBPs nella patogenesi della SM è attualmente sconosciuto. Pertanto, questo progetto pilota si proponeva di studiare il contributo di SLM2 e Sam68 all'infiammazione e alla neurodegenerazione in un modello murino di SM.

Abbiamo utilizzato il modello di ESA indotta da MOG₃₅₋₅₅ in topi ko per i geni *Sam68* e *Slm2*. Abbiamo caratterizzato il decorso dell'ESA valutando i fenotipi clinici e neuropatologici. Inoltre, abbiamo analizzato le risposte immunitarie MOG-specifiche delle cellule Th1 e Th17 per correlare i parametri centrali e periferici dell'infiammazione durante l'ESA.

Nel tempo limitato di un progetto pilota, siamo stati in grado di generare prove preliminari a sostegno di un ruolo importante di queste RBPs nello sviluppo dell'ESA.

Infatti, la valutazione dello Score clinico e dei sintomi (CSS) ha evidenziato che i topi Sam68-ko e Slm2-ko mostrano un'insorgenza ritardata dell'ESA rispetto ai topi wild type (wt) di controllo. La valutazione neuropatologica dei midolli spinali degli animali dei diversi gruppi sperimentali ha confermato queste osservazioni. In particolare, i topi Slm2-ko sviluppano una malattia molto lieve. L'analisi citofluorimetrica delle cellule immunitarie nel SNC ha mostrato un aumento del numero di linfociti e di microglia/macrofagi attivati nei topi ESA di controllo, fortemente ridotto nei topi ESA Slm2-ko. L'analisi ex-vivo delle cellule

immunitarie periferiche ha mostrato una diminuzione delle cellule Th17 CD4 di memoria nei topi Slm2-ko rispetto ai topi wt di controllo.

Nell'insieme, questi dati preliminari suggeriscono fortemente il coinvolgimento di SLM2 nella patogenesi dell'ESA. Pertanto, studi futuri che utilizzano i topi Slm2-ko potrebbero aiutare a identificare nuovi meccanismi patologici nella SM che potrebbero essere testati per un intervento terapeutico. Inoltre, lo screening dell'espressione di SLM2 potrebbe contribuire a migliorare la diagnosi e la prognosi dei pazienti con SM.

RISULTATI

Nel tempo limitato di un progetto pilota, siamo stati in grado di generare prove preliminari a sostegno di un ruolo importante di queste RBPs nello sviluppo dell'ESA.

Infatti, la valutazione dello Score clinico e dei sintomi (CSS) ha evidenziato che i topi Sam68-ko e Slm2-ko mostrano un'insorgenza ritardata dell'EAS rispetto ai topi di controllo. La valutazione neuropatologica dei midolli spinali degli

animali dei diversi gruppi sperimentali ha confermato queste osservazioni. In particolare, i topi Slm2-ko sviluppano una malattia molto lieve. L'analisi citofluorimetrica delle cellule immunitarie nel SNC ha mostrato un aumento del numero di linfociti e di microglia/macrofagi attivati nei topi EAS di controllo, fortemente ridotto nei topi ESA Slm2-ko. L'analisi ex-vivo delle cellule immunitarie periferiche ha mostrato una diminuzione delle cellule Th17 CD4 di memoria nei topi Slm2-ko rispetto ai topi di controllo.

CONCLUSIONI

Nell'insieme, i nostri dati suggeriscono fortemente il coinvolgimento di SLM2 nella patogenesi dell'ESA. Pertanto, studi futuri che utilizzano i topi Slm2-ko potrebbero aiutare a identificare nuovi meccanismi patologici nella SM che potrebbero essere testati per un intervento terapeutico. Inoltre, lo screening dell'espressione di SLM2 potrebbe contribuire a migliorare la diagnosi e la prognosi dei pazienti con SM.

Impact of gene expression modulation by RNA binding proteins on inflammatory features in Multiple Sclerosis

INTRODUCTION AND AIMS

Multiple sclerosis (MS) symptoms depend on immune-mediated inflammatory processes that cause widespread areas of focal demyelination within the central nervous system (CNS). In addition, primitive neurodegeneration of grey matter structures contributes to the disease by altering neuronal circuits.

Although multiple immune cells contribute to the pathogenesis of MS, the CD4⁺ T helper (Th) 17 subtype has emerged as a key player. While Th17 cells physiologically protect the organism against infections, in MS patients they become pathogenic and promote persistent inflammation. Th17 cells are abundant in blood, cerebrospinal fluid and brain lesions of MS patients, while several disease-modifying treatments lower their number in parallel with clinical improvements. Furthermore, Th17 cells are highly encephalitogenic in the experimental autoimmune encephalomyelitis (EAE) mouse model of MS, whereas blocking their differentiation makes mice resistant to EAE. Thus, targeting Th17 polarization may represent a valuable therapy for MS.

RNA processing is regulated by multifunctional RNA binding proteins (RBPs), whose altered activity can promote onset or progression of different diseases. Recent evidence points to the key role played by RBPs in EAE and

MS, including the modulation of pathological functions of T cells. In this regard, our group has recently uncovered the stepwise transcriptional changes occurring during human Th17 cell differentiation, offering information useful for the pharmacological modulation of Th17 responses. Our preliminary studies uncovered an important role for two RBPs, SLM2 and Sam68, in the modulation of functional features of immune cells. SLM2 expression is induced in Th17 cells and animals lacking this protein [*Slm2* knockout (ko)] show reduced numbers of circulating Th17 cells. Sam68 promotes a pro-inflammatory response in immune cells and is required for the expression of some inflammatory proteins, such as Saa3 and CXCL10, which are directly involved in neuroinflammatory processes in MS and EAE. However, whether these RBPs are involved in the inflammatory pathways occurring in MS is currently unknown. Therefore, this pilot project was aimed at studying the contribution of SLM2 and Sam68 to inflammation and neurodegeneration in a mouse model of MS. We employed the MOG₃₅₋₅₅-induced EAE model in mice knocked out for the Sam68 and SLM2 genes. We characterized the EAE course by assessing clinical and neuropathological phenotypes. Moreover, we analyzed the MOG-specific immune responses of Th1 and Th17 cells to correlate central and peripheral parameters of inflammation during EAE.

RESULTS

In the limited time of a pilot project, we have been able to generate preliminary evidence supporting an important role of these RBPs in EAE development. Indeed, evaluation of the Clinical Score and Symptoms (CSS) pointed out that Sam68-ko and Slm2-ko mice show a delayed onset of EAE compared with control wild type (wt) mice. Neuropathological evaluation of spinal cords of the different experimental groups confirmed these observations. In particular, Slm2-ko mice develop a very mild disease. Cytofluorimetric analysis of immune cells in the CNS showed increased number of lymphocytes and activated microglia/macrophages in control wt EAE mice, which were

strongly reduced in Slm2-ko EAE mice. Ex-vivo analysis of peripheral immune cells showed a decrease of memory CD4 Th17 cells in Slm2-ko mice compared with control wt mice.

CONCLUSIONS

Together, these preliminary studies strongly suggest the involvement of SLM2 in the pathogenesis of EAE. Thus, future studies using the Slm2-ko mice might help identify new pathological mechanisms in MS that could be tested for therapeutic intervention. Moreover, screening for the expression of SLM2 may help improve the diagnosis and prognosis of MS patients.



PUBBLICAZIONI E COMUNICAZIONI A CONGRESSI PUBLICATIONS AND CONGRESS PRESENTATIONS

Pubblicazioni/Publications

- Zupo L, Stacchiotti C, Cesari E, Geloso MC, Volpe E, Sette C. *Impact of gene expression modulation by RNA binding proteins on inflammatory features in multiple sclerosis. Congresso Scientifico Annuale AISM e la sua Fondazione Roma, 28-30 maggio 2024*

Progetto di ricerca finanziato con il Bando FISM 2022 per il periodo di 1 anno e l'ammontare di 30.000 €

Research project funded by FISM Grant 2022 for the period of 1 year and the amount of € 30,000

Comprendere le origini genetiche ed epigenetiche delle differenze tra i sessi nella sclerosi multipla mediante lo studio dell'inattivazione del cromosoma X umano



Irene Cantone

Dipartimento di Medicina Molecolare e Biotecnologie Mediche, Università degli Studi di Napoli Federico II, Napoli, Italia

COLLABORATORI / COLLABORATORS

Alessandra Spaziano, Parichitran Ayyamperumal, Anna Pagliuso, Antonella Napolitano, Martina Addeo

COLLABORAZIONI CON ALTRI GRUPPI / COLLABORATIONS WITH OTHER GROUPS

Vincenzo Brescia Morra, Azienda Ospedaliera Universitaria Federico II, Università degli Studi di Napoli Federico II, Napoli, Italia

Giorgia Teresa Maniscalco, Azienda Ospedaliera di Rilievo Nazionale, Ospedale Cardarelli, Napoli

Saverio Misso, Rita Tomeo, ASL Caserta 2 Ospedale Moscati, Aversa, Italia

Paolo Maiuri, Dipartimento di Medicina Molecolare e Biotecnologie Mediche, Università degli Studi di Napoli Federico II, Napoli, Italia

Veronica De Rosa, Istituto di oncologia ed endocrinologia sperimentale (IEOS) Consiglio Nazionale delle Ricerche (CNR), Napoli, Italia

PREMESSE E OBIETTIVI

La sclerosi multipla (SM) è una malattia neurodegenerativa causata da un'attivazione impropria del sistema immunitario chiamata "autoimmunità". La SM colpisce principalmente le donne con circa 2,1 milioni di pazienti di sesso femminile su 2,8 totali. Si ritiene che la causa della maggiore incidenza nelle donne sia dovuta almeno in parte al sesso biologico determinato dai cromosomi XX (donne) e XY (uomini). La presenza di due cromosomi X nelle donne crea uno sbilanciamento nel dosaggio dei geni tra femmine (XX) e maschi (XY) che normalmente viene compensato dall'inattivazione di uno dei due cromosomi X femminili. Alcuni geni sfuggono, però, all'inattivazione del X causando differenze tra i sessi. Nello specifico, la presenza di due cromosomi X è stata associata con un peggioramento delle reazioni autoimmunitarie mediate da linfociti T alla base della SM sia in modelli animali che in persone con un cromosoma X sovrannumerario (ad es. XXY). Quali e quanti geni sfuggono al silenziamento del cromosoma X inattivo (Xi) in donne sane e SM (Obiettivo 1 e 3), le diverse sottopopolazioni di linfociti T coinvolte (Obiettivo 2) e i cambiamenti strutturali della cromatina che causano la fuga

dall'inattivazione (Obiettivo 4) resta però ignoto e sono gli obiettivi del presente studio.

RISULTATI

Allo scopo di identificare i geni che sfuggono all'inattivazione del X e le sottopopolazioni di linfociti T che presentano le maggiori differenze tra i sessi (Obiettivo 1 e 2), abbiamo effettuato un'analisi di espressione genica a singola cellula su otto persone con SM e otto persone sane (quattro maschi e quattro femmine per gruppo). Questa analisi ha evidenziato come due sottotipi di linfociti T CD4+ mostrano una maggiore espressione differenziale tra i sessi rispetto ad altri sottotipi. Nello specifico i linfociti CD4+ T naive e della memoria centrale (Tn/cm) e le cellule effettrici della memoria (Tem) presentano le maggiori differenze tra i sessi con circa venti geni sul cromosoma X differenzialmente espressi tra maschi e femmine e tre geni per gruppo specifici per la SM. I geni sul cromosoma X differenzialmente espressi tra uomini e donne già in soggetti sani potrebbero essere la causa della maggiore predisposizione delle donne alla SM. Abbiamo quindi messo a punto una tecnica di sequenziamento a singola cellula per

verificare se i geni differenzialmente espressi si esprimono dal solo cromosoma X attivo (espressione mono-allelica) o da ambedue i cromosomi X attivo e inattivo (espressione bi-allelica) (Obiettivo 3). Questa tecnica ha consentito di valutare solo una minima parte dei geni sul cromosoma X e non ha consentito di confermare i geni candidati. Abbiamo quindi analizzato l'espressione mono- o bi-allelica dei geni candidati mediante una tecnica di imaging che consente di visualizzare la trascrizione del gene direttamente sul cromosoma X attivo (Xa) e su quello inattivo (Xi). Quest'ultima ha confermato l'espressione bi-allelica da entrambe i cromosomi X femminili e, quindi, la fuga dall'inattivazione per tre dei geni candidati e ci ha consentito di valutare i cambiamenti della cromatina associati (Obiettivo 4). In particolare, abbiamo visto che XIST, uno dei fattori associati alla cromatina che determina il silenziamento dei geni sul cromosoma Xi, non si localizza sul cromosoma in tutti i linfociti T e che, in caso di alterata localizzazione, i geni candidati sfuggono maggiormente all'inattivazione. Nelle donne con SM, inoltre, la localizzazione di XIST è ulteriormente compromessa mostrando un ritardo a seguito

dell'attivazione dei linfociti e suggerendo che possa portare ad una maggiore percentuale di geni che sfuggono all'inattivazione e, quindi, a maggiori differenze nella risposta immunitaria tra maschi e femmine.

CONCLUSIONI

Il nostro studio ha portato all'identificazione di un difetto nella regolazione dell'inattivazione del cromosoma Xi in donne SM che è legato ad una maggiore espressione di alcuni geni dal Xi e ad una differenza tra maschi e femmine. Ha inoltre evidenziato come le cellule CD4⁺ Tem - già note come una delle principali popolazioni autoreattive di linfociti T - presentino una maggiore espressione differenziale tra i sessi suggerendo che questa possa essere responsabile della predisposizione delle donne alla SM. Siccome i farmaci per la deplezione delle CD4⁺ Tem sono già disponibili in commercio per la cura di altre patologie, il nostro studio ne suggerisce un'efficacia e applicabilità nel trattamento per la SM nelle donne e potrebbe portare allo sviluppo di nuovi protocolli terapeutici.

Understanding Sex Bias in multiple sclerosis by human X chromosome inactivation

INTRODUCTION AND AIMS

Multiple Sclerosis (MS) is a neurodegenerative disease of autoimmune origin. MS has a higher incidence in women with 2.1 million female patients out of 2.8 total. The origin of the female bias is unknown but recent studies suggest that sex chromosomes might play a central role. In mammals, sex is determined by the presence of two X chromosomes in females (XX) and an X and Y chromosome in males (XY). This leads to an imbalance in gene dosage that is compensated by silencing of one of the two female X chromosomes - named X chromosome inactivation (XCI). XCI is essential and yet incomplete. Some genes escape XCI silencing and might lead to sex differences in human disease. Specifically, the presence of two X chromosomes has been associated with T cell-mediated autoimmune reactions underlying MS in mouse models and individuals with extra-numerary X chromosomes (e.g. XXY). Which genes escape XCI in human lymphocytes, their role in specific lymphocyte subsets and the underlying chromatin changes that might compromise XCI silencing are, however, unknown and their identification represents the specific aims of this study.

RESULTS

In order to identify the genes that underlie sex differences in MS and the specific T lymphocyte subsets that are mostly affected, we performed single-cell RNA sequenc-

ing (scRNAseq) on peripheral lymphocytes from 8 MS patients and 8 healthy donors (HD) of both sexes (4 males and 4 females per group) (Objective 1 and 2). This analysis showed that two CD4⁺ T lymphocyte subsets have higher sex-differential gene expression compared to other subsets, namely naïve/central memory (Tn/cm) and effector memory (Tem) T cells. We also identified 20 X-linked genes per group (6 specific for MS) that are sex-differentially expressed and might escape XCI. In order to understand whether X-linked genes that are sex differentially expressed are escaping XCI, we established an allele-specific scRNAseq method for a direct assessment of mono-versus bi-allelic expression, which occur when a single active X chromosome (Xa) or both active (Xa) and inactive (Xi) chromosomes are expressed respectively (Objective 3). This method could only evaluate a minority of X-linked genes. We, therefore, established an imaging technique (i.e. nascent RNA-FISH) that allowed us to directly visualize Xi gene expression and validated XCI escape of 3 candidate genes. This technique also enabled us to determine Xi chromatin changes (Objective 4) among which the localization of XIST, a long non-coding RNA that normally coats the Xi and determines silencing of Xi genes. This analysis showed that XIST RNA does not localize on the Xi chromosome in peripheral T lymphocytes but partially returns on it upon lymphocyte activation. Notably, re-localization is delayed in MS women suggesting a higher escape from si-

lencing of X-linked genes in MS. Further analyses showed that Xi-expression of candidate escape genes is increased in lymphocytes with partial XIST localization upon activation suggesting that altered XCI and sex-gene dosage imbalance might predispose women to develop MS.

CONCLUSIONS

Our study showed that T lymphocytes in MS women have a compromised localization of XIST, an essential factor in X chromosome inactivation and sex-gene dosage com-

pensation thus suggesting that this might lead to sex differences in MS. Importantly, CD4+ Tem, which are a cell subset mostly responsible for autoimmune reactions in MS, have been identified as enriched for sex-differential gene expression. As drugs depleting CD4+ Tem have already been approved for other diseases, we suggest that this drug might successfully implement MS treatment specifically in females. Our findings might, therefore, have a direct impact on developing novel therapeutic treatments.



PUBBLICAZIONI E COMUNICAZIONI A CONGRESSI PUBLICATIONS AND CONGRESS PRESENTATIONS

Pubblicazioni/Publications

- Spaziano A, Ayyamperumal P, Pagliuso A, Addeo M, Napolitano A, Zoppoli P, Tomeo R, Misso S, Maniscalco GT, Brescia Morra V and Cantone I. Understanding Chromatin-mediated Epigenetic regulation of Sex Bias in autoimmunity by X chromosome inactivation. Computational and Quantitative biology workshop, Naples, 22 Oct 2024
- Spaziano A, Pagliuso A, Addeo M, Napolitano A, Zoppoli P, Tomeo R, Misso S, Maniscalco GT, Brescia Morra V and Cantone I. Understanding Chromatin-mediated Epigenetic regulation of Sex Bias in autoimmunity by X chromosome inactivation. SFB 1064, 6th Munich International Chromatin Symposium – Chromatin Dynamics, Munich, 9-11 Oct 2024
- Spaziano A, Pagliuso A, Addeo M, Napolitano A, Zoppoli P, Tomeo R, Misso S, Maniscalco GT, Brescia Morra V and Cantone I. Understanding Epigenetics of Sex Bias in Human Autoimmunity by X chromosome inactivation. 3rd Biennial Meeting Sex Differences in the Immune System, Dublin 12-14 June 2024
- Spaziano A, Pagliuso A, Addeo M, Napolitano A, Zoppoli P, Tomeo R, Misso S, Maniscalco GT, Brescia Morra V and Cantone I. Understanding Epigenetics of Sex Bias in Multiple Sclerosis by X chromosome inactivation. 6th International Conference on Translational Immunology SIICA 2024, Monopoli, 22-25 May 2024
- Pagliuso A, Napolitano A, Spaziano A, Addeo M, Zoppoli P, Merla G, Maniscalco GT, Brescia Morra V and Cantone I. Understanding Epigenetics of Sex Bias in Human Autoimmunity by X chromosome inactivation. SFB992 3rd International Symposium on Medical Epigenetics, Freiburg, 18-20 March 2024
- Addeo M, Di Loreto A, Zoppoli P, Brescia Morra V, Maniscalco GT & Cantone I. Understanding the origin of sex-bias in human autoimmunity by investigating X chromosome inactivation. Associazione Genetica Italiana-Società Italiana di Mutagenesi Ambientale e Genomica (AGI-SIMAG) 2023 conference. Cortona, 14-16 Sep 2023
- Cantone I. Understanding X chromosome reactivation in pluripotency and autoimmune disease. EMBO workshop – X chromosome inactivation. Berlin, 19-22 June 2023
- Addeo M, Di Loreto A, Spaziano A, Maniscalco GT & Cantone I. Understanding sex-bias in Multiple Sclerosis by human X chromosome inactivation. EMBO workshop – X chromosome inactivation 2023. Berlin, 19-22 June 2023
- Napolitano A, Addeo M & Cantone I. Understanding X chromosome reactivation in human B cells from Multiple Sclerosis patients and healthy women. EMBO workshop – X chromosome inactivation 2023. Berlin, 19-22 June 2023
- Cantone I. Understanding epigenetic reprogramming by X chromosome reactivation. EMBO Epigenome inheritance and reprogramming in health and disease. Split, 22-26 Sept 2022
- Cantone I. Understanding epigenetic reprogramming by X chromosome reactivation. Gordon Research conference Chromatin Structure and Function. Barcelona, 29-3 June 2022
- Cantone I. Human X chromosome reactivation: structural and molecular dynamics. Computational and Quantitative biology workshop. Naples, 28 Feb 2022

Borsa alla Carriera Rita Levi Montalcini finanziata con il Bando FISM 2020 per il periodo di 3 anni (prorogata di 3 mesi) e l'ammontare di 359.250 €

Rita Levi-Montalcini Career Fellowship funded by FISM Grant 2020 for the period of 3 years (extended by 3 months) and the amount of € 359,250

Interazione tra la risposta immunitaria a CMV e EBV nella sclerosi multipla



Bruno Gran

Nottingham University Hospitals NHS Trust, Nottingham, UK, and University of Nottingham School of Medicine, UK

COLLABORATORI / COLLABORATORS

Peter A. Maple, Radu Tanasescu, Cris S. Constantinescu, Nikos Evangelou

COLLABORAZIONI CON ALTRI GRUPPI / COLLABORATIONS WITH OTHER GROUPS

Paola Valentino, Marco Capobianco, *Neuroscienze Istituto Cavalieri Ottolenghi, Orbassano, Italia*

Silvia D'Orso, Giovanna Borsellino, Luca Battistini, *Dipartimento di Neuroscienze Sperimentali, IRCSS Fondazione Santa Lucia, Rome, Italia*

Giovanni Ristori, Rosella Mechelli, Marco Salvetti, *Dipartimento di Neuroscienze Salute Mentale e Organi di Senso, Centro per Terapie Neurologiche Sperimentali, Sapienza Università di Roma, Roma, Italia*

PREMESSE E OBIETTIVI

La patogenesi della SM è complessa e multifattoriale, ma ci sono stati importanti avanzamenti nel capire quali sono i fattori più importanti nella suscettibilità alla malattia. La risposta immunitaria agli herpes virus è un componente essenziale nello sviluppo della malattia. L'infezione da virus di Epstein-Barr (EBV) è considerata necessaria per lo sviluppo della SM. Un più efficace controllo dell'infezione da EBV da parte del sistema immunitario sembra associato a una riduzione del rischio di SM. L'infezione da Citomegalovirus (CMV) invece non è associata alla SM, o secondo alcuni studi potrebbe avere un'associazione negativa alla malattia. Il ruolo dell'infezione da CMV in pazienti con SM è stato poco studiato e potrebbe variare in popolazioni diverse. In un gruppo di pazienti con SM in Inghilterra, avevamo trovato una sieroprevalenza di anticorpi IgG anti-CMV significativamente più bassa (35.9%) nei pazienti che nei controlli sani (62.9%). I livelli anticorpali IgG anti-CMV erano più bassi nei pazienti che nei controlli. I livelli anticorpali IgG contro le proteine di EBV associate alla suscettibilità alla SM (anticorpi anti-EBNA-1) erano significativamente più alti nei pazienti che nei controlli, con tendenza a livelli più bassi di IgG anti-EBNA1 in pazienti sieropositivi per CMV rispetto a quelli sieronegativi.

Questi dati suggerivano un potenziale effetto immunomodulatore dell'infezione da CMV nella SM e una potenziale interazione con l'infezione da EBV. Poiché la prevalenza dell'infezione da CMV varia tra popolazioni diverse, è importante studiare la risposta immunitaria al virus in popolazioni indipendenti.

In questo progetto volevamo approfondire la conoscenza dei meccanismi protettivi (quando questi esistono) dell'infezione da CMV nella SM, studiando la possibile interazione tra CMV e EBV in una popolazione diversa.

Obiettivo 1. Studio di sieroprevalenza di CMV in pazienti con SM e controlli nella Biobanca di Orbassano

Obiettivo 2. Studio di anticorpi contro herpesvirus e delle citochine e chemochine in soggetti con o senza precedente infezione da CMV

Obiettivo 3. Studio dell'immunità cellulare contro EBV in pazienti e controllo con o senza precedente infezione da CMV

4. Genotipi di EBV in pazienti con MS con o senza precedente infezione da CMV

RISULTATI

Obiettivo 1: I campioni di siero (n = 200) da pazienti italiani con SM (pSM) recidivante remittente e controlli sani (CS, n = 137) healthy controls (HCs) sono stati ottenuti dalla Biobanca CRESM di Orbassano. Entrambi sono stati classificati in base a gruppi di età (20–39 anni e >40 anni) e sesso. La sieroprevalenza delle IgG anti-EBV VCA e EBNA-1 era 100% in pWMS and 93.4% and 92.4%, rispettivamente nei CS. I livelli di IgG anti-EBV VCA IgG e EBNA-1 erano più alti ($p < 0.001$) nei pazienti. In pSM i livelli di IgG anti-EBNA-1 diminuivano con l'età, particolarmente nelle donne. La sieroprevalenza di IgG anti-CMV (pregressa infezione da CMV) era 58.7% in pSM e 62.9% in CS. La sieroprevalenza di IgG anti-CMV aumentava con l'età. La sieroprevalenza degli anticorpi IgG anti-virus herpes simplex (HSV)

era 71.2% in pSM e 70.8% in CS.

Obiettivo 2: Tra le citochine e chemochine studiate nel siero (Osteopontin, IL-27, sCD40, Hepatocyte growth factor, CCL2, CCL11, sCD25R, IL-2, IL-10, IL-6, IL-23/23p40, e IFN-gamma), l'unica differenza significativa tra pSM con e senza precedente infezione da CMV era nei livelli di Hepatocyte Growth Factor (HGF; più bassi in pazienti sieropositivi per CMV).

Obiettivo 3: L'analisi dettagliata della risposta cellulare a EBV, CMV, e SARS-Cov2 come controllo positivo ha dimostrato livelli più alti di linfociti citotossici anti-EBV in pSM con precedente infezione da CMV rispetto ai CMV-sieronegativi. I linfociti citotossici potrebbero promuovere una risposta immunitaria più veloce ed efficace contro cellule infettate da EBV. I risultati suggeriscono un potenziale ruolo protettivo dell'infezione da CMV.

Obiettivo 4: La determinazione di genotipi virali di EBV in

pSM con e senza precedente infezione da CMV è in corso di analisi.

CONCLUSIONI

La mancanza di 'associazione negativa' tra MS e infezione da CMV nella popolazione italiana del nostro studio è un'osservazione diversa da studi in altre popolazioni, per esempio in Spagna e come da noi stessi riportato in Gran Bretagna. La dinamica dell'infezione da CMV varia in diverse popolazioni e merita di essere studiata ulteriormente. La valutazione dettagliata delle risposte T-linfocitarie ad antigeni di EBV suggerisce che pur non essendoci diversa sieroprevalenza di CMV tra pazienti e controlli, l'infezione con CMV potrebbe agire da immunomodulatore, favorendo una più efficace risposta citotossica contro EBV. In questo modo, l'infezione da CMV potrebbe esercitare un effetto protettivo contro la SM.

Interaction between the immune response to CMV and EBV in multiple sclerosis

INTRODUCTION AND AIMS

The pathogenesis of MS is complex and multifactorial, but significant progress has been made in identifying some critical factors in susceptibility. The immune response to herpesviruses is an essential component in the development of the disease. Human herpesviruses are most closely associated with MS. Remote infection with Epstein-Barr virus (EBV, human herpesvirus 4, HHV-4) is thought to be required to develop the disease. By contrast, infection with Cytomegalovirus (CMV, HHV-5) is not significantly associated with MS and may even exert a preventive function. The role of past CMV infection in people with MS (pwMS) is less explored than EBV and appears to vary in different populations. In a British cohort of pwMS, we had previously found that CMV IgG seroprevalence was significantly lower in pwMS (35.9%) than in age- and gender-matched controls (62.9%). Anti-CMV IgG antibody levels were significantly lower in pwMS than in controls. The levels of antibodies against EBV proteins associated with susceptibility to MS (EBNA-1) were significantly higher in pwMS than in controls, with an interesting trend to lower anti-EBNA1 IgG levels in CMV seropositive compared to CMV seronegative pwMS.

These observations suggested a potential immunomodulatory effect of CMV infection on MS and potential interactions with EBV infection. Since the prevalence of infection with CMV varies significantly between populations, it is essential to study the immune response to the virus in independent populations.

In this proposal, we aimed to further understand the mechanisms responsible for the observed variable protec-

tive effect of HCMV infection in pwMS by examining population factors and the interactions of HCMV with EBV.

Aim 1. A CMV seroprevalence study in pwMS and matched controls using the Italian MS Biobank

Aim 2. Characterisation of the anti-herpesvirus antibody, cytokine, and chemokine response with and without prior CMV infection.

Aim 3. Characterisation of the cellular immune responses to EBV in patients and controls with and without prior CMV infection

4. EBV viral genotypes in pwMS with and without prior infection with CMV

RESULTS

Aim 1: Serum samples (n = 200) from Italian people with multiple sclerosis (PwMS) classified as the relapsing-and-remitting clinical phenotype and (n = 137) healthy controls (HCs) were obtained from the CRESM Biobank, Orbassano, Italy. Both PwMS and HCs samples were selected according to age group (20–39 years, and 40 or more years) and sex. IgG and EBNA-1 IgG seroprevalences were 100% in PwMS and 93.4% and 92.4%, respectively, in HCs. EBV VCA IgG and EBNA-1 IgG levels were higher ($p < 0.001$) in PwMS compared with HCs. For PwMS, the EBNA-1 IgG levels decreased with age, particularly in females. The CMV IgG seroprevalence was 58.7% in PwMS and 62.9% in HCs. CMV IgG seroprevalence increased with age. The HSV IgG seroprevalence was 71.2% in PwMS and 70.8% in HCs.

Aim 2: The only significant difference was between CMV-seropositive and -seronegative MS patient with re-

gards to Hepatocyte Growth Factor (HGF) levels (lower in those previously infected). No significant difference was detected for the levels of the other cytokines and chemokines studied.

Aim 3: Our findings suggested a potentially protective role for previous CMV infection, since CMV+ individuals show higher levels of EBV-specific cytotoxic cells, which could promote a faster and more robust immune response against EBV-infected cells.

Aim 4: The determination of EBV viral genotypes in pwMS with and without prior CMV infection was delayed by ethical licence requirements during the course of the project and are in progress.

CONCLUSIONS

The lack of a negative association of MS with CMV infection in the Italian population studied in this project (Aim 1) is different from what has been observed in other populations, such as the UK and Spain. CMV infection dynamics vary in different populations and should be further investigated. In-depth studies of T-cell responses (Aim 3) suggested that even though the CMV seroprevalence did not differ between patients and controls in this study, previous CMV infection could still exert a potentially protective role. CMV+ individuals show higher levels of EBV-specific cytotoxic cells, which could promote a faster and more robust immune response against EBV-infected cells.



PUBBLICAZIONI E COMUNICAZIONI A CONGRESSI PUBLICATIONS AND CONGRESS PRESENTATIONS

Pubblicazioni/Publications

- Maple PA, Ascherio A, Cohen JL, Cutter G, Giovannoni G, Shannon-Lowe C, Tanasescu R, Gran B. The Potential for EBV Vaccines to Prevent Multiple Sclerosis. *Front. Neurol.* 2022; 13:887794
- Maple PA, Tanasescu R, Constantinescu CS, Valentino P, Capobianco M, D'Orso S, Borsellino G, Battistini L, Ristori G, Mechelli R, Salvetti M, Gran B. Cytomegalovirus, Epstein-Barr Virus, Herpes Simplex Virus, and Varicella Zoster Virus Infection Dynamics in People with Multiple Sclerosis from Northern Italy. *Pathogens* 2024, 13, 499

Progetto di ricerca finanziato con il Bando FISM 2020 per il periodo di 2 anni (prorogato di 12 mesi) e l'ammontare di 239.320 €

Research project funded by FISM Grant 2020 for the period of 2 years (extended by 12 months) and the amount of € 239,320

Neutrofili immunoregolatori in neuroinfiammazione



Roberto Furlan

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

COLLABORATORI / COLLABORATORS

Susanna Manenti, Annamaria Finardi, Alessandra Mandelli, Giulia Marostica, Alessia Bottoni

COLLABORAZIONI CON ALTRI GRUPPI / COLLABORATIONS WITH OTHER GROUPS

Xuemey Zhong, Hematology Oncology Section, Department of Medicine, Boston University School of Medicine; Boston, Massachusetts, USA

Ari Waisman, Institute for Molecular Medicine, University Medical Center of the Johannes Gutenberg-University Mainz; Mainz, Germany

Giovanna Borsellino, Luca Battistini, Unità di Neuroimmunologia, IRCCS Fondazione Santa Lucia; Roma, Italia

Matteo Iannaccone, Renato Ostuni, Gianvito Martino, Maria A. Rocca, Università Vita e Salute San Raffaele, Milano, Italia

Martina Absinta, Laboratorio di Neuropatologia Sperimentale Humanitas Medical University, Milano, Italia

Tommaso Croese, Michal Schwartz, Weizmann Institute of Science, Department of Brain Sciences, Arison Building; Rehovot, Israel

Marco Antonio Cassatella, Roberta Magliozzi, Università degli studi di Verona; Verona, Italia

Qiang Liu, Tianjin Medical University General Hospital, Tianjin, China

PREMESSE E OBIETTIVI

Nonostante siano la popolazione più abbondante di globuli bianchi nel sangue, i neutrofili sono stati poco studiati nelle malattie autoimmuni fino alle recenti evidenze della loro capacità di regolare le reazioni immunitarie, sia promuovendo che sopprimendo l'immunità. I neutrofili sono stati implicati in disturbi neurologici e sono stati coinvolti anche in malattie neurodegenerative, come l'Alzheimer (AD). Noi abbiamo identificato una nuova sottopopolazione di neutrofili caratterizzata, sia nell'uomo che nei topi, dall'espressione di PD-L2, una molecola che sopprime l'immunità. Abbiamo osservato che questa nuova sottopopolazione di neutrofili è aumentata durante le fasi attive della sclerosi multipla (SM) nelle persone con SM e in un modello di neuroinfiammazione sperimentale nei topi. Ipotizziamo che i neutrofili PD-L2 abbiano funzioni immunosoppressive e proponiamo di indagare il loro ruolo nella sclerosi multipla e nel suo modello murino, l'encefalomielite sperimentale autoimmune (ESA).

RISULTATI

Questo studio identifica e caratterizza una sottopopolazione di neutrofili che esprimono PD-L2 e possiedono fun-

zioni immunosoppressive. Questa popolazione cellulare si espande nel sangue delle persone con sclerosi multipla (SM) e nel cervello dei topi con encefalomielite autoimmune sperimentale durante le riacutizzazioni. Eliminando i neutrofili che esprimono PD-L2 la malattia nei topi peggiora, suggerendo che questi neutrofili siano protettivi anche in vivo. I nostri risultati suggeriscono che comprendere e caratterizzare i neutrofili regolatori potrebbe rivelare nuove informazioni sui meccanismi alla base sia della patogenesi che della risoluzione dell'infiammazione acuta nella SM. Inoltre, apre la strada a diagnosi non invasive e a nuove terapie cellulari.

CONCLUSIONI

Questo studio segna un importante passo avanti nella comprensione del ruolo complesso dei neutrofili nella SM, offrendo prospettive per lo sviluppo di strategie terapeutiche innovative per questa debilitante malattia.

Immunoregulatory neutrophils during neuroinflammation

INTRODUCTION AND AIMS

Despite being the most abundant white blood cells population, neutrophils have been overlooked in autoimmune diseases until recent evidence of their ability to regulate immune reactions, either promoting or suppressing immunity. Neutrophils have been implicated in neurological disorders and found involved also in neurodegenerative disorders, such as AD. We have discovered a new neutrophil subpopulation characterized by the expression of the negative immunoregulator PD-L2, both in humans and in mice. We found that this newly identified neutrophil subpopulation is increased during active stages of human multiple sclerosis (MS) and experimental neuroinflammation in mice. We hypothesize that PD-L2 neutrophils have immunosuppressive functions and we propose to investigate their role in multiple sclerosis and in its mouse model, experimental autoimmune encephalomyelitis (EAE).

RESULTS

This study identifies and characterizes a PD-L2 expressing neutrophil subset with immunosuppressive functions. This population expands in the blood of persons with MS

during acute relapses and in the brain of mice with experimental autoimmune encephalomyelitis. Intriguingly, eliminating PD-L2 expressing neutrophils worsens the disease in mice, suggesting that they are protective also in vivo. Our findings suggest that understanding and characterizing regulatory neutrophils may unveil new insights into the mechanisms underlying both the pathogenesis and resolution of acute inflammation in MS. Furthermore, it opens avenues for non-invasive diagnosis and novel cell therapies. This study marks a crucial advancement in comprehending the intricate role of neutrophils in MS, offering prospects for the development of innovative therapeutic strategies for this debilitating disease.

CONCLUSIONS

This study marks a crucial advancement in comprehending the intricate role of neutrophils in MS, offering prospects for the development of innovative therapeutic strategies for this debilitating disease.



PUBBLICAZIONI E COMUNICAZIONI A CONGRESSI PUBLICATIONS AND CONGRESS PRESENTATIONS

Pubblicazioni/Publications

- Italian Association of Neuroimmunology, AINI, Poster, 16-19 May 2022, Riccione, Italy
- Italian Foundation for Multiple Sclerosis, FISM, Poster, 24-26 May 2022, Rome, Italy
- Federation of European Neuroscience Societies, FENS, Poster, 9-13 July 2022, Paris, France
- San Raffaele Scientific Retreat, Invited lecture, 8-11 March 2023, Baveno, Italy
- Italian Association of Neuroimmunology, AINI, Invited lecture, 3-6 May 2023, Palermo, Italy
- Italian Foundation for Multiple Sclerosis, FISM, Poster, 31 May-2 June 2023, Rome, Italy

- Susanna Manenti, Tommaso Croese, Annamaria Finardi, Alessandra Mandelli, Edoardo Pedrini, Giulia Marostica, Xuemey Zhong, Ari Waisman, Giovanna Borsellino, Luca Battistini, Marco Baccigaluppi, Giorgia S. Gullotta, Lucia Moiola, Angela Genchi, Matteo Iannacone, Renato Ostuni, Martina Absinta, Michal Schwartz, Marco Antonio Casatella, Patrizia Scapini, Roberta Magliozzi, Gianvito Martino, Maria A. Rocca, Roberto Furlan. PD-L2 Expressing Neutrophils Are Key Players in Regulating Autoimmune Neuroinflammation. Submitted

Progetto di ricerca finanziato con il Bando FISM 2020 per il periodo di 3 anni (prorogato di 6 mesi) e l'ammontare di 240.000 €

Research project funded by FISM Grant 2020 for the period of 3 years (extended by 6 months) and the amount of € 240,000

Disfunzione cognitiva nella sclerosi multipla: ruolo del TNFR2 signaling astrocitario



Roberta Brambilla

The Miami Project to Cure Paralysis, Department of Neurological Surgery, University of Miami, Miller School of Medicine Miami, Florida, USA

COLLABORATORI / COLLABORATORS

Brianna N. Carney, Eva Juarez, Taylor Pohl, Antonella Mini

COLLABORAZIONI CON ALTRI GRUPPI / COLLABORATIONS WITH OTHER GROUPS

Luis Tuesta, *Department of Psychiatry, University of Miami, Miller School of Medicine, Miami, Florida, USA*

Kate L. Lambertsens, *Department of Neurobiology Research, Institute of Molecular Medicine, University of Southern Denmark, Odense, Denmark*

Coleen Atkins, *The Miami Project to Cure Paralysis, Department of Neurological Surgery, University of Miami, Miller School of Medicine, Miami, Florida, USA*

PREMESSE E OBIETTIVI

Le disfunzioni cognitive sono un grave onere per le persone con sclerosi multipla (SM), le quali soffrono di un ampio spettro di deficit (alterazioni di memoria, funzioni esecutive ed attenzione) che compromettono seriamente la qualità della vita. Nonostante l'elevata prevalenza e l'impatto sociale, le disfunzioni cognitive nella SM sono poco studiate e i relativi meccanismi poco compresi. Conseguenza di questa lacuna è che non sono disponibili trattamenti farmacologici per limitare il declino delle funzioni cognitive o per facilitarne il recupero nella SM.

Le disfunzioni cognitive associate alla SM vengono in gran parte attribuite ad alterazioni della trasmissione e plasticità sinaptica. Queste richiedono una comunicazione bidirezionale tra neuroni e astrociti, una popolazione specializzata di cellule gliali. Una componente chiave della regolazione sinaptica mediata dagli astrociti è il fattore immunomodulatorio *tumor necrosis factor* (TNF). Il TNF esercita le sue funzioni biologiche tramite l'attivazione dei recettori di membrana TNFR1 e TNFR2, entrambi espressi dagli astrociti. Mentre l'eccessiva attivazione del TNFR1 astrocitario è stata associata allo sviluppo di deficit cognitivi nella SM, il ruolo del TNFR2 in questo processo patologico, così come nella plasticità sinaptica fisiologica, non è mai stato esplorato. È questo l'obiettivo dei nostri studi.

RISULTATI

Usando topi transgenici generati nel nostro laboratorio dove il TNFR2 è selettivamente eliminato dagli astrociti

(*GFAP^{cre}ERT2:TNFR2^{fl/fl}*), abbiamo dimostrato che il TNFR2 è essenziale per mantenere la funzionalità sinaptica nell'ippocampo in condizioni fisiologiche. Infatti, i topi transgenici senza il TNFR2 astrocitario mostrano, nell'ippocampo, una grave disregolazione nell'espressione di molecole neuronali e gliali essenziali per la trasmissione e la plasticità sinaptica. Queste alterazioni si accompagnano ad una elevata reattività delle cellule gliali e ad una compromissione delle risposte intracellulari del calcio, portando a deficit nelle funzioni cognitive. Tali effetti sono più marcati nei topi maschi, suggerendo l'esistenza di differenze di sesso nella regolazione della funzione sinaptica da parte del TNFR2 astrocitario.

A seguito, abbiamo investigato il ruolo del TNFR2 astrocitario nella regolazione della plasticità sinaptica e della funzione cognitiva nel modello di encefalomielite sperimentale autoimmune (ESA), che mima caratteristiche patologiche tipiche della sclerosi multipla. Abbiamo così scoperto che la mancanza del TNFR2 negli astrociti causa una profonda disregolazione di molecole sinaptiche ippocampali nella fase prodromica dell'ESA, ovvero prima che si manifestino disfunzioni motorie.

Tale disregolazione è accompagnata da un'aumentata degenerazione delle spine dendritiche ippocampali che sono essenziali per la trasmissione sinaptica, portando ad un aumento dei deficit cognitivi nella fase cronica dell'ESA. È importante notare che tali deficit cognitivi vengono revertiti quando l'espressione del TNFR2 astrocitario viene incrementata.

CONCLUSIONI

In conclusione, i nostri studi hanno dimostrato che il TNFR2 negli astrociti è necessario non solo per il mantenimento della funzione sinaptica e cognitiva fisiologica, ma anche per contenere e contrastare le disfunzioni sinapti-

che e cognitive associate alla SM. Ciò sottolinea il potenziale del TNFR2 come bersaglio terapeutico per migliorare i deficit cognitivi associati alla SM e, potenzialmente, ad altre malattie neurodegenerative.

Cognitive dysfunction in multiple sclerosis: role of astroglial TNFR2 signaling

INTRODUCTION AND AIMS

Cognitive dysfunction is a major burden for individuals with multiple sclerosis (MS), who suffer from a wide spectrum of deficits (impaired processing speed, attention, memory, and executive functions) that severely compromise their quality of life. Despite the high prevalence and societal impact, cognitive dysfunction in MS is understudied and its mechanisms poorly understood. Due to this gap in knowledge, no pharmacological treatments to limit cognitive decline and facilitate cognitive recovery in MS are available. This is a major unmet need.

MS-associated cognitive dysfunction has been linked to impaired synaptic transmission and plasticity, which requires bidirectional communication between neurons and astrocytes, a specialized population of glial cells. A key component of astrocyte-mediated synaptic regulation is the cytokine tumor necrosis factor (TNF). TNF signals via two membrane receptors, TNFR1 and TNFR2, both expressed in astrocytes. While TNFR1 signaling in astrocytes has been long demonstrated to be necessary for physiological synaptic function, the role of astroglial TNFR2 has never been explored. The objective of the present work is to address this gap of knowledge.

RESULTS

We demonstrated that TNFR2 is essential for maintaining hippocampal synaptic function and plasticity in physiological conditions. Indeed, *GFAPcre^{ERT2}:TNFR2^{fl/fl}* transgenic mice generated in our laboratory with selective ablation of TNFR2 in astrocytes exhibited dysregulated

expression of neuronal and glial molecules essential for hippocampal synaptic transmission and plasticity. These alterations were accompanied by increased glial reactivity and impaired astrocyte calcium dynamics, which ultimately translated into functional deficits, namely impaired cognitive function. Notably, male *GFAPcre^{ERT2}:TNFR2^{fl/fl}* mice exhibited more pronounced alterations, suggesting sex-dependent differences in astroglial TNFR2 regulation of hippocampal synaptic function. Next, we investigated whether astroglial TNFR2 also played a role in regulating synaptic plasticity and cognitive function in experimental pathological conditions that mimic MS. To do so, we employed the experimental autoimmune encephalomyelitis (EAE) model of demyelination, and found that lack of TNFR2 in astrocytes caused major dysregulation of hippocampal synaptic proteins and neurotransmitter receptors in the prodromal phase of EAE, before locomotor dysfunctions manifested. This was paralleled by an increase in dendritic spine degeneration in the hippocampus, and ultimately, in increased cognitive deficits in the chronic phase of EAE. Importantly, such cognitive deficits were rescued when TNFR2 was overexpressed in astrocytes.

CONCLUSIONS

Collectively, our findings demonstrate that astroglial TNFR2 signaling is necessary not only for the maintenance of proper physiological synaptic and cognitive function, but also to contain and counteract synaptic and cognitive dysfunction associated with MS, highlighting its potential as a therapeutic target with sex-specific considerations.



PUBBLICAZIONI E COMUNICAZIONI A CONGRESSI PUBLICATIONS AND CONGRESS PRESENTATIONS

Publications

- Carney BN, Illiano P, Pohl T, Desu HL, Mudalegundi S, Asencor AI, Jwala S, Ascona MC, Singh PK, Titus DJ, Pazarlar BA, Wang L, Bianchi L, Mikkelsen

JD, Atkins CM, Lambertsen KL, Brambilla R. (2025) Astroglial TNFR2 signaling regulates hippocampal synaptic function and plasticity in a sex dependent manner. Under review



- Ascona MC, Tieu EK, Gonzalez-Vega E, Liebl DJ, Brambilla R. A deep learning-based approach for unbiased kinematic analysis in *Exp Neurol*. 2024 Nov;381:114944
 - Desu HL, Thougard E, Carney BN, Illiano P, Plastini MJ, Florimon Y, Mini A, Guastucci C, Kang B, Lee JK, Lambertsens KL, Brambilla R. TNFR2 signaling in oligodendrocyte precursor cells suppresses their immune-inflammatory function and detrimental microglia activation in CNS demyelinating disease. *Brain Behav Immun*. 2025 Jan;123:81-98.
 - Raffaele S, Thougard E, Laursen CCH, Gao H, Andersen KM, Nielsen PV, Ortí-Casañ N, Blichfeldt-Eckhardt M, Koch S, Deb-Chatterji M, Magnus T, Stubbe J, Madsen K, Meyer M, Degn M, Eisel ULM, Wlodarczyk A, Fumagalli M, Clausen BH, Brambilla R, Lambertsens KL. Microglial TNFR2 signaling regulates the inflammatory response after CNS injury in a sex-specific fashion. *Brain Behav Immun*. 2024 Feb;116:269-285.
 - Thougard E, Nielsen PV, Forsberg A, Phuong V, Velasco AM, Wlodarczyk A, Wajant H, Lang I, Mikkelsen JD, Clausen BH, Brambilla R*, Lambertsens KL*. Systemic treatment with a selective TNFR2 agonist alters the central and peripheral immune responses and transiently improves functional outcome after experimental ischemic stroke. *J Neuroimmunol*. 2023 Dec 15;385:578246
 - Chédotal H, Narayanan D, Povlsen K, Gotfredsen CH, Brambilla R, Gajhede M, Bach A, Clausen MH. Small-molecule modulators of the tumor necrosis factor signaling. *Drug Discov Today*. 2023 Jun;28(6):103575
- Conference Presentations (poster and oral)
- Carney BN, Illiano P, Pohl T, Desu HL, Mudalegundi S, Asencor AI, Jwala S, Ascona MC, Singh P.K., Titus D.J., Pazarlar BA, Wang L., Bianchi L., Mikkelsen J.D., Atkins C.M., Lambertsens K.L., Brambilla R. Astroglial TNFR2 signaling regulates hippocampal synaptic function and plasticity in a sex dependent manner. The XVII European Meeting on Glial Cells in Health and Disease, July 8-11, 2025, Marseille, France
 - Pohl T, Carney BN, Illiano P, Abdenour DA, Anne N, Brambilla R. Ablation of Astroglial TNFR2 Induces Synaptic Alterations and Cognitive Impairments in the EAE model of MS. The XVII European Meeting on Glial Cells in Health and Disease, July 8-11, 2025, Marseille, France
 - Carney BN, Illiano P, Pohl T, Desu HL, Mudalegundi S, Asencor AI, Jwala S, Ascona MC, Titus DJ, Pazarlar B.A., Mikkelsen J.D., Atkins C.M., Lambertsens K.L., Brambilla R. Astroglial TNFR2 signaling modulates hippocampal synaptic plasticity and cognition in a sex-dependent manner under physiological and EAE conditions. ACTRIMS Forum 2025, February 27 - March 1, 2025, West Palm Beach, Florida, USA
 - Pohl T, Carney BN, Ascona MC, Abdenour DA, Wolosker H, Wang L, Bianchi L, Brambilla R. Ablation of astroglial TNFR2 induces synaptic alterations in prodromal EAE. ACTRIMS Forum 2025, February 27 - March 1, 2025, West Palm Beach, Florida, USA
 - Carney BN, Placido Illiano P, Pohl T, Desu HL, Mudalegundi S, Asencor A I, Jwala S, Ascona MC, Titus DJ, Pazarlar BA, Mikkelsen J.D., Atkins C., Lambertsens K.L., Brambilla R. Astroglial TNFR2 signaling modulates hippocampal synaptic plasticity and cognition in a sex-dependent manner under physiological and EAE conditions. Annual Neuroscience Research Day, December 6, 2024, University of Miami Miller School of Medicine, Miami, Florida, USA
 - Pohl T, Carney BN, Ascona MC, Abdenour DA, Wolosker H, Wang L, Bianchi L, Brambilla R. Ablation of astroglial TNFR2 induces synaptic alterations in prodromal EAE. Annual Neuroscience Research Day, December 6, 2024, University of Miami Miller School of Medicine, Miami, Florida, USA
 - Carney BN, Desu HL, Illiano P, Ascona M.C., Abdenour D., Titus D.J., Plastini M.J., Mudalegundi S., Atkins C.M., Brambilla R. Cognitive dysfunction in multiple sclerosis: role of astroglial TNFR2 signaling. FISM Annual Conference, May 28-30, 2024, Rome, Italy
 - Carney BN, Illiano P, Ascona MC, Titus DJ, Atkins CM, Brambilla R. Role of astroglial TNFR2 signaling in synaptic and cognitive function in multiple sclerosis. Annual Neuroscience Research Day, University of Miami Miller School of Medicine, December 8, 2023, Miami, Florida, USA
 - Carney BN, Illiano P, Ascona MC, Titus DJ, Atkins CM, Brambilla R. Role of astroglial TNFR2 signaling in synaptic and cognitive function in multiple sclerosis. ISNI 2023, August 21-25, 2023, Quebec City, Canada
 - Ascona MC, Carney BN, Gonzalez-Vega E, Desu HL, Illiano P, Liebl DJ, Brambilla R. Deep learning-based assessment of locomotor dysfunction in experimental autoimmune encephalomyelitis correlates with immunopathology and represents an accurate and unbiased method to evaluate clinical outcome. ISNI 2023, August 21-25, 2023, Quebec City, Canada
 - Thougard Pedersen E, Vinther Nielsen P, Carney BN, Brambilla R, Lambertsens KL. In vitro assay development for studying the interaction between microglia and myeloid cells in neuroinflammatory conditions. The XVI European Meeting on Glial Cells in Health and Disease, July 8-11, 2023, Berlin, Germany
 - Carney BN, Desu HL, Illiano P, Ascona MC, Abdenour D, Titus DJ, Plastini MJ, Mudalegundi S, Atkins CM, Brambilla R. Cognitive dysfunction in multiple sclerosis: role of astroglial TNFR2 sign-



aling. FISM Annual Conference, May 30-June 1, 2023, Rome, Italy

- Carney BN, Illiano P, Ascona MC, Titus DJ, Atkins CM, Brambilla R. Role of astroglial TNFR2 signaling in synaptic and cognitive function in multiple sclerosis. The Max Planck Florida Institute for Neuroscience SUNPOSIUM 2023, March 6-8, 2023, West Palm Beach, Florida, USA
- Carney BN[^], Illiano P, Ascona MC, Titus DJ, Atkins CM, Brambilla R. Role of astroglial TNFR2 signaling in synaptic and cognitive function in multiple sclerosis. ACTRIMS Forum 2023, February 23-25, 2023, San Diego, California, USA. [^]Invited oral communication. Winner, Best Oral Presentation by Young Investigator
- Ascona MC, Carney BN, Illiano P, Nissanka N, Desu HL, Mudalegundi S, Liebl DJ, Moraes CT, Brambilla R. Generation and Characterization of TRE-TNFR2 Mice, a novel gain-of-function transgenic for cell-specific overexpression of TNFR2. ACTRIMS Forum 2023, February 23-25, 2023, San Diego, California, USA
- Thougard Pedersen E, Carney BN, Ascona MC, Brambilla R, Lambertsen KL. In vitro assay development for studying the interaction between microglia and myeloid cells in multiple sclerosis. ACTRIMS Forum 2023, February 23-25, 2023, San Diego, California, USA
- Carney BN, Illiano P, Ascona MC, Titus DJ, Atkins CM, Brambilla R. Role of astroglial TNFR2 signaling in synaptic and cognitive function in multiple sclerosis. Annual Neuroscience Research Day, University of Miami Miller School of Medicine, December 9, 2022, Miami, Florida, USA
- Ascona MC, Carney BN, Illiano P, Brambilla R, Liebl DJ. Astroglial TNFR2 signaling in synaptic and cognitive function after TBI, and its role in astroglial D-serine release. Annula Neuroscience

Research Day, University of Miami Miller School of Medicine, December 9, 2022, Miami, Florida, USA

- Illiano P, Carney BN, Desu HL, Ascona MC, Titus DJ, Plastini MJ, Mudalegundi S, Atkins CM, Brambilla R. Cognitive dysfunction in multiple sclerosis: role of astroglial TNFR2 signaling. FISM Annual Conference, May 24-26, 2022, Rome, Italy
- Illiano P, Nissanka N, Desu HL, Mudalegundi S, Moraes CT, Brambilla R. generation and characterization of TRE-TNFR2 mice, a novel gain-of-function transgenic for cell-specific overexpression of TNFR2. 18th TNF Conference, October 10-14, 2021, Les Diablerets, Switzerland

Invited lectures

- Neurosurgery Grand Rounds. Department of Neurological Surgery, University of Miami Miller School of Medicine, April 2022
- Do inflammatory oligodendrocytes contribute to MS pathogenesis? Research Week 2022, University of Southern Denmark, Odense, Denmark, November 2022
- TNFR2 regulates the immunomodulatory properties of oligodendrocytes in neuroimmune disease. ASN2023, American Society for Neurochemistry Meeting, March 18-22, 2023, Lexington, KY. Invited Speaker and Symposium Co-chairperson
- TNFR2 signaling in oligodendrocytes promotes remyelination in CNS demyelinating disease. Invited lecture, University of Southern Denmark, Odense, Denmark, January 23, 2024
- Astroglial TNFR2 regulates hippocampal synaptic plasticity and cognition in a sex-dependent manner. International Symposium on TNFR2 Immunobiology and Immunopharmacology, March 3-5, 2025, University of Macau, Macau

Progetto di ricerca finanziato con il Bando FISM 2020 per un periodo di 3 anni e l'ammontare di 201.193 €

Research project funded by FISM Grant 2020 for the period of 3 years and the amount of € 201,193

Un modello umanizzato di barriera ematoencefalica per investigare l'infiltrazione di cellule immunitarie nella sclerosi multipla: verso un approccio di medicina personalizzata



Michela Matteoli

Dipartimento di Scienze Biomediche, Humanitas University, Pieve Emanuele (MI), Italia

COLLABORATORI/COLLABORATORS

Elia Laurantano, Margherita Ravanelli

COLLABORAZIONI CON ALTRI GRUPPI / COLLABORATIONS WITH OTHER GROUPS

Eduardo Nobile-Orazio, Giuseppe Liberatore, Claudia Cutellè, *Sezione Autonoma di Malattie Neuromuscolari e Neuroimmunologia, IRCCS Humanitas Clinical and Research Center, Rozzano (MI), Italia*

PREMESSE E OBIETTIVI

La barriera ematoencefalica (BEE) protegge il sistema nervoso centrale (SNC) dall'ingresso di patogeni e cellule immunitarie. Il suo danneggiamento favorisce l'infiltrazione di leucociti autoreattivi, contribuendo all'infiammazione e neurodegenerazione, fenomeno rilevante nelle fasi iniziali della sclerosi multipla (SM).

Nonostante, le persone con SM abbiano a disposizione numerosi farmaci capaci di rallentare il decorso della patologia, sono ancora poche le opzioni terapeutiche che agiscono in maniera mirata sulle fasi precoci della malattia e che quindi riescano a controllare l'infiltrazione nel cervello delle cellule immunitarie.

Il nostro progetto mira a generare modelli *in vitro* di BEE per studiare i meccanismi molecolari e cellulari coinvolti nell'interazione tra sistema immunitario e SNC, identificando nuovi bersagli terapeutici in maniera paziente-specifica. Abbiamo sviluppato un modello personalizzato di BEE integrando cellule endoteliali isolate da persone con SM che si trovano sia nelle fasi più precoci sia in trattamento farmacologico. Un ulteriore obiettivo del progetto è stato di implementare il modello personalizzato di BEE per caratterizzare le sottopopolazioni di cellule immunitarie infiltranti per monitorare l'efficacia di specifiche terapie a livello individuale.

RISULTATI

Per generare una BEE paziente-specifica abbiamo inizialmente isolato e caratterizzato una rara popolazione

di cellule endoteliali, chiamata ECFC (cellule endoteliali formanti colonia), presenti nel circolo sanguigno. Queste cellule sono state ottenute a seguito di prelievo ematico, e sono state espanse *in vitro* in modo da poter essere ulteriormente studiate. In primo luogo, abbiamo quantificato le ECFC isolate da soggetti sani e da persone con SM naïve - ovvero non ancora in terapia - oppure da persone con SM in trattamento farmacologico. I risultati hanno mostrato un aumento nel numero di ECFC isolate nelle persone con SM naïve rispetto sia ai soggetti in trattamento che ai controlli sani. La frequenza di queste cellule è stata correlata con i dati clinici di decorso della malattia e con alcuni indicatori plasmatici di patologia e di danno alla BEE, tra cui le proteine solubili GFAP, NFL e MMP-9. Nel complesso, i risultati suggeriscono che la frequenza di ECFC può rappresentare un potenziale indicatore precoce di patologia nella forma attiva / non stabilizzata da un trattamento farmacologico.

Tramite l'utilizzo di tecnologie avanzate, tra cui la citofluorimetria a flusso e il sequenziamento dell'RNA, abbiamo osservato che le ECFC isolate dalle persone con SM, anche dopo essere state isolate e cresciute *in vitro*, sono capaci di mantenere le caratteristiche proprie del paziente da cui originano, avvalorando la possibilità di utilizzarle per costruire un modello personalizzato di BEE *in vitro* che possa aiutare ad investigare l'eterogeneità della patologia in modo personalizzato.

Per generare il modello di BEE, le ECFC sono state co-coltivate con astrociti umani, che sono in grado di migliorarne

le proprietà di barriera. Le cellule immunitarie che sono state utilizzate per studiare l'infiltrazione attraverso la BEE sono state isolate dagli stessi pazienti in modo da creare una piattaforma autologa.

Da una prima analisi è emersa una maggiore capacità delle cellule isolate dalle persone con SM in uno stadio precoce di malattia di passare attraverso la BEE, con un arricchimento di sottopopolazioni di linfociti Th1 e Th17. Infine, comparando il passaggio delle cellule immunitarie isolate da 18 soggetti SM naïve e 18 controlli sani, è emersa una maggiore transmigrazione verso il lato cerebrale dei linfociti T follicolari. Stiamo pianificando di ripetere l'esperimento sulle stesse persone, a seguito di un periodo di terapia farmacologica.

CONCLUSIONI

I risultati ottenuti hanno evidenziato la rilevanza nella patologia di una popolazione, ancora poco studiata, come le cellule endoteliali, le quali potrebbero rappresentare un

importante indicatore di attività di malattia in uno stadio precoce. Abbiamo dimostrato inoltre che lo sviluppo di una piattaforma *in vitro* di BEE è possibile: questo rappresenta uno strumento promettente per lo studio mirato delle popolazioni immunitarie che infiltrano il cervello in diversi stadi della patologia, e delle interazioni cellula-cellula coinvolte in questo meccanismo. La possibilità concreta di generare un modello personalizzato rappresenta un importante avanzamento nella SM in termini di medicina di precisione che porterà all'ottimizzazione del trattamento nel singolo paziente e all'identificazione di potenziali nuovi meccanismi patogenici e di target farmacologici.

A humanized model of blood-brain barrier to investigate leukocytes infiltration in multiple sclerosis: toward a personalized medicine approach

INTRODUCTION AND AIMS

The blood-brain barrier (BBB) protects the central nervous system (CNS) from pathogens and immune cells. Its damage by infiltrating autoreactive leukocytes, further triggers inflammation and neurodegeneration, a phenomenon relevant in the early stages of multiple sclerosis (MS). Although numerous drugs are available to slow MS progression, there are still few therapeutic options that act in a targeted manner on the early stages of the disease and that therefore are able to specifically control the infiltration of immune cells into the brain.

Our project aimed at generating *in vitro* models of the BBB to study the cellular and molecular mechanisms involved in the cross-talk between the immune system and the CNS, identifying new therapeutic targets in a patient-specific manner. We have developed a personalized model of the BBB by integrating endothelial cells isolated from people with MS who are in the earliest stages of the disease and who are undergoing pharmacological treatment. An additional goal of the project was to implement the personalized BBB model to characterize subpopulations of infiltrating immune cells to monitor the efficacy of specific therapies at the individual level.

RESULTS

To generate a patient-specific BBB model, we isolated and characterized a rare population of endothelial cells,

called ECFCs (endothelial colony-forming cells), present in the bloodstream. These cells were obtained upon blood sampling, and expanded *in vitro* so that they could be further studied. First, we quantified the ECFCs isolated from healthy subjects and from people with MS naïve - that were not yet on therapy - or from people with MS on drug treatment. The results showed an increase in the number of ECFCs isolated in people with treatment-naïve MS compared to both subjects with MS under treatment and healthy controls.

The frequency of these cells was correlated with clinical data on the course of the disease, and with circulating indicators of pathology and damage to the BBB, including the soluble proteins GFAP, NfL and MMP-9. Overall, the results suggest that the frequency of ECFCs may represent a potential early indicator of disease in the active / non-stabilized form by a pharmacological treatment.

Using advanced technologies, including flow cytometry and RNA sequencing, we observed that ECFCs isolated from people with MS, even after being isolated and grown *in vitro*, are able to maintain the characteristics of the patient from which they were originated, supporting the possibility of using them to build a personalized BBB model *in vitro* that can help investigate the heterogeneity of the disease in a personalized way.

To generate the BBB model, ECFCs were co-cultured with primary human astrocytes, which are able to improve en-

endothelial barrier properties. The immune cells that were used to study infiltration through the BBB were isolated from the same patients in order to create an autologous platform. Cells isolated from people in an early stage of the disease have a greater ability to pass through the BBB, with an enrichment of Th1 and Th17 lymphocyte subpopulations. Comparing the infiltration of immune cells isolated from 18 naïve MS subjects and 18 healthy controls, emerged a greater transmigration towards the cerebral side of follicular T lymphocytes. We are planning to repeat the analyses on the same samples, following a period of pharmacological therapy.

CONCLUSIONS

The results obtained have highlighted the relevance in the pathology of a population, still little studied, such as endothelial cells, which could represent a key indicator

of disease activity in an early stage. We have also demonstrated that the development of an in vitro BBB platform is possible: this represents a promising tool for the targeted study of the immune populations that infiltrate the brain at different stages of the disease, and of the cell-cell interactions involved in this mechanism. The concrete possibility of generating a personalized model represents an important advancement in MS in terms of precision medicine that will lead to the optimization of treatment in the individual patient and the identification of potential new pathogenic mechanisms and pharmacological targets.



PUBBLICAZIONI E COMUNICAZIONI A CONGRESSI PUBLICATIONS AND CONGRESS PRESENTATIONS

Selected oral communications

- 5th BraYn conference, Rome, September 2022;
- 41° National Congress Italian Society of Pharmacology - SIF, Rome, November 2022;
- 40° National Congress Italian Society of Pharmacology - SIF, virtual, March 2021;
- 3rd BraYn conference, virtual, November 2020;
- RIN - IRCCS Network of Neuroscience and Neurorehabilitation annual meeting, virtual, July 2020.

Manuscripts in preparation:

- Lauranzano E, Ravanelli MM, Liberatore G, Cutellè C, Faggiani E, Campo E, Calcaterra F, Della Bel-

la S, Mavilio D, Lugli E, Nobile-Orazio E, Matteoli M, A Personalized medicine approach to model neuro-immune cross-talk at the Blood-Brain Barrier in Multiple Sclerosis. In preparation

- Ravanelli MM, Lambroia L, Liberatore G, Cutellè C, Faggiani E, Kunderfranco P, Nobile-Orazio E, Matteoli M, Lauranzano E. Circulating endothelial cells in Multiple Sclerosis: a proxy of neurovascular unit dysfunction. In preparation

Progetto di ricerca finanziato con il Bando FISM 2019 per il periodo di 3 anni (prorogato di 12 mesi) e l'ammontare di 200.000 €

Research project funded by FISM Grant 2019 for the period of 3 years (extended by 12 months) and the amount of € 200,000

Caratterizzazione dell'infiammazione meningeale durante encefalomielite autoimmune sperimentale: un ruolo per l'interazione neutrofilo-macrofago



Gabriele Angelini

Dipartimento di Medicina, Sezione di Patologia Generale, Università di Verona, Verona, Italia

MENTORE / MENTOR
Gabriela Constantin

PREMESSE E OBIETTIVI

La patogenesi della sclerosi multipla (SM) coinvolge una risposta infiammatoria avversa che colpisce e danneggia il sistema nervoso centrale (SNC). Storicamente, la comunità scientifica si è ampiamente focalizzata sullo studio di meccanismi dannosi associati alla SM supportati da cellule dell'immunità adattativa. D'altro canto, nel contesto della SM, tra le cellule dell'immunità innata, i granulociti neutrofili sono stati largamente trascurati. Tuttavia, in periodi più recenti, un numero sempre più in crescita di articoli sottolinea il possibile coinvolgimento dei neutrofili nei processi che sottendono lo sviluppo e la progressione sia della SM che del suo modello sperimentale (encefalomielite autoimmune sperimentale, ESA). Usando il modello ESA, lo scopo di questo studio è stato di indagare la connessione tra i processi patologici mediati dai neutrofili e l'infiammazione meningeale, che rappresenta un tratto caratteristico sia della SM che dell'ESA e correla con andamento di malattia più grave. Per approfondire questo aspetto, il primo obiettivo è stato quello di descrivere le variazioni fenotipiche dei neutrofili durante il corso della malattia. In secondo luogo, abbiamo studiato le interazioni cellula-cellula stabilite dai neutrofili infiltrati nel SNC. L'obiettivo finale è stato invece quello di identificare potenziali mediatori molecolari che regolano le interazioni tra neutrofili ed altre cellule e potrebbero rappresentare bersagli terapeutici promettenti.

RISULTATI

I nostri risultati hanno dimostrato che nel modello di ESA i neutrofili invadevano in maniera consistente il parenchima e le meningi del SNC durante le fasi acute di malattia, mentre il loro numero diminuiva in modo consistente in quella cronica. In aggiunta, queste cellule dell'immunità innata mostravano un fenotipo variabile a seconda della fase di malattia, con una chiara tendenza a migrare nel

tessuto e interagire con altre cellule nelle fasi precoci. In linea con queste osservazioni, abbiamo scoperto che una volta all'interno del SNC, i neutrofili stabilivano dei contatti stretti con i macrofagi, altre cellule dell'immunità innata. Queste cellule sono fondamentali per le reazioni neuroinfiammatorie, contribuendo alla riattivazione locale dei linfociti, fenomeno necessario per l'esordio e la progressione dell'ESA. I nostri dati hanno inoltre mostrato che i neutrofili sono importanti nella pre-attivazione dei macrofagi. Infatti, eliminando i neutrofili in animali con ESA tramite un trattamento sistemico, i macrofagi non acquisivano completamente il loro fenotipo patologico. Inoltre, abbiamo trovato nella molecola di adesione LFA-1 un mediatore cruciale delle interazioni neutrofilo-macrofago. A supporto di questo, colpire questo bersaglio attraverso la somministrazione locale di un anticorpo impediva le interazioni tra neutrofili e macrofagi e alleviava sia la gravità che gli aspetti neuropatologici dell'ESA. In fine, abbiamo eseguito degli studi istologici preliminari su campioni da pazienti con SM che mostravano la presenza di neutrofili in aree delle meningi ricche di macrofagi.

CONCLUSIONI

Il nostro studio ha permesso di ottenere nuovi approfondimenti riguardo il contributo, ancora almeno parzialmente sottostimato, apportato dai neutrofili alla patogenesi della SM. Abbiamo infatti descritto come le loro funzioni si adattino alla fase di malattia. In aggiunta, con i nostri dati abbiamo fatto luce su un potenziale meccanismo patologico nuovo costituito dalle interazioni cellulari tra neutrofili e macrofagi meningeali. Seppur preliminari, i nostri risultati su campioni di tessuto da pazienti con SM suggeriscono un possibile valore traslazionale per le nostre osservazioni ottenute usando il modello di ESA. Per di più, abbiamo anche mostrato che trattamenti locali con anticorpi diretti contro i mediatori dei contatti neutrofilo-macrofago per

prevenirne la formazione, alleviavano la gravità dell'ESA. In un contesto più ampio, i nostri risultati potrebbero risultare rilevanti suggerendo le comunicazioni cellulari come

un nuovo potenziale bersaglio da studiare nel prossimo futuro a scopi terapeutici nel campo della SM.

Characterization of meningeal inflammation during experimental autoimmune encephalomyelitis: a role for neutrophil-macrophage interplay

INTRODUCTION AND AIMS

The pathogenesis of multiple sclerosis (MS) is characterized by a complex and adverse inflammatory response taking place into and damaging the central nervous system (CNS). To date, most of the studies focused on elucidating MS-associated detrimental processes sustained by adaptive immune cells. Conversely, among the innate immune cells, neutrophil granulocytes have been largely overlooked in this field. However, a growing body of literature highlights a previously unrecognized involvement of neutrophils in the development and worsening of MS and its experimental model (experimental autoimmune encephalomyelitis, EAE). Using the EAE model, this study aimed at understanding the link between neutrophil-mediated pathological mechanisms and meningeal inflammation, which is a peculiar feature of MS and EAE and associates with severe disease manifestations. To this end, the first goal was to dissect neutrophil phenotype throughout the disease. The second goal was to study the cell-cell interactions engaged by neutrophils infiltrated into the CNS. Finally, the third goal was to identify candidate molecular mediators of neutrophil cellular crosstalk, that may represent promising targets.

RESULTS

Our results demonstrated that neutrophils massively infiltrated CNS parenchyma and meninges during acute EAE phases, while their number decreased during the chronic one. Moreover, these innate immune cells appeared to play different functions depending on EAE stage, displaying a clear tendency to migrate into the tissue and interact with other cells in the early phases of the disease. Accordingly, we found that once into the CNS, neutrophils established direct and stable physical contacts with meningeal macrophages, another innate immune cell population. Macrophages are crucial orchestrators of the CNS-targeted inflammatory response typical of EAE, being involved in the local re-activation of lymphocytes, a prerequisite for EAE onset and progression. Interestingly, our data showed that neutrophils are required by macrophages to perform efficiently their functions. In line with this, when we treated EAE mice with a neutrophil-depleting antibody, meningeal macrophages failed to completely acquire their

pathological features. We also found that neutrophil-macrophage interactions were regulated by the adhesion molecule LFA-1. Indeed, the blockade of this mediator prevented the engagement of cell-cell contacts between these two types of innate immune cells. Additionally, the direct administration of an anti-LFA-1 antibody into the cerebrospinal fluid of EAE mice mitigated the disease severity and neuropathological features. Finally, we performed preliminary histological studies that showed the presence of neutrophils in meningeal areas rich in macrophages of people with a severe MS course.

CONCLUSIONS

This study allowed to gain new insights into the largely underestimated contribution brought by neutrophils to MS pathogenesis, dissecting their phase-specific functions. We highlighted a putative novel disease mechanism represented by neutrophil cellular interactions with meningeal macrophages. More importantly, the preliminary data on tissue samples from MS patients may support the potential translational value of our findings. Additionally, we also showed that the local delivery of an antibody preventing neutrophil-macrophage contacts was effective in relieving EAE severity. This result could be of importance pointing at cellular crosstalk as a potential target to be explored in the next future for therapeutic purposes in the MS field.



PUBBLICAZIONI E COMUNICAZIONI A CONGRESSI PUBLICATIONS AND CONGRESS PRESENTATIONS

- Angelini G. Role of myeloid cell interactions at central nervous system borders in experimental autoimmune encephalomyelitis. Oral presentation. The international retreat of PhD students in Immunology organized by SIICA, L'Aquila, 15-17 September 2022
- Angelini G. A role for myeloid cell interplay in meningeal inflammation during central nervous system autoimmunity. Oral presentation. XIV National Congress SIICA, Verona, 22-25 May, 2023
- Angelini G. Role of myeloid cell crosstalk in meningeal inflammation during central nervous system autoimmunity and neurodegenerative diseases. Oral presentation (invited). 20th National Congress of the Italian Society for Neuroscience, Turin, 14-17 September, 2023
- Angelini G. Characterization of meningeal inflammation during experimental autoimmune encephalomyelitis: a role for neutrophil-macrophage interplay. Poster presentation. Annual Scientific Congress of the Italian Multiple Sclerosis Society and its Foundation, Rome, 28-30 May, 2024
- Angelini G. Leptomeningeal neutrophil-macrophage interactions amplify local inflammation during central nervous system autoimmunity. Poster presentation. Neutrophil 2024 international symposium, Munich, 17-19 September, 2024
- Angelini G. Neutrophil crosstalk with leptomeningeal macrophages contributes to the development of experimental autoimmune encephalomyelitis. Poster presentation. 7th Brainstorming research assembly for young neuroscientists organized BraYn, Verona, 9-11 October, 2024
- Gabriele Angelini, Alessandro Bani, Silvia Dusi, Nicola Lopez, Eleonora Terrabuio, Enrica Caterina Pietronigro, Antonella Calore, Vittorina Della Bianca, Pallab Majumder, Nikolaos Vareltzakis, Elena Zenaro, Barbara Rossi and Gabriela Constantin.

Borsa di studio finanziata con il Bando FISM 2022 per il periodo di 2 anni e l'ammontare di 50.000 €
Research Fellowship funded by FISM Grant 2022 for the period of 2 years and the amount of € 50,000

Interazioni tra linfociti T autoreattivi e cellule T regolatorie in pazienti con sclerosi multipla



Vincenzo Barnaba

Dipartimento di Medicina Interna e Specialità Mediche - Sapienza Università di Roma, Roma, Italia

COLLABORATORI/COLLABORATORS

Silvia Piconese, Ilenia Pacella, Ilenia Cammarata, Alessio Grimaldi, Neda Feizi, Marta Bellucci, Gloria Tucci

COLLABORAZIONI CON ALTRI GRUPPI / COLLABORATIONS WITH OTHER GROUPS

Marco Salvetti, Sapienza Università di Roma, Roma, Italia

Diego Centonze, Università degli Studi di Roma Tor Vergata, Roma, Italia

PREMESSE E OBIETTIVI

La sclerosi multipla (SM) è una malattia demielinizzante e neurodegenerativa dovuta a un attacco autoimmune di cellule T attivate reattive contro la mielina nel sistema nervoso centrale. Le cellule T CD8+ specifiche per antigeni self e nonself possono contribuire a perpetuare l'infiammazione in questa malattia. Da un lato, la riattivazione del virus di Epstein-Barr (EBV), e la conseguente risposta delle cellule T CD8+, sono state correlate all'attività della malattia. Dall'altro lato, avevamo precedentemente dimostrato che, in diverse condizioni di infiammazione cronica e anche nella SM, le cellule T attivate che vanno incontro a morte programmata (apoptosi) producono antigeni "clivati" da caspasi che sono cross-presentati ad altre cellule T CD8+ specifiche per antigeni derivati dalle cellule apoptotiche. In particolare, l'espansione di cellule T CD8+ specifiche per epitopi associate ad apoptosi (EpAps) è direttamente correlata con la gravità della malattia nei pazienti con SM o altre malattie infiammatorie croniche. Le nostre osservazioni indicano che esiste un'interazione bidirezionale tra cellule T CD8+ EpAp-specifiche e cellule T regolatorie (Treg), che può essere mediata dai segnali della famiglia dei recettori del fattore di necrosi tumorale e può favorire o sovvertire la regolazione immunitaria in diversi contesti. Abbiamo quindi caratterizzato a diversi livelli le dinamiche delle cellule T CD8+ self (EpAp-specifiche) nei pazienti con SM, rispetto ai fenotipi di Tregs, per valutare l'impatto delle terapie per la SM sull'interazione CD8+/Treg.

Sono stati perseguiti i seguenti obiettivi:

1. Analisi dei linfociti T CD8+ specifici ex vivo da pazienti con SM o in vivo nel modello murino di encefalomyelite autoimmune sperimentale (EAS), in correlazione con parametri clinici di gravità della malattia

2. Analisi dell'interazione CD8+/Treg e dei membri della famiglia TNF/TNFR coinvolti

3. Analisi delle terapie con interferone-beta, dimetilfumrato e natalizumab su cellule T CD8+ antigene-specifiche e Treg. Questi risultati possono delineare il ruolo dell'immunopatologia cronica nel sostenere la SM, anche attraverso la modulazione delle Treg mediata da TNF/TNFR.

RISULTATI

Avevamo precedentemente dimostrato che le risposte delle cellule T CD8+ specifiche per EpAp erano significativamente più elevate e correlate con l'attività della malattia in varie forme di malattie infiammatorie croniche, inclusi i pazienti con SM. Quindi, abbiamo ipotizzato che queste risposte potessero contribuire a sostenere l'infiammazione nel sistema nervoso centrale (SNC), ostacolando la risoluzione della malattia, che generalmente si verifica a seguito di un processo infiammatorio a breve termine. Infatti, in un precedente lavoro, avevamo per primi dimostrato, tramite un modello sperimentale, che l'infiammazione di breve durata indotta da myelin basic protein (MBP) induceva un'encefalomyelite allergica sperimentale (EAS) autolimitante. Nel presente progetto, abbiamo studiato due meccanismi paralleli: il ruolo delle risposte delle cellule T specifiche per EpAp nell'esacerbazione dell'EAS in vivo e delle Tregs nel limitare le risposte autoimmuni esagerate. A causa della stretta interazione tra questi meccanismi, abbiamo prima utilizzato parte dei fondi di questo progetto per convalidare la rilevanza in vivo delle risposte delle cellule T CD8+ specifiche per EpAp nel sostenere l'immunopatologia nel modello EAS indotta dall'immunizzazione con la glicoproteina mielinica (MOG). In particolare, abbiamo evidenziato che nei topi immunizzati sia con la MOG sia con EpAp (come, epitopi della miosina non muscolare),

le cellule T CD8+ specifiche per EpAp con un fenotipo effettore/memoria si accumulavano nel SNC, si correlavano con la gravità della malattia e la esacerbavano significativamente, più che nei topi immunizzati con la sola MOG. In conclusione, abbiamo dimostrato che l'autoimmunità specifica per EpAp può contribuire ad amplificare e sostenere la neuroinfiammazione. Inoltre, questi dati suggeriscono che la presenza di un'elevata frequenza di cellule T CD8+ specifiche per EpAp può essere utilizzata come valido biomarcatore di esacerbazione della malattia. Nella seconda parte del nostro progetto, abbiamo analizzato il ruolo delle cellule T CD4+CD127^{low}FoxP3+ (Tregs) specifiche per EpAp nel controllo della neuroimmunopatologia esagerata nei pazienti con SM. I nostri dati dimostrano chiaramente che i pazienti con SM mostrano una frequenza maggiore sia di cellule T effettrici CD4+ sia di Treg specifiche per EpAp, rispetto agli HD (manoscritto in preparazione). È importante notare che le Treg specifiche per EpAp erano disfunzionali, *up* regolavano l'espressione di PD-1 e non erano inversamente correlate con la frequenza delle cellule T effettrici o con l'attività della malattia. Questi dati rappresentano, a nostra conoscenza, la prima evidenza sulle cellule Treg specifiche per autoantigeni e sul loro potenziale ruolo nell'immunopatogenesi della SM per la loro incapacità di controllare le cellule T autoreattive.

CONCLUSIONI

In conclusione, i nostri dati indicano che l'espansione delle risposte delle cellule T specifiche per ApEps può amplificare l'immunopatologia, perché la risposta immunitaria primaria autoimmune specifica per la mielina o innescata da un patogeno (ad esempio, da infezioni virali o microbiota intestinale) che induce EAS o SM può fornire il substrato apoptotico immunogenico, che a sua volta può suscitare risposte delle cellule T specifiche per ApEps che amplificano e sostengono la neuroinfiammazione. In queste condizioni, la malattia è esacerbata e le risposte delle cellule T autoimmuni resistono alle Tregs.

Inoltre, suggeriamo che il rilevamento di un'elevata frequenza di cellule T specifiche per ApEps può essere utilizzato come biomarcatore di attività della malattia. Infine, i nostri dati aprono la strada per verificare se strategie terapeutiche innovative con agonisti dei checkpoint inibitori o nuovi composti terapeutici che prendono di mira le molecole coinvolte nell'immunopatologia della SM possano fornire effetti benefici nell'autoimmunità, perché possono attenuare non solo l'attivazione delle cellule T specifiche per autoantigeni della mielina, ma anche la conseguente apoptosi immunogenica che può fornire un'enorme pleora di ApEps criptici e quindi perpetuare l'attivazione immunitaria cronica.

Interplay between autoreactive T cells and regulatory T cells in multiple sclerosis patients

INTRODUCTION AND AIMS

Multiple Sclerosis (MS) is a demyelinating and neurodegenerative disease due to an autoimmune attack of myelin-reactive activated T cells to the central nervous system (CNS). CD8+ T cells specific for self or nonself antigens, may contribute to perpetuate inflammation in this disease. On the one side, Epstein-Barr virus (EBV) reactivation, and the consequent CD8+ T cell response, have been related to disease activity. On the other side, we have previously shown that, in several conditions of chronic inflammation and in MS, activated T cells undergoing cell death produce caspase-cleaved antigens that are cross-presented to specific CD8+ T cells.

Notably, the expansion of such apoptosis-associated epitope (ApEp)-specific CD8+ T cells directly correlates with disease severity in MS patients or in various chronic inflammatory diseases. Our observations indicate that a bidirectional crosstalk may exist between ApEp-specific CD8+ T cells and Tregs, which may be mediated by signals of the tumor necrosis factor receptor family and may foster or subvert immune regulation in different contexts. Here, we characterized at several levels the self (ApEp-spe-

cific) and nonself (EBV-specific) CD8+ T cells dynamics in MS patients, with respect to Treg phenotype, to assess the impact of MS therapies on the CD8-Treg crosstalk. The following aims have been pursued:

Aim1. Analysis of the self-specific CD8+ T cell frequency *ex vivo* from MS patients or in the experimental autoimmune encephalomyelitis (EAE) *in vivo*, in correlation with clinical parameters of disease severity.

Aim2. Analysis of the CD8+/Treg interplay and of TNF/TNFR family members.

Aim3: Analysis of interferon-beta, dimethyl fumarate and natalizumab therapies on antigen-specific CD8+ T cells and Tregs. These results will delineate the role of self- and nonself-directed immunity in sustaining chronic immunopathology in MS, also through the modulation of the TNF/TNFR-mediated Treg dynamics.

RESULTS

We have previously demonstrated that CD8+ T cell responses to ApEps were significantly higher and correlated with disease activity in various forms of chronic inflammatory diseases, including MS patients. On this basis, we

hypothesized that these responses contribute to sustain inflammation in (CNS) hindering the disease resolution, generally occurring following a short-term inflammatory process. Indeed, in a previous seminal report, we demonstrated by an experimental model that short-lived MBP-induced inflammation resulted in a self-limited active experimental allergic encephalomyelitis (EAE). In the present project, we addressed our attention towards two parallel mechanisms: the roles of ApEp-specific T cell responses in exacerbation of EAE in vivo and of Tregs in limiting exaggerated autoimmune responses. Because of the strict interplay between these mechanisms, we first used part of funds of this project to validate the in vivo relevance of ApEp-specific CD8⁺ T cell responses in sustaining immunopathology in the EAE model. In particular, we found that apoptotic T cells and effector/memory ApEp-specific CD8⁺ T cells accumulate in the CNS of mice with EAE, positively correlating with disease severity. Importantly, when mice were immunized with ApEps (e.g., non-muscle myosin epitopes) along with EAE induction by myelin oligodendrocyte glycoprotein (MOG), ApEp-specific CD8⁺ T cells with an effector/memory phenotype accumulated in the CNS significantly more than in mice immunized with MOG alone, and the disease severity was exacerbated (13). In conclusion, we demonstrate that ApEp-specific autoimmunity may contribute to amplify and sustain neuroinflammation. In addition, these data suggest that the presence of high frequency of ApEp-specific CD8⁺ T cells can be used as a valid biomarker of disease exacerbation. In the second part of our project, we analyzed the role of ApEp-specific CD4⁺CD127^{low}FoxP3⁺ T cells (Tregs) in controlling exaggerate neuro-immunopathology in MS patients. Our data clearly demonstrate that MS patients

show higher frequency of circulating ApEp-specific CD4⁺ effector T cells, as well as higher frequency of circulating ApEp-specific Tregs, than HDs (manuscript in preparation). Importantly, ApEp-specific Tregs were dysfunctional, overexpressed PD-1 and were not inversely correlated with the frequency of the effector T cells counterparts or with the disease activity. These data represent, to our knowledge, a unique report on self-antigen-specific Tregs and their potential role in MS immunopathogenesis by their incapacity to control the autoreactive T cells.

CONCLUSIONS

In conclusion, our data indicate that the spreading of ApEp-specific T cell responses can amplify immunopathology, because a primary myelin-specific autoimmune or pathogen-triggered (e.g., by viral infections or gut microbiota) immune response initiating EAE or MS can provide the immunogenic apoptotic substrate, that in turn can elicit ApEp-specific T cell responses amplifying and sustaining the neuroinflammation. Under these conditions, the disease is exacerbated, and the autoimmune T cell responses resist Tregs. In addition, we suggest that the detection of high frequency of ApEp-specific T cells can be used as a biomarker of disease activity. Finally, our data pave the way for testing if innovative therapeutic strategies with inhibitory checkpoint agonists, or novel therapeutic compounds targeting molecules involved in MS immunopathology, may provide beneficial effects in autoimmunity, because they may dampen not only T cell activation, but also the consequent immunogenic apoptosis that may provide a huge plethora of cryptic ApEps and thus perpetuates the chronic immune activation.



PUBBLICAZIONI E COMUNICAZIONI A CONGRESSI PUBLICATIONS AND CONGRESS PRESENTATIONS

- Lolli F, Martini H, Citro A, Franceschini D, Portacchio E, Amato MP, Mechelli R, Annibali V, Sidney J, Sette A, Salvetti M, Barnaba V. Increased CD8⁺ T cell responses to apoptotic T cell-associated antigens in multiple sclerosis. *J Neuroinflammation*. 2013 Jul 27;10:94
- Meloni F, Accapezzato D, Agresti C, Aloisi F, Ristoni G, Salvetti M, Furlan R, Martino G, Barnaba V, Paroli M. Dendritic cells loaded with apoptotic oligodendrocytes as a source of myelin T-cell epitopes in multiple sclerosis. *Clin Immunol*. 2008 Nov;129(2):286-94
- Pacella I, Cammarata I, Martire C, Brancaccio G, Gaeta GB, Barnaba V, Piconese S. CD8⁺ T cells specific to apoptosis-associated epitopes are expanded in patients with chronic HBV infection and fibrosis. *Liver Int*. 2021 Mar;41(3):470-481.
- Timperi E, Barnaba V. Viral Hepatitis, Inflammation and Tumour Microenvironment. *Adv Exp Med Biol*. 2020;1263:25-43
- Cammarata I, Martire C, Citro A, Raimondo D, Fruci D, Melaiu O, D'Oria V, Carone C, Peruzzi G, Cerboni C, Santoni A, Sidney J, Sette A, Paroli M, Caccavale R, Milanetti E, Riminucci M, Timperi E, Piconese S, Manzo A, Montecucco C, Scrivo R, Valesini G, Cariani E, Barnaba V. Counter-regulation of regulatory T cells by autoreactive CD8⁺ T cells in rheumatoid arthritis. *J Autoimmun*. 2019 May;99:81-97
- Piconese S, Cammarata I, Barnaba V. Viral hepatitis, inflammation, and cancer: A lesson for autoimmunity. *J Autoimmun*. 2018 Dec;95:58-68
- Martini H, Citro A, Martire C, D'Ettore G, Labbadia G, Accapezzato D, Piconese S, De Marzio P,



- Cavallari EN, Calvo L, Rizzo F, Severa M, Coccia EM, Grazi GL, Di Filippo S, Sidney J, Vullo V, Sette A, Barnaba V. Apoptotic Epitope-Specific CD8+ T Cells and Interferon Signaling Intersect in Chronic Hepatitis C Virus Infection. *J Infect Dis.* 2016 Feb 15;213(4):674-83
- Citro A, Scrivo R, Martini H, Martire C, De Marzio P, Vestri AR, Sidney J, Sette A, Barnaba V, Valesini G. CD8+ T Cells Specific to Apoptosis-Associated Antigens Predict the Response to Tumor Necrosis Factor Inhibitor Therapy in Rheumatoid Arthritis. *PLoS One.* 2015 Jun 10;10(6):e0128607
 - Citro A, Barnaba V, Martini H. From T cell apoptosis to chronic immune activation in inflammatory diseases. *Int Arch Allergy Immunol.* 2014;164(2):140-6
 - Barnaba V. Tuning cross-presentation of apoptotic T cells in immunopathology. *Adv Exp Med Biol.* 2013;785:27-35
 - Di Rosa F, Serafini B, Scognamiglio P, Di Virgilio A, Finocchi L, Aloisi F, Barnaba V. Short-lived immunization site inflammation in self-limited active experimental allergic encephalomyelitis. *Int Immunol.* 2000 May;12(5):711-9
 - Neda F, Focaccetti C, Pacella I, Tucci G, Rossi A, Costanza M, Pedotti R, Sidney J, Sette A, Procaccini C, Matarese G, Barnaba V, Piconese S. CD8+ T cells specific for cryptic apoptosis-associated epitopes exacerbate experimental autoimmune encephalomyelitis. *Cell Death Dis.* 2021 Oct 29;12(11):1026

Progetto di ricerca finanziato con il Bando FISM 2019 per il periodo di 3 anni (prorogato di 20 mesi) e l'ammontare di 174.000 €

Research project funded by FISM Grant 2019 for the period of 3 years (extended by 20 months) and the amount of € 174,000

Ruolo di specifici nutrienti nel controllo della tolleranza immunologica al self in corso di EAE



Claudio Procaccini

Istituto per l'Endocrinologia e Oncologia Sperimentale, Consiglio Nazionale delle Ricerche, IEOS-CNR, Napoli, Italia

COLLABORATORI/COLLABORATORS

Claudia Russo, Giusy De Rosa, *Istituto per l'Endocrinologia e Oncologia Sperimentale, Consiglio Nazionale delle Ricerche, Napoli, Italia*

Giuseppe Matarese, *Dipartimento di Medicina Molecolare e Biotecnologie Mediche, Università di Napoli "Federico II" Napoli, Italia*

PREMESSE E OBIETTIVI

Evidenze epidemiologiche hanno indicato una forte associazione tra obesità e rischio di malattie autoimmunitarie, in particolare la sclerosi multipla (SM); infatti, è stato dimostrato che fattori metabolici e nutrizionali possono influenzare l'omeostasi immunologica, contribuendo così allo sviluppo e alla progressione della SM, sebbene i meccanismi precisi alla base di questa associazione siano solo parzialmente noti.

Tutti i segnali ambientali (compresi i nutrienti) possono influenzare la proliferazione e l'attivazione delle cellule T regolatorie (Treg), un sottogruppo di cellule T CD4+ che è coinvolto nel controllo della tolleranza immunologica al self. Questo progetto si è proposto di indagare se i segnali di "pressione metabolica" possano essere responsabili di un alterato controllo dell'infiammazione mediato dalle cellule Treg nel contesto dell'encefalomielite sperimentale autoimmune (ESA).

A tal fine, abbiamo valutato l'impatto di diete arricchite con singoli nutrienti (diete ad alto contenuto di grassi, o carboidrati o proteine) sull'insorgenza e sulla progressione dell'ESA, modulando la risposta immunitaria, così come il fenotipo, l'omeostasi e la funzione delle cellule Treg.

RISULTATI

In questo progetto di ricerca, abbiamo valutato l'impatto della "pressione metabolica" sull'insorgenza e la progressione dell'encefalomielite sperimentale autoimmune (ESA), con particolare attenzione al compartimento delle cellule Treg, la sottoclasse di cellule coinvolta nel controllo della tolleranza al self. In particolare, i topi sono stati sottoposti ad una dieta standard o a tre diverse diete arricchite con nutrienti specifici: ad alto contenuto di lipidi (60%), ad alto contenuto di carboidrati (70%) o ad alto contenuto di

proteine (75%). Dopo sei settimane, i topi sono stati immunizzati per indurre l'ESA. I risultati ottenuti hanno rivelato che i topi alimentati con una dieta ad alto contenuto di grassi (HFD; high-fat diet) o ad alto contenuto di carboidrati (HCD; high-carbohydrate diet) mostravano sintomi clinici più gravi, con una progressione di malattia (ESA) esacerbata rispetto ai gruppi alimentati con dieta standard (SD) o con dieta ad alto contenuto proteico (HPD; high-protein diet). Queste osservazioni si associavano ad elevati livelli di anticorpi (IgG) anti-MOG e ad un'aumentata produzione di citochine pro-infiammatorie in seguito al sovraccarico di lipidi o carboidrati. L'analisi citofluorimetrica del sistema nervoso centrale (SNC) ha rilevato un aumentato reclutamento di leucociti, in particolare di cellule T CD4+ e CD8+, nei topi sottoposti a dieta iperlipidica o ad alto contenuto di carboidrati rispetto a quelli alimentati con dieta standard. Al contrario, la dieta iperproteica non ha influenzato l'entità dell'infiltrato infiammatorio o la progressione della patologia, suggerendo pertanto che i diversi macronutrienti possano esercitare effetti immunomodulatori differenti. Infine, le cellule Treg isolate dai topi alimentati con diete ad alto contenuto di grassi o di carboidrati hanno anche mostrato una funzionalità compromessa, come indicato da un'espressione alterata del fattore di trascrizione FoxP3 (il gene chiave per le cellule Treg) ed una ridotta capacità soppressoria in saggi di co-cultura con cellule Tconv. Tali risultati suggeriscono possibili strategie nutrizionali per migliorare la tolleranza immunologica nella SM, attraverso la modulazione della funzione delle cellule Treg.

CONCLUSIONI

I risultati di questo progetto hanno messo in luce il ruolo cruciale di vari nutrienti nella regolazione della tolleranza

immunologica in corso di ESA, con possibili implicazioni per la gestione della SM. Questa ricerca potrebbe aprire nuove prospettive nella comprensione dei meccanismi sottostanti la suscettibilità della SM, favorendo pertanto l'adozione di specifici approcci nutrizionali come potenziati strategie terapeutiche per ridurre l'infiammazione nella SM, prevenendone l'insorgenza e la progressione. Inoltre, i risultati ottenuti potrebbero contribuire all'indi-

viduazione di nuove vie di segnalazione innescate dai diversi nutrienti nelle cellule Treg, che potrebbero costituire nuovi bersagli terapeutici per contenere la progressione della SM. Ulteriori studi permetteranno di determinare se opportune modifiche dei regimi dietetici possano rappresentare un valido supporto per integrare gli attuali approcci terapeutici per la SM, migliorando così il decorso clinico della malattia.

Nutrient-specific control of immunological self-tolerance in experimental autoimmune encephalomyelitis (EAE)

INTRODUCTION AND AIMS

Epidemiological evidence has indicated a strong association between obesity and the risk of autoimmune diseases, in particular multiple sclerosis (MS). Indeed, it has been demonstrated that metabolic and nutritional factors can influence immune homeostasis, thereby contributing to MS development and progression, although the precise mechanisms underlying this association are only partly understood.

All the environmental signals (including nutrients) can influence the expansion and the activity of regulatory T (Treg) cells, which represent a CD4⁺ T cell subset that is involved in the maintenance of immunological self-tolerance. The present project aimed at investigating whether signals of "metabolic pressure" might be responsible for an altered Treg cell-mediated control of inflammation in experimental autoimmune encephalomyelitis (EAE). To this end, we evaluated the impact of single nutrient-enriched diets (high-fat, high-carbohydrate, or high-protein diets) on EAE onset and progression, by modulating immune response and Treg cell phenotype, homeostasis, and function.

RESULTS

In this research project, we evaluated the impact of "metabolic pressure" on the onset and progression of experimental autoimmune encephalomyelitis (EAE), with a focus on the Treg cell compartment, the cell subset involved in the control of immunological self-tolerance. Specifically, mice were fed a standard diet, or three different diets enriched with specific nutrients: high lipids (60%), or high carbohydrates (70%), or high proteins (75%). After six weeks, the mice were immunized to induce EAE. The obtained results revealed that mice fed a high-fat diet (HFD) or high-carbohydrate diet (HCD) exhibited more severe EAE clinical symptoms with exacerbated disease progression when compared to standard diet (SD) or high-protein diet (HPD) groups. These observations were associated

with elevated anti-MOG IgG titers and increased pro-inflammatory cytokine production induced by lipid and carbohydrate overload, indicating an heightened systemic inflammation. Flow cytometry analysis of the central nervous system (CNS) revealed increased recruitment of leukocytes, particularly CD4⁺ and CD8⁺ T cells, in both HFD and HCD mice compared to SD fed mice. Conversely, HPD did not affect the extent of CNS immune cell infiltration or EAE progression, thus suggesting that different macronutrients may exert different immunomodulatory effects. Finally, Treg cells isolated from HFD or HCD mice also exhibited impaired functional activity, as indicated by altered expression of the transcription factor FoxP3 (the master gene for Treg cells) and impaired suppressive capacity in co-culture assays with Tconv cells. These findings suggest potential nutritional strategies for improving immunological tolerance in MS by targeting Treg function.

CONCLUSIONS

Our results shed light on the critical role of different nutrients in the regulation of immunological self-tolerance during EAE, with potential implications for MS management. This research could open new perspectives in understanding the mechanisms underlying MS susceptibility, thus envisioning a wider utilization of nutritional approaches as potential therapeutic strategies to mitigate inflammation in MS, possibly preventing its onset and progression. Moreover, our findings may contribute to identifying novel nutrient-triggered pathways in Treg cells which could be therapeutically targeted to control MS progression.

Further investigations will determine whether specific and appropriate dietary modifications can provide valuable support to complement current therapeutic approaches to MS, thereby improving patient outcomes.



PUBBLICAZIONI E COMUNICAZIONI A CONGRESSI PUBLICATIONS AND CONGRESS PRESENTATIONS

Pubblicazioni/Publications

- De Rosa G, Russo C, Garavelli S, Di Silvestre D, Spatocco I, Mele G, La Rocca C, Colamatteo A, Carbone F, Fusco C, Passaro F, Carpi D, Tagliabue E, Prattichizzo F, Brambilla F, Mauri P, Hoxha M, Bollati V, Giusti I, Dolo V, D'Antona P, Campomenosi P, Mangolini V, Radeghieri A, Bergese P, Morabito I, Mandelli A, Finardi A, Beretta F, 14 Dalmato Schilke E, Cavaletti G, Dolcetti E, Buttari F, Abbadessa G, Bonavita S, Lus G, Signoriello E, Lanzillo R, Brescia Morra V, Mottola M, Zuccarelli B, Uccelli A, Salvetti M, Centonze D, Furlan R, Matarese G, Procaccini C*, de Candia P. MicroRNA-142-3p shuttling via extracellular vesicles: a novel pathway of regulatory T cell dysfunction in autoimmunity. (Submitted to Science Translational Medicine)
- Lepore MT, Bruzzaniti S, La Rocca C, Fusco C, Carbone F, Mottola M, Zuccarelli B, Lanzillo R, Brescia Morra V, Maniscalco GT, De Simone S, Procaccini C, Porcellini A, De Rosa V, Galgani M, Cassano S, Matarese G. Deciphering the role of protein kinase A in the control of FoxP3 expression in regulatory T cells in health and autoimmunity. *Sci Rep.* 2024 Jul 30;14(1):17571
- Carbone F, Colamatteo A, La Rocca C, Lepore MT, Russo C, De Rosa G, Matarese A, Procaccini C, Matarese G. Metabolic Plasticity of Regulatory T Cells in Health and Autoimmunity. *J Immunol.* 2024 Jun 15;212(12):1859-1866
- Fusco C, De Rosa G, Spatocco I, Vitiello E, Procaccini C, Frigè C, Pellegrini V, La Grotta R, Furlan R, Matarese G, Prattichizzo F, de Candia P. Extracellular vesicles as human therapeutics: A scoping review of the literature. *J Extracell Vesicles.* 2024 May;13(5):e12433
- Carbone F, Russo C, Colamatteo A, La Rocca C, Fusco C, Matarese A, Procaccini C, Matarese G. Cellular and molecular signaling towards T cell immunological self-tolerance. *J Biol Chem.* 2024 Apr;300(4):107134

Poster presentation

- Procaccini C, Ricci D, Russo C, Landi D, De Rosa G, Etna MP, Castelli M, Napoli F, Marfa GA, Matarese G, Coccia EM, Severa M..B cell metabolic reprogramme in Multiple Sclerosis: insights on bioenergetic pathways and differentiation status. *ECTRIMS 2023, Milan 11-13 October 2023*
- Procaccini C, De Rosa G, Russo C, Carbone F, Di Silvestre D, Colamatteo A, La Rocca C, Di Marino V, Finardi A, Buttari F, Abbadessa G, Bonavita S, Uccelli A, Salvetti M, Centonze D, 12, Furlan R, Matarese G, De Candia P. Key role of microRNA-142-3p

shuttling via extracellular vesicles in regulatory T cell function during autoimmunity. *ECTRIMS 2024, Copenhagen 18-20 September 2024*

- Russo C, De Rosa G, La Rocca C, Di Marino V, Carbone F, Matarese G, Procaccini C. Nutrient-specific control of immunological self-tolerance in Experimental Autoimmune Encephalomyelitis (EAE). *Annual Scientific Congress of the "Italian Association of Multiple Sclerosis", Rome, 28-30 May, 2024*
- De Rosa G, Russo C, Di Silvestre D, Colamatteo A, Fusco C, La Rocca C, Carbone F, Di Marino V, Garavelli S, Brambilla F, Mauri P, Bollati V, Finardi A, Buttari F, Abbadessa G, Bonavita S, Uccelli A, Salvetti M, Centonze D, Furlan R, Matarese G, Procaccini C*, de Candia P. Human Regulatory T cell-derived Extracellular Vesicles in the control of immune tolerance. *AINI Congress 2024, Cagliari 6-9 May 2024*
- Russo C, De Rosa G, La Rocca C, Di Marino V, Carbone F, Procaccini C, Matarese G. Nutrient-specific control of immunological self-tolerance in Experimental Autoimmune Encephalomyelitis. *AINI Congress 2024, Cagliari 6-9 May 2024*
- Di Marino V, Russo C, Fusco C, Carbone F, Ruggiero K, Procaccini C, Moccia M, Lanzillo R5,6, Brescia Morra V, Bigi R, Bellucci G, Salvetti M, Matarese G. Characterization of Immune Response to COVID-19 Vaccination in Multiple Sclerosis Patients on Cladribine. *Treatment. AINI Congress 2024, Cagliari 6-9 May 2024*

Invited lectureships

- Procaccini C. Invited speaker with a lecture entitled "Metabolic control of immunological self-tolerance". *Brainstorming Research Assembly for Young Neuroscientists (Brayn), Naples, Italy, 27-29 September 2023.*
- Procaccini C. Invited speaker with a lecture entitled "Metabolism and control of Immune Tolerance: unraveling the metabolic-immunological crosstalk governing Regulatory T cell Homeostasis". *Institute seminar, Fondazione San Martino Genova, 18th November 2024.*
- Procaccini C. Invited Speaker with a lecture entitled "Exercise and diet as a therapeutic intervention", *Junior Academy of Multiple Sclerosis, JAMS 2024, Genova, Italy, 3-5th October 2024*
- Procaccini C. *Annual Scientific Congress of the Italian Association of Multiple Sclerosis and its Foundation, Rome, 28-30th May, 2024*
- Invited Speaker for the Course organized by SSAS (Scuola Superiore di Studi Avanzati Sapienza Università di Roma)

Progetto di ricerca finanziato con il Bando FISM 2022 per il periodo di 1 anno (prorogato di 9 mesi) e l'ammontare di 30.000 €

Research project funded by FISM Grant 2022 for the period of 1 year (extended by 9 months) and the amount of € 30,000

Diagnosi e monitoraggio della malattia

Diagnosis and monitoring
of the disease

Gradient Echo Plural Contrast Imaging (GEPCI): un nuovo biomarker RMI di neurodegenerazione in sclerosi multipla. Studio pilota su controlli sani



Francesca Benedetta Pizzini

Dipartimento di Ingegneria per la Medicina di Innovazione (DIMI), Università di Verona, Verona, Italia

COLLABORATORI/COLLABORATORS

Agnese Tamanti, Teresa Maltempo, Roberta Magliozzi, Valentina Camera, Riccardo Quirino, Elisa Colato, Massimiliano Calabrese

COLLABORAZIONI CON ALTRI GRUPPI / COLLABORATIONS WITH OTHER GROUPS

Marco Castellaro, *Dipartimento di Ingegneria dell'Informazione (DEI), Università di Padova, Padova, Italia*

Dmitriy A. Yablonskiy, Alexander Sukstansky, *Università di Washington, St. Luis, USA*

PREMESSE E OBIETTIVI

La perdita neuronale e l'atrofia della sostanza grigia rappresentano fattori cruciali che contribuiscono al declino cognitivo e funzionale nella sclerosi multipla (SM), in particolare nelle sue forme progressive. Sebbene biomarcatori ematici come la proteina acida fibrillare gliale (GFAP) e la catena leggera dei neurofilamenti (NfL), insieme a metriche convenzionali della risonanza magnetica (MRI), forniscano informazioni preziose, persiste una notevole discrepanza tra gli esiti clinici e i risultati radiologici. Ciò evidenzia l'urgente necessità di marker prognostici precoci per guidare le strategie terapeutiche e la prognosi. Un recente progresso in questo campo è stato rappresentato dalla tecnica Gradient Echo Plural Contrast Imaging (GEPCI), nota nella sua versione più recente come quantitative Gradient Recalled Echo (qGRE), una modalità di risonanza magnetica quantitativa che si è dimostrata promettente nella rilevazione della neurodegenerazione. Questa tecnica permette di ottenere informazioni molto precise sulla microstruttura cellulare e subcellulare dei tessuti, attraverso la misura di un parametro chiamato $R2t^*$. Tuttavia, come molte tecniche basate su sequenze GRE, anche qGRE può risentire di fluttuazioni fisiologiche dovute al flusso sanguigno, ai livelli di ossigenazione e ai movimenti indotti dalla respirazione. Per affrontare questa limitazione, è stato introdotto un metodo, detto "navigatore" che compensa queste fluttuazioni fisiologiche, misurandole durante l'acquisizione. Questo consente poi di applicare una correzione e di ottenere immagini migliori, specialmente nelle

aree in cui la presenza di aria a contatto con i tessuti (che tende a disturbare il segnale della risonanza magnetica acquisita con sequenze GRE) provoca un deterioramento delle immagini che possono risultare a volte poco leggibili. Grazie a questa integrazione, la tecnica qGRE è in grado di fornire mappe quantitative delle caratteristiche tissutali con una maggiore affidabilità, rafforzando ulteriormente il suo potenziale per l'analisi della neurodegenerazione. Nel presente progetto abbiamo eseguito uno studio pilota, sperimentale e cross-sectional, condotto su volontari sani, allo scopo di verificare l'efficacia della metrica $R2t^*$. Gli obiettivi principali sono stati di 1) validare la consistenza delle misurazioni $R2t^*$ tramite test-retest su volontari sani e successivamente 2) valutare se la metrica $R2t^*$ correla meglio dei tradizionali biomarcatori volumetrici, con i test neuropsicologici e i biomarcatori ematici.

RISULTATI

In linea con gli obiettivi prefissati dal nostro studio, abbiamo reclutato 30 partecipanti sani e sottoposti ad una valutazione neurologica, test neuropsicologici (inclusi la Batteria breve ripetibile di test neuropsicologici e il test di Stroop), e alla raccolta di campioni di sangue per l'analisi dei biomarcatori sierici GFAP e NfL. Ogni partecipante ha effettuato due sessioni consecutive di RM a distanza di 30 minuti, al fine di valutare la riproducibilità delle misurazioni. Tutte le immagini sono state raccolte utilizzando uno scanner Philips Elition S 3T e un protocollo standardizzato, che includeva sequenze T1-weighted (T1w), FLAIR e

qGRE. I risultati di questo studio hanno mostrato un aumento dei valori di correlazione test-retest nelle analisi condotte con il metodo del “navigatore” rispetto a quelle senza correzione ($R^2=0,85$ contro $R^2=0,80$) e una riduzione dell'errore quadratico (SSE) da 2300 a 1800. Il coefficiente di variazione (CV) ha evidenziato una minore variabilità, passando dall'11% al 9,6%. Questi risultati, uniti all'incremento osservato nei valori di ICC (coefficiente di correlazione intraclasse) e TRC (correlazione test-retest), hanno confermato che le misurazioni corrette con navigatore sono più robuste, soprattutto nelle aree corticali e sopra-tentoriali. L'analisi della relazione tra le misure di $R2t^*$ con i punteggi dei test neuropsicologici e i livelli sierici di GFAP e NfL, non ha rilevato associazioni significative tra questi parametri nei soggetti sani, un risultato in linea con le aspettative.

CONCLUSIONI

I risultati di questo studio indicano che il parametro $R2t^*$ derivato dalla tecnica qGRE, è riproducibile e affidabile per misurare l'integrità del tessuto neuronale nei soggetti

sani, e dunque possiede il potenziale di diventare un biomcatore precoce di neurodegenerazione nella SM. La successiva correzione tramite navigatore ha migliorato l'accuratezza delle misure, riducendo gli errori dovuti alle fluttuazioni fisiologiche, rendendo $R2t^*$ un parametro preciso, affidabile e altamente replicabile.

Nel breve periodo, questo studio ha fornito un database di riferimento per misure di $R2t^*$ in soggetti sani, essenziale per i confronti futuri con pazienti affetti da SM. A medio-lungo termine, integrandolo con analisi longitudinali in pazienti con SM, questa metodologia potrebbe consentire di monitorare precocemente la perdita neuronale e l'integrità del tessuto cerebrale, contribuendo allo sviluppo di strategie terapeutiche più mirate per i pazienti.

Gradient Echo Plural Contrast Imaging (GEPCI) technique: a novel MRI biomarker of neurodegeneration in multiple sclerosis. Pilot study on healthy controls

INTRODUCTION AND AIMS

Neuronal loss and gray matter atrophy are crucial factors contributing to cognitive and functional decline in multiple sclerosis (MS), particularly in its progressive forms. Although blood biomarkers such as glial fibrillary acidic protein (GFAP) and neurofilament light chain (NfL), together with conventional magnetic resonance imaging (MRI) metrics, provide valuable information, a significant discrepancy persists between clinical outcomes and radiological findings. This highlights the urgent need for early prognostic markers to guide therapeutic strategies and prognosis.

A recent advance in this field has been the Gradient Echo Plural Contrast Imaging (GEPCI) technique, known in its recent version as quantitative Gradient Recalled Echo (qGRE), a quantitative MRI modality that has shown promise in detecting neurodegeneration. This technique provides very precise information about the cellular and subcellular microstructure of tissues by measuring a parameter called $R2t^*$.

However, like many techniques based on GRE sequences, qGRE can be affected by physiological fluctuations due to blood flow, oxygenation levels, and respiration-induced

movements. To address this limitation, the “phase-stabilized navigation” method was introduced, which compensates for these physiological fluctuations, enabling images with improved signal-to-noise ratio (SNR) and lower signal loss, especially in areas where the quality of the acquired signal is typically low. With this integration, the qGRE technique is able to provide quantitative maps of tissue characteristics with increased reliability, further strengthening its potential for neurodegeneration analysis. In the present project, we performed a pilot, experimental, cross-sectional study in healthy volunteers to verify the effectiveness of the $R2t^*$ metric. The main objectives were 1) to validate the consistency of $R2t^*$ measurements by test-retest in healthy volunteers and subsequently 2) evaluate whether the $R2t^*$ metric correlates better than traditional volumetric biomarkers, with neuropsychological tests and blood biomarkers.

RESULTS

In line with the objectives of our study, we recruited 30 healthy participants who underwent a neurological evaluation, neuropsychological tests (including the Brief Repeatable Battery of Neuropsychological Tests and the

Stroop test), and blood sample collection for the analysis of serum biomarkers GFAP and NfL. Each participant completed two consecutive MRI sessions spaced 30 minutes apart to assess the reproducibility of the measurements. All images were acquired using a Philips Elition S 3T scanner and a standardized protocol, which included T1-weighted (T1w), FLAIR, and qGRE sequences. The results of this study demonstrated an increase in test-retest correlation values in analyses performed with the navigator compared to those without correction ($R^2=0.85$ vs. $R^2=0.80$) and a reduction in the sum of squared error (SSE) from 2300 to 1800. The coefficient of variation (CV) indicated lower variability, decreasing from 11% to 9.6%. These findings, combined with the observed improvement in ICC (intraclass correlation coefficient) and TRC (test-retest correlation) values, confirmed that navigator-corrected measurements are more robust, particularly in cortical and supratentorial areas. The analysis of the relationship between $R2t^*$ measurements, neuropsychological test scores, and serum levels of GFAP and NfL did not reveal

significant associations between these parameters in healthy subjects, a result consistent with expectations.

CONCLUSIONS

The results of this study indicate that the parameter $R2t^*$ derived from the qGRE technique is reproducible and reliable for measuring neuronal tissue integrity in healthy subjects and thus has the potential to become an early biomarker of neurodegeneration in MS. Subsequent correction using the navigator improved the accuracy of measurements by reducing errors due to physiological fluctuations, making $R2t^*$ a more accurate, reliable and highly replicable parameter. In the short term, this study has provided a baseline reference for $R2t^*$ measurements in healthy subjects, essential for future comparisons with MS patients. In the medium to long term, by supplementing it with longitudinal analyses in patients with MS, this method could allow early monitoring of neuronal loss and brain tissue integrity, contributing to the development of more targeted therapeutic strategies for patients.



PUBBLICAZIONI E COMUNICAZIONI A CONGRESSI PUBLICATIONS AND CONGRESS PRESENTATIONS

Pubblicazioni/Publications

- Castellaro M, Tamanti A, Maltempo T, Magliozzi R, Camera V, Quirino R, Colato E, Sukstansky A, Yablonskiy D, Calabrese M, Pizzini F.B(2024).

*Scientific Congress of AISM and its Foundation
"Brain health: rethinking the diagnosis of multiple sclerosis and related disorders". Rome, Italy, 28 - 30 May 2024*

Progetto di ricerca finanziato con il Bando FISM 2022 per il periodo di 1 anno (prorogato di 3 mesi) e l'ammontare di 60.000 €

Research project funded by FISM Grant 2022 for the period of 1 year (extended by 3 months) and the amount of € 60,000

L'associazione tra la neuroinfiammazione cronica e la degenerazione della sostanza bianca nella sclerosi multipla: uno studio combinato 11C-PBR28 PET-MRI



Costanza Gianni

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

COLLABORATORI/COLLABORATORS

Silvia Tommasin, Patrizia Pantano

COLLABORAZIONI CON ALTRI GRUPPI / COLLABORATIONS WITH OTHER GROUPS

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

PREMESSE E OBIETTIVI

Nella sclerosi multipla (SM), processi di infiammazione e degenerazione coesistono nel sistema nervoso centrale (SNC) e contribuiscono all'accumulo di disabilità, ma la loro esatta relazione non è ancora stata chiarita. L'infiammazione cronica e compartimentalizzata nel SNC, rappresentata da specifiche cellule (microglia) attivate in maniera anomala e che esprimono una specifica proteina, il TSPO, si può evidenziare con la tomografia ad emissione di positroni (PET) usando un tracciante che lega il TSPO; oltre a tale fonte di infiammazione, responsabile almeno in parte della disabilità delle persone con SM, la degenerazione della sostanza bianca cerebrale, che si può misurare con tecniche avanzate di risonanza magnetica (RM) quali l'imaging del tensore di diffusione (DTI), è un importante elemento che contribuisce al peggioramento clinico. Per valutare la relazione tra l'infiammazione cronica e la degenerazione sono state studiate le immagini acquisite con un apparecchio che effettua simultaneamente una PET e una RM, con lo scopo di verificare la presenza di infiammazione e degenerazione della sostanza bianca cerebrale nei pazienti con SM, e di capire come l'infiammazione e la neurodegenerazione siano tra loro correlate; si è cercato inoltre di identificare quale dei due elementi avesse il peso maggiore nel determinare la disabilità fisica, misurata con l'EDSS (Expanded Disability Status Scale) e cognitiva, misurata con l'SDMT (Symbol Digit Modalities Test).

RISULTATI

Sono stati studiati 23 pazienti con SM (12 con SM progressiva e 11 con SM recidivante-remittente) e 13 persone senza la SM, di controllo. La PET e la RM hanno rilevato

la presenza rispettivamente di una infiammazione diffusa nella sostanza bianca cerebrale delle persone con SM rispetto alle persone senza la SM, cioè un incremento diffuso dell'espressione della proteina TSPO da parte delle cellule della microglia, anche e soprattutto nella sostanza bianca apparentemente sana oltre che nelle lesioni macroscopicamente evidenti, e di una degenerazione diffusa della sostanza bianca, espressa dalla riduzione dell'Anisotropia Frazionaria (FA) dei fasci di sostanza bianca; l'infiammazione è risultata più elevata nelle regioni vicino alla corteccia cerebrale rispetto alle regioni vicino ai ventricoli cerebrali, mentre la degenerazione era massima nelle regioni adiacenti ai ventricoli cerebrali. In molte regioni cerebrali i due processi fisiopatologici sono risultati correlati, cioè ad una maggiore infiammazione corrispondeva una degenerazione più marcata. Infine, la disabilità fisica è risultata correlata alla presenza di neuroinfiammazione (correlazione tra espressione di TSPO e EDSS), mentre le misure di deterioramento cognitivo sono risultate correlate alla presenza di degenerazione diffusa della sostanza bianca (correlazione tra FA e SDMT).

CONCLUSIONI

L'infiammazione cronica e la degenerazione coesistono nella SM ma non necessariamente sono presenti contemporaneamente nelle stesse regioni cerebrali, ed entrambi i processi patologici sembrano decrescere con l'allontanarsi dal liquor cefalo-rachidiano, corroborando l'ipotesi già supportata da alcuni dati di letteratura, che nella patogenesi della SM possano essere coinvolte sostanze presenti nel liquor. Inoltre, entrambi i processi contribuiscono all'incremento della disabilità, sia fisica che cognitiva.

Dal momento che i risultati di questo studio suggeriscono che la neuroinfiammazione rappresentata dalla microglia cronicamente attivata sia dannosa per i pazienti con SM, capire meglio la relazione tra questo tipo di infiammazione

e la neurodegenerazione, e l'effetto di entrambi i processi sulla disabilità, apre la strada per una migliore caratterizzazione dei meccanismi patogenetici della malattia e per l'identificazione di nuovi bersagli terapeutici.

The association between white matter chronic neuroinflammation and degeneration in multiple sclerosis: a combined 11C-PBR28 PET-MRI study

INTRODUCTION AND AIMS

In multiple sclerosis (MS), inflammation and degeneration coexist in the central nervous system (CNS), and contribute to the accumulation of disability, but their exact relationship has not yet been clarified. Chronic and compartmentalized inflammation in the CNS, represented by specific cells (microglia) abnormally activated, and which express a specific protein, the TSPO, can be highlighted with positron emission tomography (PET), using a tracer binding TSPO; in addition to this source of inflammation, which is responsible at least in part for the disability of people with MS, the degeneration of the cerebral white matter is also an important contributor to clinical worsening, and it can be measured by advanced magnetic resonance (MR) techniques such as diffusion tensor imaging (DTI). To evaluate the relationship between chronic inflammation and degeneration, the images acquired with a device that simultaneously performs PET and MRI were studied, with the aim of verifying the presence of inflammation and degeneration of the cerebral white matter in people with MS and to understand how inflammation and neurodegeneration are related to each other; we also explored the impact of both pathological processes on both physical disability, measured with the EDSS (Expanded Disability Status Scale) and cognitive disability, measured with the SDMT (Symbol Digit Modalities Test).

RESULTS

Twenty-three people with MS (12 with progressive MS and 11 with relapsing-remitting MS) and 13 healthy controls were studied. PET and MRI have revealed the presence of widespread inflammation in the cerebral white matter of people with MS compared to healthy controls, i.e. a widespread increased TSPO expression in the normal-appearing white matter and in the lesioned white matter, and a diffuse degeneration of the white matter, expressed by the reduction of the Fractional Anisotropy (FA) of the white matter bundles, respectively; inflammation was higher in regions near the cerebral cortex than in regions near the cerebral ventricles, while degeneration was the greatest in regions adjacent to the cerebral ventricles.

In many brain regions, the two pathophysiological processes were correlated, i.e. the greater the inflammation the greater the degeneration. Finally, physical disability was correlated with the presence of neuroinflammation (correlation between TSPO expression and EDSS), while measures of cognitive impairment were correlated with the presence of diffuse degeneration of the white matter (correlation between FA and SDMT).

CONCLUSIONS

Chronic inflammation and degeneration coexist in MS, but they are not necessarily present in the same brain regions at the same time. Both pathological processes seem to decrease moving away from the cerebrospinal fluid (CSF), corroborating the hypothesis that substances present in the CSF may be involved in the pathogenesis of MS, as already demonstrated by previous literature data. Furthermore, both processes contribute to increase physical and cognitive disability. Since results from this study suggest that neuroinflammation represented by chronically activated microglia is harmful to MS patients, a better understanding of the relationship between this type of inflammation and neurodegeneration and the effect of both processes on disability, opens the path for a better characterization of the pathogenetic mechanisms of the disease and for the identification of new therapeutic targets.



PUBBLICAZIONI E COMUNICAZIONI A CONGRESSI PUBLICATIONS AND CONGRESS PRESENTATIONS

- Tommasin S, Gianni C, Treaba CA, Herranz E, Loggia ML, Pantano P and Mainero C. *The association between white matter chronic inflammation and degeneration in multiple sclerosis: a combined 11 C-PBR28 PET-MRI study. In revision, Multiple Sclerosis and Related Disorders*
- 31° Congresso Nazionale Associazione Italiana Neuroradiologia Diagnostica ed Interventistica, AINR, Roma 8-11 Giugno 2022
- MSMilan 2023, The 9th Joint ECTRIMS-AC-TRIMS Meeting, Milano 11-13 October 2023
- 32° Congresso Nazionale Associazione Italiana Neuroradiologia Diagnostica ed Interventistica, AINR, Bergamo 18-21 Ottobre

Progetto di ricerca finanziato con il Bando FISM 2022 per il periodo di 1 anno, (prorogato di 6 mesi), e l'ammontare di 33.600 €

Research project funded by FISM Grant 2022 for the period of 1 year (extended by 6 months), and the amount of € 33,600

Neuroriabilitazione e qualità della vita

Neurorehabilitation
and quality of life

Pianificazione Condivisa delle Cure nella Sclerosi Multipla: studio pilota (ConCure-SM Fase 2)



Alessandra Solari

Unità di Neuroepidemiologia, Fondazione IRCCS Istituto Neurologico Carlo Besta, Milano, Italia

COLLABORATORI/COLLABORATORS

Mariangela Farinotti, Andrea Giordano, Giulia Di Domenico

COLLABORAZIONI CON ALTRI GRUPPI / COLLABORATIONS WITH OTHER GROUPS

Ludovica De Panfilis, Roberta Martina Zagarella, Luca Ghirotto, Sara Montepietra, Marta Perin, Azienda USL-IRCCS di Reggio Emilia, Reggio Emilia, Italia

Alberto Gajofatto, Roberto Orlandi, Michela Rimondini, Lidia Del Piccolo, Unità di Neurologia, Università di Verona, Borgo Roma Hospital, Azienda Ospedaliera Universitaria Integrata Verona, Verona, Italia

Maria Grazia Grasso, Giorgia Presicce, Unità Sclerosi Multipla, IRCCS S. Fondazione Santa Lucia, Roma, Italia

Alessandra Lugaresi, Katia Mattarozzi, Federica Pinardi, IRCCS Istituto delle Scienze Neurologiche di Bologna, Dipartimento di Scienze Mediche e Chirurgiche, Alma Mater Studiorum, Università di Bologna, Bologna, Italia

Francesco Patti, Simona Toscano, Ospedale Universitario, Policlinico Vittorio Emanuele, Catania, Italia

Claudio Solaro, Ospedale di Riabilitazione, Moncrivello, Vercelli, Italia

Eugenio Pucci, Azienda Sanitaria Territoriale Fermo, UOC Neurologia, Fermo, Italia

Simone Veronese, Fondazione FARO, Torino, Italia

PREMESSE E OBIETTIVI

Il progetto ConCure-SM [ISRCTN48527663] ha l'obiettivo di costruire e testare l'efficacia di un intervento strutturato di pianificazione condivisa delle cure (PCC) per le persone con SM progressiva (PcSMP), costituito da un programma formativo per il personale sanitario dedicato alla SM e un opuscolo da utilizzare durante i colloqui di PCC. In una fase precedente del progetto, abbiamo co-prodotto l'opuscolo ConCure-SM e tradotto-adattato in italiano due misure di outcome autosomministrate. Nella fase pilota oggetto del report abbiamo valutato fattibilità, accettabilità ed efficacia preliminare dell'intervento, nell'ipotesi che possa promuovere la redazione del documento di PCC (PCC-Doc), favorire la congruenza nelle preferenze di cura tra le PcSMP e i loro curanti, e la qualità della comunicazione.

Disegno e ambito dello studio

Abbiamo condotto un trial pilota/di fattibilità a metodologia mista, multicentrico, a braccio singolo. L'intervento aveva lo scopo di formare i clinici a condividere con le PcSMP gli obiettivi delle cure. Esso si componeva di un programma formativo per il personale sanitario dedicato alla SM e un opuscolo da utilizzare durante i colloqui di PCC. I

formatori erano ricercatori, clinici e bioeticisti con esperienza nella conduzione di corsi di formazione e workshop sulla comunicazione medico-paziente e sulla PCC.

Il programma formativo includeva: 1) un corso residenziale accreditato della durata di un giorno e mezzo (12 ore); 2) quattro sessioni di richiamo (teleconferenze) successive alla formazione residenziale, ciascuna della durata di 90-120 minuti; 3) colloqui individuali con i formatori via videoconferenza o chiamata telefonica, per contenuti emersi durante la conduzione dei colloqui di PCC.

Erano previste una valutazione basale, seguita dal primo colloquio di PCC, pianificato entro un mese dal baseline, e due valutazioni di follow-up, la prima entro una settimana dal primo colloquio di PCC, e la seconda a distanza di sei mesi.

Ciascun centro ha raccolto informazioni relative alle PcSMP e i loro cari (SO) approcciati, scrinati, eleggibili e randomizzati, specificando per gli esclusi le ragioni di esclusione.

Al fine di documentare l'intero processo di PCC, oltre alla redazione del PCC-Doc (outcome primario dello studio), abbiamo raccolto una serie di misure di esito, inclusa la qualità della comunicazione medico-paziente (scale QOC), e burden del caregiver (scala ZBI). Poiché non era possibile escludere una risposta emotiva all'esposizione all'intervento, gli eventi avversi seri (EAS) sono stati raccolti e

monitorati da un Data and Safety Monitoring Committee. Le registrazioni audio dei colloqui di PCC sono state valutate da osservatori indipendenti impiegando due strumenti di valutazione: la scala Observing Patient Involvement in Shared Decision Making (OPTION), e la scala Verona Coding Definitions of Emotional Sequences (VR-CoDES).

RISULTATI

Nel periodo marzo 2022 - marzo 2023, 164 PcSMP sono state scrinate, 89 delle quali sono state escluse. Delle 75 PcSMP eleggibili, 19 (25%) hanno fornito il consenso a partecipare allo studio e sono state analizzate. Di queste, 11/19 (58%) hanno redatto il PCC-Doc rispetto al 30% ipotizzato.

I colloqui di PCC hanno avuto durata media di 62.7 minuti (SD 18.3). L'età media delle PcSMP era di 61.8 anni (SD 7.8), il 39% erano donne, e l'EDSS mediana era 8.0. Il punteggio medio alle sotto-scale QOC (punteggio tra 0-100) nella versione destinata al paziente era 92.4 (SD 9.6) per la sotto-scala 'comunicazione generale' e 90.1 (SD 10.2) per 'comunicazione sull'assistenza nel fine vita'. Il punteggio medio alle sotto-scale QOC nella versione destinata al SO era 95.2 (SD 6.4) per la sotto-scala 'comunicazione generale' e 94.3 (SD 7.0) per 'comunicazione sull'assistenza nel fine vita'. Infine, il punteggio medio nella versione QOC destinata al medico era 69.5 (SD 16.0).

Durante lo studio vi sono stati un EAS (non relato all'intervento) e 25 eventi avversi in 13 PcSMP; 3/25 (incremento dell'ansia) considerati relati all'intervento. Il punteggio alla sotto-scala HADS-Ansia è aumentato significativamente nel tempo ($p=0.02$), mentre ciò non si è verificato per l'HADS-Depressione ($p=0.46$).

Non vi sono state variazioni significative del punteggio 4-item ACP Engagement survey [3] ($p=0.47$) e MSQOL-29 physical composite ($p=0.32$), mentre vi è stato un peggioramento significativo del punteggio MSQOL-29 mental

composite ($p=0.04$). Non vi sono state variazioni significative del punteggio ZBI ($p=0.44$).

Il punteggio medio dell'OPTION era 48.4 (SD 7.5), corrispondente a una capacità moderata del medico nel coinvolgere il paziente, più elevato rispetto ai due studi pubblicati in ambito di SM, con valori medi di 30 per entrambi. Alla scala VR-CoDES, le PcSMP esprimevano ben 179 spunti/espressioni implicite e 63 preoccupazioni/espressioni esplicite (mediana, 8.5 spunti e 3.0 preoccupazioni per conversazione), a indicare quanto la PCC sia in grado di evocare emozioni. I neurologi hanno accolto e dato spazio alla maggior parte di queste emozioni espresse dalle PcSMP [5].

Abbiamo intervistato 5 PcSMP e 4 SO che hanno partecipato al trial. Tutti hanno riconosciuto il valore esistenziale del percorso di PCC. I colloqui di PCC hanno prodotto un rafforzamento della partnership con i curanti, i partecipanti si sono sentiti supportati durante gli stessi, ed hanno apprezzato la chiarezza e competenza dei clinici. Tuttavia, il percorso di PCC ha avuto un cospicuo portato emotivo. Abbiamo condotto due gruppi di discussione con 14 clinici dei 6 centri, i quali hanno descritto la partecipazione al trial come un'esperienza positiva e arricchente, che ha cambiato la loro visione della PCC, accrescendo le proprie capacità relazionali e la propensione a discutere con i pazienti gli obiettivi delle cure, riconoscendo tuttavia una difficoltà a promuovere la pratica della PCC nel loro contesto lavorativo.

CONCLUSIONI

L'intervento ConCure-SM ha supportato i neurologi nel condurre le PcSMP nel percorso di PCC. Tuttavia, I risultati dello studio e l'elevata quota di rifiuti ha evidenziato la necessità di arricchire l'intervento di una componente diretta ad aumentare la preparazione delle PcSMP e dei loro SO a questi temi.

Advance Care Planning in Multiple Sclerosis: Pilot study (ConCure-SM Phase 2 Study)

INTRODUCTION AND AIMS

ConCure-SM [ISRCTN48527663] is a project aimed to set up and evaluate the efficacy of a structured advance care plan (ACP) intervention for people with progressive MS (PwPMS) consisting of a training programme for MS clinicians and a booklet to be used during the ACP conversations. In a previous project phase, we co-developed the ConCure-SM booklet [2] and translated-adapted into Italian two self-reported outcome measures [3]. In this pilot phase we assessed the feasibility, acceptability, and preliminary effectiveness of the intervention hypothesiz-

ing that it would support completion of an ACP document (ACP-Doc), increase congruence in treatment preferences between PwPMS and their careers, and the quality of communication.

Study design and setting

We conducted a multicenter single-arm explanatory sequential mixed methods pilot and feasibility trial. The goal of the intervention was to prime clinicians to discuss goals of care and ACP with PwPMS. It consisted of a clinician training programme and use of the ConCure-SM book-

let. Trainers were researchers, clinicians and bioethicists experienced in leading courses and workshops on patient-clinician communication and ACP.

The training programme consisted of: 1) A residential, Continuing Medical Education accredited course of one-and-half days (12 hours) duration. 2) Four booster sessions (teleconference) followed the residential training, each lasting 90-120 minutes. 3) One-to-one videoconference or telephone calls with trainers for issues emerging during ACP conversations.

There was a baseline assessment, a first ACP conversation taking place within one month from baseline, and a follow-up assessment within one week of the first ACP conversation and 6 months thereafter. Each center collected information on the number of PwPMS and significant others (SOs) approached, screened, and eligible prior to enrollment, with reasons for non-enrolment.

A range of measures were collected to capture the full process of ACP and whether the ConCure-SM intervention had any effect on completion of an ACP-Doc (primary outcome measure), quality of patient-clinician communication (QOC scales), and caregiver burden (ZBI scale). In addition, as a study-related increase in emotional burden could not be excluded, serious adverse events (SAE) were monitored by the Data and Safety Monitoring Committee. The audio-recordings of the ACP conversations were rated by independent observers using the Observing Patient Involvement in Shared Decision Making (OPTION) and the Verona Coding Definitions of Emotional Sequences (VR-CoDES).

RESULTS

Between March 2022 and March 2023, 164 PwPMS were screened, and 89 were excluded. Of 75 eligible patients, 19 (25%) accepted to participate and were analyzed. Overall, 11/19 (58%) PwPMS completed the ACP-Doc vs 30% hypothesized. The mean duration of the ACP conversations was 62.7 minutes (SD 18.3). PwPMS had a mean age of 61.8 (SD 7.8), 39% were women, median EDSS score was 8.0. Mean QOC subscale scores (0-100) were 92.4 (SD 9.6) for 'general communication' and 90.1 (SD 10.2) for 'communication about EOL care'. Mean QOC-SO scores were 95.2 (SD 6.4) for 'general communication' and

94.3 (SD 7.0) for 'communication about EOL care'. Finally, mean QOC-Doc score was 69.5 (SD 16.0).

There was one SAE (unrelated to the intervention) and 25 adverse events in 13 PwPMS; 3/25 (increase in anxiety) were deemed to be possibly related to the intervention. HADS-Anxiety score increased significantly over time ($p=0.02$), while this was not the case for HADS-Depression score ($p=0.46$).

There were no differences for 4-item ACP Engagement survey [3] scores over time ($p=0.47$) and for MSQOL-29 physical composite scores ($p=0.32$), whereas there was a significant worsening for MSQOL-29 mental composite scores over time ($p=0.04$). There were no differences for ZBI scores over time ($p=0.44$).

The mean OPTION total score was 48.4 (SD 7.5), corresponding to a moderate level of patient involvement, higher compared to two studies on MS consultations (mean OPTION score 30 in both studies). PwPMS expressed 179 VR-CoDES cues/implicit expressions and 63 concerns (median 8.5 cues and 3.0 concern per conversation), indicating that ACP can evoke many emotions. In most instances, neurologists provided space for the PwPMS to elaborate on these emotions.

We interviewed 5 PwPMS and 4 SOs: All recognized the existential significance of the ACP process. The ACP conversation strengthened the partnership with the caring clinicians, participants felt supported during discussions, appreciating clinicians' clarity and competence. However, engaging in ACP came with emotional costs.

We held two focus groups with 14 clinicians from the 6 participating centers: Participation in the trial was described as a positive, enriching experience, which changed their perspective towards ACP, increased their relational capabilities, and openness in dealing with goals of care discussions. However, clinicians had difficulty in actively promoting ACP in their work context.

CONCLUSIONS

The ConCure-SM intervention supported neurologists in guiding PwPMS in the ACP process. However, trial findings and the high proportion of refusals point to the need to enrich the intervention with a new component targeting PwPMS and SOs' preparedness.



PUBBLICAZIONI E COMUNICAZIONI A CONGRESSI PUBLICATIONS AND CONGRESS PRESENTATIONS

- De Panfilis L, Veronese S, Bruzzone M, Cascioli M, Gajofatto A, Grasso MG, Kruger P, Lugaresi A, Manson L, Montepietra S, Patti F, Pucci E, Solaro C, Giordano A, Solari A. Study protocol

on advance care planning in multiple sclerosis (ConCure-SM): intervention construction and multicentre feasibility trial. *BMJ Open*. 2021 Aug 13;11(8):e052012



- Giordano A, De Panfilis L, Veronese S, Bruzzone M, Cascioli M, Farinotti M, Giovannetti AM, Grasso MG, Kruger P, Lugaesi A, Manson L, Perin M, Pucci E, Solaro C, Ghirotto L, Solari A. User appraisal of a booklet for advance care planning in multiple sclerosis: a multicenter, qualitative Italian study. *Neurol Sci.* 2024 Mar;45(3):1145-1154
- De Panfilis L, Veronese S, Perin M, Cascioli M, Farinotti M, Kruger P, Zagarella RM, Curtis JR, Sudore RL, Nielsen EL, Engelberg RA, Giordano A, Solari A; ConCure-SM project. Italian cross-cultural adaptation of the Quality of Communication questionnaire and the 4-item advance care planning engagement questionnaire. *PLoS One.* 2023 Mar 23;18(3):e0282960
- Solari A, De Panfilis L, Zagarella RM, Ghirotto L, Farinotti M, Gajofatto A, Grasso MG, Kruger P, Lugaesi A, Mattarozzi K, Montepietra S, Patti F, Pucci E, Rimondini M, Solaro C, Perin M, Giordano A, Veronese S. Advance care planning in multiple sclerosis (ConCure-SM): A multicenter single-arm pilot and feasibility study. *Eur J Neurol* 2024 (revised version submitted)
- Solari A, Giordano A, Zagarella RM, Di Domenico G, Perin M, Presicce G, Orlandi R, Toscano S, Pinardi F, Farinotti M, Gajofatto A, Grasso MG, Lugaesi A, Montepietra S, Patti F, Solaro C, Veronese S, Del Piccolo L, De Panfilis L, on behalf of the ConCure-SM project. Neurologists' competences during advance care planning conversations with people with progressive multiple sclerosis: a multi-observer study. *Plos One* 2024 (manuscript in preparation)

Congress Presentations

- Giordano A, De Panfilis L, Veronese S, Perin M, Cascioli M, Farinotti M, Kruger P, Zagarella RM, Curtis JR, Sudore RL, Nielsen EL, Engelberg RE, Solari A, on behalf of the ConCure-SM project. Italian cross-cultural adaptation of the Quality of Communication questionnaire and the 4-item Advance Care Planning Engagement questionnaire. *Multiple Sclerosis Journal* 2023; 29: (1S): 25.
- Giordano A, De Panfilis L, Bruzzone M, Cascioli M, Gajofatto A, Grasso MG, Kruger P, Lugaesi A, Manson L, Mattarozzi K, Montepietra S, Patti F, Pucci E, Rimondini M, Solaro C, Veronese S, Solari A, on behalf of the ConCure-SM project. Advance Care Planning in Multiple Sclerosis (ConCure-SM): an ongoing multicenter feasibility trial. *Multiple Sclerosis Journal* 2023; 29: (1S): 38.
- Giordano A, De Panfilis L, Presicce G, Orlandi R, Toscano S, Pinardi F, Di Domenico G, Farinotti M, Gajofatto A, Ghirotto L, Grasso MG, Lugaesi A, Mattarozzi K, Montepietra S, Patti F, Perin M, Rimondini M, Zagarella RM, Solaro C, Veronese S, Solari A, on behalf of the ConCure-SM project. Advance Care Planning in Multiple Sclerosis (ConCure-SM): results of a multicenter feasibility trial. *Multiple Sclerosis Journal* 2024; 30: (2S): 37.
- Giordano A, De Panfilis L, Presicce G, Orlandi R, Toscano S, Pinardi F, Farinotti M, Gajofatto A, Grasso MG, Lugaesi A, Montepietra S, Patti F, Solaro C, Veronese S, Solari A, on behalf of the ConCure-SM project. Analysis of the Advance Care Planning conversation using the OPTION scale. *Multiple Sclerosis Journal* 2024; 30: (2S): 62.
- Giordano A, De Panfilis L, Gajofatto A, Grasso MG, Lugaesi A, Mattarozzi K, Montepietra S, Patti F, Rimondini, Solaro C, Veronese S, Solari A, on behalf of the ConCure-SM project. Advance Care Planning in Multiple Sclerosis (ConCure-SM): results of a multicenter feasibility trial. Poster accepted at EAPC 2024

Presentazioni nazionali ad invito/Invited national presentations

- De Panfilis L, Veronese S, Bruzzone M, Cascioli M, Gajofatto A, Grasso MG, Kruger P, Lugaesi A, Montepietra S, Patti F, Pucci E, Solaro C, Giordano A, Solari A, on behalf of the ConCure-SM project. Advance Care Planning in Multiple Sclerosis: Pilot study (ConCure-SM Phase 2 Study). Congresso Annuale FISM, Roma, 2022
- Solari A. La Pianificazione Condivisa delle Cure nella Sclerosi Multipla: Risultati di uno studio pilota multicentrico. XXX Congresso Nazionale SICP, 15-18 Novembre 2023. Giordano A. Prospettive di ricerca sulla PCC: dalla Revisione Sistematica della letteratura al Pilot Trial. Convegno 'Cittadini informati e professionisti competenti per un uso consapevole delle disposizioni anticipate di trattamento e della pianificazione condivisa delle cure'. Reggio Emilia, 28 novembre 2023
- De Panfilis L, Veronese S, Bruzzone M, Cascioli M, Gajofatto A, Grasso MG, Kruger P, Lugaesi A, Montepietra S, Patti F, Pucci E, Solaro C, Giordano A, Solari A, on behalf of the ConCure-SM project. Advance Care Planning in Multiple Sclerosis: Pilot study (ConCure-SM Phase 2 Study). Congresso Annuale FISM, Roma, 2023
- Solari A. La Pianificazione Condivisa delle Cure nella Sclerosi Multipla: Risultati di uno studio pilota multicentrico. Corso di formazione 'La valutazione di interventi complessi nell'ambito della salute, tra efficacia e normalizzazione', Azienda USL-IRCCS di Reggio Emilia, Reggio Emilia, 15 gennaio 2024.
- De Panfilis L, Veronese S, Bruzzone M, Cascioli M, Gajofatto A, Grasso MG, Kruger P, Lugaesi A, Montepietra S, Patti F, Pucci E, Solaro C, Giordano A, Solari A, on behalf of the ConCure-SM project. Advance Care Planning in Multiple Sclerosis: Pilot study (ConCure-SM Phase 2 Study). Congresso Scientifico Annuale FISM, Roma, 2024
- Zagarella RM. Analisi della comunicazione medico-paziente nel corso di colloqui di pianificazione condivisa delle cure. XXIX Convegno Società di Filosofia del Linguaggio, 'Filosofia del linguaggio e dei paradigmi psicologici', Roma, 28 settembre 2024.



Invited Webinars

- Giordano A. *Advance care planning in MS. EAPC Reference Group on Neurology, Webinars 2023*, 28 June 2023. <https://www.youtube.com/watch?v=95-ulVERLMg>
- Solari A. *MS long-term care and Palliative Care. EMSP Annual Conference. Helsinki, 5-6 May, 2023.*
- Solari A. *The Unspeakable Bits Webinar - MS at the End of Life. MS Ireland 30 October 2024.* <https://www.ms-society.ie/news/unspeakable-bits-webinar-ms-end-life>.

Progetto di ricerca finanziato con il Bando FISM 2020 per il periodo di 2 anni (prorogato di 6 mesi) e l'ammontare di 89.170 €

Research project funded by FISM Grant 2020 for the period of 2 years (extended by 6 months) and the amount of € 89,170

Il ruolo delle aspettative di malattia nel decorso della sclerosi multipla



Francesco Pagnini

Dipartimento di Psicologia, Università Cattolica del Sacro Cuore, Milano, Italia

COLLABORATORI/COLLABORATORS
Cesare Cavalera

COLLABORAZIONI CON ALTRI GRUPPI / COLLABORATIONS WITH OTHER GROUPS
Marco Rovaris, Laura Mendozzi, Milano Elena, IRCCS Fondazione Don Carlo Gnocchi ONLUS, Milano, Italia
Pietro Cipresso, Università di Torino, Torino, Italia

PREMESSE E OBIETTIVI

Qual è il ruolo della mente in una malattia cronica complessa, come la Sclerosi Multipla (SM)?

Il progetto esplora il ruolo delle aspettative individuali sulla progressione e l'impatto della Sclerosi Multipla (SM). L'obiettivo è testare l'ipotesi che le aspettative possano influenzare la malattia. Il progetto si articola in due fasi:

Sviluppo e validazione dello strumento Multiple Sclerosis Quality of Life Expectation-23 (MSQOL-Exp-23): Abbiamo creato un test per misurare le aspettative di qualità di vita nelle persone con SM, validato su un campione per verificarne affidabilità e validità psicometrica. L'analisi ha individuato due fattori principali: Aspettative di Salute Fisica e Mentale.

Studio longitudinale di coorte: 162 persone con SM sono state valutate per le loro aspettative e gli esiti medici (es. sintomi della malattia), includendo fattori confondenti come lo stress percepito. Le misurazioni sono state effettuate quattro volte, ogni tre mesi.

RISULTATI

Come si vedrà di seguito sono stati raggiunti molti risultati chiave legati alla costruzione di uno strumento affidabile che è in grado di misurare le aspettative esplicite dei pazienti con SM rispetto al livello di benessere fisico e emotivo. Sono state invece riscontrate difficoltà nell'esplorazione delle misure implicite.

Creazione dello strumento

La fase iniziale dello studio mirava a sviluppare uno strumento affidabile per misurare le aspettative implicite ed esplicite relative alla malattia nella Sclerosi Multipla (SM). Per quanto riguarda le misurazioni implicite delle aspetta-

tive di malattia, il team si è concentrato sulla costruzione e la somministrazione di una versione adattata dell'Implicit Attitude Test. Sfortunatamente, questo test ha incontrato una forte resistenza da parte dei pazienti per via di problemi di fattibilità e chiarezza, portando alla decisione di non proseguire con questo approccio.

Per le aspettative esplicite, psicologi e medici hanno collaborato per identificare i componenti predittivi, sviluppando un questionario iniziale derivato dal Multiple Sclerosis Quality of Life Questionnaire-54. Questo è stato presentato a un gruppo di pazienti, che hanno fornito feedback su contenuto e chiarezza. Il questionario è stato perfezionato sulla base dei loro commenti. Inizialmente composto da 24 item, è stato testato per usabilità con piccoli gruppi di pazienti. Dopo la finalizzazione, è iniziata la fase di validazione con pazienti ambulatoriali.

Analisi fattoriale esplorativa e validità

L'analisi fattoriale ha identificato due fattori principali: "Aspettative salute fisica" e "Aspettative salute emotiva", che spiegano il 57.1% della varianza a T1. I fattori sono moderatamente correlati (0.6), indicando una parziale sovrapposizione. L'item 21 è stato eliminato per basso livello di saturazione (<.30), portando alla versione finale del questionario con 23 item (MSQOL-Exp-23): 10 sotto "salute fisica" e 13 sotto "salute mentale".

Gli indici di affidabilità (Cronbach's α e McDonald's ω) sono elevati per entrambi i fattori, indicando una buona coerenza interna tra gli item:

- Fattore 1 (Salute fisica): $\alpha = 0.967$, $\omega = 0.968$
- Fattore 2 (Salute emotiva): $\alpha = 0.907$, $\omega = 0.912$

La validità di divergenza del MSQOL-Exp-23 è elevata. I fattori "Aspettative salute fisica" e "Aspettative salute

emotiva" mostrano una correlazione negativa con la Multiple Sclerosis Impact Scale ($r = -0.88$ e $r = -0.67$, $p < .001$) e la Perceived Stress Scale ($r = -0.29$ e $r = -0.62$, $p < .001$). Inoltre, correlano positivamente con il Multiple Sclerosis Quality of Life Questionnaire-54, con i punteggi "Salute fisica Composite" ($r = 0.74$ e $r = 0.87$, $p < .001$) e "Salute mentale Composite" ($r = 0.42$ e $r = 0.76$, $p < .001$). Questi risultati suggeriscono che aspettative migliori sono legate a un minore stress percepito, un minore impatto della malattia e una maggiore qualità della vita.

Analisi predittive sui 4 tempi: mixed linear models

Abbiamo analizzato l'evoluzione nel tempo delle diverse dimensioni nei pazienti utilizzando modelli lineari misti, considerando variazioni individuali e gli effetti di fattori come il tempo e le aspettative fisiche e mentali del MSQOL-Exp-23. L'obiettivo era esaminare come le aspettative future di salute fisica e mentale influenzano l'evoluzione delle altre misure nei 4 tempi durante la fase longitudinale.

Modello 1

In questo modello "Salute Fisica Composite Score" (MSQOL-54) è la variabile predetta (y) mentre le variabili indipendenti sono le scale di "Aspettative salute fisica" e di "Aspettative salute emotiva" del MSQOL-Exp-23.

L'analisi ha evidenziato che il tempo, le aspettative sullo stato fisico e mentale hanno un'influenza significativa.

- o Tempo: Le differenze tra i tempi sono significative ($F = 12.3$, $p < 0.001$), con un miglioramento al quarto tempo, in particolare per la salute fisica ($p < 0.001$).
- o Aspettative salute fisica: Un aumento delle aspettative fisiche è associato a un miglioramento della salute fisica ($\beta = 0.3177$, $p < 0.001$).
- o Aspettative salute emotiva: Le aspettative di miglioramento emotivo mostrano l'effetto più forte, con un impatto positivo significativo sulla salute fisica dei partecipanti ($\beta = 0.6165$, $p < 0.001$).

Modello 2

In questo modello "Salute Mentale Composite Score" (MSQOL-54) è la variabile predetta (y) mentre le variabili indipendenti sono le scale di "Aspettative salute fisica" e di "Aspettative salute emotiva" del MSQOL-Exp-23. Anche per la dimensione mentale, il tempo e lo stato generale sono influenti:

- o Tempo: Le variazioni tra i momenti sono significative ($F = 8.44$, $p < 0.001$), con un iniziale peggioramento seguito da un recupero parziale. Il peggioramento è evidente tra il primo e il secondo tempo ($p = 0.010$), e tra il primo e il terzo ($p < 0.001$). Al quarto tempo, si osserva un miglioramento, ma non significativo rispetto al primo tempo, suggerendo una difficoltà iniziale nell'adattarsi alle condizioni o al trattamento, seguita da un miglioramento.
- o Aspettative salute fisica: Un punteggio di aspettativa sulla salute fisica più alto è associato a una lieve riduzione nella salute mentale ($\beta = -0.1619$, $p = 0.005$).

- o Aspettative salute mentale: Le aspettative di miglioramento mentale sono fortemente associate a un significativo miglioramento del benessere mentale ($\beta = 0.8243$, $p < 0.001$), indipendentemente dai 4 tempi.

Modello 3

In questo modello "Percezione dello Stress" (PSS) è la variabile predetta (y) mentre le variabili indipendenti sono le scale di "Aspettative salute fisica" e di "Aspettative salute emotiva" del MSQOL-Exp-23.

I risultati mostrano che sia il tempo che le dimensioni fisiche e mentali influenzano lo stress percepito:

- o Tempo: si rilevano cambiamenti significativi ($F = 5.03$, $p = 0.002$), con una riduzione dello stress soprattutto tra il primo e il terzo tempo ($p < 0.001$). Al quarto tempo, non ci sono differenze significative, indicando una stabilizzazione dello stress.
- o Aspettative salute fisica: Una più elevata aspettativa di benessere fisica è associata a un maggiore stress percepito ($\beta = 0.1813$, $p = 0.005$).
- o Aspettative salute Mentale: All'aumentare dei punteggi relativi all'aspettativa sul benessere emotivo (MSQOL-23), diminuiscono i livelli di stress ($\beta = -0.6827$, $p < 0.001$).

Modello 4

In questo modello "Impatto della Sclerosi Multipla" (MSIS) è la variabile predetta (y) mentre le variabili indipendenti sono le scale di "Aspettative salute fisica" e di "Aspettative salute emotiva" del MSQOL-Exp-23.

In questo caso, il tempo non ha avuto un effetto significativo. Tuttavia:

- o Aspettative salute fisica: Elevate aspettative di benessere fisico sembrano essere associate a una riduzione significativa dell'impatto percepito della malattia ($\beta = -0.7590$, $p < 0.001$).
- o Aspettative salute mentale: Anche qui, all'aumentare delle aspettative sul benessere mentale è associata a una riduzione dell'impatto percepito ($\beta = -0.0830$, $p = 0.014$).

CONCLUSIONI

Questo studio ha consentito di mettere a punto il Multiple Sclerosis Quality of Life Expectation-23. Si tratta di una misura solida in grado di esplorare in modo rapido e affidabile le aspettative dei pazienti rispetto al proprio livello di benessere fisico e emotivo. Questo strumento è cruciale per neurologi e medici di base, poiché le aspettative soggettive dei pazienti influenzano il loro benessere, lo stress e l'impatto della malattia. La sua rilevanza clinica è notevole, poiché può orientare trattamenti personalizzati e interventi mirati, migliorando la gestione degli aspetti psicologici della sclerosi multipla. I dati suggeriscono di integrare il MSQOL-Exp-23 nelle valutazioni di base per trattamenti centrati sul paziente.

The Role of Illness Expectations in the Course of Multiple Sclerosis

INTRODUCTION AND AIMS

This project explores the role of individual expectations on the progression and impact of Multiple Sclerosis (MS). The aim is to test the hypothesis that expectations may influence the disease. The project is divided into two phases:

Development and Validation of the MSQOL-Exp-23 Tool: We developed a test to measure quality of life expectations in people with MS, which was validated on a sample to assess its reliability and psychometric validity. The analysis identified two main factors: Physical Health Expectations and Mental Health Expectations.

Longitudinal Cohort Study: A cohort of 162 individuals with MS was assessed for their expectations and medical outcomes (e.g., disease symptoms), including confounding factors such as perceived stress. Measurements were taken four times, every three months.

RESULTS

As detailed below, several key findings were achieved related to the development of a reliable tool capable of measuring explicit expectations of patients with MS regarding their physical and emotional well-being. However, difficulties were encountered in exploring implicit measures.

Tool Development

The initial phase of the study aimed to develop a reliable tool for measuring both implicit and explicit expectations related to Multiple Sclerosis (MS).

Regarding implicit disease expectations, the team focused on developing and administering an adapted version of the Implicit Attitude Test. Unfortunately, this test encountered significant resistance from patients due to feasibility and clarity issues, leading to the decision to abandon this approach. For explicit expectations, psychologists and physicians collaborated to identify predictive components, developing an initial questionnaire derived from the Multiple Sclerosis Quality of Life Questionnaire-54. This was presented to a group of patients, who provided feedback on both the content and clarity of the questionnaire. The questionnaire was then refined based on their comments. Initially composed of 24 items, it was tested for usability with small patient groups. Following finalization, the validation phase began with outpatient patients.

Exploratory factor analysis and validity

The factor analysis identified two main factors: "Physical Health Expectations" and "Emotional Health Expectations," which accounted for 57.1% of the variance at T1. The factors were moderately correlated (0.6), indicating some overlap. Item 21 was excluded due to its low saturation (<0.30), resulting in the final version of the questionnaire with 23 items (MSQOL-Exp-23): 10 items under "Physical

Health" and 13 under "Mental Health." Reliability indices (Cronbach's α and McDonald's ω) were high for both factors, indicating good internal consistency among the items: Factor 1 (Physical Health): $\alpha = 0.967$, $\omega = 0.968$

Factor 2 (Emotional Health): $\alpha = 0.907$, $\omega = 0.912$

The divergent validity of the MSQOL-Exp-23 is strong. The factors "Physical Health Expectations" and "Emotional Health Expectations" showed negative correlations with the Multiple Sclerosis Impact Scale ($r = -0.88$ and $r = -0.67$, $p < 0.001$) and the Perceived Stress Scale ($r = -0.29$ and $r = -0.62$, $p < 0.001$). Additionally, they showed positive correlations with the Multiple Sclerosis Quality of Life Questionnaire-54, particularly with the "Physical Health Composite" ($r = 0.74$ and $r = 0.87$, $p < 0.001$) and "Mental Health Composite" scores ($r = 0.42$ and $r = 0.76$, $p < 0.001$). These results suggest that better expectations are associated with lower perceived stress, a reduced disease impact, and a higher quality of life.

Predictive Analysis over Four Timepoints: Mixed Linear Models

We analyzed the temporal evolution of various dimensions in patients using mixed linear models, considering individual variations and the effects of factors such as time and physical and mental expectations from the MSQOL-Exp-23. The goal was to examine how future expectations of physical and mental health influence the evolution of other measures.

Model 1

In this model, the "Physical Health Composite Score" (MSQOL-54) is the dependent variable (y), while the independent variables are the "Physical Health Expectations" and "Emotional Health Expectations" scales from the MSQOL-Exp-23. All variables were analyzed at the four time points during the longitudinal phase.

The analysis revealed that time, physical, and mental expectations had a significant impact:

- o Time: The differences between time points were significant ($F = 12.3$, $p < 0.001$), with significant improvement at the fourth time point, especially in physical health ($p < 0.001$).
- o Physical Health Expectations: An increase in physical health expectations is associated with an improvement in physical health ($\beta = 0.3177$, $p < 0.001$).
- o Emotional Health Expectations: Expectations of emotional improvement showed the strongest effect, with a significant positive impact on participants' physical health ($\beta = 0.6165$, $p < 0.001$).

Model 2

In this model, the "Mental Health Composite Score" (MSQOL-54) is the dependent variable (y), while the independent variables are the "Physical Health Expectations"

and "Emotional Health Expectations" scales from the MSQOL-Exp-23. All variables were analyzed at the four time points during the longitudinal phase.

For mental health as well, both time and overall condition were influential:

- o Time: Variations between time points were significant ($F = 8.44$, $p < 0.001$), with an initial deterioration followed by a partial recovery. The deterioration was evident between the first and second time points ($p = 0.010$) and between the first and third ($p < 0.001$). At the fourth time point, there was improvement, but it was not significant compared to the first, suggesting an initial difficulty in adapting to conditions or treatment, followed by a recovery.
- o Physical Health Expectations: A higher score on physical health expectations is associated with a slight reduction in mental health ($\beta = -0.1619$, $p = 0.005$).
- o Mental Health Expectations: Expectations of mental improvement were strongly associated with a significant improvement in mental well-being ($\beta = 0.8243$, $p < 0.001$), independent of the four time points.

Model 3

In this model, "Perceived Stress" (PSS) is the dependent variable (y), while the independent variables are the "Physical Health Expectations" and "Emotional Health Expectations" scales from the MSQOL-Exp-23. All variables were analyzed at the four-time points during the longitudinal phase.

The results show that both time and physical and mental dimensions influence perceived stress:

- o Time: Significant changes were observed ($F = 5.03$, $p = 0.002$), with a reduction in stress particularly between the first and third-time points ($p < 0.001$). At the fourth time point, there were no significant differences, indicating stabilization of stress.
- o Physical Health Dimension (short MSQOL): Higher ex-

pectations of physical well-being are associated with greater perceived stress ($\beta = 0.1813$, $p = 0.005$).

- o Mental Health Dimension (MSQOL): As the scores for emotional well-being expectations (MSQOL-23) increase, stress levels decrease ($\beta = -0.6827$, $p < 0.001$).

Model 4

In this model, the "Multiple Sclerosis Impact Scale" (MSIS) is the dependent variable (y), while the independent variables are the "Physical Health Expectations" and "Emotional Health Expectations" scales from the MSQOL-Exp-23. All variables were analyzed at the four-time points during the longitudinal phase.

In this case, time did not have a significant effect. However:

- o Physical Health Dimension (short MSQOL): High expectations of physical well-being seem to be associated with a significant reduction in the perceived disease impact ($\beta = -0.7590$, $p < 0.001$).
- o Mental Health Dimension (short MSQOL): Similarly, increasing expectations for mental well-being were associated with a reduction in the perceived disease impact ($\beta = -0.0830$, $p = 0.014$).

CONCLUSIONS

This study has allowed the development of the Multiple Sclerosis Quality of Life Expectation-23 (MSQOL-Exp-23). It is a robust measure capable of quickly and reliably exploring patients' expectations regarding their physical and emotional well-being. This tool is crucial for neurologists and primary care physicians, as patients' subjective expectations influence their well-being, stress, and disease impact. Its clinical relevance is significant, as it can guide personalized treatments and targeted interventions, improving the management of the psychological aspects of multiple sclerosis. The data suggest integrating the MSQOL-Exp-23 into baseline assessments for patient-centered treatments.



PUBBLICAZIONI E COMUNICAZIONI A CONGRESSI PUBLICATIONS AND CONGRESS PRESENTATIONS

- Cavalera C, Mendozzi L, Toselli E, Rovaris M, Pagnini F. The role of illness expectations in the course of Multiple Sclerosis. Poster presentato al Congresso Scientifico Annuale Associazione Italiana Sclerosi Multipla e la sua Fondazione, Roma 30 Maggio-1° Giugno 2023
- Cavalera C, Mendozzi L, Toselli E, Rovaris M, Cipresso P, Pagnini F. The role of illness expectations in the course of Multiple Sclerosis. Poster presentato al Congresso Scientifico Annuale Associazione Italiana Sclerosi Multipla e la sua Fondazione, Roma 28-30 Maggio 2024
- Cavalera C, Toselli E, Volpato E, Mendozzi L, Rovaris M, Pagnini F. Longitudinal associations between multiple sclerosis and illness expectations, (in preparation)
- Pagnini, F, Cavalera C, Toselli E, Volpato E, Mendozzi L, Rovaris M. Illness expectations assessment in people with asthma: a tool for explicit and implicit beliefs (in preparation)
- Pagnini, F, Cavalera C, Toselli E, Volpato E, Mendozzi L, Rovaris M. Exploring the role of multiple sclerosis illness expectations in placebo and nocebo effect (in preparation)

Progetto di ricerca finanziato con il Bando FISM 2020 per il periodo di 2 anni (prorogato di 4 mesi) e l'ammontare di 66.000 €

Research project funded by FISM Grant 2020 for the period of 2 years (extended by 4 months) and the amount of € 66,000

Utilizzo dell'exergaming domiciliare per migliorare la funzione cognitiva nella sclerosi multipla: studio multicentrico, randomizzato, di non inferiorità



Luca Prosperini

Centro SM, Ospedale S. Camillo-Forlanini, Roma, Italia

COLLABORATORI/COLLABORATORS

Maria Esmeralda Quartuccio, Serena Ruggieri, Irene Alcamisi

COLLABORAZIONI CON ALTRI GRUPPI / COLLABORATIONS WITH OTHER GROUPS

Claudio Marcello Solaro, Erica Grange, Rachele Di Giovanni, Giulia Gamberini, Dipartimento di Riabilitazione, M.L. Novarese, Loc. Trompone, Moncrivello (VC), Italia

Davide Cattaneo, Denise Anastasi, Chiara Corrinì, Rebecca Cardini, LaRiCE Lab, Fondazione Don Gnocchi IRCCS, Milano, Italia

Valentina Tomassini, Erika Pietrolongo, Marianna Gabriella Rispoli, Istituto di Tecnologie Avanzate Biomediche, Dipartimento di Neuroscienze, Imaging e Scienze Cliniche, dell'Università G. D'Annunzio di Chieti-Pescara, Chieti, Italia

Andrea Tacchino, Jessica Podda, Giampaolo Brichetto, Centro di Riabilitazione AISM, Genova, Italia

PREMESSE E OBIETTIVI

I deficit motori e cognitivi sono sintomi frequenti e disabilitanti della sclerosi multipla (SM) e sono presenti in tutti gli stadi di malattia. Gli *exergames* sono uno strumento emergente nel campo della neuroriabilitazione, basati su dispositivi commerciali a basso costo che incorporano assieme allenamento *goal-oriented* ed esercizio motorio, dunque hanno il potenziale di migliorare sia la sfera cognitiva sia gli automatismi motori sfruttando la plasticità adattativa. L'esercizio domiciliare con *exergames* ha guadagnato molta attenzione nei recenti anni, essendo stato un mezzo semplice da usare e facilmente accessibile, utile a fronteggiare l'interruzione dei servizi riabilitativi durante la pandemia COVID-19. In questo studio di fase II, multicentrico, randomizzato, controllato verso *sham*, in singolo cieco, ad armi parallele, (registrazione su ClinicalTrials.gov: NCT04169750), abbiamo testato l'ipotesi che gli *exergames* domiciliari (Nintendo Wii *balance board*) potessero rappresentare una sorta di sistema "paghi-uno-prendi-due", ossia che fossero in grado di fornire effetti benefici sia su obiettivi motori che cognitivi, mediante una sola strategia di *training*. Abbiamo incluso persone con SM e una compromissione della velocità di processazione delle informazioni, definito come un punteggio al *Symbol Digit Modalities Test* (SDMT) inferiore al 5° percentile dei valori

normativi. Le persone eleggibili sono state randomizzate in rapporto 1:1:1 ad eseguire un training domiciliare di 8 settimane (che consisteva in 5 sedute settimanali di 30 minuti ciascuna) con *exergames* (intervento di interesse), COGNI-TRAcK adattivo (comparatore), o COGNI-TRAcK *sham* (intervento analogo a placebo).

RISULTATI

Sono state sottoposte a valutazione di screening 150 persone con SM; di queste, 92 sono state randomizzate a *exergames* (n = 30), COGNI-TRAcK adattivo (n = 31), o COGNI-TRAcK *sham* (n = 31). Le caratteristiche basali dei 3 gruppi sono risultate sostanzialmente comparabili. Al termine del periodo di intervento (visita a 8 settimane) la velocità di processazione delle informazioni (obiettivo primario cognitivo) era migliorato con *exergames* e COGNI-TRAcK adattivo, ma non con COGNI-TRAcK *sham*. Un miglioramento clinicamente rilevante di ≥ 4 punti al SDMT è stato osservato solo in 4 (13%) persone con COGNI-TRAcK *sham*, contro 11 (35%) persone con COGNI-TRAcK adattivo e 9 (30%) persone con *exergames*. Test cognitivi per valutare apprendimento e memoria verbale, funzioni esecutive e attenzione visuo-spaziale hanno fornito risultati eterogenei, in quanto il primo aspetto è migliorato solo nel gruppo

riabilitato mediante COGNI-TRAcK adattivo, il secondo aspetto è migliorato solo nel gruppo riabilitato con *exergames*, mentre il terzo aspetto è rimasto inalterato con tutti i tipi di intervento. Abbiamo trovato miglioramenti negli obiettivi motori (resistenza nella deambulazione ed equilibrio dinamico) solo nelle persone randomizzate ad *exergames*. Allo stesso modo, le auto-valutazioni delle persone con SM circa l'impatto della malattia (MSIS-29), la fatica (MFIS-21), e la resilienza (CD-RISC-25) sono migliorate solo dopo *exergames*.

CONCLUSIONI

Il nostro studio suggerisce che gli *exergames* sono una strategia efficace e conveniente per la riabilitazione sia dei deficit motori che dei deficit cognitivi dovuti alla SM.

Pur consapevoli che gli *exergames* non possano rimpiazzare completamente la riabilitazione assistita dal fisioterapista, siamo confidenti circa la loro utilità per incentivare il *fitness*, l'attività fisica e i comportamenti salutari (il *training*

domiciliare si adatta agli impegni di lavoro e familiari) nelle persone con disabilità lieve-moderata. Nelle persone con disabilità più severa, gli *exergames* possono essere implementati come strategia mirata al mantenimento delle funzioni acquisite grazie alla fisioterapia tradizionale, specialmente in caso di interruzioni programmate o impreviste dei programmi di riabilitazione. Utilizzando la modalità connessione multipla, gli *exergames* possono anche facilitare l'integrazione sociale laddove esistano barriere. I prossimi passi prevedono l'analisi di potenziali predittori di migliore risposta all'intervento con *exergames*, inclusa la qualità del sonno, il tratto di personalità, la riserva motoria e cognitiva.

Infine, il nostro studio può fornire un modello per investigare alcuni aspetti che sono rilevanti per le neuroscienze, quali quelli relativi alla plasticità cerebrale indotta dal *training* e la connessione tra sfera motoria e cognitiva del cervello umano.

Using home-based exergames to improve cognitive function in multiple sclerosis: a multicenter, randomized, non-inferiority trial

INTRODUCTION AND AIMS

Motor and cognitive dysfunctions are common and disabling symptoms in multiple sclerosis (MS) across all disease stage. Exergaming is an emerging tool in neurorehabilitation delivered by low-cost commercial devices that incorporates goal-oriented training and gross motor exercise, thus having the potential for improving both cognitive and automatic components of motor control by exploiting adaptive plasticity. Home-based training with exergames gathered lots of attention as user-friendly, easily-accessible way to face the disruption of rehabilitation services during the COVID-19 pandemic. In this phase II, multicenter, randomized, sham-controlled, single-blind, parallel arm, multicenter study (ClinicalTrials.gov registration: NCT04169750), we tested the hypotheses that home-based commercial exergames (Nintendo Wii balance board) could represent a "pay-one-get-two" deal, i.e. they provided beneficial effect on both motor and cognitive outcomes with a single training strategy. We included persons with MS and impaired information processing speed, defined as a Symbol Digit Modalities Test (SDMT) score below the 5th percentile of normative value. Eligible persons were randomized in a 1:1:1 ratio to an 8-week home-based training (consisting in five 30-minute sessions per week) with exergames (intervention of interest), or adaptive COGNI-TRAcK (reference comparator), or sham COGNI-TRAcK (placebo-analogue intervention).

RESULTS

Out of 150 screened for eligibility, 92 persons with MS were randomized to exergames (n = 30), adaptive COGNI-TRAcK (n=31) and sham COGNI-TRAcK (n=31). Baseline characteristics were comparable across the three arms. At the end of intervention period (8-week visit), the information processing speed (primary cognitive outcome) improved with exergames and adaptive COGNI-TRAcK, but not with sham COGNI-TRAcK. A clinically meaningful improvement of ≥ 4 SDMT points was observed only in 4 (13%) persons with sham COGNI-TRAcK, versus 11 (35%) persons with adaptive COGNI-TRAcK and 9 (30%) persons with exergames. Cognitive tests assessing verbal learning and memory, executive functions and visuo-spatial attention provided mixed results, as the first one improved only with adaptive COGNI-TRAcK, the second one improved only with exergames and the last one remained unchanged with all types of interventions. We found improvement in motor outcomes (walking endurance and dynamic balance) only in persons randomized to exergames. Likewise, patient-reported outcomes for disease impact (MSIS-29), fatigue (MFIS-21), and resilience (CD-RISC-25) improved only after exergames.

CONCLUSIONS

The present study suggests that exergames is a convenient and effective strategy for rehabilitation of cognitive and

motor dysfunction due to MS. Although we believe that exergames cannot completely replace physiotherapist-assisted rehabilitation, we are confident on their usefulness to promote fitness, physical activity and healthy behaviour (home-based training adaptable to work and family) in persons with mild-to-moderate disability. In persons with more severe disability, exergames can be implemented as a strategy to sustain abilities acquired by traditional physiotherapy, especially in case of pre-planned or unexpected interruption of rehabilitation programs. By using the multiplayer mode connection, exergames can also facilitate social integration in case of barriers.

The next steps consist in exploring the potential predictors of better outcomes after the intervention with exergames, including sleep quality, personality trait, cognitive and motor reserve. Lastly, our study can provide a framework to explore some relevant issues for neurosciences, such as training-enhanced brain plasticity, and the interplay between motor and cognitive domains in human brain. aspects of for neurosciences, such as training-enhanced brain plasticity, and the interplay between motor and cognitive domains in human brain.



PUBBLICAZIONI E COMUNICAZIONI A CONGRESSI PUBLICATIONS AND CONGRESS PRESENTATIONS

- Prosperini L, Tomassini V, Castelli L, Tacchino A, Bricchetto G, Cattaneo D, Solaro CM. Exergames for balance dysfunction in neurological disability: a meta-analysis with meta-regression. *J Neurol.* 2021 Sep;268(9):3223-3237
- Prosperini L. Oral platform: "Home-based EXergames To impRove cognitivE function in MULTiple Sclerosis: a multicentre, randomised, sham-controlled, single-blind, parallel arm study (the EXTREMUS study)"; 38th ECTRIMS Congress, 26-28 October 2022, Amsterdam, the Netherlands
- Ruggieri S. Oral platform: "Using home-based EXergames To impRove cognitivE function in MULTiple Sclerosis: a multicentre, randomised, sham-controlled, single-blind, parallel arm study (the EXTREMUS study)"; 52nd Congress of Italian Neurological Society (SIN), 3-6 December 2022, Milan, Italy
- Tacchino A. Oral platform: "Home-based EXergames To impRove cognitivE function in MULTiple Sclerosis: a multicentre, randomised, sham-controlled, single-blind, parallel arm study (the EXTREMUS study)"; 28th annual RIMS Congress, 04-06 May 2023, Genoa, Italy
- Cardini R. Oral platform: "Exergames a domicilio per migliorare la funziona cognitiva nella sclerosi multipla: uno studio multicentrico, randomizzato, controllato con sham, in singolo cieco, a bracci paralleli (EXTREMUS)"; 3rd International Scientific Congress AIFI Tailored Physiotherapy, 10-11 Novembre 2023, Bologna, Italy, (premiato come miglior contributo alla ricerca clinica)

Progetto di ricerca finanziato con il Bando FISM 2017 per il periodo di 3 anni (prorogato di 2 anni) e l'ammontare di 180.000 €

Research project funded by FISM Grant 2017 for the period of 3 years (extended by 2 years) and the amount of € 180,000

Monitoraggio e supporto attraverso un ausilio protesico con biofeedback del percorso riabilitativo in persone con sclerosi multipla



Marco Bove

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

COLLABORATORI/COLLABORATORS

Ambra Bisio

COLLABORAZIONI CON ALTRI GRUPPI / COLLABORATIONS WITH OTHER GROUPS

Laura Bonzano, Monica Biggio, Costanza Iester, Alice Bellosta, Dipartimento di Neuroscienze, Riabilitazione, Oftalmologia, Genetica e Scienze Materno-Infantili, Università degli Studi di Genova, Genova, Italia

Giampaolo Brichetto, Ludovico Pedullà, Andrea Tacchino, Area Ricerca Scientifica, Fondazione Italiana Sclerosi Multipla, Genova, Italia

PREMESSE E OBIETTIVI

Questo studio ha investigato l'impatto di un programma di riabilitazione che include una stampella ingegnerizzata (FBKEIN), in grado di fornire biofeedback in tempo reale all'utente, sulla capacità di camminare e sull'attività cerebrale nelle persone con sclerosi multipla. In particolare, è stata utilizzata la spettroscopia funzionale nel vicino infrarosso (fNIRS) per monitorare le risposte neurali durante diversi compiti, come la camminata lineare, curvilinea e in condizioni di doppio compito. I partecipanti erano individui con un punteggio di 6 sulla Expanded Disability Status Scale (EDSS), indicativo della necessità di un ausilio per la deambulazione. Lo studio ha confrontato gli effetti di un programma di riabilitazione tradizionale con un programma arricchito dal biofeedback (BF), volto a ottimizzare l'uso degli ausili per la deambulazione. Oltre a valutare questi interventi, lo studio mirava a identificare i modelli di attività corticale associati ai vari compiti di cammino, comprese le condizioni di doppio compito, per comprendere meglio come la riabilitazione influenzi la funzione neurale.

RISULTATI

Un totale di 26 partecipanti è stato randomizzato in due gruppi: 13 partecipanti hanno ricevuto l'intervento con biofeedback (gruppo BF), mentre i restanti 13 senza biofeedback (gruppo NOBF). Durante il corso dello studio, due partecipanti si sono ritirati, lasciando 24 individui che hanno completato tutte le fasi. I due gruppi erano comparabili

per età, genere e durata della malattia. Gli outcome clinici e neurali sono stati misurati in quattro momenti distinti: prima e dopo due fasi di riabilitazione, ciascuna composta da venti sessioni di un'ora focalizzate su equilibrio, cammino e uso corretto dell'ausilio.

Per quanto riguarda gli outcome clinici, entrambi i gruppi hanno sperimentato una riduzione della fatica dopo la prima fase di riabilitazione. Tuttavia, i partecipanti del gruppo BF hanno mostrato miglioramenti più significativi nella velocità del cammino, misurata tramite il Timed 25-Foot Walk, e nell'equilibrio dinamico, valutato attraverso il test Timed Up and Go, dopo aver completato entrambe le fasi di riabilitazione. Le valutazioni di usabilità del sistema FBKEIN hanno rivelato una soddisfazione da moderata ad alta tra i partecipanti. In particolare, il 55% dei partecipanti ha riportato miglioramenti nella coordinazione, il 50% nell'equilibrio, mentre il 15% ha osservato un aumento nella velocità del cammino.

Gli esiti neurali sono stati valutati utilizzando i dati fNIRS di 22 partecipanti, rivelando pattern distinti di attivazione corticale durante i diversi compiti di cammino. Sia la camminata lineare che quella curvilinea sono state associate ad attivazione nelle regioni prefrontali, sensomotorie e parietali, con la camminata curvilinea che ha suscitato una maggiore attività prefrontale. Sono state valutate anche condizioni di camminata in doppio compito, inclusi compiti di conteggio a ritroso e discriminazione sonora. Interessante notare che il compito di conteggio ha portato a

una riduzione dell'attivazione prefrontale rispetto sia alla camminata lineare che al compito di discriminazione sonora. Tuttavia, questa riduzione è stata accompagnata da un aumento dell'attività nella regione parietale destra, suggerendo il coinvolgimento di strategie neurali compensative per gestire le richieste cognitive del compito.

I partecipanti del gruppo BF hanno mostrato un progressivo aumento dell'attività prefrontale dopo ciascuna fase di riabilitazione, in corrispondenza del miglioramento delle loro prestazioni nel cammino. Al contrario, il gruppo NOBF ha mostrato cambiamenti incoerenti nell'attività corticale, rispecchiati da miglioramenti comportamentali meno marcati.

CONCLUSIONI

I risultati di questo studio evidenziano l'efficacia della riabilitazione basata sul biofeedback nel migliorare sia la capacità di camminare che la funzione neurale nelle per-

sone con sclerosi multipla. L'uso della fNIRS ha fornito preziose informazioni sui meccanismi corticali alla base della deambulazione e delle prestazioni in condizioni di doppio compito, dimostrando come il biofeedback possa promuovere adattamenti neurali benefici. I risultati suggeriscono che l'integrazione di compiti complessi di cammino e biofeedback nei programmi di riabilitazione non solo migliora la funzione motoria, ma stimola anche l'attività corticale associata a prestazioni migliorate. Inoltre, il monitoraggio dell'attività cerebrale durante la riabilitazione potrebbe offrire un percorso verso strategie di trattamento più personalizzate, ottimizzando i risultati e supportando la neuroplasticità nelle persone con sclerosi multipla.

Monitoring and integrating the rehabilitative process of persons with multiple sclerosis by means of a prosthetic aid with biofeedback

INTRODUCTION AND AIMS

This study investigated the impact of a rehabilitation program including an engineered crutch (FBKEIN) able to provide real-time biofeedback to the user on walking ability and brain activity in people with multiple sclerosis (PwMS). In particular, we used functional near-infrared spectroscopy (fNIRS) to monitor neural responses during different tasks such as linear, curvilinear and dual task walking. The participants were individuals with an Expanded Disability Status Scale (EDSS) score of 6, indicating that they required a walking aid. The study compared the effects of a traditional rehabilitation program with a program enhanced by biofeedback (BF), which aimed to optimize the use of walking aids. In addition to evaluating these interventions, the study sought to identify cortical activity patterns associated with various walking tasks, including dual-task conditions, to better understand how rehabilitation influences neural function.

RESULTS

A total of 26 participants were randomized into two groups: 13 participants received the biofeedback intervention (BF group), while the remaining 13 did not (NOBF group). During the course of the study, two participants dropped out, leaving 24 individuals who completed all phases. Both groups were comparable in terms of age, gender, and disease duration. Clinical and neural outcomes were measured at four distinct time points: before

and after two rehabilitation phases consisting of twenty 1-hour sessions focusing on balance, gait and proper assistive device use.

In terms of clinical outcomes, both groups experienced a reduction in fatigue following the first phase of rehabilitation. However, participants in the BF group exhibited more significant improvements in walking speed, as measured by the Timed 25-Foot Walk, and in dynamic balance, assessed through the Timed Up and Go test, after completing both rehabilitation phases. Usability assessments of the FBKEIN system revealed moderate to high satisfaction among participants. Notably, 55% of participants reported improvements in coordination, 50% in balance, while 15% observed gains in gait speed.

Neural outcomes were assessed using fNIRS data from 22 participants, revealing distinct cortical activation patterns across different walking tasks. Both linear walking and curvilinear walking were associated with activation in prefrontal, sensorimotor, and parietal regions, with curvilinear walking eliciting greater prefrontal activity. Dual-task walking conditions were also evaluated, including tasks that involved counting backward and sound discrimination. Interestingly, the counting task led to decreased prefrontal activation compared to both linear walking and the sound discrimination task. However, this decrease was accompanied by increased activity in the right parietal region, suggesting the engagement of compensatory neural strategies to manage the cognitive demands of the task.

Participants in the BF group exhibited progressively increased prefrontal activity after each phase of rehabilitation, which corresponded with their improved walking performance. Conversely, the NOBF group displayed inconsistent changes in cortical activity, which were mirrored by less pronounced behavioural improvements.

CONCLUSIONS

The findings of this study underscore the effectiveness of biofeedback-based rehabilitation in improving both walking ability and neural function in people with multiple scle-

rosis. The use of fNIRS provided valuable insights into the cortical mechanisms underlying gait and dual-task performance, demonstrating how biofeedback can promote beneficial neural adaptations. The results suggest that incorporating complex walking tasks and biofeedback into rehabilitation programs not only enhances motor function but also stimulates cortical activity associated with improved performance. Furthermore, monitoring brain activity during rehabilitation may offer a pathway to more personalized treatment strategies, optimizing outcomes and supporting neuroplasticity in PwMS.



PUBBLICAZIONI E COMUNICAZIONI A CONGRESSI PUBLICATIONS AND CONGRESS PRESENTATIONS

Conference abstracts

- Iester C, Bonzano L, Biggio M, Pedullà L, Bellosta A, Tacchino A, Brichetto G, Bove M. Behavioral and Neural Changes Induced by a Rehabilitation Treatment Using an Instrumented Crutch: A Longitudinal fNIRS Study. *International Symposium of Posture and Gait Research 2025*, Maastricht, Netherlands (submitted)
- Iester C, Bonzano L, Biggio M, Tacchino A, Brichetto G, Bove M, Pedullà L. Higher cortical demand in more challenging walking tasks: Insights from fNIRS. *International Symposium of Posture and Gait Research 2025*, Maastricht, Netherlands (submitted)
- Pedullà L, Tacchino A, Bellosta A, Iester C, Biggio M, Bonzano L, Bisio A, Brichetto G, Bove M. Supporting Gait and Balance Rehabilitation in People with Multiple Sclerosis: Usability and Preliminary Efficacy of a Biofeedback-Enabled Crutch in Continuity of Care. *International Symposium of Posture and Gait Research 2025*, Maastricht, Netherlands (submitted)
- Iester C, Bonzano L, Biggio M, Pedullà L, Brichetto G, Bove M. Functional Near-Infrared Spectroscopy as a technique to investigate cortical correlates during walking. *IRCCS Network of Neuroscience and Neurorehabilitation (RIN) annual meeting 2024*, Genoa, Italy
- Bellosta A, Pedullà L, Iester C, Bonzano L, Biggio M, Bisio A, Tacchino A, Brichetto G, Bove M. Improving walking and reducing fatigue in people with multiple sclerosis: focus on the role of the walking aid used. *Sig Mobility 2024*, Aarhus, Denmark
- Bellosta A, Pedullà L, Iester C, Bonzano L, Biggio M, Bisio A, Tacchino A, Brichetto G, Bove M. Efficacy of a rehabilitation program for walking aid users in multiple sclerosis: Focus on the importance of walking aid. *RIMS 2024*, Hasselt, Belgium
- Pedullà L, Iester C, Bellosta A, Biggio M, Bonzano L, Bisio A, Tacchino A, Brichetto G, Bove M. Rehabilitation including walking aid training with real-time feedback can induce motor and neural changes in people with multiple sclerosis. *13th International Symposium on Gait and Balance in Multiple Sclerosis 2024*, virtual
- Biggio M, Pedullà L, Iester C, Tacchino A, Brichetto G, Bisio A, Bove M, Bonzano L. Cortical differences between linear and curvilinear walking tasks in people with multiple sclerosis. *The Organization for Human Brain Mapping (OHBM) 2023 Annual Meeting*, 2023, Montréal, Canada
- Pedullà L, Biggio M, Tacchino A, Iester C, Brichetto G, Bellosta A, Bisio A, Bonzano L, Bove M. Innovative techniques for monitoring and enhancing the effects of rehabilitation in people with advanced multiple sclerosis. *RIMS 2023*, Genova, Italy
- Biggio M, Pedullà L, Tacchino A, Iester C, Brichetto G, Bisio A, Bove M, Bonzano L. Innovative techniques for monitoring and enhancing rehabilitative effects: a study in people with multiple sclerosis. *Best poster award. Second Congress "Translational research, biotechnology and health care: a wink to the future" of the Italian Society of Translational Research and Health Professions (S.I.R.T.E.P.S.) 2022*. L'Aquila, Italy
- Pedullà L, Bonzano L, Bisio A, Job M, Tacchino A, Brichetto G, Bove M. Cognitive-motor Interference in People with Multiple Sclerosis: the Influence of Curvilinear Walking and Fatigue. *10th International Symposium on Gait and Balance in Multiple Sclerosis 2020*, virtual
- Pedullà L, Bonzano L, Bisio A, Job M, Tacchino A, Podda J, Brichetto G, Bove M. Neural correlates of cognitive-motor dual tasks in multiple sclerosis: an fNIRS study. *ECTRIMS 2019*, Stockholm, Sweden
- Pedullà L, Bonzano L, Bisio A, Job M, Tacchino A, Brichetto G, Bove M. Effects of curvilinear walking and cognitive-motor dual tasks on motor performance and cortical activity in people with



- multiple sclerosis. RIMS 2019, Lubiana, Slovenia
- Pedullà L, Bisio A, Biggio M, Parodi F, Travalì A, Cesaroni G, Tacchino A, Brichetto G, Bove M. Investigating and enhancing the effect of rehabilitation in real life with a new sensorized prosthetic aid: a study in people with multiple sclerosis. Workshop "Innovation In Rehabilitation Technologies" 2019, Genoa, Italy
 - Manuscripts in preparation
 - Tacchino A, Bellosta A, Biggio M, Bonzano L, Iester C, Bisio A, Brichetto G, Pedullà L, Bove M. Supporting Gait Rehabilitation in Multiple Sclerosis: Usability and Preliminary Efficacy of a Biofeedback-Enabled Crutch in Continuity of Care
 - Iester C, Biggio M, Pedullà L, Bisio A, Tacchino A, Bellosta A, Brichetto G, Bonzano L, Bove M. Higher cortical demand in curvilinear compared to linear walking in multiple sclerosis

Progetto di ricerca finanziato con il Bando FISM 2016 per il periodo di 3 anni (prorogato di 51 mesi) e l'ammontare di 178.500 €

Research project funded by FISM Grant 2016 for the period of 3 years (extended by 51 months) and the amount of € 178,500

Valutazione e training personalizzato delle abilità di guida nelle persone con sclerosi multipla



Maura Casadio

*Dipartimento di Informatica, Bioingegneria, Robotica e Ingegneria dei Sistemi (DIBRIS),
Università degli di Genova, Italia*

COLLABORATORI/COLLABORATORS

**Camilla Pierella, Matteo Moro, Serena Ricci, Grazia Cravero, Valentina Massone,
Alessandra Salano, Marco Baldari, Mattia Pedemonte, Andrea Canessa**

COLLABORAZIONI CON ALTRI GRUPPI / COLLABORATIONS WITH OTHER GROUPS

Andrea Tacchino, co-P.I., Area di Ricerca Scientifica in Riabilitazione, Fondazione Italiana Sclerosi Multipla (FISM), Genova, Italia

Giampaolo Brichetto, Jessica Podda, Ludovico Pedullà, Area di Ricerca Scientifica in Riabilitazione, Fondazione Italiana Sclerosi Multipla (FISM), Genova, Italia

PREMESSE E OBIETTIVI

La nostra ricerca si colloca nel contesto della valutazione delle competenze di guida nelle persone con sclerosi multipla (PcSM). La guida fa parte delle *Instrumental Activities of Daily-Living* (IADL) e rappresenta un fattore determinante della qualità della vita. Tuttavia, la SM può rendere la guida complessa a causa della variabilità e dell'imprevedibilità dei sintomi, che possono influenzare le capacità di attenzione, percezione visiva, funzione esecutiva e coordinazione motoria. Inoltre, il 20-40% di PcSM fallisce le valutazioni di idoneità alla guida, con un rischio maggiore di incidenti rispetto alla popolazione generale. Nonostante i progressi tecnologici, rimangono limitate le soluzioni affidabili per la valutazione e il monitoraggio delle capacità di guida delle PcSM.

Un possibile strumento per supportare questa valutazione è l'utilizzo di simulatori di guida. I sistemi basati sulla realtà virtuale (VR) permettono di replicare scenari realistici in un ambiente sicuro, offrendo una valutazione oggettiva delle abilità di guida e la possibilità di personalizzare le esperienze di guida in base alle specifiche difficoltà della persona valutata. Tuttavia, i simulatori attualmente disponibili non sono specificamente progettati per PcSM e non tengono conto di fattori di rilievo come lo stato emotivo e i parametri fisiologici del soggetto. Inoltre, manca la possibilità di creare scenari con difficoltà progressiva e personalizzati, limitando la loro applicabilità alla complessità della SM.

L'obiettivo principale del progetto è stato lo sviluppo di uno strumento personalizzabile per il monitoraggio delle

competenze di guida, basato su un simulatore avanzato (ADRS) che è stato successivamente adattato per le esigenze delle PcSM. La ricerca si è articolata in due obiettivi principali:

1. Identificare e modellare le capacità motorie e cognitive individuali delle PcSM e il loro impatto sulle abilità di guida.
2. Implementare e testare un simulatore di guida personalizzato in base alle capacità individuali delle PcSM per valutare e allenare le abilità di guida.

Per raggiungere il primo obiettivo dello studio è stato utilizzata la versione del simulatore ADRS che presenta un singolo schermo, pedali e volante da gioco. Questa configurazione è stata scelta per favorire un'esperienza coinvolgente e intuitiva, riducendo l'affaticamento motorio e cognitivo. L'esperimento, della durata complessiva di circa 2 ore, includeva test motori, cognitivi e psicologici, che sono stati scelti appositamente per avere una valutazione completa delle funzioni necessarie alla guida. Successivamente, i partecipanti hanno eseguito la guida con il simulatore ADRS in sette scenari di cui il primo e l'ultimo erano uguali e i cinque centrali con livelli di complessità progressivamente crescente in termini di condizioni meteo, visibilità, traffico e situazioni di pericolo. Gli scenari uguali tra loro e ripetuti all'inizio e alla fine della sessione, hanno permesso di valutare eventuali variazioni delle prestazioni all'interno della singola sessione sperimentale. Il simulatore ADRS consente di salvare varie metriche di guida, come velocità, durata della sessione, e numero di

infrazioni (collisioni, mancato rispetto della segnaletica, guida contromano). Infine, i partecipanti hanno compilato alcuni questionari per auto-valutare l'esperienza di simulazione, riportando eventuali situazioni di malessere (ad es. nausea) sperimentate durante l'utilizzo del simulatore, il livello di sforzo cognitivo e fisico richiesto, il coinvolgimento e la propria capacità di guida.

RISULTATI

Lo studio ha coinvolto 62 soggetti sani con un'età media di 46 anni, e 55 PcSM con un'età media di 50 anni. I criteri di inclusione prevedevano un'età compresa tra i 18 e i 70 anni, un livello cognitivo adeguato, il possesso della patente e l'aver guidato almeno una volta negli ultimi due anni. Per le PcSM era richiesto anche un punteggio alla scala di disabilità Expanded Disability Status Scale (EDSS) inferiore a 7.

I risultati hanno mostrato che i partecipanti di entrambi i gruppi hanno completato l'ultimo scenario di test più rapidamente e con una velocità media ridotta rispetto al primo. Negli scenari di test le PcSM hanno mostrato una maggiore deviazione dal centro della corsia e hanno compiuto un numero maggiore di collisioni e di infrazioni, in particolare di guida contromano. Tuttavia, questi errori sono diminuiti tra il primo e l'ultimo scenario. Lo scenario notturno su strada rurale è quello in cui si è verificato il maggior numero di incidenti e il maggior numero di guide contromano.

I test clinici hanno confermato differenze significative tra i due gruppi nelle funzioni motorie, cognitive e psicologiche. Inoltre, sono stati esaminati due parametri fondamentali della guida: la distanza media dal centro della corsia, indicativa del controllo laterale del veicolo, e la durata della sessione, che riflette invece altri parametri come la velocità, il numero di collisioni e il rispetto della segnaletica stradale. Queste metriche si sono rivelate correlate sia alle funzioni cognitive sia all'EDSS.

Tramite i questionari è stata anche valutata l'usabilità del simulatore. Entrambi i gruppi hanno riferito un livello di coinvolgimento medio-alto, con le PcSM che hanno riportato un maggiore sforzo sia cognitivo sia fisico. La maggior parte dei partecipanti ha completato la simulazione senza manifestare sintomi rilevanti di malessere.

Per il raggiungimento del secondo obiettivo, sono stati creati degli scenari personalizzati per le PcSM, basati sulle differenze osservate tra i due gruppi. Gli scenari sono stati organizzati in tre gradi di difficoltà crescente. Il primo livello, il più semplice, include quattro scenari urbani diurni della durata di 5 minuti ciascuno. Nel secondo livello gli scenari sono caratterizzati da strade urbane con visibilità ridotta e hanno una durata di 7 minuti. Il terzo livello è il più impegnativo, con strade rurali strette, ostacoli imprevisti e una durata maggiore, per testare la capacità di concentrazione nel tempo. Ogni sessione di allenamento dura circa 30 minuti e il programma prevede due sessioni settimanali per tre settimane, per un totale di sei sessioni. Al termine dell'allenamento, viene ripetuta la valutazione di guida iniziale per valutare eventuali miglioramenti. Dal

confronto delle metriche di guida prima e dopo il training, è emerso che tutti hanno registrato un minor numero di infrazioni. Una parte dei partecipanti ha migliorato anche la capacità di gestire la velocità di guida, riducendo sia la velocità massima che la sua variabilità, ha diminuito il numero di collisioni.

Alcuni partecipanti sono riusciti a ridurre le invasioni della corsia opposta, in particolare nello scenario rurale e notturno, che si era rivelato il più impegnativo per il mantenimento della corsia.

CONCLUSIONI

Il simulatore ADRIS si è rivelato uno strumento ben accettato dalle PcSM, con una bassa percentuale di partecipanti che ha sperimentato nausea, un effetto collaterale comune nei simulatori di guida, soprattutto tra le persone più anziane. L'analisi dei dati ha evidenziato differenze significative tra i due gruppi, confermando l'efficacia del simulatore nel monitorare parametri di guida rilevanti. La correlazione tra le metriche di guida e i test cognitivi/EDSS suggerisce che tali parametri potrebbero essere approfonditi come potenziali indicatori delle capacità di guida nelle PcSM. Il programma di training si è rivelato efficace nel migliorare le prestazioni di guida, riducendo le infrazioni, migliorando il mantenimento della corsia e ottimizzando la gestione della velocità. Questi risultati suggeriscono che ADRIS potrebbe rappresentare uno strumento promettente per supportare le PcSM, offrendo un'opportunità di valutazione e allenamento delle abilità di guida in un ambiente controllato e sicuro.

Assessment and personalized training of driving skills in people with multiple sclerosis

INTRODUCTION AND AIMS

Our research is set within the context of evaluating driving skills in people with multiple sclerosis (PwMS). Driving is part of the Instrumental Activities of Daily Living (IADL) and is a determining factor for quality of life. However, MS can make driving complex due to the variability and unpredictability of symptoms, which can impact attention, visual perception, executive function, and motor coordination. Additionally, 20-40% of PwMS fail fitness-to-drive evaluations, with a higher risk of accidents compared to the general population. Despite technological advancements, reliable solutions for assessing and monitoring driving capabilities in PwMS remain limited. One potential tool to support this assessment is the use of driving simulators. Virtual Reality (VR)-based systems allow for the replication of realistic scenarios in a safe environment, offering objective evaluation of driving skills and the possibility of customizing driving experiences based on the specific difficulties of MS. However, current simulators are not specifically designed for PwMS and do not consider crucial factors such as emotional state and physiological parameters. Furthermore, there is a lack of the ability to create progressively difficult and customized scenarios, limiting their applicability to the complexity of MS.

The main objective of the project was to develop a customizable tool for monitoring driving skills, based on an advanced simulator (ADRS) that was later adapted for the needs of PwMS. The research was structured around two main objectives:

1. Identify and model the individual motor and cognitive abilities of PwMS and their impact on driving skills.
2. Implement and test a driving simulator tailored on individual abilities of PwMS for assessing and training driving skills.

To achieve the first study objective, which was to evaluate the driving abilities of PwMS, the ADRS simulator version with a single screen, pedals, and a gaming steering wheel was used. This configuration was chosen to provide an engaging and intuitive experience while reducing motor and cognitive fatigue. The experiment, lasting a total of about 2 hours, included motor, cognitive, and psychological tests, specifically selected to provide a comprehensive assessment of the functions necessary for driving. Participants then performed seven driving scenarios with the ADRS simulator: the initial and final scenarios were identical while the other five training scenarios were progressively more complex in terms of weather conditions, visibility, traffic, and danger situations. The scenarios repeated at the beginning and end of the session allowed for the evaluation of performance variations within a single session.

During the driving simulation, various driving metrics, such as speed, session duration, and the number of violations (collisions, failure to obey road signs, wrong-way driving), were saved. Finally, participants completed questionnaires to assess the simulation experience, reporting any discomfort, the level of effort required, engagement, and a self-assessment of driving skills.

RESULTS

The study involved 62 healthy controls, with an average age of 46 years, and 55 PwMS, with an average age of 50 years. Inclusion criteria: age between 18 and 70 years, cognitive levels suitable for the aims of the study, possession of a driving license, and having driven at least once in the last two years. PwMS were required to have an Expanded Disability Status Scale (EDSS) score < 7.

The results showed that participants in both groups completed the final test scenario more quickly and with a lower average speed compared to the first one. In the test scenarios, PwMS showed greater deviation from the centre of the lane and committed more collisions and violations, particularly wrong-way driving. However, these errors decreased from the first to the last scenario. The night scenario on rural roads saw the highest number of accidents and of wrong way driving violations.

Clinical tests confirmed significant differences between the two groups in motor, cognitive, and psychological functions. Two key driving parameters were also examined: the average distance from the center of the lane, indicating lateral vehicle control, and session duration, which reflects other parameters such as speed, number of collisions, and adherence to road signs. These metrics were correlated with cognitive functions and the EDSS. The questionnaires evaluated the usability of the simulator. Both groups reported a medium-high level of engagement, with PwMS reporting greater cognitive and physical effort. Most participants completed the simulation without experiencing significant symptoms of discomfort.

For the second objective, customized scenarios for PwMS were created, based on the differences observed between the two groups. The scenarios were organized into three levels of increasing difficulty. The first level, the simplest, included four urban daytime scenarios lasting 5 minutes each. In the second level, the scenarios featured urban roads with reduced visibility and lasted 7 minutes. The third level was the most challenging, with narrow rural roads, unexpected obstacles, and a longer duration, designed to test concentration over time. Each training session lasted about 30 minutes and the program included two sessions per week for three weeks, for a total of six sessions. At the end of the training, the initial driving

evaluation was repeated to assess any improvements. A comparison of driving metrics before and after the training revealed that all participants recorded fewer infractions. Among the improvements observed for subgroups of participants was (i) a reduction of instances of crossing into the opposite lane, particularly in rural and nighttime scenarios, which had proven to be the most challenging for lane-keeping (i) better speed management with a reduction of both the maximum speed and its variability, as well as decreasing the number of collisions.

CONCLUSIONS

The ADRIS simulator proved to be a well-accepted tool among participants with PwMS, with only a small percentage experiencing nausea, a common side effect in driving

simulators, particularly among older individuals. Data analysis revealed significant differences between the two groups, confirming the simulator's effectiveness in monitoring relevant driving parameters. The correlation between driving metrics and cognitive tests/EDSS suggests that these parameters could be further explored as potential indicators of driving abilities in PwMS. The training program was effective in improving driving performance by reducing infractions, enhancing lane-keeping, and optimizing speed management. These findings suggest that ADRIS could be a promising tool to support PwMS, providing an opportunity for assessing and training driving skills in a controlled and safe environment.



PUBBLICAZIONI E COMUNICAZIONI A CONGRESSI PUBLICATIONS AND CONGRESS PRESENTATIONS

Journal paper draft is under preparation

Progetto di ricerca finanziato con il Bando FISM 2022 per il periodo di 1 anno, (prorogato di 8 mesi) e l'ammontare di 30.000 €

Research project funded by FISM Grant 2022 for the period of 1 year (extended by 8 months) and the amount of € 30,000

Misurazione dell'impatto di comuni programmi di esercizio sulla fatica soggettiva e oggettiva durante le attività della vita quotidiana in persone con sclerosi multipla



Franca Deriu

Unità di Endocrinologia, disordini della nutrizione e del metabolismo, AOU Sassari, Sassari
Dipartimento di Scienze Biomediche, Università degli Studi di Sassari, Sassari, Italia

COLLABORATORI/COLLABORATORS

Andrea Manca, Elena Aiello, Andrea Cereatti, Antonella Cano, Francesca Ginatempo, Francesca Salis, Lucia Ventura, Gianluca Martinez

COLLABORAZIONI CON ALTRI GRUPPI / COLLABORATIONS WITH OTHER GROUPS

Andrea Cereatti, Dipartimento di Elettronica e Telecomunicazioni, Politecnico di Torino, Torino, Italia

PREMESSE E OBIETTIVI

La fatica porta le persone con sclerosi multipla (PcMS) a un declino funzionale nelle attività della vita quotidiana (ADL). L'esercizio fisico è consigliato per la gestione della fatica da SM e la i deficit di funzione. In letteratura si indaga su quale sia la forma di esercizio migliore per gestire questi sintomi. Tuttavia, le revisioni sistematiche e le metanalisi presentano un'elevata eterogeneità, dovuta alle differenze nelle misure di outcome e nei protocolli di esercizio dei singoli studi. Pertanto, l'obiettivo di questo studio è stato testare e confrontare gli effetti di quattro comuni programmi di esercizio (allenamento di forza - ST; allenamento aerobico - AT; allenamento combinato - forza più aerobico - Combo; riabilitazione globale - Rehab) sulla fatica soggettiva, sullo stato motorio-funzionale e sull'efficienza metabolica nelle persone con SM in un unico lavoro di ricerca, con design randomizzato controllato a 4 bracci paralleli, strutturato in fasi di 3 mesi (2 settimane di test, 8 settimane di allenamento e 2 settimane di retest).

RISULTATI

Sessantadue PcSM altamente affaticabili (75% donne; età $46,6 \pm 11,8$ anni; EDSS mediana $3,5 \pm 1,6$) sono state sottoposte a una valutazione di fatica soggettiva (Fatigue severity scale - FSS; Modified fatigue impact scale - MFIS), umore (Beck depression inventory II - BDI-II), qualità di vita correlata alla salute (MS Quality of life-54 - MSQoL-54), funzioni cognitive, indipendenza, stato motorio-funzionale (mobilità, equilibrio, forza, prestazioni

cardiopulmonari, composizione corporea) e efficienza metabolica nelle ADL.

Per quanto riguarda le misure di outcome riferite dal paziente, considerate outcome primari, AT si è dimostrato essere il miglior metodo per migliorare la fatica soggettiva, con una riduzione del -18,8% ($p=0,03$) per l'FSS e del -35,3% ($p<0,01$) per l'MFIS. Anche ST ha ridotto la fatica (-16,8%, $p=0,02$, in FSS; -23,4%, $p=0,04$ in MFIS), mentre Combo e Rehab ne hanno ridotto l'impatto (rispettivamente -33,8%, $p<0,01$, e -26,2%, $p=0,04$, in MFIS). Inoltre, l'umore è migliorato dopo AT e Combo con una riduzione della BDI-II rispettivamente del 54,1 ($p=0,01$) e del 28,6% ($p=0,04$). Infine, la maggior parte degli item dell'MSQoL-54, come "Salute fisica composita", "Cambiamento di salute" e "Funzione sociale", sono migliorati dopo AT e Combo.

Le funzioni cognitive sono state migliorate significativamente da tutti gli allenamenti (ST +1,7 punti, $p=0,02$; Combo +1,7 punti, $p=0,02$; Rehab +1,5 punti, $p=0,04$) tranne AT, forse per il minor numero di istruzioni verbali e l'impegno cognitivo necessario per questo allenamento, relativamente più semplice.

Tra i test funzionali, sono stati rilevati miglioramenti nella velocità del cammino confortevole e veloce (rispettivamente $+0,16 \text{ m} \cdot \text{s}^{-1}$, $p<0,01$ e $+0,22 \text{ m} \cdot \text{s}^{-1}$, $p<0,01$) e nell'equilibrio (riduzione dell'area di oscillazione del corpo; $p=0,04$) in seguito a Rehab, nei test di endurance come il test del cammino di 6 minuti sono migliorati in seguito a ST (+62m, $p=0,02$) e Combo (+55m, $p=0,01$), e la forza dei flessori ed estensori del ginocchio e del gomito in seguito a

ST (aumento medio del 14,1%, $p < 0,05$) e Combo (aumento medio del 16%, $p < 0,05$).

Inoltre, la performance cardiorespiratoria è migliorata dopo AT e Combo (rispettivamente da 25 mL·kg⁻¹·min⁻¹ a 27,1 mL·kg⁻¹·min⁻¹ e 28,5 mL·kg⁻¹·min⁻¹, $p = 0,01$ e $p = 0,02$). Infine, la composizione corporea ha mostrato lievi aumenti della massa muscolare scheletrica appendicolare e globale dopo la ST (rispettivamente +3,2% e +2,4%, $p = 0,01$ e $p = 0,04$).

Al di là degli effetti positivi in linea con il principio di "training specificity", i miglioramenti nella velocità del cammino e nella distanza percorsa in 6 minuti hanno superato le soglie stabilite di rilevanza per questi test.

L'efficienza metabolica è stata valutata tramite ergospirometria durante lo svolgimento di 7 ADL ("lavare un pavimento", "camminare in un corridoio", "fare il bucato", "gestire i pasti", "pulire le superfici", "salire le scale", "vestirsi"). Il rapporto di scambio respiratorio (RER) è stato considerato

per stimare le quote di carboidrati e lipidi ossidati durante i compiti ADL. I valori di RER sono aumentati in tutte le 7 attività dopo ST (in media, +12,9%, tutti $p < 0,05$), in 4 dopo AT (+5,6%, tutti $p < 0,05$) e in 3 dopo Combo (+5,4%, tutti $p < 0,05$), suggerendo un maggiore ricorso ai carboidrati durante questi compiti.

CONCLUSIONI

AT si conferma come la strategia più efficace per mitigare la fatica percepita dal paziente e dovrebbe essere considerata dai clinici negli approcci basati sull'esercizio fisico. Se combinata con il rinforzo globale, AT porta a effetti ancora maggiori su questo sintomo e sugli aspetti motorio-funzionali. Infine, nonostante la sua importanza nella gestione della debolezza muscolare e la fatica soggettiva, ST ha ridotto l'utilizzo dei lipidi, possibile risvolto negativo per le persone con disabilità.

Measuring the impact of common exercise-based programs on subjective and objective fatigue in activities of daily living in people with multiple sclerosis

INTRODUCTION AND AIMS

Fatigue leads people with multiple sclerosis (PwMS) to functional decline in the activities of daily living (ADL). Exercise is a recommended approach to counteract MS-fatigue and impaired functioning, and plenty of literature has investigated the most appropriate exercise forms for managing these symptoms. However, systematic reviews and meta-analyses are affected by high heterogeneity, due to differences in research studies' outcome measures and exercise protocols. Therefore, the main objective of this work was to test and compare the effects of the four commonest exercise programs (strength training – ST; aerobic training – AT; combined - strength *plus* aerobic - training – Combo; global rehabilitation - Rehab) on subjective fatigue, motor-functional status and metabolic efficiency in PwMS, in a single research effort. The study was set as a parallel, 4-armed randomized controlled trial structured in 3-month waves in which participants underwent 2-week baseline testing, 8-week training, and 2-week testing after intervention.

RESULTS

Sixty-two highly-fatigable PwMS were enrolled (75% women; age 46.6±11.8 years; median EDSS 3.5±1.6). They underwent a comprehensive assessment which included subjective fatigue (Fatigue severity scale – FSS; Modified fatigue impact scale – MFIS), mood (Beck depression inventory II – BDI-II), health-related quality of life (MS Qual-

ity of life-54 – MSQoL-54), cognitive functions, independence, motor-functional status (mobility, balance, strength, cardiopulmonary performance, body composition), and metabolic efficiency in ADL.

Concerning patient-reported outcome measures, set as primary outcomes, data showed that AT was the best exercise-based method to improve subjective fatigue, with a reduction of -18.8% ($p = 0.03$) for the FSS and -35.3% ($p < 0.01$) for MFIS. ST also reduced fatigue (-16.8%, $p = 0.02$ in FSS; -23.4%, $p = 0.04$ in MFIS), while Combo and Rehab reduced its impact (-33.8%, $p < 0.01$, and -26.2%, $p = 0.04$, in MFIS, respectively). Moreover, the mood was improved by AT and Combo with a reduction in BDI-II score of 54.1 ($p = 0.01$) and 28.6% ($p = 0.04$), respectively. Finally, most items investigated through MSQoL-54, such as "Physical health composite", "Change in health" and "Social function", resulted improved following AT and Combo.

Cognitive functions were significantly improved by all the exercise programs (ST +1.7 points, $p = 0.02$; Combo +1.7 points, $p = 0.02$; Rehab +1.5 points, $p = 0.04$) except AT. We offer that this may be ascribed to the lower number of verbal instructions and cognitive engagement needed for this relatively easier training.

Among motor-functional tests, improvements were detected in comfortable and fastest gait speed (+ 0.16 m·s⁻¹, $p < 0.01$ and + 0.22 m·s⁻¹, $p < 0.01$, respectively), and balance (reduction of body sway area; $p = 0.04$) following Rehab, as well as endurance test such as 6-minute walking test

following ST (+62m, $p=0.02$) and Combo (+55m, $p=0.01$), strength of knee and elbow's flexors and extensors following ST (mean increase of 14.1%, $p<0.05$) and Combo (mean increase of 16%, $p<0.05$). Moreover, cardiorespiratory fitness was enhanced following AT and Combo (from 25 mL·kg⁻¹·min⁻¹ to 27.1 mL·kg⁻¹·min⁻¹ and 28.5 mL·kg⁻¹·min⁻¹, $p=0.01$ and $p=0.02$, respectively). Finally, body composition showed improvements following ST, with slight increases in appendicular and global skeletal muscle mass (+3.2% and +2.4%, $p=0.04$ and $p=0.01$, respectively). Importantly, beyond the positive effects in line with the principle of training specificity, improvements in gait speed in 10-meter timed walk and distance covered during the 6-minute walking, changes exceeded the established thresholds of minimal important changes for these tests, suggesting a potential clinical relevance for such improvements.

Metabolic efficiency was evaluated via ergospirometry during the accomplishment of 7 ADL tasks ("wash a floor", "walking in a corridor", "laundry", "meal management",

"clean surfaces", "climb stairs", "dressing"). Respiratory exchange ratio (RER) was estimated and considered to quantify the percent quotes of carbohydrates and lipids oxidized during the ADL tasks. RER values increased in 7 out of 7 activities tested following ST (on, average, +12.9%, all $p<0.05$), in 4 following AT (+5.6%, all $p<0.05$), and in 3 following Combo (+5.4%, all $p<0.05$), suggesting increased reliance on carbohydrates during these tasks.

CONCLUSIONS

AT was confirmed as the most effective strategy to mitigate patient-rated fatigue severity and impact, and it should be considered by clinicians dealing with this symptom through exercise-based interventions. When combined with global strengthening exercises, AT leads to even larger effects on this symptom and on individual's global functioning. Finally, despite its fundamental role in managing muscle weakness and its positive effect on subjective fatigue, ST reduced reliance on lipids, a possible negative feature for fatigable PwMS.



PUBBLICAZIONI E COMUNICAZIONI A CONGRESSI PUBLICATIONS AND CONGRESS PRESENTATIONS

- Boi Anna, Morrone Marco, Ventura Lucia, Martinez Gianluca, Meloni Martina, Natale Davide, Manca Andrea, Franca Deriu. Exercise programs for fatigue and motor deficit in people with multiple sclerosis. 32nd Annual Meeting of European Charcot Foundation, 21-23 November 2024, Baveno, Italy
- Natale D, Boi A, Ventura L, Meloni M, Morrone M, Martinez G, Deriu F, Manca A, Cugusi L. Global strength training impairs lipid oxidation during ADL in highly fatigable persons with multiple sclerosis: a randomized controlled trial. XV Congresso Nazionale SISMES 2024, 19-21 September, Chieti, Italy
- Ventura L, Martinez G, Boi A, Morrone M, Cano A, Ginatempo F, Cereatti A, Salis F, Deriu F, Manca A. Measuring the impact of common exercise programs on subjective fatigue and metabolic efficiency during daily living activities in people with multiple sclerosis a randomized controlled pilot trial. ECTRIMS 2022 – ePoster. Multiple Sclerosis Journal

Progetto di ricerca finanziato con il Bando FISM 2020 per il periodo di 2 anni (prorogato di 12 mesi) e l'ammontare di 118.314 €

Research project funded by FISM Grant 2020 for a period of 2 years (extended by 12 months) and the amount of € 118,314

Valutazione dell'efficacia della riabilitazione logopedica con aggiunta della stimolazione elettrica neuromuscolare vs logopedia da sola in persone con SM e disfagia



Maria Grazia Grasso

I.R.C.C.S "Fondazione S. Lucia", Roma, Italia

COLLABORATORI/COLLABORATORS

Roberta Beccari, Alessandro Cuccaro, Giulia Musto, Giorgia Presicce, Marilia Simonelli

COLLABORAZIONI CON ALTRI GRUPPI / COLLABORATIONS WITH OTHER GROUPS

Giampaolo Brichetto, Margherita Monti Bragadin, *Associazione/Fondazione Italiana SM (AISM/ FISM), Centro di Riabilitazione, Genova, Italia*

Marco Rovaris, Giulia Fusari, Chiara Vitali, *IRCCS Fondazione Don Carlo Gnocchi, Milano, Italia*

Cristina Tassorelli, Carla Giudice, Daniele Martinelli, Elisa Monti, Arianna Servetto, *IRCCS Fondazione C. Mondino e Università di Pavia, Pavia, Italia*

Claudio Solaro, Iacopo Colombini, Shara De Santi, Katia Inglese, *Centro di Recupero e Rieducazione funzionale Mons. Luigi Novarese a Moncrivello, Vercelli, Italia*

Erica Grange, *Fondazione Italiana SM (FISM), Genova, Italia*

Federico Masserano Zoli, Anna Toscano, Adele Tufaro, *Associazione Italiana SM (AISM), Centro di Riabilitazione, Genova, Italia*

NMES Italian MS group

PREMESSE E OBIETTIVI

La disfagia è un sintomo invalidante della sclerosi multipla (SM) che può essere causa di morte quando associata a polmonite ab ingestis. Per trattare tale disturbo i logoterapisti utilizzano sia tecniche compensative che riabilitative. Le strategie compensative, come le modifiche posturali e le variazioni sulla consistenza del cibo, risultano però, parzialmente efficaci solo in persone con forma lieve di disfagia, mentre risultano essere inefficaci nelle forme più gravi di disfagia. Le strategie riabilitative invece includono sia esercizi propedeutici che mirano a rafforzare singolarmente i muscoli deglutitori che veri e propri esercizi di deglutizione con l'intento di rafforzare tutta la muscolatura deputata alla deglutizione. Ad oggi comunque, nessun trial clinico randomizzato ha dimostrato efficacia del trattamento riabilitativo della disfagia. Alla fine degli anni '80 è stata introdotta, come nuova tecnica per il trattamento per la disfagia, la stimolazione elettrica neuromuscolare (NMES) i cui principi teorici sono ben conosciuti in letteratura per quello che concerne la riabilitazione motoria degli arti. Tuttavia i protocolli riabilitativi per il trattamento della disfagia attraverso la tecnica "NMES" hanno mostrato

risultati contrastanti nello stroke e un solo studio scientifico è stato pubblicato su persone affette da SM.

Il presente progetto è stato uno studio clinico randomizzato in doppio cieco (pazienti e ricercatori in cieco) consistito in due gruppi: un gruppo di persone con SM e disfagia trattato con terapia riabilitativa standard associata alla tecnica NMES e un gruppo trattato con terapia riabilitativa standard con stimolazione neuromuscolare non attiva. Obiettivo primario dello studio è stato stabilire se la NMES associata ad un programma di logopedia fosse maggiormente efficace rispetto ai soli esercizi logopedici nelle persone con SM e disfagia.

RISULTATI

Abbiamo arruolato 101 persone con SM e disfagia. Tutti sono stati valutati con scale cliniche e strumentali per verificare la gravità della malattia e il grado di disfagia. Novantatré persone hanno terminato il trattamento e i loro dati sono stati analizzati per il confronto tra le scale al baseline e dopo la fine del trattamento. Alla fine del trattamento, entrambi i gruppi sono migliorati nelle scale di valutazione della disfagia senza significative differenze tra i due proto-

colli di trattamento, indicando l'efficacia del trattamento logopedico per la disfagia. Comunque, quando abbiamo valutato le persone con SM e disfagia in base alla gravità della malattia, il gruppo trattato con NMES e maggiore disabilità ha mostrato un significativo miglioramento rispetto al gruppo di controllo.

CONCLUSIONI

Il trattamento con NMES può quindi essere un importante, ulteriore, strategia da adottare nelle persone con SM e disfagia con maggiore disabilità.

To evaluate the activity and the efficacy of traditional swallowing therapy (TST) plus neuromuscular electrostimulation (NMES) vs TST plus sham-NMES in MS people with dysphagia

INTRODUCTION AND AIMS

Dysphagia is a disabling, life-threatening symptom that can cause death in people with multiple sclerosis (pwMS) through aspiration pneumonia. Speech therapists use behavioral therapies (compensatory and rehabilitative) to alleviate such swallowing problems, with limited benefit. Compensatory strategies such as postural changes and changes in food consistency, have been found to be partially effective, especially in patients with mild dysphagia and may be ineffective in patients with more severe dysphagia. The rehabilitative strategies include "no swallow exercises" which aim to strengthen isolated muscles used in swallowing (such as tongue strengthening) and "swallowing exercises" that aim at strengthening all the muscles used in swallowing while executing a hard, effortful, or prolonged swallow. To date, no randomized clinical trials have shown that rehabilitative strategies are effective. Neuromuscular electrical stimulation (NMES), often referred to as electrical stimulation, was introduced as a novel therapy for dysphagia in the late 1980s. The principles of NMES in the limb rehabilitation literature are well established. However, published protocols applying NMES to swallowing function have shown conflicting results in people with stroke and only one study was published on MS people. Our study

was a double-blinded, randomized clinical trial (patients and research staff blinded) with two arms: standard speech therapy plus Active NMES vs speech therapy with Sham NMES. The first aim of this study was to determine whether NMES added benefit to a therapy program consisting of standard swallowing exercises in dysphagic pwMS.

RESULTS

We enrolled 101 pwMS and dysphagia. All subjects were evaluated with clinical and instrumental examinations to establish the degree of disease severity and dysphagia severity. Ninety-three completed the treatment and their data were considered in the analysis from the baseline to after the end of the treatment. At the end of the treatment both groups improved in dysphagia, without any significant difference, showing an effectiveness of traditional swallowing therapy. However, when we evaluated pwMS according to their disease severity, the subgroup treated with NMES and higher disability showed a greater benefit than the control group.

CONCLUSIONS

In this light, the NMES can be an important, additional strategy to adopt in more disabling pwMS and dysphagia.



PUBBLICAZIONI E COMUNICAZIONI A CONGRESSI PUBLICATIONS AND CONGRESS PRESENTATIONS

- Presicce G, Brichetto G, Rovaris M, Tassorelli C, Solaro C, Grasso MG and NMES Italian MS Group
- Efficacy of traditional swallowing therapy (TST) plus neuromuscular electrostimulation (NMES) vs

test plus sham-nmes in MS people with dysphagia (pwMS). Oral presentation at 54th "Annual Conference of the Italian Society of Neurology", published in *Neurological Sciences* (2024) 45 (Suppl 1): S501

Progetto di ricerca finanziato con il Bando FISM 2019 per il periodo di 2 anni (prorogato di 5 mesi) e l'ammontare di 210.000 €

Research project funded by FISM Grant 2019 for the period of 2 years (extended by 5 months) and the amount of € 210,000

L'utilizzo del metodo Lee Silverman Voice Treatment (LSVT)-Loud in teleriabilitazione: studio pilota sulla fattibilità e gli effetti del trattamento sull'intensità vocale e sulla qualità della voce (ONLOUD)



Sara Isernia

Centro Avanzato di Diagnostica e Terapia Riabilitativa (CADiTeR), IRCCS Fondazione Don Carlo Gnocchi ONLUS, Milano, Italia

COLLABORATORI/COLLABORATORS

Chiara Vitali, Davide Cattaneo, Giulia Fusari, *LaRiCE lab, IRCCS Fondazione Don Carlo Gnocchi ONLUS, Milano, Italia*

Francesca Baglio, *Centro Avanzato di Diagnostica e Terapia Riabilitativa (CADiTeR), IRCCS Fondazione Don Carlo Gnocchi ONLUS, Milano, Italia*

PREMESSE E OBIETTIVI

Il progetto ONLOUD propone una nuova modalità di erogazione del trattamento logopedico *Lee Silverman Voice Treatment-Loud* (LSVT-Loud) a persone con sclerosi multipla (SM), a distanza in teleriabilitazione.

LSVT-Loud è un metodo riabilitativo intensivo, noto per la sua efficacia nel trattamento dei disturbi vocali, come la riduzione del volume della voce, già applicato con successo in varie patologie neurologiche, tra cui la SM.

Molte persone con SM soffrono infatti di riduzione del volume vocale e affaticamento della voce, limitando la loro partecipazione a contesti sociali e lavorativi. Tuttavia, nonostante tali problematiche impattino in modo significativo sulla qualità della vita delle persone, solo una piccola percentuale di queste accede a trattamenti logopedici specifici.

Nonostante l'efficacia dimostrata di trattamenti intensivi come LSVT-Loud, la necessità di frequenti spostamenti per raggiungere i centri di riabilitazione, unita alla fatica percepita legata alla malattia, rappresenta un ostacolo per molti pazienti. Negli ultimi anni, la teleriabilitazione si è affermata come una soluzione efficace per abbattere tali barriere, facilitando l'accesso a trattamenti riabilitativi intensivi direttamente da casa. Tuttavia, fino a oggi, mancavano studi specifici sulla fattibilità e l'efficacia di LSVT-Loud erogato a distanza per persone con SM.

L'obiettivo principale del progetto ONLOUD è stato quello di valutare la fattibilità del trattamento LSVT-Loud in regime di teleriabilitazione e raccogliere dati preliminari sui suoi effetti sul miglioramento della qualità e intensità

della voce. Lo studio ha coinvolto 21 partecipanti con SM, suddivisi in due gruppi: il primo ha seguito il trattamento a distanza tramite teleriabilitazione (Tele-LSVT-Loud), mentre il secondo ha partecipato a sessioni in presenza presso gli ambulatori (LSVT-Loud).

La raccolta delle informazioni necessarie allo studio è avvenuta attraverso valutazioni strumentali della voce, questionari, scale comportamentali, interviste settimanali individuali e focus group. Coinvolgere attivamente i partecipanti ha permesso di ottenere preziose informazioni non solo sull'efficienza e l'efficacia del trattamento, ma anche sul suo impatto sulla vita quotidiana.

RISULTATI

I risultati dello studio sono incoraggianti. Le persone che hanno seguito Tele-LSVT-Loud hanno mostrato una maggiore adesione al programma riabilitativo, partecipando a più sessioni rispetto a chi doveva recarsi in ambulatorio. La possibilità di seguire le sessioni da casa ha ridotto il carico organizzativo per i pazienti e i loro caregiver, facilitando l'integrazione del trattamento nella routine quotidiana. Inoltre, in entrambi i gruppi non si sono verificati eventi avversi significativi: i lievi effetti collaterali riscontrati, come un lieve mal di gola o tensione muscolare, sono stati temporanei e ben tollerati.

Rispetto all'interazione con la tecnologia, i partecipanti al gruppo Tele-LSVT-Loud hanno riportato un'esperienza positiva, evidenziando la comodità e la facilità di utilizzo della piattaforma di teleriabilitazione. Tra i principali vantaggi della teleriabilitazione, i partecipanti hanno sottolineato

la riduzione dello stress, il risparmio di tempo e la minore fatica legata agli spostamenti.

Anche dal punto di vista clinico, i risultati preliminari sono promettenti. Il trattamento ha portato a miglioramenti significativi nell'intensità vocale e nella percezione della propria voce, con una conseguente riduzione del disagio durante le interazioni sociali. Confrontando i dati con un gruppo di controllo storico che aveva ricevuto cure standard in presenza, Tele-LSVT-Loud ha mostrato benefici più evidenti nel ridurre il disagio percepito legato ai disturbi vocali.

CONCLUSIONI

In conclusione, il progetto ONLOUD dimostra che il trattamento LSVT-Loud può essere erogato a distanza tramite teleriabilitazione a persone con SM. Questa modalità non solo è stata ben tollerata dai partecipanti, ma ha anche ga-

rantito una maggiore adesione al trattamento, superando molte delle barriere logistiche tradizionali. Grazie alla possibilità di svolgere le sessioni da casa, Tele-LSVT-Loud ha favorito una maggiore autonomia per i pazienti e ridotto il carico per i caregiver. I risultati clinici preliminari indicano miglioramenti significativi nella qualità della voce e nel benessere comunicativo.

Questi risultati aprono nuove prospettive per studi futuri su larga scala, che potranno confermare l'efficacia del trattamento a distanza e renderlo una soluzione accessibile a un numero sempre maggiore di persone con sclerosi multipla.

A feasibility pilot study on Lee Silverman Voice Treatment (LSVT)-Loud on voice intensity and voice use in daily living in people with multiple sclerosis: a telerehabilitation approach (ONLOUD)

INTRODUCTION AND AIMS

The ONLOUD project proposes a new way to deliver Lee Silverman Voice Treatment (LSVT-Loud) to people with multiple sclerosis (MS), remotely via telerehabilitation.

LSVT-Loud is an intensive rehabilitation method known for its effectiveness in treating voice disorders, such as voice volume reduction, and has been used successfully in several neurological conditions, including MS.

Many people with MS suffer from voice volume reduction and voice fatigue, limiting their participation in social and work activities. However, only a small percentage of people with MS have access to specialist speech and language therapy, despite the significant impact these problems have on people's quality of life.

Despite the proven effectiveness of intensive treatments such as LSVT-Loud, the need for frequent travel to rehabilitation centres, combined with the perceived fatigue associated with the disease, is a barrier for many patients. In recent years, telerehabilitation has emerged as an effective solution to overcome these barriers, providing access to intensive rehabilitation treatments directly from home. However, there has been a lack of specific studies on the feasibility and effectiveness of remotely delivered LSVT-Loud for people with MS.

The main aim of the ONLOUD project was to assess the feasibility of LSVT-Loud treatment delivered via telerehabilitation and to collect preliminary data on its effects on improving voice quality and loudness. The study in-

volved 21 participants with MS who were divided into two groups: the first group followed the treatment remotely via telerehabilitation (Tele-LSVT-Loud), while the second group participated in face-to-face sessions at the clinic (LSVT-Loud).

The information needed for the study was collected through instrumental voice assessments, questionnaires and behavioural scales, weekly individual interviews and focus groups. By actively involving the participants, it was possible to obtain valuable information not only on the efficiency and effectiveness of the treatment, but also on its impact on daily life.

RESULTS

The results of the study are encouraging. People who followed Tele-LSVT-Loud showed greater adherence to the rehabilitation programme and attended more sessions than those who had to travel to the clinic. The ability to follow the sessions from home reduced the organisational burden on patients and their careers, making it easier to fit the treatment into their daily routine. In addition, there were no significant adverse events in either group: the mild side effects experienced, such as a slight sore throat or muscle tension, were transient and well tolerated.

Regarding interaction with technology, participants in the Tele-LSVT-Loud group reported positive experiences, highlighting the convenience and usability of the telerehabilitation platform. Among the main benefits of telereha-

bilitation, participants highlighted stress reduction, time savings and reduced travel fatigue.

From a clinical perspective, preliminary results are also promising. The treatment led to significant improvements in voice intensity and self-perception of voice, resulting in reduced discomfort in social interactions. When compared with a historical control group who received standard face-to-face treatment, Tele-LSVT-Loud showed greater benefits in reducing perceived discomfort related to voice disorders.

CONCLUSIONS

In conclusion, the ONLOUD project indicates that LSVT-Loud can be delivered remotely to people with MS via telerehabilitation. This modality was not only well tolerated

by participants, but also ensured greater adherence to treatment by overcoming many of the traditional barriers. Tele-LSVT-Loud facilitated greater autonomy for patients and reduced the burden on caregivers by allowing sessions to be delivered at home. Preliminary clinical results indicate significant improvements in voice quality and communicative well-being.

These results suggest new perspectives for future studies that could confirm the efficacy of remote treatment and make it an accessible solution for an increasing number of people with multiple sclerosis.



PUBBLICAZIONI E COMUNICAZIONI A CONGRESSI PUBLICATIONS AND CONGRESS PRESENTATIONS

- Vitali C, Fusari G, Baldanzi C, Cacciatore DM, Crispiatico V, Carullo A, Rovaris M, Cattaneo D, Baglio F, Isernia S. *Telerehabilitation for Lee Silverman Voice Treatment (Tele-LSVT)-Loud on voice intensity and voice use in daily living in people with multiple sclerosis: A protocol for a feasibility and pilot randomized controlled study.* Digit Health. 2023 6;9:20552076231218150
- Vitali C, Fusari G, Cacciatore DM, Smecca G, Baldanzi C, Carullo A, Rovaris M, Cattaneo D, Baglio F, Isernia S. *Delivering the Lee Silverman Voice Treatment-Loud method in-site versus Telerehabilitation in people with multiple sclerosis: feasibility evidence of a non-inferiority pilot randomized controlled trial.* Digit Health. Under review
- Vitali C, Fusari G, Baldanzi C, Smecca G, Di Benedetto S, Carullo A, Rovaris M, Cattaneo D, Baglio F, Isernia S. *Il Metodo Lee Silverman Voice Treatment-Loud in Telerabilitazione per il Trattamento della Voce per Persone con Sclerosi Multipla: Evidenze di fattibilità e aderenza del progetto ON-LOUD. Oral presentation. XXIII Congresso Nazionale SIRM. 15-17 Febbraio 2024, Firenze, Italia*
- Vitali C, Fusari G, Baldanzi C, Smecca G, Di Benedetto S, Carullo A, Rovaris M, Cattaneo D, Baglio F, Isernia S. *Il Metodo Lee Silverman Voice Treatment-Loud in Telerabilitazione per il Trattamento della Voce per Persone con Sclerosi Multipla: Evidenze di fattibilità e aderenza del progetto ON-LOUD. Il logopedista per una sanità di valore. Incontriamoci per conoscere, agire, cambiare. 15-16 Marzo 2024, Roma, Italia*
- Vitali C, Fusari G, Baldanzi C, Smecca G, Cacciatore DG, Di Benedetto S, Carullo A, Rovaris M, Cattaneo D, Baglio F, Isernia S. *A feasibility pilot study on Lee Silverman Voice Treatment (LSVT)-Loud on voice intensity and voice use in daily living in people with multiple sclerosis: a telerehabilitation approach. Congresso Scientifico Annuale 2024 Associazione Italiana Sclerosi Multipla e la sua Fondazione, 28-30 Maggio 2024, Roma, Italia*

Progetto di ricerca finanziato con il Bando FISM 2022 per il periodo di 1 anno (prorogato di 6 mesi) e l'ammontare di 29.925 €

Research project funded by FISM Grant 2022 for the period of 1 year (extended by 6 months) and the amount of € 29,925

Verso nuovi trattamenti

Towards new treatments

Modulare i meccanismi di senescenza per ridurre i processi neurodegenerativi nella sclerosi multipla progressiva



Stefano Previtali

Istituto di Neurologia Sperimentale (INSPE), Divisione di Neuroscienze, Università Vita-Salute San Raffaele, Milano, Italia

COLLABORATORI/COLLABORATORS

Cristina Rivellini, Marta Limonta

COLLABORAZIONI CON ALTRI GRUPPI / COLLABORATIONS WITH OTHER GROUPS

Marco Bianchi, Francesca Caprioglio, *Unità Dinamica della Cromatina, Divisione di genetica e biologia cellulare, Università Vita-Salute San Raffaele, Milano, Italia*

Patrizia D'Adamo, Giacomo Casati, *Unità di Disabilità intellettiva, Divisione di Neuroscienze, IRCCS Ospedale San Raffaele, Milano, Italia*

Angela Gritti, Alessandra Ricca, *Unità di terapia genica e cellule staminali neurali per le malattie di accumulo lisosomiale, SR-Tiget, IRCCS Ospedale San Raffaele, Milano, Italia*

PREMESSE E OBIETTIVI

La sclerosi multipla progressiva (SMP) è una malattia invalidante del sistema nervoso centrale ed è la conseguenza di un progressivo processo neurodegenerativo sovrapposto a demielinizzazione e infiammazione microgliale. Le cause non sono note e questa forma non risponde alle classiche terapie per la SM. Studi recenti hanno identificato nel danno del DNA e nello sviluppo di senescenza cellulare un possibile meccanismo patogenetico alla base della MS progressiva. Negli scorsi anni abbiamo generato dei modelli animali (Jab1 mutanti) che presentano i tipici aspetti clinici e neuropatologici della SMP. Il meccanismo molecolare alla base della neurodegenerazione in questo modello risiede in un progressivo danno del DNA degli oligodendrociti (OL) che vanno incontro a senescenza. Gli OL senescenti (sOL) rilasciano vari fattori solubili, tra cui HMGB1 e radicali liberi, che partecipano ai processi di neurodegenerazione. Studi preliminari in questi modelli animali suggeriscono che il danno del DNA e la senescenza possano propagarsi nel cervello di questi animali provocando la neurodegenerazione. Rimane però ancora non chiaro se la senescenza negli OL e HMGB1 siano sufficienti e necessari ad indurre neurodegenerazione e se possano costituire potenziali target terapeutici. Con lo scopo di chiarire questi punti proponiamo di rivelare se possa essere propagata la senescenza, scoprire se il danno del DNA e HMGB1 promuovano la degenerazione assonale nel modello animale di SMP ed infine di migliorare la neurodegenerazione del modello animale Jab1 bloccando l'induzione di senescenza.

RISULTATI

La senescenza cellulare è un processo biologico in cui le cellule perdono la loro funzione fisiologica, e sono caratterizzate dalla capacità di produrre molecole specifiche, ovvero di rilasciare fattori pro-infiammatori che possono alterare ed influenzare le cellule del tessuto circostante. Per identificare come il danno del DNA e la senescenza possa essere propagata tra le cellule abbiamo generato un modello in vitro sfruttando una linea immortalizzata di oligodendrociti. Mediante l'utilizzo un chemioterapico abbiamo indotto danno del DNA e l'attivazione dei meccanismi di senescenza negli oligodendrociti. Queste cellule senescenti sono in grado di propagare il danno del DNA e la senescenza ad altre cellule, inclusi i neuroni. In parallelo, abbiamo dimostrato che nel nostro modello animale la senescenza negli OL può indurre progressiva degenerazione assonale, incluse le cellule gangliari della retina. Fattori infiammatori umorali non sembrano coinvolti nel causare neurodegenerazione, come rilevato da specifici studi genetici. I risultati ottenuti hanno soddisfatto gli obiettivi di partenza e confermato l'importanza della senescenza nel promuovere neurodegenerazione nella SMP; tuttavia, quale sia il meccanismo molecolare specifico coinvolto nella neurodegenerazione rimane ancora da definire.

CONCLUSIONI

I nostri risultati hanno identificato come l'accumulo di danno del DNA e l'attivazione di meccanismi di senescenza negli oligodendrociti possano ampliare la senescenza

mediante contatto cellula-cellula e indurre morte cellulare in popolazioni neuronali in vitro ed in vivo nel nostro modello animale di SM progressiva.

Questi risultati suggeriscono che antagonizzare i processi di senescenza potrebbe essere un efficace espediente terapeutico.

Targeting senescence to revert neurodegeneration in a mouse model of progressive MS

INTRODUCTION AND AIMS

Progressive multiple sclerosis (PMS) is a severe disabling disorder of central nervous system, and it is consequence of progressive neurodegeneration superimposed to demyelination and microglia inflammation. The pathogenesis is still unclear and classical treatments for MS are poorly working. Recent findings suggest that DNA damage and cell senescence are involved in PMS development. In the last years, we generated mouse models (Jab1 mutants) exhibiting clinical and pathological findings of PMS. The molecular mechanism resides in oligodendrocyte (OL) cell autonomous-progressive DNA damage, which results in OL senescence. Senescent OLs (sOLs) release proinflammatory soluble factors, including HMGB1 and reactive oxygen species, which eventually lead to neurodegeneration. Preliminary findings in these animal models suggest that DNA damage and senescence may spread to neighboring cells, supporting disease progression and axonal damage. However, it is still unclear if OL senescence is sufficient and necessary to induce neurodegeneration. In this new study, we propose to reveal if senescence might be spread and if DNA damage and soluble factors might promote axonal degeneration in our mouse model of PMS.

RESULTS

Cellular senescence is a biological process in which cells lose their physiological functions and are characterized by metabolic changes including the expression and release

of proinflammatory factors, named senescence associated secretory phenotype (SASP). These factors can affect neighboring cells and, potentially, convert them to senescence in a paracrine manner. To study DNA damage and senescence spreading, in vitro, we used an immortalized oligodendroglial cell line that recapitulates the morphology and physiology of primary oligodendrocytes. We induced oligodendrocyte senescence by chemicals promoting DNA damage. First, we observed that soluble factors are not sufficient to propagate senescence between cells. Instead, we observed that senescent oligodendrocyte can spread senescence by direct cell contact. Finally, senescent oligodendrocyte can promote axonal degeneration and neuronal cell death, in vitro. In vivo, we confirmed that senescent OLs can induce progressive axonal/neuronal degeneration, including the retinal ganglion cells. We also demonstrated that targeting soluble factors does not prevent neurodegeneration, in vivo. Results achieved met initial objectives and confirmed the importance of senescence to promoting neurodegeneration in PMS.

CONCLUSIONS

Our results suggest that accumulation of DNA damage and activation of the senescence pathway in oligodendrocytes leads to senescence spreading and induces neuronal cells death in vitro and in vivo. These results suggest that antagonizing senescence processes could be an effective therapeutic strategy.



PUBBLICAZIONI E COMUNICAZIONI A CONGRESSI PUBLICATIONS AND CONGRESS PRESENTATIONS

- Rivellini C, Porrello E, Dina G, Mrakic-Spota S, Vezzoli A, Bacigaluppi M, Gullotta GS, Chaabane L, Leocani L, Marenga S, Colombo E, Farina C, Newcombe J, Nave KA, Pardi R, Quattrini A, Previtali SC. JAB1 deletion in oligodendrocytes causes senescence-induced inflammation and neurodegeneration in mice. *J Clin Invest.* 2022 Feb 1; 132(3):e145071
- Rivellini C, Ricca A, Caprioglio F, Gritti A, Bianchi M, Previtali SC. The role of senescence in neurodegeneration in a mouse model of progressive Multiple Sclerosis. Poster. 2022 Myelin Gordon Conference, Translational Science of Myelin: From Glial Biology to Repair. Il Ciocco, Lucca, Italia. 22-27 Maggio 2022
- Rivellini C, Caprioglio F, Ricca A, Gritti A, Quattrini A, Bianchi M, Previtali SC. Targeting senescence to revert neurodegeneration in a mouse model of progressive MS. Poster. Congresso Scientifico Annuale FISM 2022 Roma, Italia. 24-26 Maggio 2022
- Rivellini C, Caprioglio F, Dina G, Quattrini A, Bianchi M, Previtali SC. Targeting senescence to revert neurodegeneration in a mouse model of progressive MS. Poster. Congresso Scientifico Annuale FISM 2022 Roma, Italia. 30 Maggio-1° giugno 2023
- Rivellini C, Caprioglio F, Dina G, Quattrini A, Bianchi M, Previtali SC. Targeting senescence to revert neurodegeneration in a mouse model of progressive MS. Poster. Congresso Scientifico Annuale FISM 2022 Roma, Italia. 28-30 Maggio 2024

Progetto di ricerca finanziato con il Bando FISM 2020 per il periodo di 3 anni (prorogato di 6 mesi) e l'ammontare di 391.830 €

Research project funded by FISM Grant 2020 for the period of 3 years (extended by 6 months) and the amount of € 391,830

Astroцити e Interleuchina-9: un nuovo asse che regola neuroinfiammazione e neurodegenerazione in sclerosi multipla progressiva?



Elisabetta Volpe

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

COLLABORATORI/COLLABORATORS

Miriam Cinotti, Daniele Tidei, Gloria Donninelli

PREMESSE E OBIETTIVI

Interleuchina-9 (IL-9) è una proteina espressa nei cervelli dei pazienti con sclerosi multipla (SM) progressiva. Studi precedenti hanno evidenziato un ruolo protettivo di IL-9 in MS, attraverso un'azione anti-infiammatoria su cellule immunitarie. Comunque IL-9 può agire anche su cellule residenti del sistema nervoso centrale, come gli astroцити, i quali esprimono il recettore per IL-9. La funzione di IL-9 su astroцити non si conosce. È noto che gli astroцити possano svolgere un ruolo positivo o negativo nella SM, in base alla situazione ambientale in cui si trovano. Noi abbiamo ipotizzato che in un ambiente infiammatorio caratteristico di SM, IL-9 potenzi le funzioni positive degli astroцити. Per validare questa ipotesi, abbiamo utilizzato astroцити umani, che abbiamo stimolato con citochine infiammatorie, per simulare l'ambiente di un cervello di paziente con SM, e con IL-9 per studiarne l'effetto. Poiché gli effetti cellulari sono sempre associati a cambiamenti dell'RNA messaggero della cellula, noi abbiamo studiato i cambiamenti dell'RNA messaggero degli astroцити, dopo stimolazione con IL-9. Tali cambiamenti, infatti, comportano espressione di geni che, a loro volta, sono legati a cambiamenti funzionali. Lo scopo del progetto era di scoprire la putativa funzione benefica dell'IL-9 sugli astroцити umani, raggiungendo tre obiettivi specifici, cioè 1) la identificazione dei geni regolati da IL-9; 2) la individuazione della funzione di IL-9; 3) la caratterizzazione del meccanismo di azione di IL-9 in astroцити umani.

RISULTATI

I risultati di questo progetto ci hanno permesso di scoprire la funzione di IL-9 su astroцити umani. Nella prima parte dello studio ci siamo occupati di selezionare tre modelli di astroцити umani, di cui abbiamo verificato la capacità di rispondere alla citochina IL-9 attraverso l'analisi del suo recettore. In seguito abbiamo generato astroцити infiammatori utilizzando diversi stimoli infiammatori, per simu-

lare l'ambiente cerebrale del paziente con sclerosi multipla. In tale contesto abbiamo testato la funzione di IL-9 stimolando le cellule con la citochina IL-9. Per esplorare la funzione di IL-9 abbiamo analizzato l'espressione genica di astroцити infiammatori stimolati o non stimolati con IL-9. Questi esperimenti ci hanno portato alla scoperta che IL-9 regola la trascrizione del gene CSF2. La trascrizione di questo gene è fondamentale per la produzione di un fattore infiammatorio che si chiama GM-CSF, che è prodotto da astroцити infiammatori e coinvolto nell'attivazione della microglia durante la sclerosi multipla. Noi abbiamo osservato che GM-CSF è significativamente ridotto da IL-9. Inoltre, noi abbiamo caratterizzato il meccanismo di azione di IL-9 nei tre modelli di astroцити umani. In particolare abbiamo dimostrato che IL-9 riduce il fattore di trascrizione NF-κB, e il suo legame sul gene CSF2. Infatti, la molecola NF-κB normalmente si lega sul gene CSF2 e ne avvia la trascrizione, ma in presenza di IL-9 la sua espressione è ridotta comportando una riduzione del legame di NF-κB su CSF2 e una riduzione della sua trascrizione. Inoltre, i nostri studi ci hanno permesso di osservare che la ridotta trascrizione di CSF2 mediata da IL-9, si rifletteva in una simile riduzione della proteina GM-CSF, codificata da CSF2.

CONCLUSIONI

Abbiamo scoperto che IL-9 ha una funzione benefica sugli astroцити umani durante un processo infiammatorio. In particolare, in questo studio abbiamo caratterizzato un positivo effetto a cascata, che coinvolge l'attivazione del recettore di IL-9, la riduzione della molecola NF-κB, la diminuzione del legame tra NF-κB e il gene CSF2, la riduzione della trascrizione, e infine la riduzione della produzione di GM-CSF. Quindi, abbiamo identificato IL-9 come una nuova strategia di controllo dell'infiammazione astrocitaria, che viene messa in atto in modo naturale dal nostro organismo. Vista l'importanza degli astroцити infiammatori

nella SM, questa strategia dovrebbe essere potenziata per ridurre l'infiammazione nella SM. In conclusione, i nostri risultati sono rilevanti per il futuro

sviluppo di nuovi approcci terapeutici che vadano a potenziare la naturale attività anti-infiammatoria della citochina IL-9.

Astrocytes and interleukin-9: a novel axis regulating neuroinflammation and neurodegeneration in progressive multiple sclerosis?

INTRODUCTION AND AIMS

Interleukin-9 (IL-9) is a protein expressed in the brains of patients with progressive multiple sclerosis (MS). Previous studies have highlighted a protective role of IL-9 in MS, through its anti-inflammatory action on immune cells. However, IL-9 can also act on resident cells of the central nervous system, such as astrocytes, which express the IL-9 receptor. The function of IL-9 on astrocytes is unknown. It is known that astrocytes may play a positive or negative role in MS, depending on the environment they are in.

We hypothesized that in the inflammatory environment, typical of MS, IL-9 enhances the positive functions of astrocytes. To validate this hypothesis, we used human astrocytes, that we stimulated with inflammatory cytokines, to simulate the MS environment, and with IL-9 to study its effect. Since cellular effects are always associated with changes in the messenger RNA (mRNA), we studied the mRNA changes in astrocyte after IL-9 addition. These mRNA changes, involve expressions of genes which, in turn, are linked to functional changes. The aim of the project was to discover the putative beneficial function of IL-9 in human astrocytes, achieving three specific objectives: 1) identification of genes regulated by IL-9; 2) identification of the IL-9 function; 3) characterization of the molecular mechanism underlying IL-9 functions in human astrocytes.

RESULTS

The results of this project allowed us to discover the function of IL-9 in human astrocytes. In the first part of the study, we selected three models of human astrocytes, whose ability to respond to the cytokine IL-9 was verified by the analysis of its receptor. Then, we generated inflammatory astrocytes using different inflammatory stimuli, to simulate the brain environment of the patients with multiple sclerosis. In this context, we tested the function of IL-9 by stimulating cells with the cytokine IL-9. To explore the function of IL-9 we analyzed the gene expression of inflammatory astrocytes stimulated or not stimulated with IL-9. These experiments led us to discover that IL-9 regulates the transcription of the CSF2 gene. The transcription of this gene is fundamental for the production of

an inflammatory factor called GM-CSF, which is produced by inflammatory astrocytes and involved in the activation of microglia during multiple sclerosis. We observed that GM-CSF is significantly reduced by IL-9. Furthermore, we characterized the mechanism of action of IL-9 in three human astrocyte models. In particular, we demonstrated that IL-9 reduces the transcription factor NF- κ B, and its binding to the CSF2 gene. In fact, the NF- κ B molecule normally binds to the CSF2 gene and initiates its transcription, but in the presence of IL-9 its expression is reduced resulting in a reduction in the binding of NF- κ B to CSF2 and a reduction in its transcription. Furthermore, we observed that the reduced transcription of CSF2 mediated by IL-9 was reflected in a similar reduction of the GM-CSF protein, encoded by CSF2.

CONCLUSIONS

We found that IL-9 has a beneficial function in human astrocytes during an inflammatory process. In particular, in this study we characterized a positive cascade effect, which involves the activation of the IL-9 receptor, the reduction of the NF- κ B molecule, the decrease of the binding of NF- κ B on CSF2 gene, the reduction of CSF2 transcription, and finally the reduction of GM-CSF production. Therefore, we have identified IL-9 as a new strategy to control astrocytic inflammation, which is naturally implemented by our self. Given the importance of inflammatory astrocytes in MS, this strategy should be enhanced to reduce inflammation in MS.

In conclusion, our results are relevant for the future development of new therapeutic approaches that enhance the natural anti-inflammatory activity of the cytokine IL-9.



PUBBLICAZIONI E COMUNICAZIONI A CONGRESSI PUBLICATIONS AND CONGRESS PRESENTATIONS

- Guadalupi L, Vanni V, Balletta S, Caioli S, De Vito F, Fresegha D, Sanna K, Nencini M, Donninelli G, Volpe E, Mariani F, Battistini L, Stampanoni Bassi M, Gilio L, Bruno A, Dolcetti E, Buttari F, Mandolesi G, Centonze D, Musella A. Interleukin-9 protects from microglia and TNF-mediated synaptotoxicity in experimental multiple sclerosis. *J Neuroinflammation*. 2024 May 14;21(1):128
- Volpe E. Astrocytes and interleukin-9: a novel axis regulating neuroinflammation and neurodegeneration in progressive multiple sclerosis? Congresso Scientifico Associazione Italiana Sclerosi Multipla e la sua Fondazione, Roma, Italia, 24-26 maggio 2022
- Volpe E. IL-9 inhibits NF- κ B pathway in human reactive astrocytes. Congresso Scientifico Associazione Italiana Sclerosi Multipla e la sua Fondazione, Roma, Italia, 30 maggio - 1° giugno 2023
- Volpe E. IL-9 inhibits NF- κ B pathway in human reactive astrocytes. XXXI congresso AINI (Associazione Italiana Neuroimmunologia), Palermo, Italia, 3-6 maggio 2023
- Volpe E. IL-9/IL-9 receptor signaling is active in murine neurons from spinal cord" al XXXI congresso AINI (Associazione Italiana Neuroimmunologia), Palermo, Italia, 3-6 maggio 2023
- Volpe E. IL-9 inhibits NF- κ B pathway in human reactive astrocytes. III Annual Meeting RIN (rete IRCCS delle neuroscienze e della neuroriabilitazione). Roma, Italia, 30 novembre - 01 dicembre 2023
- Volpe E. IL-9/IL-9 receptor signaling is active in murine neurons from spinal cord. III Annual Meeting RIN (rete IRCCS delle neuroscienze e della neuroriabilitazione). Roma, Italia, 30 novembre - 01 dicembre 2023
- Volpe E. Interleukin-9 regulates astrocytes-microglia axis in multiple sclerosis brain. XXXII congresso AINI (Associazione Italiana Neuroimmunologia), Cagliari, Italia, 6-9 maggio 2024
- Volpe E. IL-9/IL-9 receptor signaling is active in murine neurons from spinal cord. XXXII congresso AINI (Associazione Italiana Neuroimmunologia), Cagliari, Italia, 6-9 maggio 2024
- Volpe E. Astrocytes and interleukin-9: a novel axis regulating neuroinflammation and neurodegeneration in progressive multiple sclerosis? Congresso Associazione Italiana Sclerosi Multipla e la sua Fondazione, Roma, Italia 28-30 Maggio 2024
- Volpe E. Study of impact of gene expression modulation by RNA binding proteins on inflammatory features in multiple sclerosis. Congresso Associazione Italiana Sclerosi Multipla e la sua fondazione Roma, Italia 28-30 Maggio 2024
- Volpe E. Interleukin-9 regulates astrocytes-microglia axis in neuroinflammation. Astrocyte Café. Trieste, Italia, 10-12 luglio 2024
- Volpe E. Interleukin-9 and its receptor are involved in neuronal activity within murine spinal cord. VII BraYn (Brainstorming Research Assembly for Young Neuroscientists) Conference. Verona, Italia, 9 -11 ottobre 2024

Progetto di ricerca finanziato con il Bando FISM 2020 per il periodo di 3 anni (prorogato di 12 mesi) e l'ammontare di 120.000 €

Research project funded by FISM Grant 2020 for the period of 3 years (extended by 12 months) and the amount of € 120,000

Somministrazione intranasale di vescicole extracellulari da cellule staminali adipose nel modello sperimentale di encefalomielite autoimmune sperimentale: una nuova strategia terapeutica per la SM



Ermanna Turano

Dipartimento di Neuroscienze, Biomedicina e Movimento, Università di Verona, Verona, Italia

COLLABORATORI/COLLABORATORS

Ilaria Scambi, Federica Virla, Mauro Caprioli

COLLABORAZIONI CON ALTRI GRUPPI / COLLABORATIONS WITH OTHER GROUPS

Barbara Rossi, Dipartimento di Medicina, Sezione di Patologia Generale, Università di Verona, Verona, Italia

Gabriele Angelini, Dipartimento di Medicina, Sezione di Patologia Generale, Università di Verona, Verona, Italia

Gabriela Constantin, Dipartimento di Medicina, Sezione di Patologia Generale, Università di Verona, Verona, Italia

Giulia Marostica, Istituto di Neurologia Sperimentale (INSpe), Unità di Neuroimmunologia Clinica Dibit 2 - Istituto Scientifico San Raffaele, Milano, Italia

Bruno Bonetti, Neurologia - Azienda Ospedaliera Integrata Universitaria di Verona, Verona, Italia

PREMESSE E OBIETTIVI

Le cellule staminali mesenchimali adipose (ASC) possono rappresentare un promettente approccio terapeutico per trattare diversi aspetti patologici della sclerosi multipla (SM) grazie alla loro capacità di raggiungere i siti danneggiati del sistema nervoso centrale (SNC) e promuovere la neuroprotezione e l'immunomodulazione. Negli ultimi anni, diverse prove scientifiche indicano che la maggior parte degli effetti biologici delle ASC sono dovuti principalmente al rilascio di fattori solubili in vescicole extracellulari (EVs) di piccole dimensioni che influenzano e modulano il microambiente circostante.

Nei nostri studi precedenti abbiamo dimostrato che le ASC-EVs somministrate per via endovenosa migliorano gli aspetti clinici e patologici del modello di encefalomielite autoimmune sperimentale (ESA), suggerendo un loro potenziale uso come terapia per la SM ed evitando l'utilizzo delle cellule parentali e gli effetti avversi a loro correlate. Per rendere l'approccio facilmente trasferibile nell'uomo, con questo progetto, abbiamo studiato e ottimizzato la via intranasale (i.n.), al fine di sviluppare una futura terapia sicura ed efficace per somministrare le ASC-EVs. L'utilizzo della via i.n. infatti permette una somministrazione delle ASC-EVs diretta, efficace e poco invasiva per i pazienti.

Partendo da evidenze sperimentali che dimostrano la capacità delle ASC-EVs, iniettate per via i.n., di migrare verso i siti di lesione negli animali ESA, abbiamo validato l'efficacia del trattamento sia in un modello *in vitro* di epitelio nasale che nel modello di ESA cronica, in vista di una futura potenziale strategia terapeutica per la SM.

RISULTATI

Nella prima parte dello studio è stato sviluppato un modello *in vitro* di epitelio nasale per valutare la capacità delle ASC-EVs di migrare attraverso l'epitelio richiamate da segnali infiammatori e di svolgere un'azione neuroprotettiva su cellule danneggiate.

Allo scopo sono state prodotte vescicole fluorescenti in grado di essere visualizzate e quantificate con appropriate tecnologie.

La seconda parte del progetto ha valutato il potere terapeutico delle ASC-EVs *in vivo* sul modello sperimentale di ESA testando due diversi regimi terapeutici di somministrazione i.n.

Il primo protocollo di somministrazione terapeutica ha previsto tre iniezioni i.n. di ASC-EVs ogni quattro giorni a partire dall'insorgenza della malattia. Il trattamento con ASC-EVs ha mostrato una significativa riduzione della

gravità della malattia rispetto ai topi di controllo, che è diventata evidente dopo la fine del trattamento, verso una fase avanzata della malattia. L'effetto clinico benefico nei topi malati è stato accompagnato da modificazioni a livello istologico. Infatti, l'analisi neuropatologica ha mostrato che le iniezioni i.n. di ASC-EVs sono state in grado di ridurre significativamente le aree di demielinizzazione nel midollo spinale degli animali trattati e di indurre una diminuzione significativa dei processi infiammatori. Inoltre, diverse molecole (citochine e chemochine) correlate alla risposta infiammatoria nella malattia ESA sono state modulate sia nel cervello che nel midollo spinale. Considerando questi promettenti risultati ottenuti utilizzando l'approccio di somministrazione i.n. combinato con il nostro regime di trattamento, abbiamo quindi testato un nuovo protocollo terapeutico che prevedeva dieci giorni consecutivi di trattamento a partire dall'insorgenza di ESA. In questo caso, gli animali trattati con ASC-EVs hanno mostrato un decor-

so clinico più lieve che è durato fino alla fase cronica tardiva della malattia. L'esito clinico è stato accompagnato da una significativa riduzione delle aree di demielinizzazione e una concomitante diminuzione dell'infiammazione nel midollo spinale dei topi ESA trattati.

CONCLUSIONI

I nostri risultati indicano che le ASC-EVs iniettate per via i.n. sono in grado di migliorare il decorso clinico nel modello di ESA cronica, diminuendo l'infiammazione e la neurodegenerazione. Future applicazioni terapeutiche basate sull'utilizzo delle ASC-EVs rappresentano un approccio promettente nella SM, che permette di evitare i problemi correlati alla terapia cellulare e ai suoi possibili effetti avversi. Inoltre, l'utilizzo della via i.n. per veicolare direttamente le ASC-EVs all'interno del SNC può consentire una somministrazione ripetuta, efficace e poco invasiva per i pazienti con SM.

Intranasal administration of extracellular vesicles derived from adipose mesenchymal stem cells (ASC-EVs) in experimental autoimmune encephalomyelitis: a novel therapeutic strategy for MS

INTRODUCTION AND AIMS

Adipose mesenchymal stem cells (ASCs) may represent a promising therapeutic approach to treat different pathological aspects of multiple sclerosis (MS) due to their ability to reach damaged sites of the central nervous system (CNS) and promote neuroprotection and immunomodulation. Recently, several scientific evidence indicate that most of the biological effects of ASCs are mainly due to the release of soluble factors in small-sized extracellular vesicles (EVs) that influence and modulate the surrounding microenvironment.

Our previous studies demonstrated that intravenous administration of ASC-EVs improves the clinical and pathological aspects of the experimental autoimmune encephalomyelitis (EAE) mouse model, suggesting their potential as a therapy for MS avoiding the use of parental cells and their related adverse effects. The aim of this project was to study and optimize the intranasal administration of ASC-EVs as a novel approach easily transferable to humans, in order to develop a future safe and effective therapy to directly deliver ASC-EVs in MS patients through a minimally invasive route. Starting from experimental evidence that i.n. injected ASC-EVs are able to migrate to the lesion sites in EAE animals, we validated the efficacy of i.n. ASC-EVs treatment both in an *in vitro* model of nasal epithelium and in the chronic *in vivo* EAE model.

RESULTS

In the first part of the study, an *in vitro* model of nasal epithelium was developed to evaluate the ability of ASC-EVs to migrate through the epithelium driven by inflammatory signals and to reach damaged target cells on which they performed a neuroprotective action. For this purpose, fluorescent vesicles were produced following a lentiviral transfection on the parental cells, in order to be visualized and quantified with appropriate technologies.

The second part of the project aimed to evaluate the therapeutic effect of ASC-EVs on the experimental model of EAE by testing two different therapeutic regimens of i.n. administration.

The first therapeutic administration protocol included three i.n. injections of ASC-EVs every four days starting from the onset of the disease. This approach showed a significant reduction in the clinical severity of the disease compared to control mice, which became evident after the end of the treatment, during the advanced stage of the disease. The beneficial clinical effect in treated mice was accompanied by histological changes. Indeed, neuropathological analysis showed that i.n. injection of ASC-EVs was able to significantly reduce the areas of demyelination in the spinal cord of treated animals and to induce a significant decrease in inflammatory processes. Furthermore, several molecules (cytokines and chemokines) related to

the inflammatory response in EAE disease were modulated both in the brain and in the spinal cord. Considering these promising results obtained using the i.n. administration approach combined with our therapeutic regimen, we then tested a new protocol involving ten consecutive days of treatment starting from the onset of EAE. In this case, ASC-EVs treated animals showed a milder clinical course until the late chronic phase of the disease. The clinical outcome was accompanied by a significant reduction in areas of demyelination and a concomitant decrease of inflammation in the spinal cord of EAE-treated mice.

CONCLUSIONS

Our results indicate that ASC-EVs injected via i.n. are able to improve the clinical outcome in the chronic EAE model, decreasing inflammation and neurodegeneration. Future therapeutic applications based on the use of ASC-EVs represent a promising approach in MS, avoiding the problems related to cell therapy and its possible adverse effects. Furthermore, the use of the i.n. route to directly deliver ASC-EVs into the CNS, may allow repeated, effective and minimally invasive administration, improving the compliance of MS patients.



PUBBLICAZIONI E COMUNICAZIONI A CONGRESSI PUBLICATIONS AND CONGRESS PRESENTATIONS

- Virla F, Versuraro M, Dabrowska S, Scambi I, Mariotti R, Turano E. Neuroprotective effect of Extracellular Vesicles derived from adipose stem cells diffused through an epithelium on injured neuronal cells. Poster Presentation at 20th National Congress of the Italian Society for Neuroscience (SINS), Turin, September 2023
- Caprioli M, Virla F, Marostica G, Scambi I, Furlan R, Mariotti R, Turano E. Neuroprotective effect of extracellular vesicles derived from adipose stem cells diffused through an epithelium on injured neuronal cell. Poster presentation at XXXIII National congress of the Italian Group for Neuromorphology Study (GISN), Verona, November 2023
- Angelini G, Scambi I, Marostica G, Bani A, Constantin G, Bonetti B, Rossi B, Turano E. Intranasal administration of extracellular vesicles derived from adipose mesenchymal stem cells (ASC-EVs) in experimental autoimmune encephalomyelitis: a novel therapeutic strategy for MS. Poster presentation at Scientific congress of the Italian Multiple Sclerosis Association and Italian Multiple Sclerosis Foundation (AISM-FISM), Roma, May 2024
- Caprioli M, Virla F, Angelini G, Bani A, Scambi I, Marostica G, Furlan R, Constantin G, Bonetti B, Mariotti R, Rossi B, Turano E. Intranasal delivery of extracellular vesicles from adipose mesenchymal stem cells as a novel therapy for multiple sclerosis. Oral presentation at XXXIV National Congress of the Italian Group for Neuromorphology Study (GISN) Catania, November 2024

Progetto di ricerca finanziato con il Bando FISM 2022 per il periodo di 1 anno (prorogato di 6 mesi) e l'ammontare di 29.925 €

Research project funded by FISM Grant 2022 for the period of 1 year (extended by 6 months) and the amount of € 29,925

La proteina prionica un nuovo target farmacologico nella sclerosi multipla



Francesca Fallarino

Dipartimento di Medicina e Chirurgia, Università degli Studi di Perugia, Perugia, Italia

COLLABORATORI/COLLABORATORS

Marco Gargaro, Giorgia Manni, Giuseppe Manfroni, Maria Letizia Barreca

COLLABORAZIONI CON ALTRI GRUPPI / COLLABORATIONS WITH OTHER GROUPS

Hermann Clemens Altmepfen, *Medical Center Hamburg – Eppendorf, Germany*

Emiliano Biasini, *Dipartimento di Biologia Cellulare, Computazionale e Integrata - CIBIO, Università di Trento, Trento, Italia*

PREMESSE E OBIETTIVI

Nonostante anni di ricerca intensiva, i meccanismi alla base della sclerosi multipla (SM) non sono ancora completamente compresi. Comprendere in profondità gli eventi patogenetici che guidano la progressione della malattia è fondamentale per identificare nuove e più efficaci strategie terapeutiche. Negli ultimi anni, si è scoperto che una proteina chiamata proteina prionica cellulare (PrPC) svolge un ruolo importante nel mantenere la salute della mielina e nel regolare il sistema immunitario. In studi sui modelli animali, l'assenza di questa proteina ha peggiorato i sintomi della sclerosi multipla, suggerendo che la PrPC potrebbe aiutare a proteggere il sistema nervoso.

Il nostro gruppo di ricerca ha individuato, grazie a tecniche avanzate, alcune piccole molecole capaci di "attivare" la PrPC. Una di queste, chiamata SM231, ha mostrato effetti promettenti in esperimenti su animali riducendo in modo significativo i sintomi della malattia. Questi risultati ci fanno pensare che "riattivare" la PrPC con farmaci specifici potrebbe rappresentare un nuovo approccio per trattare la sclerosi multipla. In questo progetto abbiamo esplorato come la PrPC nelle cellule dendritiche protegga il sistema nervoso e come possiamo sfruttare questa protezione per sviluppare nuove terapie. In particolare, tre sono stati gli obiettivi principali del progetto:

1. Capire il ruolo della PrPC in alcune cellule del sistema immunitario e nei modelli animali di sclerosi multipla.
2. Studiare le cellule immunitarie che presentano antigeni (le cellule dendritiche) per vedere se la presenza o assenza della PrPC influenzi la loro capacità di modulare o attivare le risposte immuni
3. Migliorare la molecola SM231, rendendola più stabile e efficace per poterla sviluppare in futuro come un possibile farmaco.

I risultati di questo progetto potrebbero aprire la strada a nuove terapie per la sclerosi multipla, offrendo nuove op-

portunità terapeutiche ai pazienti. La nostra ricerca punta non solo a comprendere meglio la malattia, ma anche a creare strumenti concreti per trattarla in modo innovativo.

RISULTATI

Il nostro team ha sviluppato nuovi composti, come SM231, in grado di modulare l'attività della proteina PrPC. Quando somministrati in modelli preclinici (EAE) di SM, questi composti hanno significativamente ridotto la gravità della malattia, suggerendo un possibile ruolo terapeutico nella sclerosi multipla. Inoltre, specifici sottotipi di **cellule dendritiche** (DCs), caratterizzati da un'elevata espressione di PrPC, sono stati associati a ruoli patogenetici nei disordini autoimmuni, rappresentando un potenziale target d'azione di questi composti. Il progetto ha raggiunto obiettivi fondamentali, ampliando la comprensione del ruolo della proteina PrPC nelle DCs. I risultati più rilevanti sono stati: *Analisi dell'espressione della proteina PrPC nelle cellule dendritiche*: Abbiamo dimostrato che le DCs esprimono sia una forma legata alla membrana che una forma secreta della PrPC, mai descritta prima in questo tipo cellulare. Questa forma secreta deriva dall'attività proteolitica della proteina ADAM10, che produce frammenti bioattivi con potenziali effetti sulla funzione immunitaria delle DCs. Stimoli infiammatori aumentano la secrezione della forma solubile, evidenziando un ruolo immunomodulatore della PrPC quando secreta.

Identificazione dei bersagli molecolari per SM231: Con una versione biotinilata di SM231, abbiamo identificato tre bersagli proteici presenti sulle DCs, due dei quali descritti per il loro ruolo nello sviluppo neuronale ma anche con caratteristiche che suggeriscono un'interazione con PrPC. Questi risultati evidenziano un'associazione complessa tra SM231 e le DCs, con importanti implicazioni immunoregatorie.

Sviluppo di nuovi derivati di SM231: Sono stati progettati derivati ottimizzati di SM231, come SM884, che presen-

tano maggiore idrosolubilità e stabilità metabolica. Sebbene SM884 mostri effetti immunomodulatori migliori di SM231, ulteriori ottimizzazioni sono necessarie per una possibile somministrazione orale. Altri derivati appartenenti alla stessa famiglia chimica (es. PrP39 e PrP40) hanno dimostrato un potenziale maggiore nel promuovere un fenotipo tollerogenico nelle DCs.

Induzione di un'attività tollerogenica nelle DCs: I derivati di SM231, come PrP39 e PrP40, inibiscono la proliferazione delle cellule T specifiche per antigeni e riducono l'attivazione immunogenica delle DCs infiammatorie, in particolare del sottotipo infiammatorio cDC2. Questo risultato è di grande rilevanza per la terapia delle malattie autoimmuni come la SM, dimostrando come la modulazione della PrPC possa conferire alle DCs un ruolo tollerogenico.

CONCLUSIONI

I risultati ottenuti rappresentano un importante passo avanti per il trattamento della sclerosi multipla avendo

delle implicazioni sia a breve che a medio e lungo termine: Le conoscenze acquisite sui meccanismi molecolari e sui nuovi composti come SM231 e i suoi derivati sosterranno ulteriori studi preclinici e ottimizzazioni farmacologiche. Questi risultati potrebbero portare allo sviluppo di terapie innovative in grado di modulare la risposta immunitaria nelle malattie autoimmuni, grazie alla capacità di indurre un fenotipo tollerogenico nelle DCs e di regolare l'attività della PrPC. Dal punto di vista scientifico, il progetto ha aperto inoltre nuove prospettive sulla regolazione immunitaria e sui meccanismi patogenetici delle malattie autoimmuni. La scoperta dei bersagli molecolari di SM231 e la loro correlazione con PrPC rappresentano una base solida per lo sviluppo di terapie più mirate ed efficaci, offrendo un duplice vantaggio: approfondire la conoscenza dei meccanismi patologici e avvicinarsi a una cura personalizzata per la SM.

Targeting cellular prion protein in multiple sclerosis

INTRODUCTION AND AIMS

Despite years of intensive research, the mechanisms underlying multiple sclerosis (MS) are still not fully understood. Gaining a deeper understanding of the pathogenic processes driving the progression of this disease is essential for identifying new and more effective therapeutic strategies. In recent years, scientists have discovered that a protein called cellular prion protein (PrPC) plays a crucial role in maintaining myelin health-the protective covering of nerve fibers-and in regulating the immune system. Studies using animal models have shown that the absence of this protein worsens MS symptoms, suggesting that PrPC might help protect the nervous system.

Our research group, using advanced technologies, has identified small molecules capable of "activating" PrPC. One of these, called SM231, has shown promising results in animal experiments, significantly reducing disease symptoms. These findings suggest that reactivating PrPC with specific drugs could offer a new approach to treating multiple sclerosis. In this project, we investigate how PrPC in specific immune cells called dendritic cells, protects the nervous system and how we can harness this protection to develop new therapies. Specifically, the project focused on three main objectives:

1. Understanding the role of PrPC in specific immune cell populations and animal models of multiple sclerosis.
 2. Studying antigen-presenting immune cells (such as dendritic cells) to determine whether the presence or absence of PrPC influences their ability to modulate or activate immune responses.
 3. Improving the SM231 molecule by making it more stable and effective to develop it as a potential future drug.
- The results of this project could pave the way for new therapies for multiple sclerosis, offering patients innova-

tive treatment options. Our research aims to improve understanding of the disease and develop practical tools to treat it in new and effective ways.

RESULTS

Our team has developed new compounds, such as SM231 and derivatives, capable of modulating the activity of the PrPC protein. When administered in preclinical models of MS (EAE), these compounds significantly reduced disease severity, suggesting a potential therapeutic role in multiple sclerosis. Additionally, specific subtypes of dendritic cells (DCs), characterized by high PrPC expression, have been associated with pathogenic roles in autoimmune disorders, representing a potential target of action for these compounds. The project has achieved key objectives, significantly advancing our understanding of the role of PrPC in DCs. The most relevant findings include:

Expression of PrPC in dendritic cells: We demonstrated that DCs express both a membrane-bound and a secreted form of PrPC, the latter being described for the first time in this cell type. This secreted form originates from the proteolytic activity of ADAM10, which generates bioactive fragments that may influence the immune function of DCs. Inflammatory stimuli enhance the secretion of the soluble form, further highlighting a potential immunomodulatory role for secreted PrPC.

Identification of SM231 targets: Using an engineered biotinylated version of SM231, we identified three protein targets on DCs, two of which are known for their roles in neuronal development but also exhibit characteristics suggesting interactions with PrPC. These findings reveal a complex association between SM231 and DCs, with significant immunoregulatory implications.

Development of optimized SM231 derivatives: We designed

improved derivatives of SM231, such as SM884, which exhibit greater water solubility and metabolic stability. While SM884 shows better immunomodulatory effects compared to SM231, further optimization is required for potential oral administration. Other derivatives from the same chemical family (e.g., PrP39 and PrP40) demonstrated even greater potential in promoting a tolerogenic phenotype in DCs.

Induction of tolerogenic activity in DCs: Derivatives of SM231, such as PrP39 and PrP40, by modulating DCs inhibit the proliferation of antigen-specific T cells and suppress the immunogenic activation of inflammatory DCs, particularly the inflammatory cDC2 subset. This finding is highly relevant for the treatment of autoimmune diseases like MS, demonstrating that modulating PrPC can confer a tolerogenic function to DCs.

CONCLUSIONS

The results represent a significant step forward in comprehension of pathogenic pathways in multiple sclerosis,

with implications both in the short term and in the medium to long term.

The knowledge gained on the molecular mechanisms and novel compounds such as SM231 and its derivatives will support further preclinical studies and pharmacological optimization.

These findings could lead to the development of innovative therapies capable of modulating immune responses in autoimmune diseases, leveraging the ability to induce a tolerogenic phenotype in DCs and regulate PrPC activity. From a scientific perspective, the project has opened new avenues in immunoregulation and the pathogenesis of autoimmune diseases.

The start of identification of molecular targets of SM231 and their correlation with PrPC provide a solid foundation for the development of more targeted and effective therapies. This progress offers a dual advantage: deepening our understanding of pathological mechanisms and advancing toward a personalized cure for MS.



PUBBLICAZIONI E COMUNICAZIONI A CONGRESSI PUBLICATIONS AND CONGRESS PRESENTATIONS

- Manni G, Gargaro M, Fontana S, Ricciuti D, Padiglioni D, Cipolloni M, Mazza T, Rosati J, Di Veroli A, Mencarelli G, Pieroni B, Carlos Silva Barcelos E, Scalisi G, Sarnari F, Di Michele A, Pascucci L, De Franco F, Zelante T, Antognelli C, Cruciani G, Talesa VN, Romani R, and Fallarino F. Amniotic fluid stem cell-derived extracellular vesicles educate type 2 conventional dendritic cells to rescue autoimmune disorders in a multiple sclerosis mouse model. *J Extracell Vesicles*. 2024 Jun;13(6):e12446
 - Zelante T, Paolicelli G, Fallarino F, Gargaro M, Vascelli G, De Zuani M, Fric J, Laznickova P, Kohoutkova MH, Macchiarulo A, Dolciami D, Pieraccini G, Gaetani L, Scalisi G, Trevisan C, Frossi B, Pucillo C, De Luca A, Nunzi E, Spaccapelo R, Pariano M, Borghi M, Boscaro F, Romoli R, Mancini A, Gentili L, Renga G, Costantini C, Puccetti M, Giovagnoli S, Ricci M, Antonini M, Calabresi P, Puccetti P, Di Filippo M, Romani L. A microbially produced AhR ligand promotes a Tph1-driven tolerogenic program in multiple sclerosis. *Sci Rep*. 2024 Mar 20;14(1):6651
 - Manni G, Buratta S, Pallotta MT, Chiasserini D, Di Michele A, Emiliani C, Giovagnoli S, Pascucci L, Romani R, Bellezza I, Urbanelli L, Fallarino F. Extracellular Vesicles in Aging: An Emerging Hallmark? *Cells*. 2023 Feb 6;12(4):527
 - Gargaro M, Scalisi G, Manni G, Briseño CG, Bagadia P, Durai V, Theisen DJ, Kim S, Castelli M, Xu CA, Meyer Zu Hörste G, Servillo G, Della Fazio MA, Mencarelli G, Ricciuti D, Padiglioni E, Giachè N, Colliva C, Pellicciari R, Calvitti M, Zelante T, Fuchs D, Orabona C, Boon L, Bessede A, Colonna M, Puccetti P, Murphy TL, Murphy KM, Fallarino F. Indoleamine 2,3-dioxygenase 1 activation in mature cDC1 promotes tolerogenic education of inflammatory cDC2 via metabolic communication. *Immunity*. 2022 Jun 14;55(6):1032-1050.e14
 - Gargaro M, Manni G, Scalisi G, Puccetti P, Fallarino F. Tryptophan Metabolites at the Crossroad of Immune-Cell Interaction via the Aryl Hydrocarbon Receptor: Implications for Tumor Immunotherapy. *Int J Mol Sci*. 2021 Apr 28;22(9):4644
 - Manni G, Lewis V, Senesi M, Spagnoli G, Fallarino F, Collins SJ, Mouillet-Richard S, Biasini E. The cellular prion protein beyond prion diseases. *Swiss Med Wkly*. 2020 Apr 24;150:w20222
- Abstracts**
- Francesca Fallarino, Maria Letizia Barreca, Giorgia Manni, Giulia Scalisi, Emiliano Biasini, Marco Gargaro, Giuseppe Manfroni. Small molecule modulators of prion protein (PrpC) in Dendritic cells regulate inflammatory responses in a model of Multiple Sclerosis *J Immunol* (2018) 200 (1_Supplement): 121.2
- Patent applications submitted and granted**
- Modulators of prpc and uses thereof
 - Publication/Patent Number: EP4340844A1
 - Publication Date: 2024-03-27, Application Number: EP22729717.3, Filing Date: 2022-05-20
 - Inventors: Biasini Emiliano, Barreca Maria Letizia, Manfroni Giuseppe, Fallarino Francesca

Progetto di ricerca finanziato con il Bando FISM 2019 per il periodo di 3 anni (prorogato di 6 mesi) e l'ammontare di 216.500 €

Research project funded by FISM Grant 2019 for the period of 3 years (extended by 6 months), and the amount of € 216,500

L'asse intestino-cervello: come il microbiota e la dieta influenzano lo sviluppo e la protezione da sclerosi multipla



Francesca Ronchi

*Institute of Microbiology, Infectious Diseases and Immunology (I-MIDI) Charité,
Universitaetsmedizin. Campus Benjamin Franklin Hindenburgdamm, Berlino, Germania*

PREMESSE E OBIETTIVI

Negli ultimi anni, gli scienziati hanno notato un aumento significativo dei disturbi legati al sistema immunitario, soprattutto nei Paesi occidentali. Questi includono allergie, malattie autoimmuni come la sclerosi multipla (SM) e persino disturbi metabolici e neurologici. La SM è una malattia debilitante in cui il sistema immunitario attacca erroneamente la guaina protettiva intorno alle fibre nervose, chiamata guaina mielinica, causando danni ai nervi. Sebbene le cause della SM non siano del tutto chiare, i ricercatori ritengono che i cambiamenti ambientali e di stile di vita, come la dieta e l'alterazione dei batteri intestinali (microbiota), giochino un ruolo importante.

L'intestino ospita trilioni di microbi che influenzano molte funzioni corporee, compreso il nostro sistema immunitario. Questi microbi metabolizzano il cibo, proteggono dagli agenti patogeni nocivi e comunicano anche con il cervello attraverso l'asse 'intestino-cervello'. Gli scienziati sospettano che un microbiota intestinale non sano, influenzato da una dieta povera, possa disturbare le risposte immunitarie e contribuire a malattie come la SM.

La nostra ricerca si concentra sulla comprensione del modo in cui la dieta e i microbi intestinali interagiscono per influenzare le risposte immunitarie e lo sviluppo della SM. Utilizzerà metodi scientifici avanzati e modelli di topo per indagare queste interazioni e rispondere a domande critiche su come diete diverse, come una dieta occidentale ad alto contenuto di grassi o una più sana dieta mediterranea, modellino il microbiota intestinale e il sistema immunitario.

Indagare il legame tra dieta e microbiota: I topi sono stati alimentati con diete diverse, tra cui una dieta occidentale ad alto contenuto di grassi e zuccheri e una dieta mediterranea più sana, per osservare come queste diete alteravano i batteri intestinali e le risposte immunitarie. Abbiamo anche studiato i geni e le funzioni metaboliche dei batteri in queste condizioni alimentari per capire come contribuiscono alla progressione della malattia.

RISULTATI

I topi alimentati con una dieta di tipo occidentale mostravano una grave disfunzione immunitaria e sviluppavano sintomi che interessavano più organi, compreso il cervello. Questi topi erano più suscettibili alla malattia simile alla SM rispetto a quelli che seguivano una dieta mediterranea o di controllo. Alcuni batteri intestinali specifici, in particolare quelli coinvolti nel metabolismo dei grassi e degli zuccheri, sembravano svolgere un ruolo cruciale nel promuovere la malattia quando erano esposti alla dieta di tipo occidentale.

È interessante notare che la dieta mediterranea sembrava avere un effetto protettivo, riducendo le risposte immunitarie dannose e la gravità della malattia.

I ricercatori hanno osservato che i cambiamenti nella dieta non solo hanno influenzato la composizione dei batteri intestinali, ma anche la loro capacità di produrre molecole che influenzano le cellule cerebrali e le risposte immunitarie.

Abbiamo anche esaminato l'interazione dei batteri intestinali con cellule immunitarie specifiche, come le cellule T helper 17 (Th17), che sono note per essere coinvolte nella SM. Esponendo queste cellule immunitarie ai batteri intestinali di topi con diete diverse, hanno scoperto che la dieta mediterranea riduceva le risposte immunitarie dannose, mentre la dieta occidentale le aggravava.

Oltre ad analizzare i microbi intestinali, i ricercatori hanno studiato il cervello dei topi affetti per identificare i cambiamenti a livello molecolare. Hanno scoperto che la dieta occidentale ha interrotto diversi percorsi biologici nel cervello, contribuendo all'infiammazione e alla malattia.

CONCLUSIONI

Questa ricerca evidenzia il profondo impatto della dieta sui batteri intestinali e come questi batteri possono influenzare le risposte immunitarie nel cervello. Suggestisce che le diete occidentali ricche di grassi e zuccheri malsani possono peggiorare le malattie autoimmuni come la SM,

alterando i microbi intestinali in modo dannoso. Al contrario, le diete più sane, come la dieta mediterranea, potrebbero potenzialmente ridurre il rischio o la gravità della SM, promuovendo un microbiota intestinale benefico.

I risultati sono promettenti e potrebbero aprire le porte a nuove strategie terapeutiche per la SM. La ricerca futura analizzerà più da vicino il modo in cui specifici batteri intestinali e i loro metaboliti influenzano la progressione della

malattia. La comprensione di questi meccanismi potrebbe portare allo sviluppo di interventi dietetici personalizzati o di trattamenti basati sul microbiota per la SM e altre malattie immuno-correlate.

Questo studio evidenzia che la dieta influisce profondamente sulla nostra salute intestinale, sul sistema immunitario e sul benessere generale.

The gut-brain axis: How microbiota and diet influence multiple sclerosis development and protection

INTRODUCTION AND AIMS

In recent years, scientists have noted a significant increase in immune-related disorders, particularly in Western countries. These include allergies, autoimmune diseases such as multiple sclerosis (MS), and even metabolic and neurological disorders. MS is a debilitating disease in which the immune system mistakenly attacks the protective sheath around nerve fibres, called the myelin sheath, causing nerve damage. While the causes of MS are not fully understood, researchers believe that environmental and lifestyle changes, such as diet and altered gut bacteria (microbiota), play an important role.

The gut is home to trillions of microbes that influence many bodily functions, including our immune system. These microbes metabolise food, protect against harmful pathogens and even communicate with the brain through the 'gut-brain axis'. Scientists suspect that an unhealthy gut microbiota, influenced by a poor diet, may disrupt immune responses and contribute to diseases such as MS.

Our research focuses on understanding how diet and gut microbes interact to influence immune responses and the development of MS. It will use advanced scientific methods and mouse models to investigate these interactions and answer critical questions about how different diets, such as a high-fat Western diet or a healthier Mediterranean diet, shape the gut microbiota and immune system. Investigating the link between diet and microbiota: Mice were fed different diets, including a high-fat, high-sugar Western-style diet and a healthier Mediterranean-style diet, to observe how these diets altered gut bacteria and immune responses. We also studied the genes and metabolic functions of the bacteria under these dietary conditions to understand how they contribute to disease progression.

RESULTS

Mice fed a Western-style diet showed severe immune dysfunction and developed symptoms affecting multiple organs, including the brain. These mice were more susceptible to MS-like disease than those on a Mediterranean or control diet.

Some specific gut bacteria, particularly those involved in the metabolism of fats and sugars, appeared to play a crucial role in promoting the disease when exposed to the Western-like diet.

Interestingly, the Mediterranean diet appeared to have a protective effect, reducing harmful immune responses and disease severity.

The researchers observed that dietary changes not only affected the composition of gut bacteria, but also their ability to produce molecules that affect brain cells and immune responses.

We also looked at how gut bacteria interacted with specific immune cells, such as T helper 17 (Th17) cells, which are known to be involved in MS. By exposing these immune cells to gut bacteria from mice on different diets, they found that the Mediterranean diet reduced harmful immune responses, while the Western diet exacerbated them.

In addition to analysing gut microbes, the researchers studied the brains of affected mice to identify changes at the molecular level. They found that the Western-style diet disrupted several biological pathways in the brain, contributing to inflammation and disease.

CONCLUSIONS

This research highlights the profound impact of diet on gut bacteria and how these bacteria can influence immune responses in the brain. It suggests that Western diets high in unhealthy fats and sugars may worsen autoimmune diseases such as MS by altering gut microbes in harmful ways. Conversely, healthier diets, such as the Mediterranean diet, could potentially reduce the risk or severity of MS by promoting a beneficial gut microbiota.

The findings are promising and might open the door to new therapeutic strategies for MS. Future research will look more closely at how specific gut bacteria and their metabolites influence disease progression. Understanding these mechanisms could lead to the development of personalised dietary interventions or microbiota-based treatments for MS and other immune-related diseases.

This study highlights that diet profoundly affects our gut health, immune system and overall wellbeing.



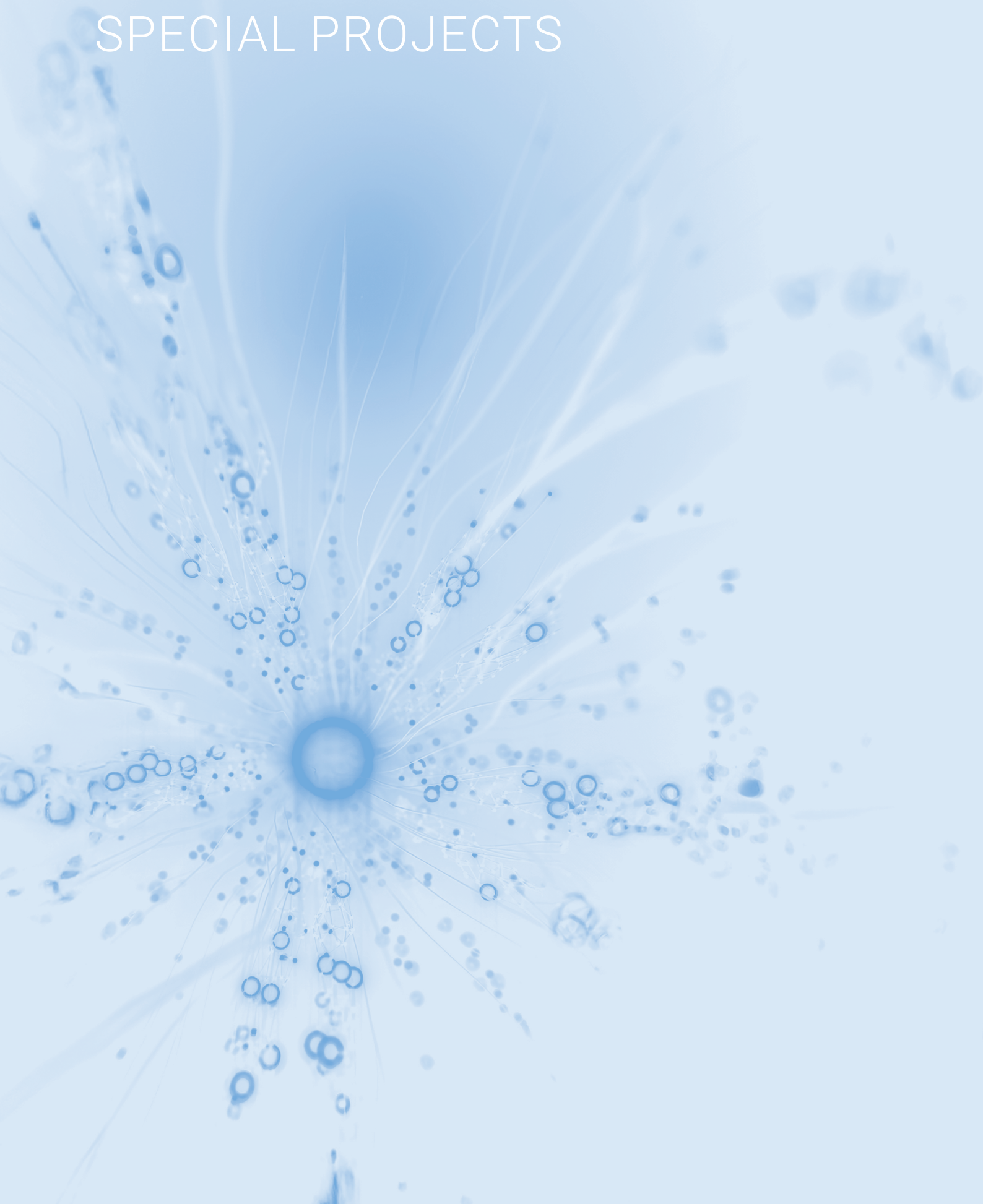
PUBBLICAZIONI E COMUNICAZIONI A CONGRESSI PUBLICATIONS AND CONGRESS PRESENTATIONS

- Diaz-Marugan L, Kantsjö JB, Rutsch A, Ronchi F. Microbiota, diet, and the gut-brain axis in multiple sclerosis and stroke. *Eur J Immunol.* 2023 Nov;53(11):e2250229
- Rutsch A, Kantsjö JB, Ronchi F. The Gut-Brain Axis: How Microbiota and Host Inflammasome Influence Brain Physiology and Pathology. *Front Immunol.* 2020 Dec 10;11:604179

Progetto di ricerca finanziato con il Bando FISM 2020 per il periodo di 3 anni e l'ammontare di 200.000 €
Research project funded by FISM Grant 2020 for the period of 3 years and the amount of € 200,000

PROGETTI SPECIALI

SPECIAL PROJECTS



Introduzione / Introduction

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

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

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

Covid 19 e SM

Covid 19 and MS

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



Francesco Cucca

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

COLLABORATORI / COLLABORATORS

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

COLLABORAZIONI CON ALTRI GRUPPI / COLLABORATIONS WITH OTHER GROUPS

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

PREMESSE E OBIETTIVI

La malattia da COVID-19, causata dal coronavirus SARS-CoV-2, ha avuto un impatto globale significativo, colpendo oltre 700 milioni di persone e causando più di 7 milioni di decessi. Per affrontare questa emergenza, il 27 dicembre 2020 è iniziata la campagna di vaccinazione in Europa. Ci sono state molte domande sull'efficacia dei vaccini in gruppi specifici, in particolare per le persone più a rischio di infezione o quelle che assumono terapie che influenzano il sistema immunitario, tra cui gli individui con Sclerosi Multipla (SM). Alcuni studi, compresi i nostri precedenti lavori, hanno evidenziato che terapie come gli anti-CD20 e il fingolimod possono ridurre la capacità di produrre anticorpi (risposta umorale) dopo la vaccinazione contro il SARS-CoV-2. Il nostro progetto proponeva di approfondire questi aspetti, con due principali obiettivi: 1) Studiare lo sviluppo e il declino della risposta immunitaria, sia umorale che cellulare, in persone con SM trattate con diverse terapie, dopo la vaccinazione contro il SARS-CoV-2; 2) Identificare i fattori genetici e ambientali che influenzano questa risposta.

RISULTATI

Abbiamo condotto uno studio per capire meglio la risposta immunitaria al vaccino anti-COVID-19 in persone con Sclerosi Multipla, analizzando sia gli anticorpi prodotti che il comportamento delle cellule del sistema immunitario in vari momenti dopo la vaccinazione, suddividendo lo studio in 3 parti sperimentali:

Sviluppo anticorpale

Abbiamo monitorato 1307 persone con SM per misurare i livelli di due tipi di anticorpi: quelli contro la proteina virale Spike (anti-S), che il virus usa per infettare le cellule, e quelli contro la proteina virale del Nucleocapside (anti-N). Le analisi sono state fatte in tre momenti: T1: un mese dopo la seconda dose del vaccino; T2: sei mesi dopo la seconda dose; T3: un mese dopo la terza dose (primo richiamo). I dati sono stati analizzati includendo variabili quali: età, sesso, fumo, progressione della malattia (EDSS) e precedente infezione da SARS-CoV-2. Abbiamo osservato che:

a) Dopo la seconda dose (T1): Le persone con SM trattate con farmaci come natalizumab, fingolimod e ocreli-

zumab avevano livelli di anticorpi più bassi rispetto a quelle non trattate. Anche fattori come età avanzata, sesso maschile, disabilità più grave e fumo erano associati a una ridotta risposta anticorpale.

- b) Dopo sei mesi (T2): I livelli di anticorpi anti-S erano diminuiti di circa tre volte rispetto al T1.
- c) Dopo la terza dose (T3): Tutti i gruppi hanno mostrato un aumento significativo degli anticorpi, dimostrando l'efficacia del richiamo.

Risposta delle cellule del sistema immunitario

Abbiamo anche analizzato mediante citometria a flusso il comportamento delle cellule del sistema immunitario (linfociti T e B) in 79 persone con SM (trattate con fingolimod, dimetilfumarato, natalizumab e non trattate) e 32 persone sane, considerando tre diversi punti temporali dalla vaccinazione e prima della stessa (T0). Abbiamo osservato che chi assumeva fingolimod aveva meno linfociti e una alterazione della loro distribuzione, con meno cellule "naïve" (quelle pronte a rispondere a nuovi stimoli) e più cellule di "memoria" (che ricordano infezioni precedenti). I pazienti trattati con natalizumab e dimetilfumarato, mostravano variazioni meno marcate rispetto a quelli trattati con fingolimod, con un aumento delle frequenze di specifiche classi di linfociti T nei pazienti trattati con dimetilfumarato, e un aumento delle cellule B nei pazienti trattati con natalizumab rispetto ai controlli sani.

Abbiamo inoltre osservato un generale aumento della frequenza dei linfociti B specifici per la proteina Spike con l'aumentare dei richiami vaccinali. Dopo la seconda dose (T1), i livelli di queste cellule erano più bassi nelle persone con SM rispetto ai soggetti sani, soprattutto tra chi era in trattamento. Tuttavia, dopo la terza dose (T3), i livelli di

queste cellule erano simili tra persone con SM e soggetti sani, suggerendo che i richiami vaccinali migliorano questa parte della risposta immunitaria con lo sviluppo di una riserva di linfociti B specifici per la proteina Spike simile a quella dei soggetti sani.

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

iii-Reattività delle cellule immunitarie

Abbiamo studiato anche come i linfociti B e T rispondono a stimoli specifici del virus (utilizzando un pool di molteplici frammenti del virus SARS-CoV-2), e abbiamo osservato che le persone con SM avevano linfociti più attivi a livello basale rispetto ai controlli, ma meno reattivi agli stimoli specifici. Questa osservazione è stata confermata anche dall'analisi dei livelli di proteine prodotte dalle cellule del sistema immunitario (citochine).

CONCLUSIONI

I risultati mostrano che i richiami vaccinali sono cruciali per migliorare la risposta immunitaria nelle persone con SM, anche in quelle che assumono farmaci che possono ridurre l'efficacia del vaccino. Inoltre, il sistema immunitario sembra mantenere una buona "memoria", garantendo una maggiore protezione a lungo termine.

Questi dati sono fondamentali per ottimizzare le strategie vaccinali nei pazienti con SM e in altri gruppi vulnerabili.

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

INTRODUCTION AND AIMS

The COVID-19 disease, caused by the SARS-CoV-2 coronavirus, has had a significant global impact, affecting over 700 million people and causing more than 7 million deaths. To address this emergency, the vaccination campaign in Europe began on December 27, 2020. Many questions have arisen regarding the efficacy of vaccines in specific groups, such as those at higher risk of infection or individuals undergoing immunomodulatory therapies, including people with Multiple Sclerosis (MS). Several studies, including our previous works, have highlighted that thera-

pies like anti-CD20 agents and fingolimod can reduce the ability to produce antibodies (humoral response) following SARS-CoV-2 vaccination. Our project aimed to further investigate these aspects, focusing on two main objectives: 1) To study the development and decline of both humoral and cellular immune responses in people with MS treated with different therapies after SARS-CoV-2 vaccination; 2) To identify genetic and environmental factors influencing these responses. These studies are crucial for improving protection and care strategies for MS patients and other vulnerable populations.

RESULTS

We conducted a study to better understand the immune response to the COVID-19 vaccine in MS patients, analyzing both the antibodies produced and the behavior of immune cells at different time points after vaccination. The study was divided into three experimental parts:

Antibody Production

We monitored 1,307 MS patients to measure the levels of two types of antibodies: those targeting the Spike protein (anti-S), which the virus uses to infect cells, and those targeting the Nucleocapsid protein (anti-N). Analyses were conducted at three time points: T1: one month after the second vaccine dose; T2: six months after the second dose; T3: one month after the third dose (first booster).

Data were analyzed considering variables such as age, sex, smoking, disease progression (EDSS), and previous SARS-CoV-2 infection. The key observations were:

- a) After the second dose (T1): People with MS treated with drugs like natalizumab, fingolimod, and ocrelizumab had lower antibody levels compared to untreated individuals. Additionally, factors such as older age, male sex, greater disability, and smoking were associated with a weaker antibody response.
- b) After six months (T2): Anti-S antibody levels had decreased by approximately threefold compared to T1.
- c) After the third dose (T3): All groups showed a significant increase in antibodies, demonstrating the effectiveness of the booster dose.

Immune Cell Response

We also analyzed the behavior of immune cells (T and B lymphocytes) in 79 MS patients (treated with fingolimod, dimethyl fumarate, natalizumab, or untreated) and 32 healthy individuals using flow cytometry. These analyses were conducted at different vaccination time points and prior to vaccination (T0).

We observed that patients treated with fingolimod had lower levels of lymphocytes and an alteration of their distribution, with reduced "naïve" cells (ready to respond to new stimuli) and increased "memory" counterpart (which recall previous infections).

Individuals treated with natalizumab or dimethylfumarate showed less pronounced changes. For example, there was an increase in the frequency of specific subsets of T lymphocytes in patients treated with dimethylfumarate, while B cells increased in those treated with natalizumab compared to healthy controls.

We also observed a general increase in the frequency of Spike-specific B lymphocytes with subsequent vaccine boosters. After the second dose (T1), the levels of these cells were lower in people with MS compared to healthy individuals, particularly among those undergoing treatment. However, after the third dose (T3), these levels were similar between MS patients and healthy individuals, suggesting that booster doses improve the immune response by developing a reserve of Spike-specific B lymphocytes comparable to healthy subjects.

Finally, when comparing the progression of Spike B cells over time with antibody levels, we observed that while anti-S antibodies tend to decrease over time, the frequency of Spike B cells increases. This suggests a greater persistence of antibody-producing cells, creating the conditions for a prompt response to subsequent stimuli, such as vaccination or new SARS-CoV-2 infections.

iii. Immune Cell Reactivity (3)

We also studied how B and T lymphocytes respond to virus-specific stimuli (using a pool of multiple SARS-CoV-2 fragments). We observed that MS patients had more active lymphocytes at baseline compared to healthy controls but were less reactive to specific stimuli. This observation was further confirmed by analyzing the levels of proteins (cytokines) produced by the immune cells.

CONCLUSIONS

The results show that booster vaccinations are crucial for improving the immune response in people with MS, even in those taking medications that may reduce vaccine effectiveness. Furthermore, the immune system appears to maintain strong "memory", ensuring greater long-term protection. These findings are essential for optimizing vaccination strategies in MS patients and other vulnerable groups.



PUBBLICAZIONI E COMUNICAZIONI A CONGRESSI PUBLICATIONS AND CONGRESS PRESENTATIONS

- Pitzalis M, Idda ML, Lodde V, Loizedda A, Lobina M, Zoledziewska M, Viridis F, Delogu G, Pirinu F, Marini MG, Mingoia M, Frau J, Lorefice L, Fronza M, Carmagnini D, Carta E, Orrù V, Uzzau S, Sol-la P, Loi F, Devoto M, Steri M, Fiorillo E, Floris M, Zarbo IR, Cocco E, Cucca F. Effect of Different Disease-Modifying Therapies on Humoral Response to BNT162b2 Vaccine in Sardinian Multiple Sclerosis Patients. *Front Immunol.* 2021 Dec 9;12:781843
- Idda ML, Pitzalis M, Lodde V, Loizedda A, Frau J, Lobina M, Zoledziewska M, Viridis F, Delogu G, Marini MG, Mingoia M, Masala M, Lorefice L, Fronza M, Carmagnini D, Carta E, Pilotto S, Castiglia P, Chessa P, Sergio U, Farina, Solla P, Steri M, Devoto M, Fiorillo E, Floris M, Zarbo IR, Cocco E, Cucca F. Cross-sectional analysis of the humoral response after SARS-CoV-2 vaccination in Sardinian Multiple Sclerosis patients, a follow-up study. *Front Immunol.* 2022 Aug 18;13:946356
- Orrù V, Serra V, Marongiu M, Lai S, Lodde V, Zoledziewska M, Steri M, Loizedda A, Lobina M, Piras MG, Viridis F, Delogu G, Marini MG, Mingoia M, Floris M, Masala M, Castelli MP, Mostallino R, Frau J, Lorefice L, Farina G, Fronza M, Carmagnini D, Carta E, Pilotto S, Chessa P, Devoto M, Castiglia P, Solla P, Zarbo RI, Idda ML, Pitzalis M, Cocco E, Fiorillo E, Cucca F. Implications of disease-modifying therapies for multiple sclerosis on immune cells and response to COVID-19 vaccination. *Front Immunol.* 2024 Jul 15;15:1416464.

Progetto speciale di ricerca FISM finanziato con il Bando COVID e SM 2021 per il periodo di 2 anni e l'ammontare di 350.000 €

FISM Research special project funded by FISM Grant COVID and MS 2021 for a period of 2 years and the amount of € 350,000

Ruolo e la funzionalità delle cellule T specifiche per SARS-CoV-2 in pazienti con sclerosi multipla vaccinati



Andrea Cossarizza

Dipartimento di Scienze Mediche e Chirurgiche materno infantili e dell'adulto, Università degli Studi di Modena e Reggio Emilia, Modena, Italia

COLLABORATORI / COLLABORATORS

Sara De Biasi, Domenico Lo Tartaro, Lara Gibellini, Alin Liviu Ciobanu, Anita Neroni

COLLABORAZIONI CON ALTRI GRUPPI / COLLABORATIONS WITH OTHER GROUPS

Diana Ferraro, Francesca Vitetta, Martina Cardì, *Unità Operativa Di Neurologia Dell'ospedale Civile, Azienda Ospedaliero-Universitaria Di Modena, Modena, Italia*

PREMESSE E OBIETTIVI

La pandemia da malattia da coronavirus 2019 (COVID-19) è stata un'emergenza sanitaria pubblica globale. Lo sviluppo dei vaccini e la capacità di attuare ampie campagne vaccinali hanno giocato un ruolo fondamentale nel controllo della pandemia da COVID-19, ma molte tematiche non hanno ancora avuto una chiara spiegazione. Una di queste riguardava i pazienti affetti da Sclerosi Multipla (SM) in trattamento con diverse terapie immunomodulanti (DMT) e che ricevevano il vaccino anti-SARS-CoV-2. Questo era particolarmente rilevante in alcuni di loro, soprattutto in quelli trattati con anticorpi monoclonali anti-CD20, che agendo sui linfociti B alterano significativamente le risposte umorali. Questi pazienti producono titoli scarsi di anticorpi e, quindi, sono ad alto rischio di sviluppare una forma grave di COVID-19.

Da un lato, studi che hanno valutato l'efficacia di diversi vaccini nei pazienti con SM, con e senza DMT, hanno mostrato che la maggior parte di questi farmaci consente di attivare una risposta immunitaria protettiva (almeno in termini di produzione di anticorpi), dall'altro è stato osservato che alcune di queste risposte immunitarie possono essere ridotte sotto trattamento con certi farmaci. Tuttavia, misurare solo la risposta umorale non è sempre sufficiente per una caratterizzazione precisa delle risposte immunitarie specifiche per il virus, come già dimostrato nel caso dell'infezione da virus varicella-zoster. In linea di principio, le cellule T specifiche per il virus, sia CD4+ sia CD8+, possono ridurre o eliminare la replicazione virale dopo una infezione, ma esistono pochi dati sulla funzionalità delle cellule T specifiche per il SARS-CoV-2. Infatti, la

loro importanza e il loro ruolo predittivo come correlati immunologici di protezione cellulare contro SARS-CoV-2 non sono ancora stati definiti, né vengono utilizzati per scopi diagnostici o prognostici.

Pertanto, è stato necessario un miglioramento della comprensione dei meccanismi responsabili della induzione di una potente e duratura protezione contro il SARS-CoV-2. Questo sarebbe stato cruciale per stabilire protocolli vaccinali basati sulle reali necessità dei pazienti, che tenessero conto delle loro terapie. I primi dati relativi a pazienti con altre patologie in trattamento con terapie immunosoppressive suggerivano che il vaccino potesse indurre una risposta immunitaria cellulo-mediata anche in assenza di una risposta umorale rilevabile. Tuttavia, per quanto riguarda i pazienti con SM in trattamento con DMT, i dati disponibili erano ancora troppo limitati per suggerire l'interruzione del trattamento per favorire una migliore risposta ai vaccini, considerando il rischio significativo di riattivazione della SM associato all'interruzione della terapia. Di conseguenza, l'obiettivo del nostro progetto era caratterizzare la risposta specifica delle cellule T e B al virus nei pazienti con SM vaccinati e trattati con diverse terapie. Abbiamo perciò valutato la qualità e la durata di tale risposta e identificato le principali caratteristiche funzionali e metaboliche delle cellule T specifiche.

RISULTATI

Studiando una coorte di 94 pazienti con SM recidivante-remittente trattati con diversi DMT e vaccinati contro il SARS-CoV-2, abbiamo mostrato che quasi 6 mesi dopo la terza dose di vaccino SARS-CoV-2 la risposta delle cellule

T e B specifiche per SARS-CoV-2 era simile tra i pazienti e i donatori sani, ad eccezione dei pazienti trattati con fingolimod (FTY) o natalizumab, i cui globuli bianchi presentavano caratteristiche immunologiche completamente diverse, nonché una diversa attivazione metabolica.

Nel caso dei pazienti trattati con FTY, abbiamo osservato che il fenotipo, la funzionalità e il metabolismo delle cellule T e B antigene-specifiche (Ag+) sembravano imitare le caratteristiche di un sistema immunitario "invecchiato". Infatti, questi pazienti erano caratterizzati da alte proporzioni di cellule T di memoria effettrici esprimenti PD-1 e CD57; cellule T CD4+ produttrici di granzimi; cellule T Ag+ con un profilo polifunzionale basso; percentuali diminuite di cellule B Ag+. Inoltre, la maggior parte delle cellule T e B Ag+ mostrava un metabolismo glicolitico, che potrebbe costituire un meccanismo di recupero per mantenere un fenotipo attivato e funzionale quando il metabolismo è alterato a causa del possibile danneggiamento mitocondriale legato all'età.

Abbiamo trovato che i pazienti con SM trattati con diverse DMT mostrano un fenotipo diverso delle cellule T e B Ag+. È stato dimostrato che alcuni effetti di FTY, dimetilfumarato (DMF) e rituximab/ocrelizumab somigliano all'immunosenescenza, poiché causano una diminuzione delle cellule B e T totali e inducono una regolazione negativa della differenziazione di Th1 e Th17, promuovendo al contempo la differenziazione di Th2. FTY non solo modula il traffico linfocitario, ma modula anche la composizione dei sottogruppi di cellule B e T, con un aumento delle cellule T di memoria effettrici circolanti e una diminuzione delle cellule T naive. Al contrario, il natalizumab induce un aumento delle cellule T totali (incluse Th1 e Th17), delle cellule B totali,

delle cellule B di memoria, ma altera la proporzione di plasmablasti. Inoltre, la maggior parte delle cellule B Ag+ nei pazienti trattati con natalizumab erano metabolicamente quiescenti.

Infine, utilizzando un approccio predittivo, abbiamo visto che la predominanza delle cellule T Ag+ CD4+, CD27+, PD-1dim, CD57dim metabolicamente attive e delle cellule T Ag+ CD8dim, CD11c+ e l'alta percentuale di plasmablasti non proliferanti, Ki67-, cellule B naive recentemente attivate con metabolismo mitocondriale attivato e cellule B atipiche metabolicamente attivate potrebbero predire la protezione dall'infezione da SARS-CoV-2, e quindi potrebbero conferire una protezione immunitaria elevata.

CONCLUSIONI

Questo studio dimostra per la prima volta che le cellule specifiche che vengono prodotte e attivate in seguito alla vaccinazione per il SARS-CoV-2 hanno un metabolismo che dipende, almeno in parte, dalla terapia che viene fatta per curare la sclerosi multipla. Questo ci permette di ipotizzare che questo fenomeno valga per tutti i vaccini (compresi i vari richiami) che una persona con SM può fare nel corso della vita, anche in età non più giovane, come ad esempio il vaccino per l'Herpes zoster. Di conseguenza, conoscere le vie metaboliche utilizzate dalle cellule attivate da un vaccino in un paziente che riceve una terapia invece di un'altra ci potrebbe permettere di migliorare la personalizzazione delle terapie vaccinali nei pazienti con sclerosi multipla, utilizzando, ad esempio, farmaci che intervengano appunto su tali vie.

Unravelling the role and functionality of T cells in treated multiple sclerosis SARS-CoV-2 vaccinated patients

INTRODUCTION AND AIMS

The coronavirus disease 2019 (COVID-19) pandemic has been a global public health emergency. The development of vaccines and the capacity to implement large vaccination campaigns has played a key role in COVID-19 pandemic control, but several questions were still open. One of them regarded patients with Multiple Sclerosis (MS) assuming different disease-modifying therapies (DMT) and receiving anti-SARS-CoV-2 vaccine. This was particularly relevant in some of them, such as those treated with anti-CD20 monoclonal antibodies, that typically alter humoral responses. These patients produce scarce titer of antibodies, and thus were at high risk of developing severe

COVID-19.

On the one side studies evaluating the effectiveness of different vaccines in MS patients treated or not with DMT showed that most of these agents allow for the mounting of a protective immune response (at least in terms of antibody production), on the other it was observed that immune responses can be reduced under some of them. However, measuring the humoral response alone is not always suitable for a precise characterization of virus-specific immune responses, as already shown for the case of varicella-zoster virus infection. In principle, virus-specific CD4+ and CD8+ T cells can reduce or eliminate viral replication after a viral infection has occurred, but scanty

data exist on the functionality of specific anti-SARS-CoV-2 T cells. Indeed, their significance and predictive role as immune correlates of cellular protection against SARS-CoV-2 have not been defined yet, nor are they used for diagnostic or prognostic purposes.

Thus, a better understanding of the mechanisms responsible for inducing a potent and durable protection against the SARS-CoV-2 was strongly needed. This could have been crucial to establish vaccination protocols based upon the real necessities of patients, considering their therapies. Early reports relative to patients with other medical conditions assuming immunosuppressive therapies suggest that vaccine can induce an efficient cell-mediated immunity even in the absence of a detectable humoral response. However, concerning MS patients assuming DMT, available data are still too limited to suggest treatment discontinuation to favor a better response to vaccines, considering the significant risk of MS reactivation associated with treatment withdrawal.

Accordingly, the aim of our project was to characterize the specific T and B cell response to the virus in vaccinated MS patients treated with different therapies. We evaluated the quality and durability of such response and identified the main functional and metabolic characteristics of specific T cells.

RESULTS

By investigating a cohort of 94 relapsing-remitting MS patients treated with different DMT and vaccinated with SARS-CoV-2 vaccination, we show that nearly 6 months after the third SARS-CoV-2 vaccine dose, the overall SARS-CoV-2-specific T and B cell response was similar among all patients and healthy donors, except for those treated with fingolimod (FTY) or natalizumab, whose cells displayed totally different immunological features as well as a diverse immunometabolic engagement.

In the case of FTY-treated patients, we saw that phenotype, function, and metabolism of antigen-specific (Ag⁺) T and B cells seemed to mimic the characteristic of an aged immune system. Indeed, these patients were characterized by high proportions of effector memory T cells expressing PD-1 and CD57; CD4⁺ T cells producing granzyme; Ag⁺ T cells with low polyfunctional profile; decreased percentages of Ag⁺ B cells. Moreover, most Ag⁺ T and B cells display a glycolytic metabolism which might constitute a rescue mechanism to maintain an activated and functional phenotype when metabolism is skewed due to the possible, well known age-dependent mitochondrial impairment.

We found that MS patients treated with different DMT display a different phenotype of Ag⁺ T and B cells. It has been shown that some effects of FTY, dimethyl fumarate (DMF) and rituximab/ocrelizumab resemble immunosenescence, as they cause a decrease in total B and T cells and induce a negative regulation of Th1 and Th17 differentiation while promoting Th2 differentiation. FTY not only modulates lymphocyte trafficking, but also modulates the composition of B and T cells subsets, with an in-

crease of circulating effector memory T cells and decrease of naïve T cells. On the contrary, natalizumab induces an increase in total T cells (including Th1 and Th17), total B cells, memory B cells, but alters the proportion of plasma-blasts. Moreover, most Ag⁺ B cells of natalizumab-treated patients were metabolically quiescent.

Finally, by using a prediction approach, we found that predominance of metabolically active Ag⁺ CD4⁺,CD27⁺,PD-1^{dim} CD57^{dim} T cells and CD8^{dim},CD11c⁺ Ag⁺ T cells and high percentage of non-proliferating, Ki67⁻ plasma-blasts, highly glycolytic, recently activated naïve B cells with activated mitochondrial metabolism and metabolically activated atypical B cells could predict protection from SARS-CoV-2 infection and may thus confer high immune protection.

CONCLUSIONS

This study demonstrates for the first time that the cells produced and activated following SARS-CoV-2 vaccination have a metabolism that depends, at least in part, on the therapy used to treat multiple sclerosis. This allows us to hypothesize that this phenomenon applies to all vaccines (including various booster doses) a person may receive throughout life, even in older age, such as the herpes zoster vaccine. Consequently, understanding the metabolic pathways used by vaccine-activated cells in a patient undergoing one therapy versus another could help improve the personalization of vaccination therapies in multiple sclerosis patients, for example, by using drugs that specifically target these pathways.



PUBBLICAZIONI E COMUNICAZIONI A CONGRESSI PUBLICATIONS AND CONGRESS PRESENTATIONS

Published papers

- De Biasi S, Paolini A, Lo Tartaro D, Gibellini L, Cossarizza A. Analysis of Antigen-Specific T and B Cells for Monitoring Immune Protection Against SARS-CoV-2. *Current Protocols*. 2023 Jan;3(1):e636
- De Biasi S, Lo Tartaro D, Neroni A, Rau M, Paschalidis N, Borella R, Santacroce E, Paolini A, Gibellini L, Ciobanu AL, Cuccorese M, Trenti T, Rubio I, Vitetta F, Cardi M, Argüello RJ, Ferraro D, Cossarizza A. Immunosenescence and vaccine efficacy revealed by immunometabolic analysis of SARS-CoV-2-specific cells in multiple sclerosis patients. *Nature Communications* 2024 Mar 29;15(1):2752
- De Biasi S, Gigan JP, Borella R, Santacroce E, Lo Tartaro D, Neroni A, Paschalidis N, Piwocka K, Argüello RJ, Gibellini L, Cossarizza A. Cell metabolism: Functional and phenotypic single cell approaches. *Methods Cell Biology* 2024;186:151-187
- De Biasi S, Ciobanu AL, Santacroce E, Lo Tartaro D, Degliesposti G, D'Angerio M, Leccese M, Cardi M, Trenti T, Cuccorese M, Gibellini L, Ferraro D, Cossarizza A. B- and T-cell Specific Responses to Vaccination against SARS-CoV-2 in Anti-CD20 Treated Patients with Relapsing-Remitting or Progressive Form of Multiple Sclerosis Reveal Immunosenescent Features. *Vaccines* 2024;12,924
- De Biasi S, Lo Tartaro D, Ciobanu AL, Santacroce E, D'Angerio M, Leccese M, Cardi M, Trenti T, Cuccorese M, Gibellini L, Ferraro D, Cossarizza A. Multi-OMICS evaluation of metabolic alterations in relapsing remitting multiple sclerosis patients is driven by different immunomodulatory therapies. *Target Journal: Science Advances/Nature Communications*, in preparation

Conference abstracts

- De Biasi, S. et al. Multiple Sclerosis patients on immunomodulatory drugs develop an exhaustive antigen-specific T and B cell response after three doses of SARS-CoV-2 vaccination. Oral presentation, AINI 2023, Palermo, Italy, May 4th 2023
- De Biasi, S. et al. Effective antigen-specific T- and B-cell response by multiple sclerosis patients on immunomodulatory drugs after three doses of SAS-CoV-2 mRNA vaccine. Oral presentation, IUIS 2023, Cape Town, South Africa, November 28th 2023
- De Biasi, S. et al. Effective antigen-specific T- and B-cell response by multiple sclerosis patients on immunomodulatory drugs after three doses of SAS-CoV-2 mRNA vaccine. Oral presentation, CYTO 2024, Edinburgh, United Kingdom, May 6th 2024
- De Biasi, S. et al. Metabolic pathways engaged by antigen-specific T and B cells after SARS-CoV-2 vaccination in multiple sclerosis patients on different immunomodulatory drugs reveal immunosenescence and predict vaccine efficacy. Oral presentation, SIICA 2024, Monopoli, Italy, May 24th 2024

Invited lectures

- De Biasi, S. et al SARS-CoV-2 antigen specific B and T cell response in vaccinated patients with Multiple Sclerosis receiving immunomodulatory treatments. European Attune NXT User Meeting, Amsterdam, March 2023
- De Biasi, S. Profilazione immunitaria nell'aging. Congresso Nazionale del Gruppo Italiano di Cito-metria 2024, Napoli, Italy, June 6th 2024

Progetto speciale di ricerca FISM finanziato con il Bando COVID e SM 2021 per il periodo di 2 anni, (prorogato di 6 mesi) e l'ammontare di 175.000 €

FISM Research special project funded by FISM Grant COVID and MS for a period of 2 years (extended by 6 months) and the amount of € 175,000

Advocacy

Advocacy

Validazione di un questionario per la misurazione dell'esperienza dei pazienti con SM su integrazione e centralità della persona nella presa in carico



Tommaso Manacorda, Paolo Bandiera

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

COLLABORATORI/COLLABORATORS

Piero Lamendola, Marco Salivetto, Federica Terzuoli, Mario Alberto Battaglia, Michela Ponzio

PREMESSE E OBIETTIVI

La sclerosi multipla (SM) è una malattia neurodegenerativa cronica del sistema nervoso centrale, causata da una risposta immunitaria anomala. Diagnosticata solitamente tra i 30 e i 40 anni, presenta sintomi variabili tra i pazienti e nel tempo, tra cui problemi visivi, atassia, tremori, incontinenza, dolore, affaticamento e difficoltà cognitive ed emotive. Pur essendo progressiva, le terapie modificatrici della malattia (DMT) possono rallentarne l'evoluzione e ritardare la disabilità. In Italia, si stima che nel 2024 vi siano circa 140.000 persone con SM.

L'assistenza a queste persone richiede un approccio multidisciplinare e integrato, poiché anche chi presenta una disabilità lieve necessita di cure specialistiche, riabilitative e supporto sociale. Tuttavia, la frammentazione dei servizi e il mancato coordinamento tra i diversi attori ostacolano spesso una gestione efficace della malattia. Per questo motivo, a livello internazionale sono stati sviluppati modelli di assistenza integrata e centrata sul paziente, riconosciuti come essenziali nella gestione delle malattie croniche. Sebbene non esista una definizione univoca di questi concetti, il loro obiettivo comune è mettere al centro le esigenze dei pazienti, migliorando la qualità delle cure e l'efficienza del sistema sanitario.

Le esperienze dei pazienti sono un indicatore chiave per valutare il coordinamento e l'efficacia dell'assistenza ricevuta. A tal fine, sono stati sviluppati strumenti come i Patient Reported Experience Measures (PREM), utilizzati per monitorare la qualità dei servizi sanitari. Tuttavia, molti di questi strumenti sono limitati a contesti specifici o a singoli episodi di cura. Le aziende sanitarie utilizzano i PREM per migliorare l'organizzazione dell'assistenza, e diverse evidenze dimostrano una correlazione tra una buona esperienza del paziente, migliori esiti clinici e maggiore sicurezza delle cure.

L'Osservatorio di AISM sulle politiche della SM analizza

periodicamente le esigenze delle persone con SM e la capacità del sistema sanitario e socio-assistenziale di rispondervi. Attraverso ricerche condotte con il coinvolgimento diretto delle persone con SM e dei Centri Clinici specializzati, raccoglie dati essenziali per orientare le attività di advocacy e il miglioramento delle politiche sanitarie. I risultati vengono pubblicati annualmente nel "Barometro della SM e delle patologie correlate", evidenziando, tra gli aspetti più rilevanti, la crescente richiesta di un'assistenza integrata e centrata sui bisogni dei pazienti, un obiettivo condiviso anche dal sistema sanitario italiano. I PDTA sono un elemento chiave delle strategie italiane per la gestione delle malattie croniche, inclusa la SM, e negli ultimi dieci anni si sono progressivamente affermati su tutto il territorio nazionale. AISM ha contribuito attivamente alla loro progettazione e implementazione, collaborando con le autorità sanitarie locali. Nell'ambito della sua strategia politica, ha sviluppato l'Integrated Care Experience Scale for MS (ICES-MS), un PREM specifico per valutare l'esperienza dell'assistenza integrata nella SM. L'obiettivo dello studio è stato validarne l'efficacia e l'affidabilità, analizzandone le proprietà psicometriche, per fornire dati utili a migliorare i percorsi di cura e l'esperienza delle persone con SM.

RISULTATI

La scala ICES-MS è stata somministrata a 1.602 persone con sclerosi multipla in Italia nell'ambito di un'indagine condotta da AISM. I risultati hanno confermato che si tratta di uno strumento solido e affidabile per valutare l'esperienza dell'assistenza integrata. Gli otto elementi che la compongono hanno mostrato un'elevata coerenza interna, dimostrando la capacità della scala di misurare in modo chiaro e preciso un unico concetto.

L'analisi dei dati ha evidenziato una correlazione significativa tra i punteggi ICES-MS e la qualità della vita percepita dalle persone con SM, misurata con strumenti consolidati

come EQ-5D-3L ed EQ-VAS. Inoltre, le persone con una disabilità più elevata e quelle più anziane hanno riportato punteggi inferiori, confermando che bisogni più complessi si associano a una minore percezione di integrazione dell'assistenza ricevuta. Un altro aspetto rilevante emerso dallo studio riguarda il rapporto tra i punteggi ICES-MS e l'organizzazione dei servizi sanitari: i pazienti seguiti da centri clinici con percorsi di cura integrati hanno totalizzato punteggi più alti, dimostrando l'utilità della scala nel distinguere diversi livelli di integrazione dell'assistenza.

CONCLUSIONI

La scala ICES-MS è un innovativo strumento per misurare in modo sintetico ed efficace l'esperienza delle persone con sclerosi multipla rispetto alla qualità delle cure integrate

ricevute. I risultati dello studio ne evidenziano il potenziale in diversi ambiti. Nel breve termine, può essere utilizzata per monitorare e migliorare la qualità dell'assistenza nei centri specializzati. Nel medio termine, può supportare i decisori sanitari nell'ottimizzazione dei percorsi di cura affinché rispondano meglio ai bisogni delle persone con SM. A lungo termine, il suo utilizzo potrebbe estendersi anche ad altre patologie croniche, consentendo una valutazione sistematica dell'integrazione dell'assistenza sanitaria. Uno degli aspetti più rilevanti emersi dallo studio è il legame tra l'esperienza dell'assistenza e l'autonomia delle persone con sclerosi multipla. Una maggiore integrazione delle cure favorisce una gestione più consapevole della propria condizione, un elemento chiave per migliorare la qualità della vita.

Validation of a questionnaire for measuring the experience of MS patients of integrated and patient-centred care

INTRODUCTION AND AIMS

Multiple sclerosis (MS) is a chronic neurodegenerative disease of the central nervous system, caused by an abnormal immune response. Typically diagnosed between the ages of 30 and 40, it presents with symptoms that vary among patients and over time, including visual impairments, ataxia, tremors, incontinence, pain, fatigue, and cognitive and emotional difficulties. Although it is a progressive disease, disease-modifying therapies (DMTs) can slow its progression and delay disability. In Italy, it is estimated that by 2024, approximately 140,000 people will be living with MS. Providing care for people with MS requires a multidisciplinary and integrated approach, as even those with mild disability need specialized treatment, rehabilitation, and social support. However, the fragmentation of services and lack of coordination among different stakeholders often hinder effective disease management. For this reason, patient-centered and integrated care models have been developed internationally and are recognized as essential in the management of chronic diseases. While there is no universally accepted definition of these concepts, their common goal is to prioritize patient needs, improving both the quality of care and the efficiency of the healthcare system.

Patient experiences are a key indicator in assessing the coordination and effectiveness of care received. To this end, tools such as Patient Reported Experience Measures (PREMs) have been developed to monitor the quality of healthcare services. However, many of these tools are limited to specific settings or single episodes of care. Healthcare providers use PREMs to enhance service or-

ganization, and various studies have shown a correlation between a positive patient experience, better clinical outcomes, and improved safety of care.

The AISM MS Policy Observatory periodically analyzes the needs of people with MS and the ability of the healthcare and social care systems to meet them. Through research involving both people with MS and specialized MS clinical centers, it collects essential data to guide advocacy efforts and improve healthcare policies. The findings are published annually in the "MS and Related Conditions Barometer," highlighting, among the most relevant aspects, the increasing demand for integrated and patient-centered care, a goal also shared by the Italian healthcare system.

Integrated Care Pathways (ICPs) are a key element in Italy's strategies for managing chronic diseases, including MS, and have been widely implemented across different regions over the past decade. AISM has actively contributed to their design and implementation, working closely with local health authorities. As part of its policy strategy, AISM has developed the Integrated Care Experience Scale for MS (ICES-MS), a specific PREM designed to evaluate the experience of integrated care in MS. The study aimed to validate its effectiveness and reliability, analyzing its psychometric properties to provide valuable data for improving care pathways and the overall patient experience.

RESULTS

The ICES-MS scale was administered to 1,602 people with multiple sclerosis in Italy as part of a survey conducted by AISM. The findings confirmed that it is a robust and reli-

able tool for assessing the experience of integrated care. The eight elements that comprise the scale demonstrated high internal consistency, proving its ability to measure a single concept clearly and accurately.

Data analysis revealed a significant correlation between ICES-MS scores and patients' perceived quality of life, as measured by validated tools such as EQ-5D-3L and EQ-VAS. Additionally, individuals with higher disability levels and older patients reported lower scores, reinforcing the idea that more complex care needs are associated with a lower perception of integrated care.

Another key finding concerns the relationship between ICES-MS scores and healthcare service organization. Patients treated at clinical centers with integrated care pathways reported higher scores, demonstrating the scale's effectiveness in distinguishing different levels of care integration.

CONCLUSIONS

The ICES-MS scale is an innovative tool for measuring the experience of people with multiple sclerosis regarding the quality of integrated care received. The study's results highlight its potential across various domains. In the short term, it can be used to monitor and improve the quality of care in specialized centers. In the medium term, it can support healthcare policymakers in optimizing care pathways, ensuring they are more responsive to the needs of people with MS. In the long term, its use could be extended to other chronic conditions, allowing for a systematic evaluation of healthcare integration.

One of the most significant findings of the study is the link between care experience and patient autonomy. Greater integration of services facilitates more informed self-management of the condition, which is a key factor in improving quality of life.

I Centri clinici per la sclerosi multipla in Italia: un'indagine sull'organizzazione dell'assistenza e le sfide future



Tommaso Manacorda, Paolo Bandiera

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

COLLABORATORI/COLLABORATORS

Francesco Borzacchini, Piero Lamendola, Federica Terzuoli

PREMESSE E OBIETTIVI

La sclerosi multipla (SM) è una patologia complessa, caratterizzata da sintomi variabili che evolvono nel tempo e possono ridurre progressivamente l'autonomia personale. Le persone con SM necessitano di un'assistenza continuativa e di un accesso agevole a una rete di servizi che includa specialisti di diverse discipline, percorsi riabilitativi, supporto psicologico e strumenti di protezione sociale. Una presa in carico efficace richiede un sistema assistenziale integrato, in grado di rispondere a queste molteplici esigenze.

In Italia, 240 Centri clinici specializzati operano all'interno del Servizio Sanitario Nazionale (SSN) per fornire diagnosi e trattamenti, coordinare interventi multidisciplinari ed erogare servizi. L'approccio alla gestione della SM è cambiato significativamente dagli anni '90 con l'introduzione delle terapie modificanti la malattia (DMT), rendendo l'assistenza sempre più complessa e strutturata.

Oggi, i Percorsi Diagnostico-Terapeutici e Assistenziali (PDTA) promuovono l'integrazione tra cure neurologiche, servizi riabilitativi, supporto psicologico e assistenza domiciliare, facilitando la collaborazione tra ospedali, territorio e servizi sociali. Per approfondire questi aspetti, AISM realizza un'indagine nazionale biennale coinvolgendo tutti i Centri clinici italiani. L'analisi, sviluppata con il supporto di un Comitato Consultivo composto da rappresentanti istituzionali, esperti del settore, accademici e ricercatori, raccoglie dati chiave sulle modalità organizzative, sulle buone pratiche adottate e sulle criticità ancora presenti.

RISULTATI

All'indagine 2024 hanno partecipato 180 Centri SM, pari a oltre tre quarti di quelli attualmente mappati in Italia. Il numero di persone seguite è aumentato significativamente rispetto al 2022, passando da 101.000 a quasi 121.000 pazienti. Tuttavia, il rapporto tra pazienti e personale sa-

nitario rimane critico: ogni neurologo segue in media 552 pazienti e ogni infermiere ne ha in carico 478, evidenziando la necessità di potenziare il personale per garantire una presa in carico adeguata.

L'indagine conferma che i PDTA territoriali, aziendali e interaziendali continuano a favorire una maggiore collaborazione tra Centri SM e altri servizi sanitari e sociosanitari. Tuttavia, rispetto al 2022, la loro diffusione non ha portato a un miglioramento uniforme della collaborazione. Questa risulta più solida quando riguarda servizi appartenenti allo stesso setting assistenziale (ad esempio ospedale o azienda sanitaria), ma meno efficace nel coordinamento con i servizi territoriali e sociali, come riabilitazione, assistenza domiciliare e strutture residenziali e semiresidenziali.

L'analisi evidenzia inoltre che i PDTA consolidati, già presenti nel 2022, hanno sviluppato le migliori sinergie con questi servizi, suggerendo che la stabilità organizzativa sia un fattore chiave per rafforzare la collaborazione nel tempo.

Anche la telemedicina sta guadagnando spazio nei Centri SM, sebbene con difficoltà. L'indagine mostra che molti Centri erogano servizi di telemedicina, ma spesso in modo sporadico. La gestione del paziente a distanza tramite email o messaggistica è il servizio più diffuso (71,3% dei Centri lo utilizza regolarmente, 21,1% occasionalmente), mentre supporto psicologico, terapia a distanza e visite neurologiche in videochiamata sono ancora poco praticati. Telemonitoraggio e teleriabilitazione, sebbene fondamentali, risultano attivi solo nel 15% circa dei Centri.

Rispetto al 2022, l'uso della telemedicina non è aumentato, a causa della mancanza di protocolli chiari (47,1% per le visite neurologiche telefoniche, 45,6% per quelle in videochiamata) e delle infrastrutture inadeguate per servizi più complessi come telemonitoraggio e teleriabilitazione. Un'altra criticità riguarda la gestione dei dati clinici digitali: oltre il 90% dei Centri segnala difficoltà, principalmente

per il tempo richiesto dalle procedure (75%) e per l'adeguatezza dei sistemi informatici (45%). Altri ostacoli includono le complicazioni amministrative legate alla privacy (37,4%) e la scarsa compatibilità tra i sistemi informatici (29,2%).

L'accesso ai servizi continua a presentare difficoltà per le persone con SM: il 75% dei Centri ha segnalato almeno un ostacolo, con i maggiori problemi legati ai tempi di attesa per Risonanza Magnetica (36,2%) e per le visite di controllo (24,7%). Le difficoltà sono più marcate nel Sud e nelle Isole, dove il 48,5% dei Centri riporta problemi nella prenotazione delle RMN e il 31,9% nelle visite di controllo.

CONCLUSIONI

I risultati confermano il ruolo centrale dei Centri SM nella presa in carico delle persone con SM, evidenziando la necessità di rafforzare l'organizzazione interna e il coordinamento con i servizi sociosanitari. L'aumento del numero di pazienti seguiti e la diffusione dei PDTA sono segnali po-

sitivi di un sistema in evoluzione, ma persistono criticità legate alla carenza di personale, alle difficoltà di accesso ai servizi e alla frammentazione della rete assistenziale.

I dati suggeriscono che la collaborazione tra Centri SM e altri servizi migliora nel tempo quando un PDTA è consolidato, indicando che la stabilità delle reti può favorire un'integrazione assistenziale più efficace. Tuttavia, rimane aperta la questione della relazione causale: Tuttavia, rimane aperta la questione della relazione causale: non è ancora chiaro se il PDTA favorisca la collaborazione o se, al contrario, sia più facilmente adottato in contesti in cui questa è già presente. Comprendere questo nesso sarà fondamentale per definire strategie future volte a migliorare la presa in carico delle persone con SM.

Le evidenze raccolte confermano l'urgenza di politiche sanitarie che rafforzino la rete assistenziale, migliorando il coordinamento tra ospedali e territorio, potenziando risorse umane e tecnologiche e promuovendo modelli di cura sempre più integrati ed efficienti.

Multiple sclerosis clinical centers in Italy: a survey on the organization of care and future challenges

INTRODUCTION AND AIMS

Multiple sclerosis (MS) is a complex condition characterized by variable symptoms that evolve over time, potentially leading to a progressive reduction in personal autonomy. People with MS require continuous care and easy access to a network of services that includes specialists from different disciplines, rehabilitation programs, psychological support, and social protection measures. Effective care management requires an integrated healthcare system capable of addressing these diverse needs. In Italy, 240 specialized clinical centers operate within the National Health Service (SSN) to provide diagnosis, treatment, multidisciplinary care coordination, and service delivery. The approach to MS management has evolved significantly since the 1990s with the introduction of disease-modifying therapies (DMTs), making care more complex and structured.

Today, Integrated Care Pathways (ICPs) promote the integration of neurological care with rehabilitation services, psychological support, and home care, fostering stronger collaboration between hospitals, community services, and social care providers. To explore these aspects further, AISM conducts a biennial national survey involving all Italian MS Clinical Centers. This analysis, developed with the support of an Advisory Committee composed of institutional representatives, industry experts, academics, and researchers, gathers key data on organizational models, best practices, and remaining challenges.

RESULTS

In the 2024 survey, 180 MS Centers participated, covering over three-quarters of those mapped in Italy. The number of patients receiving care has increased significantly since 2022, rising from 101,000 to nearly 121,000. However, the patient-to-healthcare professional ratio remains critical: each neurologist manages an average of 552 patients, while each nurse follows 478, highlighting the need to strengthen human resources.

The survey confirms that territorial, corporate, and inter-company ICPs continue to support greater collaboration between MS Centers and other healthcare and social care services. However, their expansion since 2022 has not led to a uniform improvement in collaboration. Coordination is more effective when services belong to the same healthcare setting (e.g., hospitals or local health authorities), but less effective when integrating with community and social services, such as rehabilitation, home care, and residential or semi-residential facilities.

The analysis further reveals that well-established ICPs, already in place in 2022, have developed stronger synergies with these services, suggesting that organizational stability plays a key role in strengthening long-term collaboration. Telemedicine is also becoming more widespread in MS Centers, although challenges remain.

The survey indicates that many Centers provide telemedicine services, but often inconsistently. Remote patient management via email or messaging is the most common service, used regularly by 71.3% of Centers and occasion-

ally by 21.1%. However, psychological support, remote therapy, and neurological consultations via video calls remain less common and are typically offered only sporadically. Telemonitoring and telerehabilitation, despite their importance, are available in only approximately 15% of Centers.

Since 2022, the use of telemedicine has not increased, primarily due to the lack of clear protocols (reported by 47.1% of Centers for neurological telephone consultations and 45.6% for video calls) and inadequate infrastructure for more complex services like telemonitoring and telerehabilitation. Another major challenge concerns the management of digital clinical data: over 90% of Centers report difficulties, mainly due to time-consuming procedures (75%) and inadequate IT systems (45%). Additional barriers include administrative complications related to privacy regulations (37.4%) and lack of compatibility between different IT systems (29.2%).

Access to services remains a significant challenge for people with MS, with 75% of Centers reporting at least one difficulty. The most pressing issues include long waiting times for MRI scans (36.2%) and follow-up visits (24.7%). These challenges are more severe in Southern Italy and the Islands, where 48.5% of Centers report difficulties scheduling MRI scans and 31.9% report delays in follow-up visits.

CONCLUSIONS

The findings confirm the central role of MS Centers in managing the care of people with MS, while also highlighting the need to strengthen internal organization and coordination with social and healthcare services. The increase in the number of patients receiving care and the expansion of ICPs are positive indicators of an evolving system. However, persistent challenges include staff shortages, barriers to accessing services, and the fragmentation of the healthcare network, which does not always function in a fully integrated manner. The data suggest that collaboration between MS Centers and other services strengthens over time when an ICP is well-established, indicating that network stability can enhance healthcare integration. However, the causal relationship remains unclear: it is not yet evident whether the ICP fosters collaboration or whether it is more likely to be adopted in contexts where collaboration already exists. Understanding this dynamic is crucial to shaping future strategies for MS care management. The evidence collected underscores the urgent need for policies that strengthen the healthcare network by improving coordination between hospitals and community services, increasing human and technological resources, and promoting more integrated and advanced care models.

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



Daiana Bezzini

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

COLLABORATORI/COLLABORATORS

Monica Ulivelli

COLLABORAZIONI CON ALTRI GRUPPI / COLLABORATIONS WITH OTHER GROUPS

Centri che al momento stanno arruolando soggetti / The centers currently enrolling subjects

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

Simone Lorenzuti, Azienda sanitaria universitaria Friuli Centrale, Udine, Italia

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

Marco Salvetti, Università La Sapienza Roma, Roma, Italia

Antonella Conte, Università La Sapienza Roma, Roma, Italia

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

Eugenio Pucci, Ospedale Augusto Murri, Fermo, Italia

Franca Deriu, Università degli studi di Sassari, Sassari, Italia

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

Giampaolo Brichetto, Unità di riabilitazione della sezione AISM di Genova, Genova, Italia

Sezioni AISM

PREMESSE E OBIETTIVI

Le persone con sclerosi multipla (SM) potrebbero essere più suscettibili alle infezioni, al cancro e a patologie croniche rispetto alla popolazione generale non per la presenza della patologia in sé, ma in relazione all'utilizzo di alcune specifiche terapie o al grado di disabilità. In base alle conoscenze al momento disponibili, l'uso di molti farmaci modificanti la malattia (DMD) richiede un'attenzione particolare sulla possibilità di eventi infettivi o insorgenza di tumori o malattie croniche. In questa prospettiva, tra i bisogni clinici ancora insoddisfatti nelle persone con SM, si pone l'acquisizione di un quadro completo sullo stato di immunizzazione contro le principali malattie infettive e sul rischio di cancro e patologie croniche.

Nonostante la rilevanza della medicina preventiva nel processo decisionale clinico, non ci sono studi in letteratura sull'aderenza di questi pazienti alle campagne di screening e vaccinazione in Italia. Lo scopo dello studio sarà quello di descrivere l'adesione alla medicina preventiva da parte delle persone con SM, indagando possibili differenze tra persone con e senza SM nell'accesso a vaccinazioni e screening. Inoltre, cercheremo di identificare, in entrambi i gruppi, le potenziali variabili correlate all'aderenza alla

medicina preventiva, compresa l'influenza della pandemia Covid-19. Questo progetto di 1 anno è concepito come uno studio multicentrico, osservazionale e retrospettivo, diviso in due parti. La prima è concepita come uno studio trasversale che arruolerà circa 1250 pazienti dai database di Centri clinici, Unità di Riabilitazione e sedi locali dell'Associazione Italiana Sclerosi Multipla del Nord, Centro e Sud Italia. Saranno arruolati pazienti di età superiore ai 25 anni con diagnosi confermata di SM. I dati saranno raccolti attraverso un questionario somministrato per telefono, previo consenso informato scritto.

La seconda parte è concepita come uno studio caso-controllo, all'interno dello studio trasversale, che arruolerà un sottogruppo di 300 persone con SM (gruppo casi) e 300 senza SM, appaiate per sesso, età e area di residenza (gruppo controllo) per analizzare l'impatto della malattia e/o disabilità sull'accesso/aderenza alla medicina preventiva. La conoscenza dello stato di immunizzazione e del rischio di cancro e patologie croniche è fondamentale per la pratica clinica nella gestione dei nuovi DMD ma anche per la salute pubblica nel determinare l'eventuale necessità di percorsi di cura integrati mirati alle persone con SM.

RISULTATI

Al momento il progetto è nella fase di arruolamento pazienti e raccolta dati tramite interviste telefoniche. Vista la difficoltà nel reperire controlli senza SM, stiamo arruolando nuovi centri clinici SM e nuove sezioni AISM, e procederemo all'invio dei questionari tramite la mail di Filo Diretto. Finora i casi arruolati sono 417, di cui il 72% sono donne, con un'età media pari a 49,7 anni (DS 11,2) e uno stato di salute generale medio pari a 6,8 (DS 1,7). Riguardo la sclerosi multipla, il campione presenta una disabilità lieve, e il 55% ha una forma recidivante remittente. Considerando lo stile di vita, il 77% dei casi arruolati non ha mai fumato o ha smesso di fumare, e il 49% non beve sostanze alcoliche, mentre solo il 47% dichiara di fare un'attività fisica sufficiente o più che sufficiente e il 30% è sovrappeso/obeso. Considerando gli screening oncologici programmati, nei soggetti con età superiore i 50 anni, solo il 53% dichiara di eseguire lo screening coloretale, mentre la percentuale di donne che esegue la mammografia raggiunge il 90%. Fra le

donne con età inferiore a 64 anni, invece, il 92% di queste effettua il PAP test. Analizzando le vaccinazioni, il 73% dei casi arruolati dichiara di non effettuare la dose di richiamo antitetanica, mentre fra i soggetti con età superiore ai 65 anni, il 53% dichiara di effettuare la vaccinazione antinfluenzale e solo il 19% quella anti pneumococcica.

CONCLUSIONI

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

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

INTRODUCTION AND AIMS

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

1250 patients from databases of Clinical Centers, Rehabilitation Units and local branches of the Italian MS Society in Northern, Central and Southern Italy. Patients over 25 years of age with a confirmed diagnosis of MS will be enrolled. Data will be collected through a questionnaire administered by telephone, upon written informed consent. The second part is designed as a case-control study, that will enrol a subgroup of 300 PwMS (case group) and 300 PwoMS, matched by gender, age and residence area (control group) to analyse the impact of disease and/or disability to access/adherence to preventive medicine. Knowledge of immunization status and chronic diseases risk is critical for clinical practice in the management of new DMDs but also for public health in determining the possible need for integrated care pathways targeted to PwMS.

RESULTS

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

At the moment, we have analysed 417 cases of which 72% were females, with a mean age of 49.7 years (SD 11.2) and a mean general health status of 6.8 (SD 1.7). Concerning MS, 55% with a relapsing-retting form and mostly with a mild disability. Regarding lifestyle, 77% of enrolled cas-

es never smoked or stop to smoke and 49% did not drink alcohol, whereas only 47% of subjects reported doing enough or more than enough physical activity and 30% is overweight or obese.

Considering programmed cancer screening, in subjects aged more than 50 years, only 53% declared to do colorectal screening, whereas the percentage of women reporting to do mammography reached 90%. Among women aged less than 64 years, 92% declared to do PAP test.

Regarding vaccinations, only 27% declared to do booster dose against tetanus and, among subjects aged more than 65 years, 53% of them did flu vaccines and only 19% did vaccine against pneumococcus.

CONCLUSIONS

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



Progetto speciale di ricerca FISM finanziato nel 2022 e l'ammontare di 45.000 €
FISM Research special project funded in 2022 and the amount of € 45,000

Medicina personalizzata

Personalized medicine

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



Ambra Mara Giovannetti

Unità di Neuroepidemiologia, Fondazione IRCCS Istituto Neurologico Carlo Besta, Milano, Italia

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

School of Psychology, Faculty of Health and Behavioural Sciences, University of Queensland, Brisbane QLD, Australia

COLLABORATORI/COLLABORATORS

Alessandra Solari, Andrea Giordano, *Unità di Neuroepidemiologia, Fondazione IRCCS Istituto Neurologico Carlo Besta, Milano, Italia*

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

Milda Cerniauskaite, *Dipartimento Gestionale di Ricerca e Sviluppo Clinico, Fondazione IRCCS Istituto Neurologico Carlo Besta, Milano, Italia*

Kenneth Pakenham, *School of Psychology, Faculty of Health and Behavioural Sciences, University of Queensland, Brisbane QLD, Australia*

COLLABORAZIONI CON ALTRI GRUPPI / COLLABORATIONS WITH OTHER GROUPS

Irene Tramacere, *Dipartimento di Ricerca e Sviluppo Clinico, Fondazione IRCCS Istituto Neurologico Carlo Besta, Milano, Italia*

Michele Messmer Uccelli, *Associazione Italiana Sclerosi Multipla, Genova, Italia*

COLLABORATORI STUDIO MULTICENTRICO READY/ MULTI_READY FOR MS TRIAL STEERING COMMITTEE

Ambra Mara Giovannetti, Alessandra Solari, Kenneth Ian Pakenham,

Giovambattista Presti, *Kore University Behavioral Lab, Faculty of Human and Social Sciences, Università degli Studi di Enna 'Kore', Enna, Italia*

Paola Kruger, *Patient Expert, EUPATI Fellow, European Patients Academy for Therapeutic Innovation, Roma, Italia*

Independent Data and Safety Monitoring Committee

Stefan Gold, *Institut für Neuroimmunologie und Multiple Sklerose (INIMS), Zentrum für Molekulare Neurobiologie Hamburg (ZMNH), Universitätsklinikum Hamburg Eppendorf, Hamburg, Germany; Charité Universitätsmedizin Berlin, Klinik für Psychiatrie und Psychotherapie, Campus Benjamin Franklin, Berlin, Germany; Charité Universitätsmedizin Berlin, Medizinische Klinik m.S. Psychosomatik, Campus Benjamin Franklin, Berlin, Germany*

Marta Bassi, *Department of Biomedical and Clinical Sciences L. Sacco, Università di Milano, Milano, Italia*

Maria Pia Sormani, *Biostatistics Unit, Department of Health Sciences, University degli Studi di Genova, Genova, Italia*



Data Management and Analysis Committee

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

Andrea Giordano, Ambra Mara Giovannetti, Alessandra Solari

Clinical Psychology Expert Panel

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

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

Centri partecipanti/ Participating centres

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

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

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

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

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

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

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

PREMESSE E OBIETTIVI

Il processo di adattamento alla sclerosi multipla (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.

Il dottor Pakenham e colleghi, dell'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 e 3, 4) e l'effetto del training sugli operatori (Studio 2).

RISULTATI

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

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

non è risultato più efficace del rilassamento. Questo risultato è in contrasto con i dati qualitativi che dimostrano la sua superiorità rispetto al rilassamento per l'impatto sulla vita quotidiana, la quantità di strategie che fornisce e l'interesse che suscita. È possibile che i dati quantitativi non siano risultati significativi per via della bassa numerosità del campione. Lo Studio 2 è uno studio longitudinale con un singolo intervento, che valuta l'*effectiveness* di un training per formare gli psicologi della rete AISM alla conduzione di gruppi READY for MS. Il training comprende tre fasi: 1) un workshop; 2) la partecipazione a un gruppo READY; 3) la conduzione di un gruppo READY con persone con SM. Le valutazioni sono state effettuate prima del training, prima della partecipazione al gruppo READY, immediatamente dopo e a tre 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 dei tre precedenti studi hanno contribuito alla definizione del protocollo dello studio multicentrico randomizzato controllato (Studio 4). Tra gennaio 2022 e maggio 2023 sono stati condotti ventiquattro gruppi di intervento (12 gruppi READY e 12 gruppi di rilassamento; 197 partecipanti). I partecipanti hanno compilato un set di questionari al basale, subito dopo l'intervento, a tre e a sei mesi. L'analisi longitudinale ha evidenziato che l'intervento READY ha portato a miglioramenti significativi in diverse aree:

- Resilienza (CD-RISC 25): Entrambi i gruppi hanno mostrato miglioramenti, ma le differenze non sono risultate statisticamente significative.
- Ansia (HADS-A) e Depressione (HADS-D): Il gruppo READY ha evidenziato riduzioni significativamente maggiori di ansia e depressione, in particolare nei timepoint più avanzati ($p < 0.05$).

- Salute mentale (MSQOL-54 MHCS): READY ha mostrato miglioramenti maggiori nella salute mentale, avvicinandosi alla significatività statistica a 36 settimane.
- Salute generale (EQ-5D): Il gruppo READY ha migliorato maggiormente la QoL, soprattutto nei punteggi di "utilità" ($p < 0.05$).
- Benessere psicologico (MHC-SF): READY ha determinato un miglioramento più marcato nel benessere psicologico, con guadagni significativi nella salute emotiva e psicologica.
- Flessibilità psicologica (MPFI): READY ha migliorato significativamente la flessibilità psicologica, in particolare nella capacità di defusione.

Nel complesso, l'intervento READY ha dimostrato risultati superiori rispetto al rilassamento in termini di salute mentale, flessibilità psicologica e qualità della vita. L'analisi delle pendenze fornisce ulteriori dettagli a favore dell'efficacia complessiva e superiore dell'intervento READY sul rilassamento.

CONCLUSIONI

Il programma READY for MS è stato in grado di migliorare resilienza, QoL, ansia, depressione, stress e flessibilità psicologica nei partecipanti, indipendentemente da caratteristiche demografiche o di malattia dei partecipanti. Questo risultato è particolarmente prezioso perché evidenzia come il programma sia estremamente inclusivo e di facile implementazione. A riprova di questo i risultati dello studio 2 e 3 mostrano come il programma READY for MS sia facilmente implementabile nei servizi territoriali italiani dedicati alle persone con SM, indipendentemente dall'area geografica o dalla grandezza del centro/sezione AISM. Inoltre, i risultati dello Studio 2 suggeriscono che il training rivolto agli psicologi abbia avuto un impatto positivo, sia a livello professionale che personale con un mantenimento dei benefici a lungo termine.

Lo studio RCT multicentrico ha evidenziato diversi punti di forza dell'intervento READY rispetto al protocollo di rilassamento. Sebbene lo studio non abbia raggiunto la significatività statistica per l'endpoint primario a 24 settimane, i risultati complessivi sottolineano comunque i potenziali benefici di READY. In particolare, i partecipanti al gruppo READY hanno riportato riduzioni significativamente maggiori di ansia e depressione, insieme a miglioramenti nella salute mentale, nella flessibilità psicologica e nella QoL complessiva. Questi risultati suggeriscono che, nonostante la mancanza di significatività per l'endpoint primario, l'intervento READY dimostra un vantaggio coerente e significativo in diverse aree chiave del benessere mentale.

In conclusione questo progetto ha permesso di testare l'efficacia e l'*effectiveness* del programma READY for MS, di formare decine di colleghi nella conduzione di questi gruppi e di offrire altrettanti gruppi READY for MS a persone con SM seguite nei centri SM o sezioni AISM in Italia, rivelandosi un programma efficace e inclusivo. AISM ha anche firmato un accordo con l'Università del Queensland per continuare a offrire questi gruppi alle persone con SM afferenti alle proprie sezioni.

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

INTRODUCTION AND AIMS

Adjusting to multiple sclerosis (MS) can be highly demanding, and the disease can be a consistent source of stress. Resilience is an internal resource for alleviating the 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 –University of Queensland- developed a brief resilience group intervention called “The REsilience and Activities for every DaY” (READY) and they adapted it to people with MS (READY for MS). READY is an Acceptance and Commitment (ACT)-based group intervention able to improve resilience, QoL, depression, stress and psychological flexibility in people with MS.

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

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

RESULTS

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

READY was well accepted by MS patients with varied socio-demographic and clinical characteristics. All READY for MS participants stated that it increased their resilience and positively affected their life, and the majority declared it helped them in dealing better with MS. All participants said that they would recommend the READY for MS program to others with MS, and some suggested it should be

offered to people with other medical conditions and carers.

However, READY for MS did not result more efficacious than relaxation at a quantitative level but this was a pilot study, with only the power to detect large differences. Instead, qualitative data provided evidence in favour of READY for MS which was considered more engaging and superior to relaxation in terms of impact on daily life and variety of strategies provided.

Study 2 is a single-arm longitudinal study (with a nested qualitative study) that evaluates the effectiveness of a program for training psychologists in delivering READY for MS. The training encompassed three phases: 1) training workshop; 2) READY participation; 3) READY delivery to people with MS (PwMS). Self-report data were collected immediately before the workshop, before and after the participation in READY, and at three and 15-month follow-ups. Forty-four psychologists successfully completed Phases 1 and 2, 40 Phase 3. Both quantitative and qualitative results showed the training was effective in fostering the acquisition of knowledge and skills for effective delivery of READY to PwMS. Growth curve modelling showed that participants improved over the course of training in resilience, positive affect, wellbeing, psychological flexibility and associated processes. These improvements peaked during the participation in READY phase and continued to accrue at a slower rate three months later. Psychological flexibility mediated the improvements in resilience, positive affect and wellbeing. Qualitative data confirmed the personal, professional and community level positive training impacts.

Study 3 aims to evaluate the effectiveness of READY for MS delivered to PwMS via frontline Italian services. This is a single-arm longitudinal study (with a nested qualitative study). Data were collected immediately before the beginning of the program, after the booster session and at 3-months follow-up. Thirty-three READY groups (237 participants) were run. Participants improved in resilience (primary outcome), anxiety, depression, stress, health-related quality of life (HRQoL), and psychological flexibility and associated processes (acceptance, defusion, and values). Improvements in most outcomes occurred at post-intervention and were maintained at a 3-month follow-up. No demographic or illness variables predicted these improvements. Psychological flexibility mediated improvements in resilience, anxiety, depression, stress, and HRQoL. Qualitative data confirmed READY feasibility

and the positive psychological impacts on participants. Results of the previous studies informed the design of the multi-centre RCT (Study 4). Twenty-four intervention groups were conducted (12 READY and 12 relaxation groups, 197 participants) between January 2022 and May 2023. Data were collected immediately before the beginning of the program, after the booster session and at 3 and 6-months follow-up. The longitudinal analysis shows that the READY intervention led to significant improvements in several areas:

- Resilience (CD-RISC 25): Both groups improved, but differences were not statistically significant.
- Anxiety (HADS-A) and Depression (HADS-D): The READY group showed significantly greater reductions in anxiety and depression, especially at later time points ($p < 0.05$).
- Mental Health (MSQOL-54 MHCS): READY showed greater improvements, nearing significance at 36 weeks.
- Overall Health (EQ-5D): READY improved quality of life more, particularly in utility scores ($p < 0.05$).
- Psychological Well-Being (MHC-SF): READY led to better psychological well-being, with significant gains in emotional and psychological health.
- Psychological Flexibility (MPFI): READY significantly enhanced flexibility, particularly in defusion.

Overall, READY showed superior results in mental health, psychological flexibility, and quality of life compared to Relaxation. The analysis of slopes adds granularity by showing how quickly and consistently different outcomes improved over time in each intervention group and highlights the statistical significance of these changes, further supporting the overall superior effectiveness of the READY 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. No demographic or illness variables predicted these improvements. This result is particularly important as it indicates that the program is highly accessible and easy to implement in different setting (MS or AISM centre, different geographical areas or centre size). Study 2 results suggested that the training was personally and professionally helpful for the MS psychologists (with long-term maintenance of the subjective gains) and the integration of program delivery within patients' association branches and MS Centres was effective.

The multi-centre RCT highlighted several strengths of the READY intervention in comparison to Relaxation for PwMS. While the study did not achieve statistical significance for the primary endpoint at 24 weeks, the overall results still underscore the potential benefits of READY. Notably, participants in the READY group experienced significantly greater reductions in anxiety and depression, alongside improvements in mental health, psychological flexibility, and overall QoL. These findings suggest that, despite the primary endpoint's lack of significance, the READY intervention demonstrates a consistent and meaningful advantage in several key areas of mental well-being. In conclusion, we reached different goals: 1) to test the efficacy and effectiveness of the READY for MS; to train dozens of psychologists in successfully running a READY for MS group; 3) to offer hundreds of PwMS from all Italy to participate in a READY for MS group, with great results in terms of effectiveness and accessibility. Moreover, AISM signed a copyright agreement to ensure the ongoing delivery of READY for MS.



PUBBLICAZIONI E COMUNICAZIONI A CONGRESSI PUBLICATIONS AND CONGRESS PRESENTATIONS

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
- Giovannetti AM, Solari A, Pakenham KI. Effectiveness of a group resilience intervention for people with multiple sclerosis delivered via frontline services. *Disabil Rehabil*. 2022 Nov;44(22):6582-6592
- Giovannetti AM, Messmer Uccelli M, Solari A, Pakenham KI. Evaluation of a program for training psychologists in an acceptance and commitment

therapy resilience intervention for people with multiple sclerosis: a single-arm longitudinal design with a nested qualitative study. Disabil Rehabil. 2022 Nov;44(22):6926-6938.

- Giovannetti AM, Pakenham KI, Presti G, Quartuccio ME, Confalonieri P, Bergamaschi R, Grobberio M, Di Filippo M, Micheli M, Brichetto G, Patti F, Copetti M, Kruger P, Solari A. A group resilience training program for people with multiple sclerosis: Study protocol of a multi-centre cluster-randomized controlled trial (multi-READY for MS). *PLoS One*. 2022 May 2;17(5):e0267245

Conference abstracts published in international peer reviewed journals

- Giovannetti AM, Quintas R, Giordano A, Messmer



Uccelli M, Solari A, Pakenham K. (2018). READY for MS, a group intervention to promote resilience in people with multiple sclerosis: a single blind RCT with a nested qualitative study. *Multiple Sclerosis Journal*, 24(6), 853-853

- Giovannetti AM, Quintas R, Matarrozzi K, Giordano A, Solari, A., Pakenham, K. (2018). Individualized quality of life in people with MS: advantages of using the SEIQOL-DW. *Multiple Sclerosis Journal*, 24(6), 848-848.

Congress oral presentations

- Giovannetti AM, Quintas R, Giordano A, Messmer Uccelli M, Solari A, Progetto READY per pazienti con sclerosi multipla (MS): protocollo e dati preliminari dello studio. Oral presentation at the "GIS ACT for HEALTH", Italian conference, Rome, March 25th, 2018
- Giovannetti AM, Solari A, Quintas R, Giordano A, Tramacere I, Messmer Uccelli M, Pakenham K. Pilot mixed method study protocol for evaluating the efficacy of the Italian version of a resilience training program (READY-It-MS). Poster presentation at the Annual Scientific Congress Italian MS Society and its Foundation Rome, May 28 - 30th 2018
- Giovannetti AM. The READY It MS project": uno studio multicentrico per promuovere il benessere di persone con sclerosi multipla. Oral presentation at the 9th Annual Conference of the "RETE PSICOLOGI AISM", Rome, Italy, October 18-19th 2018
- Giovannetti AM. The Italian READY for MS project: from a pilot to a multi-centre RCT. Improving resilience in people with MS. Oral presentation at The Multiple Sclerosis International Federation (MSIF)

World Conference, Rome, Italy, October 24-26th 2018

- Giovannetti AM, The Italian READY for MS project: Improving resilience in people with MS. Oral presentation at the 2nd Annual Conference of the Italian Congress of third wave therapies, Milan, Italy, November 14-16th 2018
- Giovannetti AM, Quintas R, Tramacere I, Giordano A, Confalonieri P, Messmer Uccelli M, Solari A, Pakenham K. Single-blinded, mixed methods, randomized controlled trial on a resilience training for people with MS. Oral presentation at the ACBS World Conference 17 - Dublin, Ireland, June 25-30th 2019
- Giovannetti AM, Quintas R, Tramacere I, Giordano A, Confalonieri P, Messmer Uccelli M, Solari A, Pakenham K. Single-blinded, mixed methods, randomized controlled trial on a resilience training for people with MS. Oral presentation at the Annual Conference of RIMS 'Crossing the Interface to Explore New Possibilities', Ljubljana, Slovenia, June 20 - 22nd 2019
- Giovannetti AM. Promoting resilience in people with MS: towards a "values-driven" life. Oral presentation at the 6th Annual Conference of the "Interclinical Symposium on Multiple Sclerosis", Athens, Greece, October 18-20th 2019
- Giovannetti AM. Evaluation of Acceptance and Commitment Training for psychologists working with people with multiple sclerosis. Oral presentation was scheduled in June 2020, but the conference was postponed due to the COVID-19 pandemic. I will present it during the RIMS Digital Conference, December 4-5, 2020

Progetto speciale di ricerca FISM finanziato nel 2016 e l'ammontare di 213.000 €

FISM Research special project funded in 2016 and the amount of € 213,000

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



Giampaolo Brichetto

Associazione Italiana Sclerosi Multipla, AISM, Genova, Italia

COLLABORATORI / COLLABORATORS

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

PREMESSE E OBIETTIVI

La sclerosi multipla (SM) è classificata principalmente in tre decorsi di malattia: recidivante remittente (RR), caratterizzato da attacchi definiti di peggioramento della funzione neurologica seguita da periodi di recupero parziali o completi; secondariamente progressiva (SP), che segue il decorso della RR ed è caratterizzato da un progresso più costante; primariamente progressiva (PP), caratterizzato da costante peggioramento della funzione neurologica fin dall'esordio. In particolare, l'identificazione del punto di transizione tra RR e SP è estremamente complessa, anche se cruciale per migliorare il processo decisionale del piano terapeutico e l'impatto sulle strategie farmacologiche e riabilitative.

Attualmente, le linee guida per la gestione della SM richiedono l'esecuzione di almeno un esame di risonanza magnetica (RM) all'anno, mentre una valutazione meno frequente è richiesta nella fase progressiva della malattia. Infatti, la RM è essenziale nel processo diagnostico e nella valutazione prognostica della malattia. Il pattern di lesioni RM è attualmente integrato nei criteri diagnostici, ma il gap clinico-radiologico non è stato ancora colmato. Nel recente passato, la ricerca in SM si è soffermata sullo studio dei Patient-Centered Outcome (PCO) per monitorare la progressione delle malattie neurodegenerative e prendere decisioni tempestive. I PCO consistono in questionari e scale cliniche con valori sia ordinali che categorici, somministrati da medici o autosomministrati dal paziente. I PCO sono ampiamente utilizzati per valutare lo stato generale di salute, per aiutare la diagnosi, monitorare il progresso della malattia e per quantificare la percezione dei pazienti dell'efficacia di una data terapia o procedura.

Il progetto speciale FISM attivo 'PROMOPRO-MS' ha lo scopo di identificare un set di PCO legati a mobilità, fatica, performance cognitive, stato emotivo, continenza vescica-

le, 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 1200 pazienti tra quelli seguiti dai Servizi di Riabilitazione dell'Associazione Italiana Sclerosi Multipla (AISM) di Genova, Padova, Vicenza. In questa coorte, ogni paziente è valutato ogni quattro mesi attraverso vari PCOs che ricoprono domini significativi per la SM. Il database ottenuto, oltre ai PCO, contiene anche informazioni aggiuntive quali: i) numero di ricadute negli ultimi quattro mesi (NR), ii) il livello educativo espresso in termini di anni totali di educazione (EDU), iii) altezza (A), iv) peso (P) a v) decorso di malattia. Basandosi su questi dati è stato sviluppato un modello temporale predittivo dell'evoluzione della malattia con particolare focalizzazione sulla detezione della transizione da forma RR a forma SP. Il modello è stato sviluppato utilizzando tecniche di machine learning ed è capace di predire il futuro decorso di patologia delle PcSM con un'accuratezza di circa l'85%, dimostrando al contempo che i PCO possono essere di grande valore come predittori dell'andamento della SM.

CONCLUSIONI

Questi dati sono stati utilizzati per sviluppare modelli predittivi della progressione della disabilità nel tempo, con previsioni fatte a intervalli fissi di 2, 3, 4 e 5 anni. Il modello, usando una combinazione di punteggi iniziali e trend annuali, classifica i pazienti in due categorie di rischio:

- Rischio trascurabile (nessun peggioramento dell'EDSS o miglioramento)
- Rischio severo (incremento positivo dell'EDSS, indicante progressione di disabilità)

Attualmente, il modello raggiunge livelli elevati di accuratezza (circa 85% nel breve termine e circa il 75-80% su intervalli più lunghi). Tra i predittori più influenti risultano la classe iniziale di rischio assegnata al paziente e il punteggio iniziale di EDSS, con l'importanza di quest'ultimo che aumenta col passare del tempo.

Il prossimo obiettivo è estendere queste previsioni fino a un arco temporale di 10 anni. Questo sviluppo è reso pos-

sibile dalla ricchezza longitudinale e dalla qualità dei dati raccolti, e dall'ulteriore implementazione della "Digital Edition" di PROMOPRO-MS che sarà integrata nella piattaforma software SMART-Rehab di AISM. Ciò consentirà un maggiore volume di dati e un miglioramento ulteriore della precisione delle previsioni. L'approccio adottato si distingue per l'attenzione verso l'interpretabilità clinica, essenziale per l'applicabilità pratica nel supporto decisionale clinico personalizzato, con il fine ultimo di guidare scelte terapeutiche e programmi riabilitativi più mirati ed efficaci nel lungo periodo.

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

INTRODUCTION AND AIMS

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

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

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

The ongoing FISM special project "A new functional profile to monitor the progression of disability in MS" (PROMOPRO-MS), aims at identifying a set of PCO related to mobility, fatigue, cognitive performances, emotional status, bladder continence, quality of life, validating a "functional

profile" of MS based on meaningful variables and measures, improving the disease course detection, predicting the disease progression and identifying the best disease predictors.

RESULTS

Since 2013 PROMOPRO-MS constitutes a growing cohort of people with MS (PwMS). To date, we collected more than 5000 evaluations from about 1200 patients among those followed by the Rehabilitation Services of the Italian Multiple Sclerosis Society (AISM) of Genoa, Padua, Vicenza. In this cohort, each patient is evaluated every four months through several PCOs covering meaningful domains for MS. The collected PCO data set comprises additional information such as: i) number of relapses in the last four months (NR), ii) educational level expressed in terms of total years of education (EDU), iii) height (H), iv) weight (W) and v) disease course. Based on this data a predictive temporal model of the disease evolution was developed with a particular focus on the detection of the RR to SP transition. The model has been developed by using machine learning techniques and is able to foresee the future disease course of PwMS with an accuracy of about 85%, demonstrating that PCOs are valuable to be used as MS disease course predictor.

CONCLUSIONS

These data have been used to facilitate predictive modeling at specified intervals (2, 3, 4, and 5 years), initially achieving high accuracy (~85% at 2 years) and maintaining good predictive performance (around 75-80%) over longer periods. The most influential predictors include the patient's initial risk class and baseline Expanded Disability Status Scale (EDSS) score, reflecting the clinical severity and functional ability at the start of monitoring.

Currently, the PROMOPRO-MS project is enhancing its

predictive capabilities through the development of a Digital Edition, integrated into the SMART-Rehab software platform of the Italian Multiple Sclerosis Association (AISM). This advancement will expand the data volume, thereby increasing prediction accuracy and clinical utility.

Ultimately, these interpretable ML models aim to provide healthcare professionals with practical tools to facilitate personalized patient care, supporting tailored therapeutic decisions and rehabilitation interventions.



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
- 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.* 2021 Aug;57(4):520-526.
- 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
- 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

Progetto speciale di ricerca FISM finanziato nel 2013 e l'ammontare di 380.000 €
FISM Research special project funded in 2013 and the amount of € 380,000

ENACT. Impiegare soluzioni neuroergonomiche per attenuare il tremore cerebellare

www.enactproject.eu



Stefano Maludrottu, Giacinto Barresi

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

COLLABORATORI / COLLABORATORS

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

COLLABORAZIONI CON ALTRI GRUPPI / COLLABORATIONS WITH OTHER GROUPS

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

PREMESSE E OBIETTIVI

Il progetto ENACT (impiegare soluzioni neuroergonomiche per attenuare il tremore cerebellare) mira a studiare il tremore cerebellare negli arti superiori in persone con sclerosi multipla (SM) al fine di realizzare soluzioni indossabili per mitigarlo durante le attività quotidiane e la riabilitazione.

Contestualmente, il progetto mira ad utilizzare ambienti interattivi di realtà virtuale e mista sia per investigare il tremore cerebellare, sia per realizzare exergame motorio-cognitivi atti a promuovere l'attività riabilitativa a livello degli arti superiori, coinvolgendo le persone con SM durante l'esecuzione dei compiti previsti a livello clinico. I dati a livello motorio e fisiologico saranno inoltre esplorati anche a scopo diagnostico e prognostico.

Per raggiungere tali risultati, ENACT adotta l'approccio della neuroergonomia: l'indagine neuroscientifica delle interazioni uomo-macchina per progettare tecnologie centrate sull'utente.

RISULTATI

Il progetto è iniziato nell'ottobre 2021. Dopo un primo anno focalizzato sullo sviluppo tecnologico per la raccolta di dati sperimentali, il team del progetto ENACT è passato all'utilizzo di exergame sviluppati in collaborazione con il Politecnico di Torino. Tali exergame, il cui sviluppo è iniziato già nel secondo anno di progetto, sono caratterizzati da paradigmi di doppio compito a livello motorio e cognitivo in realtà virtuale e mista e sono tesi all'indagine di soluzioni per indagare e mitigare il tremore cerebellare e per testare soluzioni atte a coinvolgere gli utenti durante l'attività riabilitativa. Sono stati sviluppati e perfezionati diversi giochi per piattaforme di realtà virtuale e mista mediante un approccio collaborativo allo sviluppo che si è focalizzato sull'interazione continua tra i vari collaboratori del progetto e FISM. Nel corso dell'attività di design e realizzazione, nuove idee emerse nel corso di tale strategia collaborativa hanno prodotto nuove applicazioni ed hanno permesso di espandere l'utilità clinica di quanto realizza-

to. Tutti i giochi verranno poi utilizzati in uno studio clinico dedicato a valle del progetto per validarne l'efficacia con un campione di soggetti con SM. Lo sviluppo del prototipo di sistema indossabile per la mitigazione del tremore si è concluso secondo i tempi previsti. Tutte le attività elencate si sono sviluppate in sinergia con RAISE, l'ecosistema per l'innovazione supportato dal PNRR in Liguria (in particolare a livello di Spoke 2, specificamente nella sua attività NRTWIN, della quale il PI di ENACT è co-coordinatore e tramite la quale proseguirà lo sviluppo e il test delle piattaforme interattive e computazionali del progetto ENACT). Numerose pubblicazioni scientifiche sono state realizzate sui risultati e sulle attività del progetto nel corso del 2024 e pubblicate su riviste e conferenze a livello internazionale. Inoltre, il PI ha dedicato parte delle sue attività alla divulgazione e all'impegno pubblico per promuovere il progetto in eventi nazionali ed internazionali, instaurando inoltre numerose collaborazioni con esperti in ambito sia clinico che tecnologico a livello internazionale.

CONCLUSIONI

L'ambiente interattivo a basso costo e il sistema indossabile di ENACT per indagare e mitigare il tremore cerebellare negli arti superiori sono progettati - ed ottimizzati sulla base di dati sperimentali - per essere utilizzati da persone con SM. L'ambiente interattivo ed il sistema indossabile sono stati progettati per essere utilizzati durante la riabilitazione e, in prospettiva, anche durante le attività della vita quotidiana, per consentire a studenti e lavoratori di essere attivi senza utilizzare dispositivi ingombranti e poco confortevoli per attenuare il sintomo. Un prototipo avanzato è stato rilasciato e validato in laboratorio nel corso del terzo anno di progetto. Queste soluzioni verranno inoltre impiegate per raccogliere nuovi dati sul progresso della SM (in particolare per prevedere l'eventuale transizione alla for-

ma progressiva). Infine, ENACT mira a identificare nuovi marcatori della SM in termini di firma motoria e fisiologica del tremore cerebellare. Tali dati saranno analizzati da una piattaforma computazionale (correlandoli con questionari soggettivi e test clinici quantitativi, profili genetici e test di imaging) durante i test clinici che verranno realizzati a valle del progetto al fine di valutare le condizioni individuali e personalizzare gli interventi clinici.

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

ENACT. Employing neuroergonomic solutions to attenuate the cerebellar tremor

www.enactproject.eu

INTRODUCTION AND AIMS

The ENACT project (employing neuroergonomic solutions to attenuate cerebellar tremor) aims to study cerebellar tremor in the upper extremities in people with multiple sclerosis (MS) in order to realize wearable solutions to mitigate it during daily activities and rehabilitation. At the same time, the project aims to use interactive virtual and mixed reality environments both to investigate cerebellar tremor and to create motor-cognitive exergames aimed at promoting rehabilitation activity at the level of the upper limbs, involving people with MS during the execution of

the tasks provided at the clinical level. Motor and physiological data will also be explored for diagnostic and prognostic purposes. To achieve these results, ENACT adopts the approach of neuroergonomics: the neuroscientific investigation of human-machine interactions to design user-centered technologies.

RESULTS

The project started in October 2021. After a first year focused on technological development for the collection of experimental data, the ENACT project team moved on to

the use of exergames developed in collaboration with the Polytechnic University of Turin. These exergames, whose development began already in the second year of the project, are characterized by paradigms of dual tasks at the motor and cognitive level in virtual and mixed reality and are aimed at investigating solutions to investigate and mitigate cerebellar tremor and to test solutions to engage users during rehabilitation activities. Several games for virtual and mixed reality platforms were developed and refined through a collaborative approach to development that focused on the continuous interaction between the various project collaborators and FISM. During the design and implementation activity, new ideas emerged during this collaborative strategy, produced new applications, and allowed them to expand the clinical utility of what was achieved. All the games will then be used in a dedicated clinical study downstream of the project to validate their efficacy with a sample of subjects with MS. The development of the prototype of a wearable system for tremor mitigation has been completed according to schedule. All the activities listed were developed in synergy with RAISE, the innovation ecosystem supported by the PNRR national plan in Liguria (at the level of Spoke 2, specifically in its NRTWIN activity, of which the ENACT PI is co-coordinator and through which the development and testing of the interactive and computational platforms of the ENACT project will continue). Numerous scientific publications were produced on the project's results and activities during 2024 and published in international journals and conferences. In addition, the PI has dedicated part of its activities to dissemination and public engagement to promote the project in national and international events, also establishing numerous collaborations with experts in both clinical and technological fields at an international level.

CONCLUSIONS

ENACT's low-cost interactive environment and wearable system to investigate and mitigate cerebellar tremor in the upper extremities are designed - and optimized based on experimental data - to be used by people with MS. The interactive environment and the wearable system have been designed to be used during rehabilitation and, in perspective, also during activities of daily living, to allow students and workers to be active without using bulky and uncomfortable devices to alleviate the symptoms. An advanced prototype was released and validated in the laboratory during the third year of the project. These solutions will also be used to collect new data on the progress of MS (to predict the eventual transition to the progressive form). Finally, ENACT aims to identify new markers of MS in terms of the motor and physiological signature of cerebellar tremor. These data will be analyzed by a computational platform (correlating them with subjective questionnaires and quantitative clinical tests, genetic profiles and imaging tests) during the clinical trials that will be carried out downstream of the project to assess individual conditions and personalize clinical interventions. The relevance of ENACT for the research of the pathogenetic

mechanisms of MS will initially derive from the investigations on the motor and physiological indices of cerebellar tremor as a function of the exploration of new aspects of the sensorimotor processes underlying the symptom. Particular attention is paid to hand-eye coordination metrics that will contribute, together with other motor and physiological indices, to neuroscientific investigations in interactive settings and to the real-time calibration of multimodal stimulations that suppress tremor. The investigation of the pathogenetic mechanisms of MS is also enriched by the integration of non-invasive technologies (motor and physiological sensors, multimodal stimulators) within wearable and portable systems: they will allow data to be collected in the contexts of subjects' daily lives, facilitating the correlation of the progression of MS symptoms with markers. ENACT aims to facilitate rehabilitation procedures through the adoption of the immersive technologies of its interactive, virtual and mixed reality-based platform to improve patients' experimental and clinical compliance. The data collected during the exercises will be used to explore possible strategies to mitigate cerebellar tremor. In any case, the computational platform models could allow the use of cerebellar tremor biomarkers to evaluate the outcome of invasive treatments and modulate them over time.



PUBBLICAZIONI E COMUNICAZIONI A CONGRESSI PUBLICATIONS AND CONGRESS PRESENTATIONS

- Macaluso, Roberta and Visconti, Alessandro and Calandra, Davide and Ciardo, Roberto and Barresi, Giacinto and Lamberti, Fabrizio and Others. Evaluating therapist representation techniques in mixed reality-based tele-rehabilitation exergames. Conference paper. Proc. 2024 IEEE International Symposium on Mixed and Augmented Reality Adjunct (ISMAR-Adjunct), 2024
- Bucchieri, Anna and Lucaroni, Andrea and Moschetta, Miriam and Ricci, Lorenzo and Sabatino, Etty and Grange, Erica and Tacchino, Andrea and Podda, Jessica and De Momi, Elena and Ferraresi, Carlo and others. Exploring the Potential of Mixed Reality for Functional Assessment in Multiple Sclerosis. Conference paper. IEEE Gaming, Entertainment, and Media Conference (GEM), 2024
- Tanda, Miriam and Praticò, Filippo Gabriele and Podda, Jessica and Grange, Erica and Brichetto, Giampaolo and De Michieli, Lorenzo and Lamberti, Fabrizio and Barresi, Giacinto. Rehabilitative Exergaming in Multiple Sclerosis: Bimanual Tasks in Mixed Reality. Conference paper. IEEE Gaming, Entertainment, and Media Conference (GEM), 2024
- Albanese, Giulia A and Bucchieri, Anna and Podda, Jessica and Tacchino, Andrea and Buccelli, Stefano and De Momi, Elena and Laffranchi, Matteo and Mannella, Kailynn and Holmes, Michael WR and Zenzeri, Jacopo and others. Robotic systems for upper-limb rehabilitation in multiple sclerosis: a SWOT analysis and the synergies with virtual and augmented environments, *Frontiers in Robotics and AI* vol. 11, 2024
- Macaluso, Antonio and Bottino, Andrea and Praticò, Filippo Gabriele and Lamberti, Fabrizio and Galletti, Chiara and Storch, Chiara and Podda, Jessica and Tacchino, Andrea and Brichetto, Giampaolo and Boccardo, Nicolò and others. Executive Control in a Mixed Reality Exergame for Motor-Cognitive Rehabilitation in Multiple Sclerosis. Conference paper. IEEE International Conference on Consumer Electronics (ICCE), 2024
- Moschetta, Miriam and Sabatino, Etty and Lucaroni, Andrea and Barresi, Giacinto and Ferraresi, Carlo and Podda, Jessica and Grange, Erica and Brichetto, Giampaolo and Bucchieri, Anna. A Case Study on Mixed-Reality Approaches for Assessing Upper-Limb Dysfunction in Multiple Sclerosis, *Virtual Worlds*, submitted, under review

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

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



Ludovico Pedullà

Area Ricerca Scientifica, Fondazione Italiana Sclerosi Multipla, Genova, Italia

COLLABORATORI / COLLABORATORS

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

COLLABORAZIONI CON ALTRI GRUPPI / COLLABORATIONS WITH OTHER GROUPS

Alice Bellosta, Monica Biggio, Costanza Iester, Laura Bonzano Rosario Giovanni

Giocalone, Dipartimento di Neuroscienze, Riabilitazione, Oftalmologia, Genetica e Scienze Materno-Infantili, Università degli Studi di Genova, Genova, Italia

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

PREMESSE E OBIETTIVI

La fatica è un sintomo diffuso e debilitante nella sclerosi multipla (SM) che colpisce tutti i fenotipi di malattia. A causa della sua natura multifattoriale, che comprende meccanismi fisiopatologici e adattamenti neurologici, affrontare la fatica rimane una sfida. La fatica può essere misurata come percezione della stanchezza generale e mancanza di energia in un preciso momento (fatica di stato) oppure come una limitazione persistente nella capacità di sostenere uno sforzo (fatigabilità di tratto). Comprendere questi componenti è cruciale per sviluppare interventi efficaci.

Riabilitazione ed esercizio fisico sono stati proposti per mitigare la fatica. Mentre la riabilitazione può ridurre la fatigabilità muscolare precoce e migliorare la funzione motoria, l'esercizio favorisce la capacità dell'organismo di mantenere l'omeostasi e gestire meglio la fatica. Questo studio mira a indagare come la riabilitazione e l'esercizio interagiscono nella modulazione della fatica e della fatigabilità nelle persone con SM (PcSM), con particolare attenzione al ruolo dell'eccitabilità e dell'inibizione corticale.

RISULTATI

Fase di Riabilitazione. È stato testato un programma di riabilitazione basato sulla tecnologia per valutarne l'effetto sui deficit motori correlati alla fatica nelle PcSM. Ventiquattro PcSM (età=57,8±9,8 anni; EDSS=6) hanno seguito un

programma riabilitativo di 20 sessioni focalizzato sulla deambulazione, l'equilibrio e l'uso degli ausili. I partecipanti sono stati suddivisi in un gruppo sperimentale che utilizzava una stampella con feedback in tempo reale (FB_group) e un gruppo di controllo senza biofeedback (NOFB_group). Al basale, i soggetti che in precedenza utilizzavano una stampella (PRE_crutch) riferivano livelli di fatica percepita più elevati alla Modified Fatigue Impact Scale (MFIS) rispetto a quelli che usavano un bastone (PRE_cane). Una maggiore fatica riportata era associata a una migliore performance motoria nel gruppo PRE_crutch. Dopo la riabilitazione, la fatica percepita è migliorata indipendentemente dal tipo di ausilio utilizzato o dal gruppo di appartenenza ($F=4.90$, $p=0.038$). Il gruppo FB ha mostrato prestazioni migliori nei test di velocità del cammino e equilibrio dinamico rispetto al gruppo NOFB ($U=34$, $p=0.028$; $U=36$, $p=0.038$). Le correlazioni tra fatica e performance sono cambiate dopo la riabilitazione, suggerendo una riduzione della fatica percepita e un miglioramento funzionale come risultato dell'intervento.

Valutazione Neurofisiologica. Quattordici PcSM (età=42,8±9,9 anni; EDSS=2,25±1,60) e sedici controlli sani appaiati per età e genere sono stati sottoposti a un 6-Minute Walking Test (6MWT) per valutare la resistenza alla deambulazione. Fatica e fatigabilità sono state valutate tramite strumenti di autovalutazione: Visual Analog Scale (VAS) per la fatica, Pittsburgh Fatigability Scale (PFS)

per la fatigabilità fisica (PFS_phy) e cognitiva (PFS_cog), e MFIS per entrambe le dimensioni. Inoltre, è stato eseguito il Heartbeat Tracking Task (HTT) per valutare l'accuratezza interocettiva.

L'eccitabilità e l'inibizione corticale sono state misurate prima (PRE) e dopo (POST) un test da sforzo cardiopolmonare con esaurimento massimo, tramite il Potenziale Motorio Evocato (MEP) e il Periodo Silente controlaterale (cSP) ottenuti tramite stimolazione magnetica transcranica a intensità comprese tra il 105% e il 155% della soglia motoria attiva.

I gruppi differivano nei risultati del 6MWT (PcSM<HC, $p=0.01$), VAS (PcSM>HC, $p=0.03$), PFS_Phy (PcSM>HC, $p=0.01$) e MFIS (PcSM>HC, $p<0.001$).

Nelle PcSM, una minore performance al 6MWT era associata a livelli più elevati di fatica e fatigabilità fisica e cognitiva: VAS ($r=-0.737$; $p=0.003$), MFIS totale ($r=-0.552$; $p=0.040$), MFIS_phy ($r=-0.701$; $p=0.005$), PFS_phy ($r=-0.811$; $p=0.001$), PFS_cog ($r=-0.701$; $p=0.008$).

Al PRE, un minore MEP slope era associato a una maggiore MFIS_phy ($r=-0.550$; $p=0.042$) e PFS_phy ($r=-0.559$; $p=0.038$), ma non alla VAS. Inoltre, è stata osservata una correlazione positiva tra l'area sotto la curva del cSP e MFIS_phy ($r=0.587$; $p=0.027$) e una correlazione negativa tra l'area sotto la curva del cSP e l'HTT score ($r=-0.67$; $p<0.01$). Nessuna correlazione significativa è stata trovata nei controlli sani al PRE.

Le analisi POST vs. PRE hanno rivelato una riduzione dell'area sotto la curva del MEP nelle PcSM e una diminuzione della pendenza del MEP negli HC, suggerendo meccanismi diversi nei due gruppi dopo il test da sforzo cardiopolmonare.

High Intensity Interval Training. Tre PcSM hanno seguito 24 sessioni (2/settimana) di High Intensity Interval Training (HIIT) su stepper reclinato, con intervalli di 30 secondi di esercizio alternati a 30 secondi di riposo. L'effetto dell'intervento è stato preliminarmente osservato su questo campione pilota per valutare il potenziale del protocollo nel ridurre fatica e fatigabilità, aumentare la capacità aerobica e migliorare la performance motoria e il tono dell'umore. Sono stati inoltre analizzati i cambiamenti nei parametri interocettivi e neurofisiologici. Dopo l'HIIT, la fatica percepita è sembrata ridursi, mentre la capacità aerobica e la resistenza alla deambulazione sono migliorate. Inoltre, si è osservata una riduzione dei livelli di depressione. È interessante notare come l'eccitabilità corticale sia diminuita dopo l'HIIT, mentre l'accuratezza interocettiva (HTT score) sia aumentata.

CONCLUSIONI

Un programma riabilitativo basato su deambulazione, equilibrio e uso corretto degli ausili riduce in modo efficace la fatica percepita nelle PcSM. Tuttavia, resta da approfondire se la capacità di resistenza sia maggiormente legata alla fatica o alla fatigabilità nelle PcSM. I meccanismi neurofisiologici e interocettivi sembrano giocare un ruolo chiave nella modulazione di questi sintomi e in particolare sulla fatigabilità. Ulteriori studi contribuiranno a consolidare questi risultati, focalizzandosi sul contributo di specifici circuiti (es. GABA). Infine, l'efficacia dei trattamenti riabilitativi e dell'esercizio nel ridurre la fatica e migliorare la funzione motoria dovrebbe essere confermata su un campione più ampio di PcSM.

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

INTRODUCTION AND AIMS

Fatigue is a prevalent and debilitating symptom in multiple sclerosis (MS) that affects all disease phenotypes. Due to its multifactorial nature, including pathophysiological mechanisms and neurological adaptations, addressing fatigue remains challenging. Fatigue can be measured at a specific instant in time as a perception of general tiredness and lack of energy (state fatigue) or as an enduring limitation in work capacity (trait fatigability). Understanding these components is crucial for designing effective interventions.

Rehabilitation and exercise have been proposed to mitigate fatigue. While rehabilitation may reduce early muscular fatigability and improve motor function, exercise

enhances the body's ability to maintain homeostasis and better cope with fatigue. This study aims to investigate how rehabilitation and exercise interact in the modulation of fatigue and fatigability in PwMS, with specific focus on the role of cortical excitability and inhibition.

RESULTS

Rehabilitation Phase. A technology-empowered rehabilitation program was tested for its effects on fatigue-related motor impairments in PwMS. Twenty-four PwMS (age=57.8±9.8 years, EDSS=6) underwent a 20-session rehabilitation program focusing on gait, balance, and assistive device use. Participants were divided into an experimental group using a real-time feedback crutch

(FB_group) and a control group who did not receive any biofeedback throughout the whole study duration (NOFB_group).

At baseline, individuals who previously used a crutch (PRE_crutch) reported higher perceived fatigue at the Modified Fatigue Impact Scale (MFIS) than those who used a cane (PRE_cane). Higher reported fatigue was associated with better motor performance in PRE_crutch. Following rehabilitation, perceived fatigue improved regardless of prior aid or rehabilitation group ($F=4.90$, $p=0.038$). The FB_group showed superior performance at walking speed and dynamic balance tests compared to the NOFB_group ($U=34$, $p=0.028$; $U=36$, $p=0.038$). Fatigue-performance correlations changed post-rehabilitation, suggesting reduced perceived fatigue and improved function as a joint result of the intervention.

Neurophysiological Assessment. Fourteen PwMS (age=42.8±9.9 years; EDSS=2.25±1.60) and sixteen gender- and age-matched healthy controls (HC) were asked to perform a 6-minute walking test (6MWT) to assess walking endurance. Fatigue and fatigability were evaluated using self-reported measures: Visual Analog Scale (VAS) for fatigue, Pittsburgh Fatigability Scale for physical (PFS_phy) and cognitive (PFS_cog) fatigability, and MFIS for both dimensions. Moreover, the Heartbeat Tracking Task (HTT) requiring subjects to silently count their heartbeats without taking their pulse has been performed to assess interoceptive accuracy. Cortical excitability and inhibition were evaluated before (PRE) and after (POST) a cardiopulmonary exercise test inducing maximal exhaustion, through Motor Evoked Potential (MEP) amplitude and contralateral Silent Period (cSP) duration obtained at a recruitment curve via transcranial magnetic stimulation at 105–155% of the active motor threshold during a 10% maximal voluntary contraction of the first dorsal interosseus. Groups differed concerning 6MWT (PwMS<HC, $p=0.01$), VAS (PwMS>HC, $p=0.03$), PFS_Phy (PwMS>HC, $p=0.01$) and MFIS (PwMS>HC, $p<0.001$).

In PwMS, lower 6MWT performance correlated with higher fatigue and motor and cognitive fatigability: VAS ($r=-0.737$; $p=0.003$), MFIS total score ($r=-0.552$; $p=0.040$), MFIS physical sub-score (MFIS_phy) ($r=-0.701$; $p=0.005$),

PFS_phy ($r=-0.811$; $p=0.001$), and PFS_cog ($r=-0.701$; $p=0.008$). At PRE, a lower MEP slope was associated with greater MFIS_phy ($r=-0.550$; $p=0.042$) and PFS_phy ($r=-0.559$; $p=0.038$), but not VAS. Further, we observed a significant positive correlation between the cSP area under the curve and the MFIS_phy ($r=0.587$; $p=0.027$) and a negative correlation between the cSP area under the curve and the HTT score ($r=-0.67$; $p<0.01$). No significant correlations have been found in HC at PRE.

POST vs. PRE analyses revealed decreased MEP area under the curve in PwMS and decreased MEP slope in HC, suggesting different mechanisms occurring in the two groups following the cardiopulmonary exercise test.

High Intensity Interval Training. Three PwMS underwent 24 sessions (2/week) of 30-second task–30-second rest High Intensity Interval Training (HIIT) protocol performed on a recumbent stepper. The effect of the intervention has been preliminary observed on this pilot sample to identify potential effectiveness of this training to reduce fatigue and fatigability, increase aerobic capacity and improve motor performance and mood. Moreover, changes in interoception and neurophysiological parameters has been investigated. After HIIT, perceived fatigue seems reduced and, conversely, aerobic capacity and walking endurance increased. Moreover, we could observe a decreased depression after the intervention. Interestingly, cortical excitability seems to decrease following HIIT, whilst the HTT score appeared improved.

CONCLUSIONS

A rehabilitation program based on gait, balance, and proper assistive device use effectively reduces reported fatigue among PwMS. However, whether endurance capacity is mainly linked to fatigue or fatigability in PwMS needs to be further explored. Neurophysiological and interoceptive mechanisms seems to play a pivotal role in the modulation of these symptoms, concerning mainly fatigability. Further results will contribute to consolidate these findings and to focus on the contribution of specific circuits (e.g., GABA). Finally, the efficacy of rehabilitative and exercise treatments to reduce this symptoms and improve motor function should be corroborated in a larger PwMS sample.



PUBBLICAZIONI E COMUNICAZIONI A CONGRESSI PUBLICATIONS AND CONGRESS PRESENTATIONS

- Bellosto A, Iester C, Biggio M, Tacchino A, Brichetto, Bove M, Bonzano L, Pedullà L. Sensorized insoles as a tool for assessment of balance deficits in people with Multiple Sclerosis. 28th RIMS Annual Conference, May 4-6 2023 – Genoa, Italy
- Bellosto A, Bisio A, Giacalone R, Tacchino A, Pod-

da J, Brichetto G, Bove M, Pedullà L. Neurophysiological mechanisms of fatigue and fatigability: the role of cortical excitability and inhibition in multiple sclerosis. (Submitted) 14th International Symposium on Gait and Balance in MS, May 3, 2025 – Aurora, Colorado (USA).

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

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



Jessica Podda

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

COLLABORATORI / COLLABORATORS

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

PREMESSE E OBIETTIVI

I disturbi cognitivi colpiscono circa il 40-70% delle persone con Sclerosi Multipla (SM). Considerato il loro impatto negativo sull'autonomia e sulla vita quotidiana, la gestione dei sintomi cognitivi è certamente una priorità nella presa in carico delle persone con SM. Sebbene per il clinico siano disponibili batterie neuropsicologiche valide e affidabili, come la Brief Repeatable Battery of Neuropsychological tests e la Minimal Assessment of Cognitive Function in MS, difficilmente l'assessment cognitivo rappresenta ad oggi una pratica clinica routinaria per diverse ragioni: si tratta di un processo spesso oneroso in termini di tempo ed energie per clinico e paziente, non esente dal rischio di errori in fase di somministrazione e scoring dovuti all'inevitabile soggettività del valutatore, e non sempre in grado di cogliere cambiamenti anche minimi occorsi nel tempo a livello del funzionamento cognitivo. Tuttavia, questi ostacoli possono essere superati dall'utilizzo di soluzioni digitali, come app e software computerizzati, sviluppate per lo screening ed il monitoraggio dei disturbi cognitivi. Il presente studio si propone quindi di misurare la validità e l'usabilità di DIGICOG-MS® (DIGItal assessment of COgnitive impairment in Multiple Sclerosis), app di autovalutazione delle funzioni cognitive per le persone con SM, realizzata dalla Fondazione Italiana Sclerosi Multipla (FISM). DIGICOG-MS® include quattro test digitali, sviluppati con l'obiettivo di valutare le funzioni più frequentemente interessate dalla SM come memoria visuo-spaziale ("Ricorda e posiziona"), memoria verbale ("Ascolta e ripeti"), fluenza semantica ("Genera le parole") e velocità di elaborazione delle informazioni ("Associa i numeri"). Questi test prendono ispirazione dalle rispettive versioni cartacee tradizionali come il 10/36 Spatial Recall Test, Rey Auditory Verbal Le-

arning test, Word List Generation, e Symbol Digit Modalities Test.

RISULTATI

Per garantire un confronto adeguato tra le due modalità di valutazione, le persone con SM reclutate nello studio hanno partecipato a due sessioni di valutazione cognitiva. Una sessione prevedeva l'utilizzo dell'app DIGICOG-MS®, mentre l'altra si basava su test cartacei tradizionali. Le sessioni sono state programmate a distanza di una settimana l'una dall'altra, in modo da ridurre eventuali effetti di apprendimento. Per investigare l'associazione tra i punteggi ottenuti ai test digitali e a quelli cartacei, è stato calcolato il coefficiente di correlazione lineare r di Pearson. Il coefficiente di correlazione intraclassa (ICC) è stato invece determinato per misurare la consistenza dell'app in due valutazioni diverse a distanza di due settimane, in un sottogruppo di partecipanti. Infine, l'usabilità dell'app è stata misurata attraverso i questionari System Usability Scale (SUS) e la mHealth App Usability Questionnaire (MAUQ) (versione paziente).

Inizialmente, 105 persone con SM seguite presso il Servizio di Riabilitazione AISM Liguria sono state contattate dalla neuropsicologa poiché soddisfacevano i criteri di eleggibilità. Tuttavia, 7 di loro hanno più volte rinviato la prima valutazione per motivi come problemi di salute o difficoltà negli spostamenti, portando i ricercatori a escluderle dallo studio. Sono state quindi reclutate 98 persone con SM. Successivamente, altre 6 persone sono state escluse dalle analisi finali a causa della mancanza di una delle due valutazioni previste (digitale o tradizionale).

Il campione finale ha quindi incluso 92 persone con SM, di cui 60 donne, con un'età media di 51.38 ± 11.36 anni, un

livello di istruzione medio di 13.07 ± 2.74 anni, una durata media di malattia di 12.91 ± 9.51 anni e un livello medio di disabilità pari a 3.58 ± 1.75 alla scala EDSS. I risultati rivelano forti correlazioni tra i test digitali e quelli cartacei per tutti i domini cognitivi indagati ($p < .001$), con valori di r di Pearson tra .58 e .78. L'affidabilità test-retest dell'app è apparsa eccellente ($ICCs > .90$) per memoria verbale e velocità di elaborazione delle informazioni, e buona per memoria visuo-spaziale e fluency semantica ($ICCs > .80$). Il punteggio medio alla scala SUS è stato di 84.5 ± 13.34 , classificato come "il migliore immaginabile" (intervallo 84.1-100). Il punteggio medio totale alla MAUQ è stato di 104.02 ± 17.69 , significativamente superiore alla soglia di 72, suggerendo che DIGICOG-MS® è stata ritenuta usabile e ben apprezzata dalle persone con SM. La presenza di sintomi depressivi, come indicata dal punteggio alla sottoscala HADS-D, ha evidenziato una correlazione negativa sia con la MAUQ ($r = -.31$, $p < .001$) sia con la SUS ($r = -.17$, $p = .02$). L'ansia, misurata attraverso la sottoscala HADS-A, è risultata invece correlata solo alla MAUQ ($r = -.16$, $p = .04$). I risultati confermano che i disturbi dell'umore rappresentano un fattore cruciale che potrebbe influenzare negativamente l'usabilità della nuova app.

CONCLUSIONI

Lo studio suggerisce che DIGICOG-MS® potrebbe essere considerata un'alternativa valida per l'autovalutazione del funzionamento cognitivo a distanza per le persone con SM. Sono molti i vantaggi nell'utilizzo dell'app DIGICOG-MS®. In primo luogo, essa consentirebbe un'autovalutazione e un monitoraggio continuo delle funzioni cognitive, che

altrimenti potrebbero essere ostacolati nelle persone con SM a causa di diverse condizioni critiche (ad esempio, limitazioni nella guida, necessità di assistenza da parte di caregiver e amici, risorse economiche limitate, distanza tra ospedale e abitazione, affaticamento e disabilità motorie). In secondo luogo, le procedure di somministrazione digitale sono più standardizzate rispetto alle versioni cartacee, riducendo le differenze tra valutatori e gli errori dipendenti dall'assessore nella presentazione degli stimoli, migliorando così l'accuratezza dei risultati. In terzo luogo, un'app potrebbe ridurre i livelli elevati di stress e il carico di lavoro per i clinici derivanti dalla necessità di ripetere le procedure di somministrazione nel tempo. Inoltre, l'influenza negativa di sintomi di ansia e depressione sull'usabilità confermano la necessità di tenere in considerazione lo stato psicologico degli utenti finali in fase di design e validazione di nuovi strumenti digitali.

Il monitoraggio continuo nel tempo permetterebbe al clinico di individuare un trattamento riabilitativo cognitivo personalizzato sulle caratteristiche e i bisogni di ciascuna persona con SM. Inoltre, i dati raccolti attraverso DIGICOG-MS® consentirebbero di identificare la presenza di fenotipi cognitivi nella SM, di predire l'insorgenza di eventuali disturbi cognitivi e monitorarne l'evoluzione nel tempo, grazie a sofisticati algoritmi di machine learning. In conclusione, la possibilità di definire meglio il livello di complessità di ogni individuo con SM e di disporre di criteri predittivi sufficienti e adeguati per l'evoluzione della malattia, grazie all'utilizzo di una nuova soluzione digitale come DIGICOG-MS®, potrebbe essere fondamentale per costruire un patto terapeutico più proficuo tra paziente e clinico.

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

INTRODUCTION AND AIMS

Cognitive impairment (CI) affects about 40-70% of people with Multiple Sclerosis (PwMS). Documented in all MS courses, with more severe deficits in progressive forms, both secondary progressive and primary progressive, compared to relapsing-remitting MS, CI is recognized as one of the most disturbing disorders in MS. Although addressing CI is recognized as a key priority in MS care, leading to more timely and targeted treatment interventions, highly reliable and validated traditional paper-and-pencil tests as the Brief Repeatable Battery of Neuropsychological tests and the Minimal Assessment of Cognitive Function in MS are still not widely and routinely used in

clinical practice due to various reasons: systematic cognitive assessments are somewhat time-consuming, require specialized examiners, and could not timely collect subtle cognitive changes. Thus, these limitations may be overcome by alternative easy-to-use digital solutions. Given the need to understand in more depth the potentiality of mobile Health (mHealth) apps in the assessment of CI in MS, we designed and developed DIGICOG-MS® (DIGital assessment of COGNitive impairment in Multiple Sclerosis), a smartphone and tablet-based app for self-assessment of CI in PwMS. DIGICOG-MS® includes four digital tests assumed to evaluate the most affected cognitive domains in MS as visuospatial memory, verbal memory, se-

mantic fluency, and information processing speed. These digital tests took inspiration from traditional paper-based tests known to assess the same cognitive functions, as 10/36 Spatial Recall Test, Rey Verbal Learning Test, Word List Generation, Symbol Digit Modalities Test. Aims of our study were to test validity and usability of the novel mHealth app in a sample of PwMS.

RESULTS

To ensure an adequate comparison between the two assessment modalities, PwMS recruited for the study participated in two cognitive testing sessions. One session involved the use of DIGICOG-MS[®], while the other relied on traditional paper-based tests. The sessions were scheduled one week apart to minimize potential learning effects. Convergent validity was analysed using the Pearson correlation coefficient (*r*) to determine the strength of the association between traditional and digital tests. To test reliability of the app, the agreement between two repeated measurements was addressed with the intra-class correlation coefficients (ICC), in a subgroup of patients. System Usability Scale (SUS) and mHealth App Usability Questionnaire (MAUQ) were thus administered at end of DIGICOG-MS[®] evaluation to test usability of the mHealth app.

At the beginning, 105 PwMS, followed as outpatients at the AISM Rehabilitation Service of Genoa (Italy), met the eligibility criteria and were contacted by the neuropsychologist. The first evaluation was postponed by 7 PwMS due to various reasons (eg, health problems, travel constraints) several times until the researchers decided to withdraw them from the study. We enrolled 98 PwMS and excluded 6 of them from the analyses due to a missing score on one assessment (ie, digital or traditional modality).

The final sample consisted in 92 PwMS (female: 60). They had a mean age of 51.38 ± 11.36 , an education of 13.07 ± 2.74 years, a disease duration of 12.91 ± 9.51 and a disability level as measured by the Expanded Disability Status Scale (EDSS) of 3.58 ± 1.75 . Pearson correlation analyses indicated significantly strong correlations for visuospatial memory, verbal memory, semantic fluency, and information processing speed (all *ps* < .001), with *r* values ranging from .58 to .78. Test-retest reliability of the mHealth app was excellent (ICCs > .90) for verbal memory and information processing speed, and good for visuospatial memory and semantic fluency (ICCs > .80).

The average SUS score was 84.5 (SD 13.34), indicating "best imaginable" usability (range 84.1-100). The average total MAUQ score was 104.02 ± 17.69 , well significantly above the cut-off of 72, suggesting that DIGICOG-MS was significantly usable and well appreciated by PwMS. Depressive symptoms, as indicated by the HADS-D, were negatively correlated with both MAUQ ($r = -.31$, $p < .001$) and SUS ($r = -.17$, $p = .02$) and showed the major effects on usability outcome measures compared with all other covariates; anxiety, as indicated by the HADS-A, was only associated with MAUQ ($r = -.16$, $p = .04$).

CONCLUSIONS

Since CI poses major limitations to PwMS, the current results open new paths to deploy digital cognitive tests for MS and further support the use of such novel mHealth app for cognitive self-assessment in PwMS into clinical practice. A self-evaluated cognitive tool, like DIGICOG-MS[®], brings potential advantages. First, the novel mHealth app could allow a continuous self-evaluation and monitoring of cognitive functioning that otherwise could be prevented for PwMS due to various critical conditions (e.g., driving restrictions, reliance on caregivers and friends for assistance, restricted income, hospital-home distance, fatigue, and motor impairment). Second, digital administration procedures are more standardized than in the paper-based versions, reducing inter-rater differences and assessor-dependent errors in stimuli presentation, thus improving accuracy. Third, an app could reduce high stress levels and demands for clinicians resulting from repeating administration procedures over time. In addition, the negative influence of anxiety and depression symptoms on usability scores confirms the need for both researchers and developers to consider the psychological state of end users during the design and validation phases of new digital tools.

A continuous monitoring of cognitive functions would help health professionals to plan a cognitive intervention tailored on personal and clinical characteristics of PwMS. In addition, data acquired through DIGICOG-MS[®] will permit to identify predominant cognitive phenotypes in MS, timely predict the onset of CI and monitor the cognitive decline over time, thanks to sophisticated machine learning algorithms. In conclusion, the possibility to better define the level of clinical complexity of each individual with MS and have sufficient and adequate predictive criteria for MS evolution through a novel digital solution like DIGICOG-MS[®] could be pivotal for the construction of a more fruitful therapeutic pact between patient and clinician based on better perspective knowledge. This would increase disease consciousness, and enhance engagement in rehabilitative treatments.



PUBBLICAZIONI E COMUNICAZIONI A CONGRESSI PUBLICATIONS AND CONGRESS PRESENTATIONS

- Podda J, Tacchino A, Ponzio M, Di Antonio F, Susini A, Pedullà L, Battaglia MA, Brichetto G. Mobile Health App (DIGICOG-MS) for Self-Assessment of Cognitive Impairment in People With Multiple Sclerosis: Instrument Validation and Usability Study. *JMIR Form Res*. 2024 Jun 20;8:e56074
- Podda J, Grange E, Susini A, Tacchino A, Di Antonio F, Pedullà L, Brichetto G, Ponzio M. Italian Version of the mHealth App Usability Questionnaire (Ita-MAUQ): Translation and Validation Study in People With Multiple Sclerosis. *JMIR Hum Factors*. 2024 Sep 30;11:e58079
- Podda J, Pedullà L, Brichetto G, Tacchino A. Evaluating Cognitive-Motor Interference in Multiple Sclerosis: A Technology-Based Approach. *Bioengineering (Basel)*. 2024 Mar 14;11(3):277
- Podda, J., Tacchino, A., Susini, A., Di Antonio, Ponzio, M., Pedullà, L., Battaglia, M.A., Brichetto, G. (September, 2024). "A mHealth app for cognitive self-assessment in people with Multiple Sclerosis: validation and usability of DIGICOG-MS®" in 40th Congress of ECTRIMS. Copenhagen, Denmark
- Podda, J., Tacchino, A., Susini, A., Di Antonio, Ponzio, M., Pedullà, L., Battaglia, M.A., Brichetto, G. (September, 2024). "A mHealth app for cognitive self-assessment in people with Multiple Sclerosis: validation and usability of DIGICOG-MS®" in 10th IMSCOGS, Bern, Switzerland
- Podda, J., Di Antonio, F., Tacchino, A., Pedullà, L., Grange, E., Battaglia, M.A., Brichetto, G., Ponzio, M. (May, 2024). "A taxonomy of cognitive phenotypes in people with MS: a one-year longitudinal study" in euRIMS Annual Congress, Hasselt, Belgium
- Podda, J., Tacchino, A., Ponzio, M., Di Antonio, F., Susini, A., Pedullà, L., Battaglia, M.A., Brichetto, G. (February, 2024). "Validazione e usabilità dell'app DIGICOG-MS® di autovalutazione cognitiva per le persone con Sclerosi Multipla" in 23rd Congresso Nazionale Società Italiana di Riabilitazione Neurologica, Florence, Italy

Progetto speciale di ricerca FISM finanziato nel 2021, e l'ammontare di 90.660 €
FISM Research special project funded in 2021, and the amount of € 90,660

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



Andrea Tacchino

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

COLLABORATORI/COLLABORATORS

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

PREMESSE E OBIETTIVI

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

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

giore efficienza dovuta alla possibilità di adeguare i dettagli di trattamento e di prendere decisioni cliniche nella sessione in itinere, aspetto decisivo nella SM. Tuttavia, l'efficacia della teleriabilitazione sincrona rispetto a quella standard nella SM è ancora materia di studio.

Nel presente progetto, valuteremo l'efficacia della teleriabilitazione sincrona rispetto ad un intervento convenzionale. Lo faremo attraverso uno studio randomizzato e controllato focalizzato sul dominio cognitivo.

Inoltre, con uno sguardo a scenari futuri, esploreremo la fattibilità dell'utilizzo di dispositivi di RV immersiva per la teleriabilitazione motoria e in dual-task nella SM. Attraverso una survey online, mapperemo anche l'utilizzo della teleriabilitazione in Italia.

Infine, dai risultati ottenuti e dal confronto con la letteratura scientifica proporranno linee guida per un utilizzo pratico dei sistemi di teleriabilitazione.

RISULTATI

Durante il secondo anno del progetto abbiamo portato avanti le attività del working package 2 (WP2) dal titolo "Studio RCT sull'intervento di teleriabilitazione cognitiva". I primi trenta soggetti hanno iniziato o stanno concludendo il trattamento, e il reclutamento sta procedendo anche con il coinvolgimento degli altri Servizi di Riabilitazione AISM oltre quello di Genova.

Si stanno portando avanti anche le attività relative al working package 3 (WP3) dal titolo "Soluzioni di Metaverso per persone con SM e loro stakeholder", per il quale si sta finalizzando il protocollo di trattamento per le persone con SM e la messa a punto di un ambiente con scopi educativi per la figura del disability manager.

CONCLUSIONI

L'obiettivo di questo progetto non è cercare di trovare una cura per la malattia ma testare l'efficacia degli interventi riabilitativi erogati attraverso la teleriabilitazione sincrona. I risultati di questo progetto potrebbero rappresentare un passo avanti nel dimostrare come la teleriabilitazione sincrona potrebbe essere una valida opportunità e un'alternativa alla riabilitazione convenzionale per fornire trat-

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

L'indagine su usabilità e fattibilità di utilizzo di soluzioni di Metaverso potrebbero costituire un passo in avanti verso più innovativi trattamenti e metodi di gestione degli effetti della SM.

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

INTRODUCTION AND AIMS

Multiple sclerosis (MS) progressively worsens over time, leading to cumulative physical and cognitive disability. Thus, MS rehabilitation programs should start as soon as possible, be intensive and prolonged, and continue during the different phases of the disease.

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

aspect in MS rehabilitation. The effectiveness of synchronous telerehabilitation services compared to standard care is still under debate. Here, we will assess the effectiveness of synchronous tele vs. conventional rehabilitation. Specifically, we will conduct an RCT study focused on the cognitive domain. Moreover, by looking to the future, we will explore the feasibility of new immersive VR tools as an option for motor and dual-task telerehabilitation.

In addition, through a survey we will map the telerehabilitation use in the Italian rehabilitation services. Finally, based on our results and scientific evidences we will propose practical guidelines for MS telerehabilitation.

RESULTS

During the second year of the project we continued the activities of the working package 2 (WP2) on "RCT study on cognitive telerehabilitation intervention". The first 30 subjects started or are concluding the treatment, and the recruitment continues also involving the other AISM Rehabilitation Services. We started the activities of the working package 3 (WP3) titled "Metaverse tools for people with MS and their stakeholders". We are defining the protocol for the treatment of PwMS and the development of a tool for the education of the disability managers.

CONCLUSIONS

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



PUBBLICAZIONI E COMUNICAZIONI A CONGRESSI PUBLICATIONS AND CONGRESS PRESENTATIONS

- Tacchino A. *Telehealth and digital technologies: the future of cognitive rehabilitation for people with Multiple Sclerosis. Abstract presentation for Poster viewing session at 29th Annual RIMS Conference 2024, 27-29 June 2024, Hasselt, Belgium*
- Tacchino A. *Telehealth and digital technologies: the future of cognitive rehabilitation for people with Multiple Sclerosis. Preliminary results. Abstract submission at 26th Annual SIRM Conference 2025, 10-12 April 2025, Parma, Italy. Waiting for acceptance.*

Progetto speciale di ricerca FISM finanziato nel 2022 e l'ammontare di 220.000 €

FISM Research special project funded in 2022 and the amount of € 220,000

Prevenzione

Prevention

Identificazione dei fattori di rischio genetici ed ambientali ed interazione geni-ambiente nella sclerosi multipla pediatrica (PEDiatric Italian Genetic and enviRonmental ExposurE) (PEDIGREE study)



Angelo Ghezzi

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

COLLABORATORI/ COLLABORATORS

Angelo Ghezzi, Sandra D'Alfonso, Maura Pugliatti, Silvy Pilotto, Martina Tosi, Andrea Corona, Alen Zollo, Nicola Pomella, Maria Pia Amato, Eleonora Cocco, Maria Trojano, Roberto Bergamaschi, Filippo Martinelli-Boneschi

COLLABORAZIONI CON ALTRI GRUPPI/ COLLABORATION WITH OTHER GROUPS

Martina Tosi, Nicola Pomella, *Dipartimento Scienze della Salute, Università Piemonte Orientale, Novara, Italia*

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

Domizia Vecchio, *Neurologia, Università del Piemonte Orientale, Novara, Italia*

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

Valentina Fadda, *Centro SM, Cagliari, Italia*

Filippo Martinelli Boneschi, Alen Zollo, Andrea Corona, Alessandra Mingione, *San Paolo, Milano, Italia*

Maria Trojano, Pietro Iaffaldano, Damiano Paolicelli, Alessia Manni, *Dipartimento di Biomedicina Traslazionale e Neuroscienze - DiBraiN, Università di Bari "Aldo Moro", Bari*

Marta Simone; *Unità di Neuropsichiatria Infantile, Dipartimento di Medicina di Precisione e Rigenerativa, Area Jonica Università degli Studi di Bari "Aldo Moro", Bari, Italia*

Maria Pia Amato, Emilio Portaccio, Camilla Masciulli, *Dipartimento NEUROFARBA, Università degli Studi di Firenze, Firenze, Italia*

Giuseppe Santangelo, Antonio Marino, Andrea Santangelo, *Neuropsichiatria Infantile A.R.N.A.S. Civico di C. Benfratelli, Palermo, Italia*

Sarah Rasia, Ruggero Capra, *Centro SM, Montichiari, Brescia, Italia*

Lucia Moiola, Chiara Zanetta, Federica, Esposito, Massimo Filippi, *IRCCS Ospedale San Raffaele, Milano, Italia*

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

Simona Malucchi, Martina Borghi, Paola Valentino, *CRISM, SCDO Neurologia, AOU San Luigi Gonzaga, Orbassano-Torino, Italia*

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

Roberto Bergamaschi, Stefano Parravicini, *IRCCS Fondazione Mondino, Pavia, Italia*

Pietro Annovazzi, Mattia Pozzato, Patrizia Carta, *Neurologia ad indirizzo Neuroimmunologico, Centro Sclerosi Multipla, ASST Valle Olona, Ospedale Gallarate, Italia*

Agnese Suppiej, *Neuropsichiatria Infantile, Ferrara, Italia*

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

Alessandra Protti, Lorenzo Saraceno, *Centro Sclerosi Multipla, Dipartimento di Neuroscienze, Grande Ospedale Metropolitano Niguarda, Milano, Italia*

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



Stefano Sotgiu, Alessandra Carta, U.O. Neuropsichiatria Inf. AOU Sassari, Italia

Marta Zaffira Conti, Marta Radaelli, UO. Neurologia, Bergamo, Italia

Stefania Maria Bova, Arianna Gadda, Unità di Neurologia Infantile, Ospedale dei Bambini Buzzi, Milano, Italia

Ylenia Vaia, Ilaria Serati, Germana Lomonaco, Dipartimento di Scienze Biomediche e Cliniche, Università di Milano, Milano, Italia

Valentina Tomassini, Giovanna De Luca, ITAB, Dipartimento di Neuroscienze, Imaging e Scienze Cliniche, Università Chieti-Pescara; Clinica Neurologica, Ospedale Universitario SS. Annunziata, Chieti, Italia

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

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

Giacomo Lus, Marcella Coletta, Centro SM II Neurologia, Università della Campania, Napoli, Italia

Carlotta Canavese, Neurologia Pediatrica, Osp. Inf. Regina Margherita di Torino, Italia

Angela Berardinelli, Sara Fusco, Neuropsichiatria Infantile, IRCCS Fondazione Istituto Neurologico Nazionale C. Mondino Pavia, Italia

Girolama Alessandra Marfia, Carolina Gabri Nicoletti, Doriana Landi, UOSD Sclerosi Multipla, Fondazione Policlinico Tor Vergata, Dipartimento Medicina dei Sistemi, Università degli Studi di Roma Tor Vergata, Roma, Italia

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

Maura Pugliatti, Caterina Ferri, Michele Laudisi, Eleonora Baldi, UO Neurologia Universitaria, Università degli Studi di Ferrara, Azienda. Ospedaliero-Universitaria di Ferrara, Centro Sclerosi Multipla, Ferrara, Italia

PREMESSE E OBIETTIVI

La sclerosi multipla pediatrica (SM-ped) rappresenta una condizione privilegiata per esplorare i meccanismi di sviluppo della SM in ragione della stretta vicinanza ai fattori eziologici, rispetto al background genetico. Scopo dello studio attuale: 1. identificare i fattori di rischio genetici associati alla SM, 2. analizzare i risultati su esposizione a fattori ambientali 3. esplorare le interazioni gene-ambiente, 4. Valutare la profilazione epigenetica della SM-ped, 5. esplorare il ruolo del microbiota intestinale, 6. valutare l'esposizione ad agenti virali e valutare i livelli di vitamina D.

RISULTATI

1. Studio del microbiota intestinale

Sono stati inclusi 109 pazienti SM-ped e 64 controlli. La composizione è apparsa simile a livello di phylum di batteri tra i gruppi (Bacillota 44% e Bacteroidota 37%), mentre mediante lo strumento LefSE (LDA Effect Size), per identificare caratteristiche genomiche che caratterizzano in modo significativo due o più gruppi nei dati del microbioma, e con il metodo di classificazione ad albero decisionale è stata rilevata una differenza significativa ($p < 0,05$) a livello di genere. I batteri *unclassified_Lachnospiraceae* e *unclassified_Peptostreptococcaceae* sono arricchiti nella SM-ped, invece quelli *Alistipes*, *Odoribacter* e *Mediterraneibacter* nei controlli. Anche la diversità alfa ($p = 0,001$) e beta ($p < 0,05$) sono risultate significativamente differenti tra i

due gruppi. Lo studio apre un'importante finestra sui possibili meccanismi patogenetici della SM.

2. Esposizione a fumo di sigaretta

Sono stati inclusi 114 pazienti SM-ped e 121 controlli. Un numero significativamente maggiore di casi (39,2%) rispetto ai controlli (24,1%) aveva almeno un genitore fumatore ($OR = 2,03$; $p = 0,024$). L'esposizione al fumo di entrambi i genitori prima della gravidanza era significativamente più frequente nei casi (8,9%) verso i controlli (1,0%) ($OR = 10,79$; $p = 0,028$), e significativa dopo aggiustamento per livello di istruzione della madre alla nascita del bambino ($OR = 11,60$; $p = 0,025$). Il fumo del padre era significativamente più comune nei casi (68,7%) verso i controlli (53,1%) ($OR = 1,94$; $p = 0,024$). Anche il fumo paterno nei tre mesi precedenti la gravidanza era più frequente nei casi (49,5%) verso i controlli (35,4%), con un'associazione cruda significativa ($OR = 1,79$; $p = 0,039$). L'abitudine al fumo della madre non ha mostrato associazioni significative prima, durante e dopo la gravidanza.

3. Tempo trascorso all'aria aperta

Sono stati inclusi 114 pazienti SM-ped e 121 controlli. Il rischio di SM è risultato aumentato nei soggetti, con ridotta esposizione all'aria aperta all'età di 0-5 anni, in relazione alla stagionalità. In particolare, trascorrere < 60 minuti alla settimana all'aperto era associato ad aumentato rischio, con OR di 2,20 in primavera ($p = 0,012$), 2,33 in estate ($p = 0,013$), 2,34 in autunno ($p = 0,004$) e 5,47 in inverno

($p < 0,001$). Dopo aggiustamento per sesso, età e utilizzo di crema solare, l'associazione rimane significativa per la primavera ($p = 0,040$), l'autunno ($p = 0,039$) e soprattutto in inverno ($p < 0,001$), ma non per l'estate ($p = 0,176$).

4. Allattamento al seno materno

Sono stati inclusi 96 pazienti SM-ped e 96 controlli. È stata trovata una significativa associazione tra l'allattamento al seno assente e ridotto rischio di SM (OR=2,04, $p = 0,018$). Questo rischio è leggermente aumentato se confrontato con l'allattamento esclusivo prolungato, con una notevole associazione tra le femmine (OR=2,35, $p = 0,027$). Da sotto analisi che confronta i bambini allattati in maniera esclusiva per almeno 4 mesi con bambini allattati in maniera non esclusiva, o allattati per 1-3 mesi, o non allattati, emerge rischio più elevato per i bambini non allattati (OR 3.10) che rimane significativo anche dopo aggiustamento per sesso, età, nascita prematura e ordine di nascita (OR 4.16).

5. Anticorpi antivirali

È stato analizzato lo stato virale da infezione dai virus Epstein Barr (EBV), Citomegalovirus (CMV), varicella zoster (VZV) e herpes simplex (HSV) 1-2 in 72 pazienti SM-ped e 35 controlli. La concentrazione di Vitamina D e di anticorpi è risultata simile nei 2 gruppi. L'infezione da HSV 1-2 era più comune in SM-ped vs controlli ($p = 0,002$). Stratificando in base allo stato HLA-DRB1*15:01, il rischio era più elevato (ma non significativamente) nel gruppo HLA-DRB1*1501- (OR: 7,018 vs 1,16). I nostri dati sembrano confermare l'interazione già descritta tra l'infezione da HSV e lo stato HLA-DRB1*1501 negativo. Anche se non significativa ($p = 0,06$), la positività a EBV è più elevata nei casi con SM-ped vs controlli, con OR simile a quello degli adulti (OR 3,5 vs 3,6).

6. Inquinamento atmosferico

Sulla base del luogo di nascita e delle diverse residenze del bambino nel corso dell'infanzia, è stato elaborato un database contenente la storia espositiva dei soggetti inclusi (114 casi e 121 controlli), in termini di inquinanti atmosferici come ossidi di azoto, particolato e ozono (NOx: NO+NO₂, PM_{2.5}, PM₁₀, 3 variabili per ozono SOMO35, SURF_MAXO3 - ozono; SURF_ppb_O3: indicatore di media). I dati sono ricavati dal modello EMEP (European Monitoring and Evaluation Program) e stati sono estratti come medie per comune usando il codice ISTAT. Al momento sono in corso le analisi descrittive, seguiranno analisi più approfondite.

7. Analisi genetica

Uno studio di associazione genome-wide è stato condotto su 2278 soggetti (603 SM-ped e 1675 HC), analizzando circa 6.400.000 varianti. Dall'analisi sono emersi 295 suggestivi polimorfismi a singolo nucleotide (SNP) ($p < 1e-5$), di cui 75 superano la soglia genome-wide ($p < 5e-8$) e mappano nella regione HLA, compreso DRB1*1501. Inoltre abbiamo identificato un segnale suggestivo sul cromosoma 13, potenzialmente nuovo rispetto ai loci SM noti (lead SNP=rs9586479, OR: 4.41, $p = 4.45e-07$). In aggiunta, è stato analizzato il carico di varianti di rischio note calcolando un punteggio di rischio poligenico ponderato (weighted polygenic risk score, wGRS) comparando

ped-SM (n=603), controlli (n=1700), SM-adulti (n=3997): i soggetti pediatrici hanno un carico di varianti significativamente più elevato rispetto ai pazienti con esordio in età adulta, oltre che rispetto ai controlli. Il profilo di metilazione dell'intero genoma è stato ottenuto utilizzando il test dell'array Illumina Infinium EPIC v.2.0 (900.000 siti CpG) su 118 soggetti SMped e 54 controlli. Da un'analisi preliminare sono emerse 1916 sequenze e 10 regioni differenzialmente metilate, tra cui alcune già descritte in letteratura su casi di SM adulta, le quali puntano a geni con un ruolo sul sistema immunitario quali CHI3L2, CD19, BLNK, HLA-DOB. Ulteriori analisi di pathway e network hanno evidenziato termini legati a diverse funzioni immuno-moderatorie e processi che coinvolgono linfociti T e B.

8. Dati preliminari di integrazione multi-omica

I dati omici generati sono stati analizzati anche in combinazione, secondo due diversi approcci. I 295 SNP e le 55 regioni differenzialmente metilate (DMR) sono stati integrati secondo un approccio "late", identificando 10 SNPs che sovrappanno con 3 DMR: tutti i segnali ricadono nella regione HLA. Ulteriori analisi basate su un modello "early" sono in corso.

CONCLUSIONI

La popolazione con SM-ped è di particolare interesse per la possibilità di meglio indagare i possibili fattori eziopatogenetici in quanto è minore l'effetto di fattori confondenti. La maggiore entità del carico genetico, rispetto alla popolazione adulta potrebbe contribuire a spiegare i meccanismi di sviluppo più precoce della SM nella popolazione pediatrica e la maggiore suscettibilità in relazione all'esposizione a fattori ambientali.

Il nostro studio identifica potenziali nuovi segnali e conferma il ruolo favorente di fattori ambientali e perinatali che nel loro insieme possono aprire la strada a individuare possibili strategie preventive di intervento.

Identification of genetic/environmental risk factors and interaction between genetic and environmental factors in pediatric multiple sclerosis (PEDiatric Italian Genetic and enviRonmental ExposurE) (PEDIGREE study)

INTRODUCTION AND AIMS

Pediatric multiple sclerosis (Ped-MS) represents a privileged condition to explore the mechanisms of MS development due to the proximity to etiological factors, in relation to the genetic background.

Aim of the current study: 1. To identify genetic risk factors associated with MS, 2. To analyze the results on exposure to environmental factors, 3. To explore gene-environment interactions, 4. To evaluate the epigenetic profiling of Ped-MS, 5. To explore the role of the intestinal microbiota, 6. To evaluate exposure to viral agents and to evaluate vitamin D levels.

RESULTS

1. Study of the intestinal microbiota

Included: 109 ped-MS patients and 64 healthy controls. The composition appeared similar at the phylum level between the groups (Bacillota 44% and Bacteroidota 37%), while by LefSE and decision tree classification method a significant difference ($p < 0.05$) was detected at the genus level. Unclassified_Lachnospiraceae and unclassified_Peptostreptococcaceae were enriched in MS-ped, while Alis-tipes, Odoribacter and Mediterraneibacter were enriched in controls. Alpha ($p = 0.001$) and beta diversity ($p < 0.05$) were also significantly different between the two groups. The study opens an important window on the possible pathogenic mechanisms of MS.

2. Exposure to cigarette smoke

Included 114 ped-MS patients and 121 controls. Significantly more cases (39.2%) than controls (24.1%) had at least one parent who smoked (OR=2.03; $p = 0.024$). Exposure to smoking by both parents before pregnancy was significantly more frequent in cases (8.9%) vs. controls (1.0%) (OR=10.79; $p = 0.028$), even after adjustment for maternal education level at childbirth (OR=11.60; $p = 0.025$). Paternal smoking was significantly more common in cases (68.7%) vs controls (53.1%) (OR=1.94; $p = 0.024$). Paternal smoking in the 3 months preceding pregnancy was also more frequent in cases (49.5%) vs controls (35.4%), with a significant crude association (OR=1.79; $p = 0.039$). Maternal smoking did not show significant associations before, during and after pregnancy.

3. Time spent outdoors

Included 114 ped-MS patients and 121 controls. The risk of MS was increased in subjects with reduced exposure at age 0-5 years, with a relationship with seasonality. In

particular, spending < 60 minutes per week outdoors was associated with increased risk, with OR of 2.20 in spring ($p = 0.012$), 2.33 in summer ($p = 0.013$), 2.34 in autumn ($p = 0.004$) and 5.47 in winter ($p < 0.001$). After adjustment for sex, age and sunscreen use, the association remained significant for spring ($p = 0.040$), autumn ($p = 0.039$) and especially winter ($p < 0.001$), but not for summer ($p = 0.176$).

4. Breastfeeding

Included 96 ped-MS patients and 96 controls. A significant association was found between absent/reduced breastfeeding and the risk of MS (OR=2.04, $p = 0.018$). This risk was slightly increased when compared with prolonged exclusive breastfeeding, with a significant association among females (OR = 2.35, $p = 0.027$). From sub-analysis comparing children exclusively breastfed for at least 4 months with children non-exclusively breastfed, or breastfed for 1-3 months, or not breastfed, a higher risk emerged for children not breastfed (OR 3.10) that remained significant even after adjustment for sex, age, preterm birth and birth order (OR 4.16).

5. Antiviral antibodies

Viral status for EBV, CMV, VZV and HSV 1-2 infection was analyzed in 72 patients with ped-MS and 35 controls. Vitamin D (Vit.D) and antibody concentrations were similar in the 2 groups. HSV 1-2 infection was more common in SM-ped vs controls ($p = 0.002$). Stratifying by HLA-DRB1*15:01 status, the risk was higher (but not significantly) in the HLA-DRB1*1501- group (OR: 7.018 vs 1.16). Our data seem to confirm the interaction already described between HSV infection and HLA-DRB1*1501 negative status. Although not significant ($p = 0.06$), EBV positivity is higher in cases with ped-MS vs controls, with OR similar to that observed in adults (OR 3.5 vs 3.6).

6. Air pollution

Based on the place of birth and the different residences of the child during childhood, a database was developed containing the exposure history of the subjects included (114 ped-MS cases and 121 controls), in terms of air pollutants (NOx: NO+NO₂, PM_{2.5}, PM₁₀, 3 variables for ozone SOMO₃₅, SURF_MAXO₃ - ozone; SURF_ppb_O₃: average indicator). Data are obtained from the EMEP (European Monitoring and Evaluation Program) model and are extracted as means by municipality using the ISTAT code. Descriptive analyses are currently ongoing, further analyses will be performed.

7. Genetic analysis

A genome-wide association study was conducted on 2278 subjects (603 SM-ped and 1675 HC), analyzing approximately 6,400,000 variants. The analysis showed 295 suggestive SNPs ($p < 1e-5$), of which 75 exceeded the genome-wide threshold ($p < 5e-8$) and mapped in the HLA region, including DRB1*1501. In addition, we identified a suggestive signal on chromosome 13, potentially novel compared to known SM loci (lead SNP=rs9586479, OR: 4.41, $p=4.45e-07$). In addition, the load of known risk variants was analyzed by calculating a weighted polygenic risk score (wGRS) comparing pedMS ($n=603$), controls ($n=1700$), MS-adults ($n=3997$): pediatric subjects had a significantly higher load of variants compared to patients with adult onset and to controls.

The genome-wide methylation profile was obtained using the Illumina Infinium EPIC v2.0 array (900,000 CpG sites) on 118 ped-MS subjects and 54 controls. A preliminary analysis revealed 1916 probes and 10 differentially methylated regions, including some already described in the literature on cases of adult MS, which point to genes with a role in the immune system such as CHI3L2, CD19, BLNK, HLA-DOB. Further pathway and network analyses highlighted terms related to different immunomodulatory

functions and processes involving T and B lymphocytes.

8. Preliminary Multi-omics data integration

The generated omics data were also analyzed in combination, according to two different approaches. The 295 suggestive SNPs and the 55 DMRs were integrated according to a "late" approach, identifying 10 SNPs that overlap 3 DMRs: all signals fall in the HLA region. Further analyses based on an "early" model are ongoing.

CONCLUSIONS

Patients with MS-ped are of particular interest for the possibility of better investigating the possible etiopathogenetic factors since the effect of confounding factors is lower. The greater extent of the genetic load, compared to the adult population, could contribute to explain the mechanisms of an earlier development of MS in the pediatric population and the greater susceptibility in relation to exposure to environmental factors.

Our study has identified potential new signals and confirms the role of environmental and perinatal factors in MS development, that together may suggest the direction to identify possible preventive intervention strategies.



PUBBLICAZIONI E COMUNICAZIONI A CONGRESSI PUBLICATIONS AND CONGRESS PRESENTATIONS

- Pilotto S, Gencarelli J, Bova S, Gerosa L, Baroncini D, Olivetto S, Alfei E, Zaffaroni M, Suppiej A, Cocco E, Trojano M, Amato MP, D'Alfonso S, Martinelli-Boneschi F, Waubant E, Ghezzi A, Bergamaschi R, Pugliatti M. Etiological research in pediatric multiple sclerosis: A tool to assess environmental exposures (PEDiatric Italian Genetic and environment ExposurE Questionnaire). *Mult Scler J Exp Transl Clin*. 2021;7(4):20552173211059048
- Pilotto S., J. Gencarelli, S.M. Bova, L. Gerosa, D. Baroncini, S. Olivetto, E. Alfei, M. Zaffaroni, A. Suppiej, E. Cocco, M. Trojano, M.P. Amato, S. D'Alfonso, F. Martinelli-Boneschi, E. Waubant, A. Ghezzi, R. Bergamaschi, M. Pugliatti. Etiological research in pediatric multiple sclerosis: a tool to assess environmental exposures (PEQ-IT). ePoster PoXXV World Congress of Neurology, Virtual, 2021
- S. Pilotto, J. Gencarelli, S.M. Bova, L. Gerosa, D. Baroncini, S. Olivetto, E. Alfei, M. Zaffaroni, A. Suppiej, E. Cocco, M. Trojano, M.P. Amato, S. D'Alfonso, F. Martinelli-Boneschi, E. Waubant, A. Ghezzi, R. Bergamaschi, M. Pugliatti. Developing a tool to assess environmental exposures in the Italian pediatric-onset multiple sclerosis (PEQ-IT). ePoster ECTRIMS 2021
- Pilotto S, Fronza M, Simone M, Vaia Y, Bova SM, Gallo A, Tedeschi G, Lanzillo R, Brescia-Morra V, Amato MP, Cocco E, Trojano M, Martinelli-Boneschi F, D'Alfonso S, Ghezzi A, Bergamaschi R, Pugliatti M, and the PEDIGREE Study Group. Pediatric onset multiple sclerosis is associated to father's smoking status and to father having smoked prior to pregnancy of study children: the PEDIGREE study. Abstract, SIN 2023
- Pilotto S, Fronza M, Simone M, Vaia Y, Bova SM, Gallo A, Tedeschi G, Lanzillo R, Brescia-Morra V, Amato MP, Cocco E, Trojano M, Martinelli-Boneschi F, D'Alfonso S, Ghezzi A, Bergamaschi R, Pugliatti M, and the PEDIGREE Study Group. Pediatric Onset Multiple Sclerosis is associated with Parental Smoking: Insights from the PEDIGREE Study. e-Presentation 10th Congress of EAN - Helsinki, 2024
- Pilotto S, Fronza M, Simone M, Vaia Y, Bova SM, Gallo A, Tedeschi G, Lanzillo R, Brescia-Morra V, Amato MP, Cocco E, Trojano M, Martinelli-Boneschi F, D'Alfonso S, Ghezzi A, Bergamaschi R, Pugliatti M, and the PEDIGREE Study Group. Time spent outdoors and risk of pediatric onset MS: the PEDIGREE study. e-Presentation 10th Congress of EAN, Helsinki, 2024
- Pilotto S, Fronza M, Simone M, Vaia Y, Bova SM, Gallo A, Tedeschi G, Lanzillo R, Brescia-Morra V, Amato MP, Cocco E, Trojano M, Martinelli-Boneschi F, D'Alfonso S, Ghezzi A, Bergamaschi R, Pugliatti M, and the PEDIGREE Study Group. Pe-



diatric Onset Multiple Sclerosis is associated with Parental Smoking: Insights from the PEDIGREE Study. EPoster 40th ECTRIMS Meeting – Copenhagen, 2024

- Pilotto S, Fronza M, Simone M, Vaia Y, Bova SM, Gallo A, Tedeschi G, Lanzillo R, Brescia-Morra V, Amato MP, Cocco E, Trojano M, Martinelli-Boneschi F, D'Alfonso S, Ghezzi A, Bergamaschi R, Pugliatti M, and the PEDIGREE Study Group. Time spent outdoors and risk of pediatric onset MS: the PEDIGREE study. Poster 40th ECTRIMS Meeting – Copenhagen, 2024
- Pilotto S, Fronza M, Simone M, Bova SM, Gallo A, Tedeschi G, Lanzillo R, Brescia-Morra V, Bertolotto A, Capra R, Grimaldi L, Lus G, Milani N, Pozzilli C, Canavese C, Sotgiu S, Protti A, De Luca G, Moiola L, Berardinelli A, Annovazzi PO, Santangelo G, Tosi M, Corona A, Zollo A, Pomella N, Amato MP, Cocco E, Trojano M, Martinelli-Boneschi F, D'Alfonso S, Ghezzi A, Bergamaschi R, Pugliatti M. Reduced duration of breastfeeding is associated with an increased risk of pediatric onset multiple sclerosis (POMS): the PEDIGREE study. Poster 54° congresso SIN – Roma 2024
- M. Tosi, M. Mellai, A. Zollo, M. Allesina, A. Corona, M. Simone, A. Protti, A. Berardinelli, A. Gallo, C. Canavese, D. Vecchio, L. Moiola, M. Conti, M. Borghi, M. Viri, M. Zaffaroni, O., Oddo, R. Lanzillo, S. Rasia, S. Bova, S. Sotgiu, M. Trojano, M. Amato, E. Cocco, R. Bergamaschi, M. Pugliatti, A. Ghezzi, F. Martinelli Boneschi, S. D'Alfonso. Unravelling the role of gut microbiota in an Italian cohort of paediatric Multiple Sclerosis (Pedigree Study Group), Neurology Neuroimmunology & Neuroinflammation (submitted)
- Pilotto S, Fronza M, Simone M, Vaia Y, Bova SM, Gallo A, Tedeschi G, Lanzillo R, Brescia-Morra V, Amato MP, Cocco E, Trojano M, Martinelli-Boneschi F, D'Alfonso S, Ghezzi A, Bergamaschi R, Pugliatti M, and the PEDIGREE Study Group. Pediatric onset multiple sclerosis is associated to father's smoking status and to father having smoked prior to pregnancy of study children: the PEDIGREE study. Abstract, SIN 2023
- M.Tosi, M. Mellai, A. Zollo, M. Allesina, A. Corona, M. Simone, A. Protti, A. Berardinelli, A.Gallo, C. Canavese, D. Vecchio, L. Moiola, M. Zaffira Conti, M. Borghi, M. Viri, M. Zaffaroni, O. Oddo, R.Lanzillo, S. Rasia, S. M. Bova, S.Sotgiu, M.Troiano, M. P. Amato, E. Cocco, R. Bergamaschi, M. Pugliatti, A. Ghezzi, Martinelli Boneschi F, S. D'alfonso. Interaction between genetic and non-genetic risk factors in paediatric Multiple Sclerosis (Pedigree Study Group): the role of gut microbiota, Abstract, ECTRIMS 2023
- M. Tosi, M. Mellai, A. Zollo, M. Allesina, A. Corona, M. Simone, A. Protti, A. Berardinelli, A. Gallo, C. Canavese, D. Vecchio, E. Cocco, L.Moiola, M. Zaffira Conti, M.Borghi, M. Viri, M. Zaffaroni, O.Oddo, R.Lanzillo, S. Rasia, S. Bova, S.Sotgiu, M. Trojano, M. P. Amato, R.Bergamaschi, M. Pugliatti, Martinelli Boneschi F., A. Ghezzi, S. D'alfonso. Interaction between genetic and non-genetic risk factors in paediatric Multiple Sclerosis (Pedigree): the role of gut microbiota, Abstract ESHG Congress 2023
- M. Tosi, M. Mellai, A. Zollo, M. Allesina, A. Corona, M. Simone, A. Protti, A. Berardinelli, A. Gallo, C. Canavese, D. Vecchio, L. Moiola, M. Conti, M. Borghi, M. Viri, M. Zaffaroni, O., Oddo, R. Lanzillo, S. Rasia, S. Bova, S. Sotgiu, M. Trojano, M. Amato, E. Cocco, R. Bergamaschi, M. Pugliatti, A. Ghezzi, F. Martinelli Boneschi, S. D'Alfonso. Unravelling the interplay between genetic and non-genetic risk factors in paediatric Multiple Sclerosis (Pedigree Study Group): focus on the role of gut microbiota, Abstract, SIGU 2023
- M. Tosi, M. Mellai, A. Zollo, M. Allesina, A. Corona, M. Simone, A. Protti, A. Berardinelli, A. Gallo, C. Canavese, D. Vecchio, L. Moiola, M. Conti, M. Borghi, M. Viri, M. Zaffaroni, O., Oddo, R. Lanzillo, S. Rasia, S. Bova, S. Sotgiu, M. Trojano, M. Amato, E. Cocco, R. Bergamaschi, M. Pugliatti, A. Ghezzi, F. Martinelli Boneschi, S. D'Alfonso. Unravelling the interplay between genetic and non-genetic risk factors in paediatric Multiple Sclerosis (Pedigree Study Group): focus on the role of gut microbiota, Oral presentation, Abstract, SIN 2023
- M. Tosi, A. Zollo, A. Corona, N. Pomella, N. Barizzone, F. Caushi, P. Khoshgoftar, L. Martignetti, F. Clarelli, E. Mascia, M. Filippi, F. Esposito, M. Trojano, M. Amato, E. Cocco, R. Bergamaschi, M. Pugliatti, A. Ghezzi, F. Martinelli Boneschi, S. D'Alfonso, Investigation of pediatric multiple sclerosis by applying multi omics data integration. Abstract, HUGO, Roma 2024
- M. Tosi, A. Zollo, A. Corona, N. Pomella, N. Barizzone, F. Caushi, P. Khoshgoftar, L. Martignetti, F. Clarelli, E. Mascia, M. Filippi, F. Esposito, M. Trojano, M. Amato, E. Cocco, R. Bergamaschi, M. Pugliatti, A. Ghezzi, F. Martinelli Boneschi, S. D'Alfonso, Multi omics data integration approaches to investigate Pediatric Multiple Sclerosis. Abstract, ESHG, Berlino 2024 e ECTRIMS, Copenhagen 2024
- N. Pomella, M. Tosi, N. Barizzone, A. Zollo, A. Corona, F. Clarelli, E. Mascia, M. Sorosina, M. Filippi, F. Esposito, S. Pilotto, F. Caushi, M. Thavamani, M. Simone, A. Protti, A. Berardinelli, A. Gallo, C. Canavese, D. Vecchio, L. Moiola, M. Conti, M. Borghi, M. Viri, P. Annovazzi, O. Oddo, R. Lanzillo, S. Rasia, S. Maria Bova, S. Sotgiu, M.Trojano, M. Amato, E. Cocco, R. Bergamaschi, M. Pugliatti, A. Ghezzi, F. Martinelli, S. D'Alfonso, Genetic risk factors for pediatric-onset multiple sclerosis in the Italian population. ECTRIMS Copenhagen 2024



- M.Tosi, A. Zollo, A. Corona, N. Pomella, N. Barizzone, F. Caushi, L. Martignetti, F. Clarelli, E. Mascia, M. Sorosina, M. Filippi, F. Esposito, S. Pilotto, M. Simone, A. Protti, A. Berardinelli, A. Gallo, C. Canavese, D. Vecchio, L. Moiola, M. Conti, M. Borghi, M. Viri, P. Annovazzi, O. Oddo, R. Lanzillo, S. Rasia, S. Bova, S. Sotgiu, M. Trojano, M. Amato, E. Cocco, R. Bergamaschi, M. Pugliatti, A. Ghezzi, F. Martinelli, S. D'Alfonso, Multi-Omics Integration Strategies To Investigate Pediatric Multiple Sclerosis (Pedigree Study Group). Best poster, Abstract, SIN, Roma 2024
- M. Tosi, A. Zollo, F. Caushi, A. Corona, A. Habeeb, N. Barizzone, S. Pilotto, M. Simone, A. Protti, A. Berardinelli, A. Gallo, C. Canavese, D. Vecchio, L. Moiola, M. Conti, M. Borghi, M. Viri, P. Annovazzi, O. Oddo, R. Lanzillo, S. Rasia, S. Bova, S. Sotgiu, M. Trojano, M. Amato, E. Cocco, R. Bergamaschi, M. Pugliatti, A. Ghezzi, F. Martinelli Boneschi, S. D'Alfonso, Association of Viral Infections with Human Leukocyte Antigen-DRB1 in Pediatric Multiple Sclerosis (Pedigree Study Group). Abstract, SIN, Roma 2024
- M. Tosi, A. Zollo, A. Corona, N. Pomella, N. Barizzone, L. Martignetti, S. Pilotto, F. Clarelli, E. Mascia, M. Sorosina, M. Filippi, F. Esposito, Pedigree Group, M. Trojano, M.P. Amato, E. Cocco, R. Bergamaschi, M. Pugliatti, A. Ghezzi, F. Martinelli Boneschi, S. D'Alfonso, Multi-omics data integration to explore the interaction between genetic and non-genetic risk factors in Pediatric Multiple Sclerosis (PEDIGREE Group). Oral presentation Abstract, SIGU, Padova 2024
- A Corona, M Tosi, M Mellai, A Zollo, M Allesina, M Simone, A Protti, A Berardinelli, A Gallo, V Torri Clerici, C Canavese, D Vecchio, E Cocco, L Moiola, M Zaffira Conti, M Borghi, M Viri, P Annovazzi, A Mingione, O Oddo, R Lanzillo, S Rasia, SM Bova, S Sotgiu, A Priori, M Trojano, MP Amato, R Bergamaschi, M Pugliatti, S D'alfonso, F Martinelli Boneschi. Epigenetics in pediatric multiple sclerosis: the PEDIGREE study. Oral presentation Abstract, ECTRIMS 2024
- A. Corona, M. Tosi, N. Barizzone, A. Zollo, N. Pomella, M. Simone, A. Protti, A. Berardinelli, A. Gallo, C. Canavese, D. Vecchio, E. Cocco, L. Moiola, M. Zaffira Conti, M. Borghi, M. Viri, A. Mingione, P. Annovazzi, O. Oddo, R. Lanzillo, S. Rasia, S. Bova, V. Torri Clerici, S. Sotgiu, A. Priori, M. Trojano, M. P. Amato, R. Bergamaschi, S. Pilotto, M. Pugliatti, A. Ghezzi, S. D'alfonso, Martinelli Boneschi F. Epigenetics in pediatric multiple sclerosis: the PEDIGREE study Poster presentation SIN 2024
- Ghezzi A, Pilotto S, Pugliatti M, Bergamaschi R, D'Alfonso S, Martinelli Boneschi F, Cocco E, Amato MP, Trojano M, Corona A, Tosi M, Zollo A, Pomella N. Pugliatti M, and the PEDIGREE Study Group. Environmental and behavioral risk factors in the development of pediatric multiple sclerosis, and possible preventive strategies (in preparation for Neurology&Therapy)

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

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

Vaccino con bacillo di Calmette Guerin nella sindrome radiologicamente isolata



Giovanni Ristori

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

COLLABORAZIONI CON ALTRI GRUPPI / COLLABORATIONS WITH OTHER GROUPS

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

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

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

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

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

*Oltre a questi Istituti sono stati individuati e coinvolti nel processo di reclutamento altri 23 Centri SM
Besides the proposing institutions other 23 MS Centers were identified and involved in recruitment process*

PREMESSE E OBIETTIVI

Nell'ultima decade si è assistito ad un importante progresso nella disponibilità di farmaci capaci di modificare il decorso della sclerosi multipla (SM). Nonostante ciò, problemi legati alla qualità della vita e al rischio di super trattamento rimangono per i pazienti. Approcci sicuri che possono essere utilizzati dall'inizio (biologico) della malattia, senza importanti rischi di effetti collaterali, non sono ancora alla nostra portata. Il vaccino contenente Bacille Calmette-Guérin (BCG) può avere queste caratteristiche poichè è risultato avere un effetto benefico in pazienti con SM precoce e primo episodio demielinizzante (Ristori et al. *Neurology* 1999, Paolillo et al *J Neurol* 2003, Ristori et al. *Neurology* 2014). Essendo sicuro, economico e di facile utilizzo, noi proponiamo il suo uso per prevenire la progressione del processo demielinizzante in soggetti con sindrome radiologicamente isolata (RIS: persone asintomatiche con quadro di risonanza magnetica del sistema nervoso centrale suggestiva di SM; Okuda et al. 2009).

Sarà condotto uno studio multicentrico, in doppio cieco, controllato con placebo. Cento persone con RIS saranno randomizzate in due gruppi: 50 riceveranno una singola dose di BCG and 50 una singola dose di placebo. I due gruppi saranno sottoposti alle seguenti procedure al baseline a differenti punti di tempo:

- Status clinico, scale MSFC, e "symbol digit modality

test", ogni sei mesi durante i 3 anni di follow-up.

- Risonanza magnetica dell'encefalo con gadolinio ai mesi 6, 12, 24, 36.
- Profilo immuno-metabolico, condotto dal gruppo del professor Matarese a 6, 12, 24, 36 mesi.

L'end point primario dello studio sarà il numero di lesioni "attive" in risonanza durante il follow-up (i dati neuroradiologici saranno analizzati presso il Quantitative Neuroimaging Lab - responsabile: Prof. N. De Stefano) dell'Università di Siena.

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

Attualmente sono stati identificati 21 Centri in tutto il Paese e il Registro Italiano SM è stato coinvolto nel processo di identificazione dei casi RIS. Questa acquisizione è stata importante data la rarità della condizione oggetto dello studio. Il protocollo è "migrato" nel portale CTIS europeo in linea con la normativa per gli studi interventistici.

Lo stato attuale dello studio e l'andamento del reclutamento è riassunto come segue:

- 19 Centri aperti, 5 centri hanno reclutato 26 persone (13 nel centro Sant' Andrea di Roma) e 2 centri in sottomissione

- 23 soggetti sono stati randomizzati e 3 soggetti hanno completato lo studio, uno è uscito prematuramente dallo studio.
- Una persona ha avuto progressione di malattia, nessun altro evento avverso riscontrato

Bacille Calmette Guérin (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 (Ristori et al. Neurology 1999, Paolillo et al J Neurol 2003, Ristori et al. Neurology 2014). 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, recently described by Matarese's group at months 6, 12, 24, 36.

The primary endpoint of the study will be the number of active lesions at MRI developed over one year. The MRI data analysis will be carried out at the Quantitative Neuroimaging Lab (responsible: Prof. N. De Stefano) of the University of Siena. 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

Currently, twenty-one Centers are identified all over Italy, and the Italian MS Register has been involved in the identification process of RIS condition. That was an important step given the rarity of the condition under study. The protocol was submitted to the European platform CTIS according to the rules on interventional studies.

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



PUBBLICAZIONI E COMUNICAZIONI A CONGRESSI PUBLICATIONS AND CONGRESS PRESENTATIONS

- 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 Dec;55:89-96.
- Amato MP, De Stefano N, Inglese M, Morena E, Ristori G, Salvetti M, Trojano M. Front Secondary Prevention in Radiologically Isolated Syndromes and Prodromal Stages of Multiple Sclerosis. *Neurol*. 2022 Mar 14;13:787160.

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

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



Monica Ulivelli

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

COLLABORATORI/ COLLABORATORS

Daiana Bezzini

COLLABORAZIONI CON ALTRI GRUPPI / COLLABORATIONS WITH OTHER GROUPS

Centri/Centers

Stefano De Biase, Aulss3- Ospedale dell'Angelo di Mestre, Chirignago-Zelarino (VE), Italia

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

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

Girolama Alessandra Marfia, Policlinico Tor Vergata, Roma, Italia

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

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

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

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

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

Maria Pia Amato, Università di Firenze, Firenze, Italia

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

Roberta Lanzillo, Università Federico II Napoli, Napoli, Italia

Marco Salvetti, Sapienza Università di Roma, Roma, Italia

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

PREMESSE E OBIETTIVI

Le persone con SM possono avere una maggiore suscettibilità alle infezioni rispetto alla popolazione generale correlata al grado di disabilità o all'uso di farmaci ad attività immunosoppressiva. L'uso di questi farmaci richiede una certa attenzione sulla possibilità di eventi infettivi. Per questo motivo, la conoscenza dello stato di suscettibilità alle infezioni dei pazienti è necessaria ai fini di una corretta scelta terapeutica ma anche per stimolare i decisori politici in campo sanitario a valutare la necessità o meno di una campagna di vaccinazioni diretta alle persone con SM. Risulta inoltre essenziale per stabilire una corretta programmazione delle vaccinazioni, che andrebbero effettuate prima di una terapia immunosoppressiva. Nonostante queste considerazioni, non ci sono dati disponibili sulla prevalenza dei pazienti suscettibili alle infezioni considerando sia le persone non vaccinate sia quelle mai esposte all'infe-

zione naturale. La sicurezza di molti vaccini nelle persone con SM è stata solo in parte investigata e i dati sulla loro correlazione con un aumentato rischio di ricadute sono discordanti e non disponibili per tutte le vaccinazioni. In aggiunta, i pochi studi che suggeriscono una possibile correlazione sono stati spesso condotti su campioni di piccole dimensioni o su sottogruppi con caratteristiche specifiche. La carenza di dati informativi riguardanti la sicurezza dei vaccini nella popolazione di persone con SM preclude la possibilità di offrire nette raccomandazioni sul loro utilizzo in questi pazienti, nonostante l'importanza nella pratica clinica.

Gli scopi di questo studio sono: 1) valutare lo stato di immunizzazione, indotto dalla malattia naturale o dalla vaccinazione, contro i principali agenti infettivi prevenibili dai vaccini disponibili; 2) valutare la sicurezza della maggior parte dei vaccini utilizzati nella pratica clinica tramite la

registrazione delle ricadute o della progressione della malattia come evento avverso del vaccino nel periodo di rischio definito, e confrontando il tasso di ricadute annuo prima e dopo vaccinazione.

RISULTATI

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

Per studiare l'impatto dei vaccini sul rischio di ricaduta, saranno analizzati i dati sui pazienti vaccinati durante la malattia. Sarà monitorato un periodo da 2 fino a 6 mesi dopo il vaccino: il periodo di 2 mesi è considerato come periodo di massimo rischio clinico, mentre quello di 6 è l'estensione massima del periodo di rischio. Inoltre, in caso di recidiva, sarà quantificata la disabilità con la scala EDSS, confermata a 6 mesi dal vaccino. Questi dati potrebbero far luce sulla relazione tra vaccinazione e SM, aggiungendo nuove informazioni sulla loro sicurezza.

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

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

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

È in corso il controllo di qualità e l'analisi dei database finora pervenuti.

CONCLUSIONI

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

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

INTRODUCTION AND AIMS

Multiple sclerosis (MS) patients maybe more susceptible to infections than the general population in relation to increasing disability or some specific therapies. The use of immunosuppressant or immunomodulatory drugs requires particular attention with respect to the possibility of occurrence of infectious events. 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 MS patients susceptible to infections, considering those unvaccinated or never exposed to natural infections.

The safety of most of vaccines in MS patients has been partly investigated, and data on correlation between vaccination and increasing risk of relapses are still discordant or not available for some vaccines. In addition, the few studies that suggest a possible correlation are mostly carried out on small samples or 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 the relevance of vaccinations in the clinical practice.

The aim of the current project on MS patients is twofold: 1) to assess immunisation status, due to past exposure to natural infectious diseases or vaccines, against major infectious agents preventable by available vaccines; 2) to assess the safety of most utilized vaccines in the clinical practice by recording relapses or disease progression as adverse event in the considered risk period after vaccina-

tion and using the annual relapse rate and its trend during the study period.

RESULTS

The project is conceived as a multicenter, observational, both retro- and prospective study. A cohort of about 3,000 people with MS will be enrolled among databases of 25 clinical Centers in Northern, Central, and Southern Italy. All patients diagnosed with relapsing remitting (RR) MS according to the 2010/2017 Polman's diagnostic criteria from January 2011 to December 2024 will be enrolled. Available data on natural immunization, expressed as specific serum antibodies titer, will be collected from the historical clinical records of the Centers, whereas available data on vaccinations will be collected from the vaccination records. To study the impact of vaccines on the risk of relapse, data about patients receiving a vaccination during the disease course will be analyzed. The study follow-up period will range between 2-6 months after vaccination: the 2-month period is considered 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 Scientific Committee of the Italian MS Registry approved the request for extraction of data regarding the personal and disease characteristics of patients enrolled in the study and already included in the Registry.

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

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

A quality check and analysis of the databases received so far is ongoing.

CONCLUSIONS

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



PUBBLICAZIONI E COMUNICAZIONI A CONGRESSI PUBLICATIONS AND CONGRESS PRESENTATIONS

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

Progetto speciale di ricerca FISM finanziato nel 2019 e l'ammontare di 80.570,5 €
FISM Research special project funded in 2019 and the amount of € 80,570.5

La Biobanca BB-CRESM: un'infrastruttura strategica per la ricerca sulla sclerosi multipla



Alessia Di Sapia

SCDO Neurologia e CRESM, AOU San Luigi Gonzaga, Orbassano (TO), Italia

COLLABORATORI/COLLABORATORS

Paola Valentino, Cecilia Irene Bava

PREMESSE E OBIETTIVI

Le Biobanche di ricerca sono entità legali costituite formalmente presso un'istituzione pubblica o privata, senza scopo di lucro. Costituiscono infrastrutture al servizio delle comunità scientifiche, dei pazienti e dei cittadini. Operano nel rispetto dei diritti dei partecipanti e del consenso informato, garantendo la raccolta, la conservazione e la condivisione di materiali biologici e dati associati, secondo elevati standard di qualità. La condivisione di campioni e dati, così come dei risultati derivanti dagli studi, è alla base dell'attività del *biobanking* e rappresenta un elemento chiave per promuovere una ricerca scientifica solida e collaborativa.

Nel 2020, il Centro Regionale di Riferimento per la Sclerosi Multipla (CRESM) dell'AOU San Luigi Gonzaga ha istituito formalmente la Biobanca del CRESM (BB-CRESM), al termine di un percorso di strutturazione del proprio archivio di campioni biologici.

Il riconoscimento istituzionale è avvenuto con delibera n. 56/2020 ed è stato possibile grazie al sostegno della FISM, tramite progetti speciali avviati dal 2015 al 2022 (2014/PMS/1, 2018/S/4, 2020/S/5).

BB-CRESM è la prima biobanca italiana focalizzata sulla sclerosi multipla (SM) e altre malattie neurologiche autoimmuni, e mira a supportare e potenziare la ricerca in questi ambiti.

Dotata di un proprio regolamento e di una *governance* definita, BB-CRESM ha sviluppato una struttura organizzativa efficiente e un sistema documentale (che include informativa e Consenso informato, Valutazione dell'Impatto sulla Privacy, Procedure Operative Standard, e l'accordo MDTA per il trasferimento dei campioni e dati associati) approvati dalla Direzione Aziendale, dal Comitato Etico e dal Responsabile della Protezione dei Dati.

La biobanca è inoltre parte delle infrastrutture nazionali ed europee BBMRI.it e BBMRI-ERIC, e si è distinta come la prima biobanca piemontese ad entrare in questi network.

RISULTATI

Negli ultimi anni BB-CRESM ha lavorato all'adeguamento del proprio sistema organizzativo, documentale, della strumentazione, del personale e della sua formazione, sulla linea guida della norma UNI EN ISO 20387, riferimento internazionale per il *biobanking*. In particolare sono stati implementati diversi strumenti e attività:

- Aggiornamento della documentazione e delle policy, con definizione delle procedure di accesso ai campioni e dati, modulistica bilingue per le richieste e aggiornamento degli accordi di trasferimento MDTA, anche per Paesi extra UE.
- Adozione del software EasyTrack 2D®, un sistema informatico conforme alla normativa ISO 20387 e GDPR, che consente la tracciabilità completa dei campioni e consensi, la gestione delle operazioni e delle temperature di conservazione, e livelli di accesso differenziati per ruolo.
- Assunzione di personale dedicato, in particolare un Dirigente Biologo assunto a tempo indeterminato per garantire la continuità e sostenibilità della gestione della biobanca
- Digitalizzazione di un catalogo online e consenso dinamico: grazie al progetto PNRR "Strengthening BBMRI.it", BB-CRESM ha partecipato a iniziative per l'aggiornamento della propria Directory e del catalogo online sui siti di BBMRI.it e BBMRI-ERIC, essenziali per il rafforzamento della propria visibilità, fruibilità e accesso, nonché per la validazione di una piattaforma per il consenso informato dinamico, per la gestione di imprescindibili aspetti etici e sociali
- Formazione continua, con partecipazione attiva ai gruppi di lavoro e programmi educativi promossi da BBMRI-ERIC ed ESBB.

Attualmente, BB-CRESM include oltre 3450 partecipanti, tra cui circa 3200 pazienti e 250 soggetti sani. Tutti hanno

aderito alle finalità del *biobanking* e firmato un consenso informato specifico, garantendo un coinvolgimento trasparente. Sono inoltre in corso attività finalizzate al corretto coinvolgimento di soggetti minori.

La biobanca custodisce un patrimonio di oltre 165mila aliquote biologiche (e dati associati), tra cui circa 69mila di siero, 25mila di plasma, 23mila di sangue intero, 16mila di RNA, 18mila di cellule ematiche e 16mila di liquido cefalorachidiano, conservati in provette identificate con un codice a barre, secondo rigorosi criteri di sicurezza e riservatezza. I campioni derivano principalmente da pazienti con SM (70%), con NMOSD o MOGAD (10%), con altre malattie neurologiche o in corso di definizione (18%) e da individui sani (2%). Nel caso dei pazienti con SM, i campioni sono raccolti in diversi momenti clinici: fase diagnostica, pre-trattamento, in corso di terapia e durante recidive. BB-CRESM ha definito procedure per la valutazione della qualità di campioni, dati e strumenti, a garanzia della loro idoneità alla ricerca.

L'accesso ai campioni e ai dati associati rappresenta per una biobanca di ricerca il principale obiettivo e il risultato primario. La BB-CRESM è coinvolta in numerosi progetti

e collaborazioni con enti pubblici e privati, contribuendo agli obiettivi di tali ricerche fra cui la comprensione dei meccanismi di malattia o l'identificazione di biomarcatori diagnostici, prognostici o di risposta al trattamento.

Dal 2020, oltre 1000 campioni e dati associati sono stati distribuiti a numerosi centri di ricerca per studi sulla SM, alcuni dei quali finanziati da FISM. Tra i beneficiari figurano l'Università San Raffaele di Roma, l'Università di Nottingham, l'Istituto Superiore di Sanità, l'IRCCS Besta di Milano, l'Università degli Studi di Torino, l'Università di Basilea e l'Università Federico II di Napoli. Inoltre, la biobanca ha partecipato a uno studio COVID-19 promosso dall'Università di Torino

CONCLUSIONI

BB-CRESM rappresenta un modello virtuoso di biobanca di ricerca, riconosciuto a livello istituzionale e integrato nei principali network scientifici europei. Il suo ruolo pubblico è cruciale per lo sviluppo di ricerche di alta qualità sulla sclerosi multipla e altre malattie neurologiche, favorendo trasparenza, collaborazione e integrazione dei risultati nella pratica clinica.

BB-CRESM Biobank: a strategic infrastructure for multiple sclerosis research

INTRODUCTION AND AIMS

Research biobanks are legally established, non-profit entities based in public or private institutions. They serve the scientific community, patients, and the wider public. Operating with full respect for participants' rights and informed consent, biobanks ensure the collection, storage, and sharing of human biological samples and associated data, according to high quality standards. The sharing of samples and data, as well as the outcomes of studies based on them, is at the heart of biobank activities and is essential to fostering high-quality and collaborative scientific research.

In 2020, the Regional Reference Center for Multiple Sclerosis (CRESM) at San Luigi Gonzaga University Hospital officially established CRESM biobank, BB-CRESM, reorganizing and defining its previous archive of biological samples. This institutional recognition came with determinatin no. 56/2020 and was made possible thanks to the support of the Italian Multiple Sclerosis Foundation (FISM), through dedicated projects carried out from 2015 to 2022 (2014/PMS/1, 2018/S/4, 2020/S/5).

BB-CRESM is the first Italian biobank specifically focused on multiple sclerosis (MS) and other autoimmune neurological diseases, with the goal of supporting and advancing research in these fields.

The biobank is governed by its own regulation and a structured governance system. It has developed an efficient organizational model and documentation framework (including participant information and consent forms, pri-

vacy impact assessment, standard operating procedures, and MDTA agreements for sample and data transfer), all approved by the hospital management, ethics committee, and data protection officer. BB-CRESM is part of national and international biobanking infrastructures, BBMRI.it and BBMRI-ERIC, and was the first biobank in the Piedmont region to join these networks.

RESULTS

In recent years, BB-CRESM has worked to align its organization, documentation, equipment, and staff training with the international biobanking standard UNI EN ISO 20387. Several key initiatives have been implemented, including:

- Update forms and policies, with clearly defined access procedures for samples and data, bilingual request forms, and revised MDTA agreements, including for non-EU countries.
- Adoption of EasyTrack 2D® software, a secure and ISO- and GDPR-compliant software system that manages full traceability of samples and consent, operations, storage temperatures, and role-based access control.
- Recruitment of dedicated staff, including a full-time biologist hired on a permanent contract to ensure long-term continuity and sustainability of the biobank.
- Digital tools for visibility and ethics: thanks to the PN-RR-funded project *Strengthening BBMRI.it*, BB-CRESM has contributed to the upgrade of its Directory and online catalogue (to be published on BBMRI.it and BBMRI-ERIC), enhancing its visibility and accessibili-

ty. It also supports the validation of a digital platform for dynamic consent, ensuring responsible handling of ethical and social aspects.

- Ongoing training and collaboration, with active participation in working groups and educational programs promoted by BBMRI-ERIC and ESBB.

BB-CRESM currently includes over 3,450 participants, with approximately 3,200 patients and 250 healthy controls. All participants have signed a specific informed consent, ensuring transparency and ethical engagement. Efforts are also underway to develop appropriate procedures for involving minors in research. The biobank holds a collection of over 165thousands biological aliquots (along with associated data), including about 69thousands serum, 25thousands plasma, 23thousands whole blood, 16thousands RNA, 18thousands blood cell, and 16thousands cerebrospinal fluid samples. These are stored in barcoded tubes under rigorous safety and confidentiality standards. Samples are primarily collected from patients with MS (70%), followed by those with NMOSD or MOGAD (10%), other neurological conditions or under-diagnosis (18%), and healthy individuals (2%). For MS patients, samples are collected at various stages of the disease, including at diagnosis, before and during treatment, and in case of clinical relapses. BB-CRESM has also implemented procedures to assess the quality of samples, data, and equipment, ensur-

ing they are suitable and reliable for scientific research.

For a research biobank, providing access to samples and data is both a core mission and a key achievement. BB-CRESM plays an active role in various national and international research projects, contributing to the advancement in the understanding of disease mechanisms and/or the identification of diagnostic, prognostic, or treatment response biomarkers. Since 2020, more than 1,000 samples and associated data sets have been distributed to several research centres for MS studies, some supported by FISM. Among the institutions that have benefited from BB-CRESM's resources are: San Raffaele University (Rome), University of Nottingham, Istituto Superiore di Sanità (Rome), IRCCS Besta (Milan), University of Turin, University of Basel, University Federico II (Naples). The biobank also contributed to a COVID-19 research project led by the University of Turin.

CONCLUSIONS

BB-CRESM stands out as a model of excellence in institutional biobanking. It is integrated into major scientific networks and plays a crucial public role in advancing high-quality research on multiple sclerosis and other neurological diseases. Through its activities, it promotes transparency, collaboration, and the integration of scientific discoveries into clinical practice.

Contatto/Contact: biobanca.cresm@sanluigi.piemonte.it



PUBBLICAZIONI E COMUNICAZIONI A CONGRESSI PUBLICATIONS AND CONGRESS PRESENTATIONS

- Malucchi S, Bava CI, Valentino P, Martire S, Lo Re M, Bertolotto A, Di Sapio A. In multiple sclerosis patients a single serum neurofilament light chain (sNFL) dosage is strongly associated with 12 months outcome: data from a real-life clinical setting. *J Neurol*. 2024 Sep 23. doi: 10.1007/s00415-024-12701-w
- Bava CI, Valentino P, Malucchi S, Bottero R, Martire S, Sapio AD, Bertolotto A. Prevalence of elevated sNFL in a real-world setting: Results on 908 patients with different multiple sclerosis types and treatment conditions. *Mult Scler Relat Disord*. 2024 Aug 88:105748. doi: 10.1016/j.msard.2024.105748. Epub 2024 Jun 29
- Maple PA, Tanasescu R, Constantinescu CS, Valentino P, Capobianco M, D'Orso S, Borsellino G, Battistini L, Ristori G, Mechelli R, Salvetti M, Gran B. Cytomegalovirus, Epstein-Barr Virus, Herpes Simplex Virus, and Varicella Zoster Virus Infection Dynamics in People with Multiple Sclerosis from Northern Italy. *Pathogens*. 2024 Jun 1213(6):499. doi: 10.3390/pathogens13060499
- Carta S, Dinoto A, Capobianco M, Valentino P, Montarolo F, Sala A, Reindl M, Lo Re M, Chiodega V, Branger P, Audoin B, Aboab J, Papeix C, Collongues N, Kerschen P, Zephir H, Créange A, Bourre B, Schanda K, Flanagan EP, Redenbaugh V, Villacieros-Álvarez J, Arrambide G, Cobo-Calvo A, Ferrari S, Marignier R, Mariotto S. Serum Biomarker Profiles Discriminate AQP4 Seropositive and Double Seronegative Neuromyelitis Optica Spectrum Disorder. *Neurol Neuroimmunol Neuroinflamm*. 2024 Jan 11(1):e200188
- Lucia Giorgi, Serena Martire, Simona Malucchi, Cecilia Irene Bava, Paola Valentino, Marianna Lo Re, Antonio Bertolotto, Alessia Di Sapio. sNFL as additional biomarker for clinical management of multiple sclerosis patients at relapse. *Multiple Sclerosis Journal* 2024 30: (3S), 580-1,ECTRIMS 2024 P755/2094
- Simona Malucchi, Serena Martire, Cecilia Bava, Paola Valentino, Marianna Lo Re, Antonio Bertolotto, Alessia Di Sapio Serum Neurofilament (sNFL) dosage in the management of patients with multiple sclerosis and no evidence of disease activity (NEDA-3). *Multiple Sclerosis Journal* 2024 30: (3S) 958,ECTRIMS 2024 P1510/1091.
- Valentino P, Malucchi S, Bava CI, Martire S, Capobianco M, Malentacchi M, Sperli F, Oggero A, Di Sapio A, Bertolotto A. Serum Neurofilaments are a reliable biomarker to early detect PML in Multiple Sclerosis patients. *Mult Scler Relat Disord*. 2023 Sep 77:104893



- Bruschi N, Malentacchi M, Malucchi S, Sperli F, Martire S, Sala A, Valentino P, Bertolotto A, Pautasso M, Capobianco MA. Tailoring Rituximab According to CD27-Positive B-Cell versus CD19-Positive B-Cell Monitoring in Neuromyelitis Optica Spectrum Disorder and MOG-Associated Disease: Results from a Single-Center Study. *Neurol Ther.* 2023 Aug12(4):1375-1383. doi: 10.1007/s40120-023-00481-w
- Antonio Bertolotto, simona malucchi, Cecilia Bava, Serena Martire, Marco Capobianco, Maria Malentacchi, Francesca Sperli, Alessandra Oggero, Alessia Di Sapia, Paola Valentino. Serum neurofilaments are a reliable biomarker to early detect PML in Multiple Sclerosis patients. *Multiple Sclerosis Journal* Volume 29 Issue 3_suppl, October 2023. ECTRIMS 2023 P239/1901
- Cecilia Bava, Paola Valentino, Lucia Giorgi, Serena Martire, simona malucchi, Antonio Bertolotto, Sara Arianna, Alessia Di Sapia. Comparison between available technologies and biological approaches for CSF and serum NFL quantification: a further step towards implementation in clinical practice. *Multiple Sclerosis Journal* Volume 29 Issue 3_suppl, October 2023. ECTRIMS 2023 P644/709
- Francesca Chiara Pignalosa, Sara Ilari, Laura Vitiello, Matteo Chiara, Maria Chiara Buscarinu, Silvia Romano, Gianmarco Bellucci, Rachele Bigi, Mariangela De Robertis, Anna Maria D'Erchia, Ernesto Picardi, Caterina Manzari, Fabiana Marnetto, Paola Valentino, Antonio Bertolotto, Marco Capobianco, Lorena Lorefice, Eleonora Cocco, Maura Castelli, Girolama Alessandra Marfia, Diego Centonze, David Horner, Graziano Pesole, Giovanni Ristori, Marco Salvetti, Rosella Mechelli. Genomic variants can contribute to the EBV role in multiple sclerosis. *Multiple Sclerosis Journal* Volume 29 Issue 3_suppl, October 2023. ECTRIMS 2023 P152/1989
- Malucchi S, Valentino P, Bava C, Martire S, Malentacchi M, Sperli F, Capobianco M, Bertolotto A, Di Sapia A. Serum Neurofilaments are a reliable biomarker to early detect PML in Multiple Sclerosis patients. *EUROPEAN JOURNAL OF NEUROLOGY* Volume 30 Page 630-630 Supplement 1 Special Issue SI Meeting Abstract EPO-490
- Sara Carta, Alessandro Dinoto, Marco Alfonso Narduc Capobianco, Paola Valentino, Marianna Lo Re, Vanessa Chiodega, Pierre Branger, Bertrand Audoin, Jennifer Aboab, Caroline Papeix, Nicolas Collongues, Philippe Kerschen, Zephir Helene, Alain Creange, Bertrand Bourre, Eoin Flanagan, Vyanka Redenbaugh, Javier Villaceros-Álvarez, Georgina Arrambide, Alvaro Cobo-calvo, Sergio Ferrari, Romain Marignier, Sara Mariotto. Profile of serum biomarkers in seronegative NMOSD (S50.009). *Neurology* 25 Apr 2023, 100 (17 Supplement 2) 4119
- Valentino P, Malucchi S, Martire S, Bava CI, Capobianco MA, Bertolotto A. sNFL applicability as additional monitoring tool in natalizumab extended interval dosing regimen for RRMS patients. *Mult Scler Relat Disord.* 2022 Sep 1467:104176
- Martire S*, Valentino P*, Marnetto F, Mirabile L, Capobianco M, Bertolotto A. The impact of pre-freezing storage time and temperature on gene expression of blood collected in EDTA tubes. *Mol Biol Rep.* 2022 Jun49(6):4709-4718
- P. Valentino, S. Malucchi, S. Martire, C.I. Bava, M.A. Capobianco, A. Bertolotto. sNFL applicability as additional monitoring tool in Natalizumab Extended Interval Dosing regimen for RRMS patients. *Multiple Sclerosis Journal* Volume 28, Issue 3_suppl: ECTRIMS 2022, EP1244, p 1006-1007
- S. Carta, A. Dinoto, M. Capobianco, P. Valentino, M. Lo Re, V. Chiodega, P. Branger, B. Audoin, J. Aboab, C. Papeix, N. Collongues, P. Kerschen, H. Zephir, A. Creange, B. Bourre, E.P. Flanagan, V. Redenbaugh, G. Arrambide, J. Villaceros-Álvarez, A. Cobo-Calvo, S. Ferrari, R. Marignier, S. Mariotto. Profile of serum biomarkers in seronegative NMOSD. *Multiple Sclerosis Journal* Volume 28, Issue 3_suppl: ECTRIMS 2022, EP1253, p 1011-1012
- Simona Malucchi, Paola Valentino, Fabiana Marnetto, Cecilia Bava, Serena Martire, Antonio Bertolotto, Marco Alfonso Narduc Capobianco. Applicability of sNFL in Multiple Sclerosis as Additional Measure to Monitor Treatments in Clinical Practice and Implications in NEDA-3 Evaluation (S19.001) *Neurology* May 03, 2022
- Valentino P, Marnetto F, Martire S, Malucchi S, Bava CI, Popovic M, Bertolotto A. "Serum neurofilament light chain levels in healthy individuals: a proposal of cut-off values for use in multiple sclerosis clinical practice" *Mult Scler Relat Disord* 2021 Jun 1754:103090
- Valentino, Paola Martire, Serena Marnetto, Fabiana Mirabile, Luca Bertolotto, Antonio Quality control in biobank samples: The impact of pre-freezing storage time and temperature on gene expression of blood collected in EDTA tubes *JOURNAL OF THE NEUROLOGICAL SCIENCES*, OCT 2021, p 429 (meeting abstract World Congress of Neurology)
- Valentino, P. Marnetto, F. Martire, S. Bava, C. Popovic, M. Bertolotto, A. Normal serum NFL levels: a proposal of cut-off strategy definition for the clinical practice *MULTIPLE SCLEROSIS JOURNAL* DEC 2020, 26, 3, SUPPL (LB1219, p85)
- Valentino, P. Marnetto, F. Bava, C. Martire, S. Bertolotto, A. Real-life experience with sNFL in multiple sclerosis patients, as monitoring and treatment decision biomarker *MULTIPLE SCLEROSIS JOURNAL*, DEC 2020, 26, 3, SUPPL (LB1220, p85)
- Bertolotto, A. Malucchi, S. Marnetto, F. Martire, S. Valentino, P. Applicability of sNFL in multiple sclerosis as additional measure in clinical practice and implications in NEDA-3 evaluation *MULTIPLE SCLEROSIS JOURNAL* DEC 2020, 26, 3, SUPPL (LB1221, p86)
- Marnetto, F. Valentino, P. Caldano, M. Ficorilli, A. Paudice, A. Bertolotto, A. BB-CRESM: a structured institutional biobank for quality research in multiple sclerosis *MULTIPLE SCLEROSIS JOURNAL* DEC 2020, 26, 3, SUPPL (LB1245, p98)

Progetto speciale di ricerca FISM finanziato nel 2020 e l'ammontare di 126.369 €
FISM Research special project funded in in 2020 and the amount of € 126,369

Verso nuovi trattamenti

Towards new treatments

Effetti della stimolazione transcranica con campo magnetico statico (tSMS) nella sclerosi multipla progressiva



Diego Centonze

Dipartimento di Medicina dei Sistemi, Università Tor Vergata Roma; Unità di Neurologia I.R.C.C.S. Neuromed, Pozzilli (IS); Facoltà di Psicologia, Università Telematica Internazionale Uninettuno, Roma, Italia

COLLABORATORI/COLLABORATORS

Mario Stampanoni Bassi, Luana Gilio, Giovanni Galifi, Ettore Dolcetti, Antonio Bruno, Luigi Pavone

PREMESSE E OBIETTIVI

Studi sperimentali preclinici e clinici hanno evidenziato che nella sclerosi multipla (SM) l'infiammazione cerebrale altera la funzionalità delle sinapsi causando ipereccitabilità neuronale. Le molecole infiammatorie (citochine e chemochine) possono direttamente causare un aumento della trasmissione eccitatoria glutammatergica e una riduzione della trasmissione inibitoria (GABAergica) inducendo ec-citotossicità e neurodegenerazione.

Attualmente, i trattamenti disponibili per rallentare l'ac-cumulo di disabilità nella SM progressiva sono limitati. Le tecniche di stimolazione cerebrale non invasiva potrebbero offrire una soluzione per contrastare la progressione della disabilità riducendo l'ipereccitabilità corticale.

La stimolazione transcranica con campo magnetico statico (tSMS) è una delle metodiche più promettenti e presenta vantaggi come il basso costo, l'assenza di componenti elet-troniche e la facilità d'uso, che la rendono particolarmente adatta a trattamenti domiciliari senza la necessaria pre-senza di un tecnico esperto.

Studi precedenti hanno mostrato che la tSMS è in grado di ridurre l'eccitabilità corticale e che trattamenti ripetuti potrebbero avere effetti neuroprotettivi in patologie caratterizzate da ec-citotossicità come la sclerosi laterale amiotrofica (SLA).

L'ipotesi di questo studio è che l'applicazione della tSMS a livello della corteccia motoria bilaterale in pazienti con SM progressiva, possa ridurre l'ec-citotossicità ed esercitare un effetto neuroprotettivo contrastando la progressione della malattia.

Il protocollo di studio prevede uno studio randomizzato, in doppio cieco, controllato con placebo, in due fasi speri-

mentali (tSMS reale e tSMS sham) della durata di sei mesi ciascuna, per un totale di 12 mesi. Ogni paziente parteci-perà ad entrambe le fasi dello studio, con disegno cross over (rapporto di allocazione 1:1), iniziando in ordine ran-domico. La tSMS (reale o sham) verrà applicata autonoma-mente con cadenza di due sessioni al giorno (mattina e pomeriggio, distanziate di 6-10 ore), ciascuna della durata di 60 minuti.

Per misurare l'effetto del trattamento verranno effettuate delle valutazioni prima dell'inizio del trattamento (T0), e dopo ciascuna fase sperimentale (T1 e T2). Ad ogni time-point sono previste una valutazione clinica, una neurop-sicologica e una neurofisiologica mediante stimolazione magnetica transcranica (TMS). L'acuità visiva sarà valutata mediante il test low-contrast-letter acuity (LCLA). Verran-no misurati i livelli ematici dei neurofilamenti, come misu-ra del danno assonale, e lo spessore corticale e il volume delle lesioni in T2 alla risonanza magnetica. Infine verrà registrata l'adesione dei partecipanti al protocollo di sti-molazione e i possibili effetti collaterali o eventi avversi.

RISULTATI

La prima fase dello studio ha previsto l'identificazione della popolazione target e l'inizio del reclutamento dei pa-zienti con SM progressiva. Un totale di 30 pazienti è stato arruolato (12 femmine, 18 maschi; età media [DS] = 52.3 [9.1]; durata media di malattia [DS] = 15.87 [10.8] anni). 24 pazienti hanno completato la valutazione al T0, 14 pa-zienti hanno completato la valutazione al T1, e 1 paziente ha completato la valutazione al T2. 8 pazienti sono usciti dallo studio (1 paziente dopo il reclutamento e 7 pazienti prima di completare la valutazione al T1) per l'impossibi-

lità di garantire una sufficiente aderenza al protocollo di stimolazione o alle visite di follow-up. Tutti gli altri pazienti inclusi nello studio hanno mostrato un livello di aderenza alto o medio-alto (10 sono risultati “Totalmente complianti” (>80% delle sessioni pianificate), e 4 sono risultati “moderatamente complianti” (fra 50 e 80% delle sessioni previste).

I dati clinici (punteggio EDSS, the Timed 25-Foot Walk e the 9-Hole Peg Test), la valutazione neuropsicologica, e i prelievi ematici per l'esame dei neurofilamenti sono stati raccolti per tutti i pazienti arruolati al T0, in 14 pazienti al T1 ed in un paziente al T2. La valutazione neurofisiologica (valutazione della trasmissione intracorticale eccitatoria ed inibitoria e valutazione della plasticità sinaptica LTP-like mediante il protocollo di intermittent Theta Burst Stimulation, iTBS) è stata effettuata in 24 pazienti al T0 ed in 14 pazienti al T1. Infine, 23 pazienti hanno completato la RM al T0 e 11 pazienti hanno completato la RM al T1.

L'analisi dei dati raccolti finora non permette di effettuare

un confronto preliminare fra i due gruppi di trattamento per il numero limitato di pazienti che ha completato almeno una delle due fasi dello studio (T0 e T1). Inoltre, un confronto non è possibile a causa del disegno dello studio, poiché ogni paziente sarà sottoposto a entrambi i trattamenti, rendendo necessario attendere il completamento dello studio.

CONCLUSIONI

Al momento non è possibile trarre conclusioni sull'effetto della tSMS sui parametri clinici, neuropsicologici e neurofisiologici. Per completare l'analisi è necessario portare a termine le valutazioni al T1 e quelle al T2. Infine per valutare l'effetto neuroprotettivo della tSMS sarà fondamentale l'analisi dei dati di risonanza magnetica, dei dati neurofisiologici sull'eccitabilità corticale e la plasticità sinaptica, e dei livelli di neurofilamenti e che verranno analizzati al completamento dello studio clinico.

Transcranial Static Magnetic Field Stimulation (tSMS) in progressive Multiple Sclerosis

INTRODUCTION AND AIMS

In multiple sclerosis (MS) inflammation is associated with altered synaptic functioning, a phenomenon called “inflammatory synaptopathy”. In progressive MS (PMS), synaptic alterations induce neuronal hyperexcitability, resulting from enhanced excitatory (glutamatergic) transmission and reduced inhibitory (GABAergic) transmission, and the loss of long-term potentiation (LTP)-like plasticity. Therefore, inflammatory synaptopathy in PMS may critically contribute to disability progression in PMS promoting excitotoxic neurodegeneration and impairing brain damage compensation.

Non-invasive brain stimulation techniques may represent a useful approach to improve synaptic dysfunction in MS, modulating brain excitability and promoting synaptic plasticity expression.

Transcranial static magnetic field stimulation (tSMS) is a recently introduced non-invasive brain stimulation technique. tSMS may present specific advantages over other techniques as it is simple to use and suitable for home-based long-term treatments, not requiring the presence of experienced operators. Previous studies have shown that tSMS applied over the motor cortex is able to reduce cortical excitability. Moreover, long term treatment has been associated with neuroprotective effects in patients with amyotrophic lateral sclerosis (ALS). We hypothesized that in patients with PMS tSMS may specifically help to reduce cortical hyperexcitability, restore synaptic transmission and plasticity and contrast neurodegeneration.

The main aim of this study is to assess the effects of bilateral tSMS of the primary motor cortex in a group of patients with PMS with ascending myelopathy phenotype.

In this randomized, double blind placebo-controlled trial, patients will participate in two experimental randomly assigned phases (real and sham tSMS) for six months each and a total of 12 months. The order of the two phases will be randomized (1:1) for each participant. Real or sham tSMS will be self-administered: two sessions per day, (AM and PM, 6-10 hour apart), 60 minutes each.

To assess the effect of tSMS, patients will be comprehensively evaluated before starting treatment (T0) and at the end of each study phase (T1 and T2). Clinical and neuropsychological evaluation, neurophysiological assessment and MRI will be performed at each time point. Transcranial magnetic stimulation (TMS) will be used to assess motor cortex excitability and LTP-like plasticity. MRI measures of cortical atrophy and T2 lesion load will be assessed. Finally, blood sampled will be collected at each timepoint to measure neurofilaments (NfL) levels as a marker of axonal damage. The adherence to the stimulation protocol and possible adverse effects will be also assessed by asking patients to fill a diary.

RESULTS

We have started the enrollment of patients with PMS in the trial. A total of 30 patients have been included in the study (female = 12, male = 18; age, mean [SD] = 52.3 [9.1]; disease duration, mean [SD] = 15,87 [10.8] years).

24 patients have completed the T0 evaluation, 14 patients completed T1, and 1 patient completed T2.

8 patients dropped out (1 patient after enrollment, 7 patients before completing T1), due to impossibility to adhere to the study protocol. In the remaining patients included in the study, the adherence to the study protocol resulted high or moderate: 10 patients were "fully compliant" (>80%) and 4 patients were "moderately compliant" (50-80%). Clinical evaluation (EDSS score, the Timed 25-Foot Walk and the 9-Hole Peg test), neuropsychological evaluation and blood sample collection for NfL assessment have been performed in all patients at T0, in 14 patients at T1 and in 1 patient at T2. Neurophysiological evaluation (TMS assessment of intracortical excitatory and inhibitory transmission and of LTP-like synaptic plasticity using the intermittent theta-burst stimulation protocol) has been performed in 24 patients at T0 and in 14 patients at T1. Finally, MRI has been performed in 23 patients at T0 and in 11 patients at T1.

The analysis of the data collected so far does not allow for a preliminary comparison between the two treatment groups due to the limited number of patients who have completed at least one of the two study phases (T0 and T1). Moreover, a comparison is not possible due to the study design, as each patient will undergo both treatments, making it necessary to wait for the study's completion.

CONCLUSIONS

At the moment no definitive conclusions can be drawn regarding the effect of tSMS on clinical, neuropsychological, and neurophysiological parameters. To complete the analysis, assessments at T1 and T2 must be finalized. Finally, to evaluate the neuroprotective effects of tSMS, it will be crucial to analyze MRI data, neurophysiological measures of cortical excitability and synaptic plasticity, and neurofilament levels, which will be examined upon completion of the clinical study.



PUBBLICAZIONI E COMUNICAZIONI A CONGRESSI PUBLICATIONS AND CONGRESS PRESENTATIONS

- Stampanoni Bassi M, Gilio L, Buttari F, Dolcetti E, Bruno A, Galifi G, Azzolini F, Borrelli A, Mandolesi G, Gentile A, De Vito F, Musella A, Simonelli I, Centonze D, Iezzi E. Preventive exercise and physical rehabilitation promote long-term potentiation-like plasticity expression in patients with multiple sclerosis. *Eur J Neurol.* 2024 Mar;31(3):e16071
- Dolcetti E, Musella A, Balletta S, Gilio L, Bruno A, Stampanoni Bassi M, Lauritano G, Buttari F, Fresegna D, Tartacca A, Mariani F, Palmerio F, Rovella V, Ferese R, Gambardella S, Giardina E, Finardi A, Furlan R, Mandolesi G, Centonze D, De Vito F. Interaction between miR-142-3p and BDNF Val/Met Polymorphism Regulates Multiple Sclerosis Severity. *Int J Mol Sci.* 2024 May 11;25(10):5253
- Dolcetti E, Buttari F, Bruno A, Azzolini F, Gilio L, Borrelli A, Di Caprio V, Lauritano G, Galifi G, Gambardella S, Ferese R, Giardina E, Rovella V, Furlan R, Finardi A, Musella A, Balletta S, Mandolesi G, Centonze D, Stampanoni Bassi M. An IL-5 Single-Nucleotide Polymorphism Influences Neuroinflammation and Prospective Disease Activity in Multiple Sclerosis. *Int J Mol Sci.* 2024 Aug 22;25(16):9108
- Gilio L, Fresegna D, Stampanoni Bassi M, Musella A, De Vito F, Balletta S, Sanna K, Caioli S, Pavone L, Galifi G, Simonelli I, Guadalupi L, Vanni V, Buttari F, Dolcetti E, Bruno A, Azzolini F, Borrelli A, Fantozzi R, Finardi A, Furlan R, Centonze D, Mandolesi G. Interleukin-10 contrasts inflammatory synaptopathy and central neurodegenerative damage in multiple sclerosis. *Front Mol Neurosci.* 2024 Aug 7;17:1430080

Progetto speciale di ricerca FISM finanziato nel 2023 e l'ammontare di 190.000 €
FISM Research special project funded in 2023 and the amount of € 190,000

DATA SHARING

DATA SHARING



Network Italiano di neuroimaging (INNI)

The Italian Neuroimaging
Network Initiative (INNI)

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



Massimo Filippi

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

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

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

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

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

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

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

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

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

nell'iniziativa (Patrizia Pantano di Roma, Nicola De Stefano di Siena, Gioacchino Tedeschi di Napoli e Maria Rocca di Milano) e rappresentanti della Fondazione Italiana Sclerosi Multipla (FISM), proprietaria del database. Il database INNI online è disponibile all'indirizzo: <https://database.inni-ms.org>. Il progetto INNI è stato promosso dal Prof. Massimo Filippi ed è stato sostenuto da un primo finanziamento di ricerca della Fondazione Italiana Sclerosi Multipla nel 2013 seguito da un secondo finanziamento nel 2018 e dal finanziamento attuale nel 2023.

Data la grande quantità di dati RMI presenti nella piattaforma INNI, è probabile che gli studi volti a indagare l'evoluzione della SM nel tempo e i biomarcatori RM della progressione della malattia siano potenti, rappresentativi della popolazione generale con SM e utili come parametro di riferimento per testare i recenti approcci basati sull'intelligenza artificiale.

Inoltre, i dati clinici sull'evoluzione/gravità della malattia (concomitanti con la valutazione RMI o successive a queste valutazioni) sono disponibili nel database INNI e potrebbero anche essere integrati con dati clinici di follow-up a lungo termine derivati da altri database centralizzati, come il Registro SM italiano

Nel periodo 2023-2025, l'iniziativa INNI agirà su tre diversi aspetti:

- 1) Manutenzione e continua espansione dell'infrastruttura, con l'inclusione nel database di ulteriori centri di ricerca selezionati (Azione 1).
- 2) Sviluppo di un ampio progetto di ricerca multiforme basato sui contenuti INNI, finalizzato a indagare i meccanismi di progressione della malattia nella SM (Azione 2).
- 3) Divulgazione dei protocolli INNI e interazioni con il Registro Italiano SM (Azione 2).

Per quanto riguarda l'Azione 1, sono stati caricati dati di nuovi soggetti; questo ha portato all'inserimento di ulteriori 247 soggetti nell'ultimo anno e attualmente sono presenti nel database i dati di 3.127 soggetti, con l'aumento di 565 scansioni RM durante l'ultimo anno (attualmente, 6002 esami RMI).

Il centro di coordinamento del professo Flippi, ha continuato a svolgere una revisione dettagliata dei dati RMI dei soggetti attualmente disponibili nel repository INNI, per verificarne la qualità e la conformità al protocollo, secondo le modalità descritte in dettaglio in una pubblicazione dedicata. Il centro di coordinamento è stato coinvolto nella manutenzione del database online INNI (<https://database.inni-ms.org>) in collaborazione con GARR, che era responsabile dei servizi di manutenzione e archiviazione della piattaforma di base.

Nella prospettiva di aumentare l'uso e la standardizzazione di tecniche RMI avanzate nei pazienti con SM, il finanziamento FISM 2023 ha pianificato l'apertura dell'iniziativa

INNI a pochi centri altamente selezionati, in grado di fornire dati clinici, neuropsicologici e RM secondo i requisiti INNI, con gli obiettivi principali di aumentare l'uso di strumenti RMI avanzati a livello nazionale, nonché di arricchire e promuovere la rete. A questo scopo, l'Università di Genova è stata proposta come possibile contributore alla ricerca ed è stato stabilito un primo contatto. L'Università di Genova ha inviato al centro di coordinamento alcuni esempi di dataset neurologici, neuropsicologici e RM acquisiti presso il loro centro utilizzando il loro protocollo di acquisizione standardizzato per pazienti con SM, da ispezionare per il controllo di qualità.

Per quanto riguarda l'Azione 2, i quattro centri partecipanti hanno completato la definizione del database e la raccolta di dati RM, clinici e cognitivi dei soggetti eleggibili per il progetto di ricerca dedicato all'indagine dei meccanismi di progressione della malattia. Tale progetto di ricerca aiuterebbe a comprendere la risposta cerebrale all'accumulo progressivo di disabilità correlata alla malattia e, in ultima analisi, a definire i meccanismi associati all'accumulo di deficit clinici irreversibili.

Per quanto riguarda l'Azione 3, INNI sta interagendo con il Registro italiano SM e con organizzazioni terze per promuovere lo scambio di dati tra i diversi database promossi da FISM. Continueranno a essere organizzati corsi online per la diffusione di linee guida sull'uso della RM per la gestione della SM.

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

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

The Italian Neuroimaging Network Initiative (INNI), which involves centres and investigators with an International recognized expertise, has the major goal to determine and validate novel magnetic resonance imaging (MRI) biomarkers to be utilized as predictors and/or outcomes in future MS studies. In addition, INNI aims also to guide the application of MRI in MS at a national level. The definition of MRI standards and clinical protocols for the

evaluation of MS patients in Italy will allow to integrate the data obtained from different centers to test specific hypotheses of research on the pathophysiology of the disease and on the effects of the treatment which might ultimately promote personalized medicine.

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

The online INNI database is available at: <https://database.inni-ms.org>. The database content is available for author-

ized users only, who received appropriate login and password.

The INNI project has been promoted by Prof. Massimo Filippi (IRCCS San Raffaele Scientific Institute, Vita-Salute San Raffaele University, Milan, Italy) and was financially supported by a first research grant from the Italian MS Foundation in the 2013, followed by a second grant in the 2018 and the actual grant in the 2023.

Given the large amount of MRI data present in the INNI platform, studies aimed at investigating the evolution of MS over time and MRI biomarkers of disease progression are likely to be powerful, representative of the general MS population and useful as a benchmark for testing recent approaches based on artificial intelligence.

Moreover, clinical data about disease evolution/severity (concomitant with the MRI assessment or following MRI evaluation) are available from the INNI database and might be also integrated with longer-term follow-up clinical data derived from other centralized databases, such as the Italian MS Registry.

During the 2023-2025 period, the INNI initiative will act on three different aspects:

- 1) Maintenance and continuous expansion of the infrastructure, with the inclusion in the database of additional, selected research centers (Action 1).
- 2) Development of a large, multi-faceted research project based on INNI content, aimed at investigating mechanisms of disease progression in MS (Action 2).
- 3) INNI protocols dissemination and interactions with the Italian MS Registry (Action 3).

With regards to Action 1, the upload of data of subjects led to the additional inclusion of 247 subjects during the last year (currently, 3127 subjects) and of additional 565 MRI exams (currently, 6002 MRI exams).

The coordinating center (Neuroimaging Research Unit - NRU, Milan, PI: Prof. Massimo Filippi) continued to per-

form a detailed revision of the MRI data of subjects currently available in the INNI repository, to verify their quality and protocol compliance, according to the procedures described in detail in a dedicated publication. The NRU was involved in the maintenance of the INNI online database (<https://database.inni-ms.org>) in collaboration with GARR, who was responsible for basic platform maintenance and storage services. In the perspective of increasing the use and standardization of advanced MRI techniques in MS patients, the FISM 2023 grant planned the opening of the INNI initiative to a few, highly selected centers, capable to provide clinical, neuropsychological, and MRI data according to the INNI requirements, with the main aims of increasing the use of advanced MRI tools at a national level, as well as of enriching and promote the network. For this purpose, the University of Genoa has been proposed as a possible Research contributor and a first contact has been established. The University of Genoa sent to the NRU some examples of neurological, neuropsychological, and MRI datasets acquired at their center using their standardized acquisition protocol for MS patients, to be inspected for quality check.

With regards to Action 2, the four participating centers completed the definition of the database and the collection of MRI, clinical and cognitive data of the subjects eligible for the multi-faceted research project dedicated to the investigation of mechanisms of disease progression, which are described in the next section. Such research project would help to understand brain response to the progressive accumulation of disease-related disability and, ultimately, to define the mechanisms associated to the accrual of irreversible clinical deficits.

With regards to Action 3, INNI is interacting with the Italian MS Registry and with third-party organizations to promote data exchange among the different databases promoted by FISM. Online courses for dissemination of guidelines about the use of MRI for MS management will continue to be organized



PUBBLICAZIONI E COMUNICAZIONI A CONGRESSI PUBLICATIONS AND CONGRESS PRESENTATIONS

Pubblicazioni/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
- 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

- 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
- Riccitelli GC, Pagani E, Meani A, Valsasina P, Pre-



ziosa P, Filippi M, Rocca MA. Cognitive impairment in benign multiple sclerosis: a multiparametric structural and functional MRI study. *J Neurol* 2020; 267: 3508-3517

- Cordani C, Hidalgo de la Cruz M, Meani A, Valsasina P, Esposito F, Pagani E, Filippi M, Rocca MA. MRI correlates of clinical disability and hand-motor performance in multiple sclerosis phenotypes. *Mult Scler J* 2021; 27: 1205-1221
- Rocca MA, Valsasina P, Meani A, Pagani E, Cordani C, Cervellin C, Filippi M. Network damage predicts clinical worsening in multiple sclerosis: a 6.4-year study. *Neurology Neuroimmunol Neuroinflamm* 2021; 8:e1006
- Hidalgo de la Cruz M, Valsasina P, Sangalli F, Esposito F, Rocca MA, Filippi M. Dynamic functional connectivity in the main clinical phenotypes of multiple sclerosis. *Brain Connect* 2021; 11: 678-690
- Storelli L, Azzimonti M, Gueye M, Tedeschi G, De Stefano N, Pantano P, Filippi M, Rocca MA. A deep-learning approach to predicting disease progression in multiple sclerosis using magnetic resonance imaging. *Invest Radiol* 2022; 57: 423-432
- Tommasin S, Iakovleva V, Rocca MA, Gianni C, Tedeschi G, De Stefano N, Pozzilli C, Filippi M, Pantano P, and the INNI network. Relation of sensorimotor and cognitive cerebellum functional connectivity with brain structural damage in patients with multiple sclerosis and no disability. *Eur J Neurol* 2022; 29: 2036-2046
- Pagani E, Storelli L, Pantano P, Petsas N, Tedeschi G, Gallo A, De Stefano N, Battaglini M, Rocca MA, Filippi M, for the INNI Network. Multicenter data harmonization for regional brain atrophy and application to in multiple sclerosis. *J Neurol* 2023; 270 (1): 446-459
- Marzi C, d'Ambrosio A, Biseco A, Diciotti S, Altieri M, Filippi M, Rocca MA, Storelli L, Pantano P, Tommasin S, Cortese R, De Stefano N, Tedeschi G, Gallo A, and the INNI network. Prediction of the information processing speed performance in multiple sclerosis using a machine learning approach in a large multi-center MRI dataset. *Hum Brain Mapp* 2023; 44 (1): 186-202
- De Rosa AP, Esposito F, Valsasina P, d'Ambrosio A, Biseco A, Rocca MA, Tommasin S, Marzi C, De Stefano N, Battaglini M, Pantano P, Cirillo M, Tedeschi G, Filippi M, Gallo A, and the INNI Network. Resting-state functional MRI in multicenter studies on multiple sclerosis: a report on raw data quality and functional connectivity features from the Italian Neuroimaging Network Initiative. *J Neurol* 2023; 270 (2): 1047-1066
- Storelli L, Pagani E, Pantano P, Piervincenzi C, Tedeschi G, Gallo A, De Stefano N, Battaglini M, Rocca MA, Filippi M, for the INNI Network. Methods for brain atrophy MR quantification in

multiple sclerosis: application to the multicenter INNI dataset. *J Magn Reson Imaging* 2023; 58: 1221-1231

- Storelli L, Pagani E, Pantano P, Gallo A, De Stefano N, Rocca MA, Filippi M; INNI Network. Quantification of thalamic atrophy in MS: from the multicenter Italian Neuroimaging Network Initiative data set to clinical application. *AJNR AM J Neuroradiol* 2023; 44 (12): 1399-1404
- Tedone N, Vizzino C, Meani A, Gallo A, Altieri M, D'Ambrosio A, Pantano P, Piervincenzi C, Tommasin S, De Stefano N, Cortese R, Stromillo ML, Rocca MA, INNI network, Filippi M. The Brief Repeatable Battery of Neuropsychological Tests (BRB-N) version A: update of Italian normative data from the Italian Neuroimaging Network Initiative (INNI). *J Neurol* 2024; 271(4): 1813-1823
- Cortese R, Battaglini M, Stromillo ML, Luchetti L, Leoncini M, Gentile G, Gasparini D, Plantone D, Altieri M, D'Ambrosio A, Gallo A, Gianni C, Piervincenzi C, Pantano P, Pagani E, Valsasina P, Preziosa P, Tedone N, Rocca MA, Filippi M, De Stefano N, and the INNI Network. Regional hippocampal atrophy reflects memory impairment in patients with early relapsing remitting multiple sclerosis. *J Neurol* 2024; 271(8): 4897-4908

Congress Presentation

- Rocca MA, Riccitelli GC, Meani A, Preziosa P, Comi G, Filippi M. Cognitive impairment in benign MS: a multiparametric structural and functional MRI study. *Mult Scler J* 2018; 24 (S2): 239 (ECTRIMS 2018)
- Rocca MA, Valsasina P, Colombo B, Martinelli V, Falini A, Comi G, Filippi M. Modulation of cortico-subcortical functional connectivity occurs after symptomatic treatment of fatigue in patients with multiple sclerosis. *Mult Scler J* 2018; 24 (S2): 317-318 (ECTRIMS 2018)
- Cordani C, Meani A, Esposito F, Radaelli M, Colombo B, Comi G, Filippi M, Rocca MA. Mapping the imaging correlates of hand motor performance in multiple sclerosis: a combined structural and functional MRI study. *Mult Scler J* 2018; 24 (S2): 410-411 (ECTRIMS 2018)
- Rocca MA, Riccitelli GC, Meani A, Preziosa P, Filippi M. Cognitive impairment in benign multiple sclerosis: a multiparametric structural and functional MRI study. *Neurol Sci* 2018; 39 (Suppl October): S20 (SIN 2018)
- Rocca MA, Valsasina P, Colombo B, Martinelli V, Falini A, Comi G, Filippi M. Modulation of cortico-subcortical functional connectivity occurs after symptomatic treatment of fatigue in patients with multiple sclerosis. *Neurol Sci* 2018; 39 (Suppl October): S283-S284 (SIN 2018)
- Cordani C, Meani A, Esposito F, Radaelli M, Colombo B, Filippi M, Rocca MA. Imaging correlates



- of hand motor performance in multiple sclerosis: a multiparametric structural and functional MRI study. *Neurol Sci* 2018; 39 (Suppl October): S296-S297 (SIN 2018)
- Filippi M, Meani A, Cervellin C, Valsasina P, Cordani C, Pagani E, Preziosa P, Rocca MA. Structural and functional damage of the sensorimotor network contribute to predict disability progression and phenotype evolution in patients with multiple sclerosis: a 6.5-year follow-up study. *Neurology* 2019; 92 (15 Supplement): S49.004 (AAN 2019)
 - Storelli L, Rocca MA, Pagani P, Pantano P, De Stefano N, Tedeschi G, Zaratini P, Filippi M. Integration and characterization of brain MRI data from the Italian Neuroimaging Network Initiative (INNI) for the study of multiple sclerosis. *Neurology* 2019; 92 (15 Supplement): P5.2-034 (AAN 2019)
 - Storelli L, Pagani E, Pantano P, De Stefano N, Tedeschi G, Zaratini P, Filippi M, Rocca MA. Integration and Characterization of Brain MRI Data from the Italian Neuroimaging Network Initiative (INNI) for the Study of Multiple Sclerosis. *OSR Scientific Retreat, Baveno, 14-16 marzo 2019*
 - Filippi M, Storelli L, Meani A, Cervellin C, Valsasina P, Cordani C, Pagani E, Preziosa P, Rocca MA. Structural and functional damage of the sensorimotor network contribute to predict disability progression and phenotype evolution in patients with multiple sclerosis: a 6.5-year follow-up study. *Proc Intl Soc Mag Reson Med* 2019; 27: 3152
 - Preziosa P, Rocca MA, Riccitelli GC, Pagani E, Meani A, Valsasina P, Filippi M. Relationship between cognitive impairment and MRI brain abnormalities in benign multiple sclerosis: a multiparametric study. *IMSCOGS 2019, Amsterdam, 6-7 June 2019*
 - Riccitelli GC, Rocca MA, Pagani E, Meani A, Preziosa P, Valsasina P, Filippi M. Relationship between cognitive impairment and MRI brain abnormalities in benign multiple sclerosis: a multiparametric study. *Eur J Neurol* 2019; 26 (Suppl 1): 288 (EAN 2019)
 - Storelli L, Rocca MA, Pagani E, Pantano P, De Stefano N, Tedeschi G, Zaratini P, Filippi M. Integration and Characterization of Brain MRI Data from the Italian Neuroimaging Network Initiative (INNI) for the Study of Multiple Sclerosis. Accepted as e-presentation at the 5th EAN Congress, Oslo, 29th June-2nd July 2019
 - Filippi M, Meani A, Cervellin C, Valsasina P, Cordani C, Pagani E, Preziosa P, Rocca MA. Structural and functional damage of the sensorimotor network contribute to predict disability progression and phenotype evolution in patients with multiple sclerosis: a 6.5-year follow-up study. *Mult Scler J* 2019; 25 (S2): 284-285 (ECTRIMS 2019)
 - Storelli L, Rocca MA, Pagani E, Pantano P, De Stefano N, Tedeschi G, Zaratini P, Filippi M. Integration and characterization of brain MRI data from the Italian neuroimaging network initiative (INNI) for the study of multiple sclerosis. *Mult Scler* 2019; 25 (S2): 480 (ECTRIMS 2019)
 - Storelli L, Rocca MA, Pagani E, Pantano P, De Stefano N, Tedeschi G, Zaratini P, Filippi M. Integration and characterization of brain MRI data from the Italian Neuroimaging Network Initiative (INNI) for the study of multiple sclerosis. *Neurol Sci* 2019; 40 (Suppl October 2019): S286-S287 (SIN 2019)
 - Rocca MA, Meani A, Cervellin C, Valsasina P, Cordani C, Pagani E, Preziosa P, Filippi M. Structural and functional damage of the sensorimotor network contribute to predict disability progression and phenotype evolution in patients with multiple sclerosis: a 6.5 follow-up study. *Neurol Sci* 2019; 40 (Suppl October 2019): S317-S318 (SIN 2019)
 - Hidalgo de la Cruz M, Valsasina P, Sangalli F, Espósito F, Filippi M, Rocca MA. Characterizing dynamic functional connectivity in the main clinical phenotypes of multiple sclerosis (1310). *Neurology* 2020; 94 (15 Supplement): P2.1-005 (AAN 2020)
 - Mistri D, Meani A, Tedeschi G, Pantano P, Zaratini P, De Stefano N, Preziosa P, Rocca MA, Filippi M. Impact of multiple sclerosis on cognitive aging: a multicenter study. *Mult Scler J* 2020; 26 (S3): 505-506 (ECTRIMS 2020)
 - Mistri D, Meani A, Tedeschi G, Pantano P, Zaratini P, De Stefano N, Preziosa P, Filippi M, Rocca MA. Impact of multiple sclerosis on cognitive aging: a multicenter study. IX Congresso Società Italiana di Neuropsicologia, 20-21 novembre 2020
 - Marzi C, Biseco A, d'Ambrosio A, Diciotti S, Altieri M, Battaglini M, De Stefano N, Pagani E, Pantano P, Piervincenzi C, Rocca MA, Storelli L, Filippi M, Gallo A, Tedeschi G, and the Italian Neuroimaging Network Initiative. Structural MRI determinants of cognitive-radiological mismatch in MS patients. Congresso Scientifico Annuale Associazione Italiana Sclerosi Multipla e la sua Fondazione, Roma 26-27 novembre 2020
 - Mistri D, Meani A, Tedeschi G, Pantano P, Zaratini P, De Stefano N, Preziosa P, Rocca MA, Filippi M. Impact of multiple sclerosis on cognitive aging: a multicenter study. *Neurol Sci* 2020; 41 (Suppl 1): S279 (SIN 2020)
 - Mistri D, Meani A, Tedeschi G, Pantano P, Zaratini P, De Stefano N, Preziosa P, Rocca MA, Filippi M. Impact of multiple sclerosis on cognitive aging: a multicenter study. *Neurology* 2021; 96 (15 supplement): 2556 (AAN 2021)
 - Storelli L, Pagani E, Pantano P, Petsas N, Tedeschi G, Gallo A, De Stefano N, Battaglini M, Zaratini



- P, Rocca MA, Filippi M. Atrophy quantification in multiple sclerosis: application to the multicenter INNI dataset. *Eur J Neurol* 2021; 28 (Suppl 1): 418 (EAN 2021)
- Storelli L, Pagani E, Pantano P, Petsas N, Tedeschi G, Gallo A, De Stefano N, Battaglini M, Zaratin P, Rocca MA, Filippi M. Atrophy quantification in multiple sclerosis: Application to the multicenter INNI dataset. *J Neurol Sci* 2021; 429: 96 (118291), doi:10.1016/j.jns.2021.118291 (WCN/SIN 2021)
 - d'Ambrosio A, Marzi C, Bisecco A, Diciotti S, Altieri M, Battaglini M, De Stefano N, Pagani E, Pantano P, Piervincenzi C, Rocca MA, Storelli L, Filippi M, Tedeschi G, Gallo A, Italian Neuroimaging Network Initiative. Selecting structural MRI predictors of cognitive status in MS patients through a machine learning approach applied to a large multicenter MS population. *Mult Scler J* 2021; 27 (2S): 85-86 (ECTRIMS 2021)
 - Storelli L, Pagani E, Pantano P, Petsas N, Tedeschi G, Gallo A, De Stefano N, Battaglini M, Zaratin P, Rocca MA, Filippi M. Atrophy quantification in multiple sclerosis: application to the multicenter INNI dataset. *Mult Scler J* 2021; 27 (2S): 398 (ECTRIMS 2021)
 - Luchetti L, Battaglini M, Leoncini M, Cortese R, Stromillo ML, Inderyas M, Gentile G, Gallo A, Tedeschi G, Ruggieri S, Pantano P, Pagani E, Rocca MA, Filippi M, De Stefano N, INNI working group. Hippocampal atrophy is relevant to memory deficits in early Relapsing Remitting MS patients. *Mult Scler J* 2021; 27 (2S): 401-402 (ECTRIMS 2021)
 - Pagani E, Storelli L, Pantano P, Petsas N, Tedeschi G, Gallo A, De Stefano N, Battaglini M, Zaratin P, Rocca MA, Filippi M. Regional analysis of atrophy in multiple sclerosis in a large multicenter dataset. *Mult Scler J* 2021; 27 (2S): 435-436 (ECTRIMS 2021)
 - Storelli L, Pagani E, Meani A, Preziosa P, Filippi M, Rocca MA. Advanced diffusion-weighted imaging models better characterize white matter neurodegeneration and clinical outcomes in multiple sclerosis. *Neurology* 2022; 98 (18 Supplement): P1-1. Virtual (AAN 2022)
 - Storelli L, Azzimonti M, Gueye M, Preziosa P, Tedeschi G, De Stefano N, Pantano P, Filippi M, Rocca MA. A deep-learning approach to predicting disease progression in multiple sclerosis using magnetic resonance imaging. *Neurology* 2022; 98 (18 Supplement): P1-1. Virtual (AAN 2022)
 - Storelli L, Azzimonti M, Gueye M, Preziosa P, Vizzino C, Tedeschi G, De Stefano N, Pantano P, Filippi M, Rocca MA. A Deep-learning approach to predicting disease progression in multiple sclerosis using magnetic resonance imaging. *Proc Intl Soc Mag Reson* 2022; Med 30: 200 (ISMRM 2022)
 - Storelli L, Azzimonti M, Gueye M, Vizzino C, Preziosa P, Tedeschi G, De Stefano N, Pantano P, Filippi M, Rocca MA. A deep-learning approach to predicting disease progression in multiple sclerosis using magnetic resonance imaging. *Eur J Neurol* 2022; 29 (Suppl 1): 118-119 (EAN 2022)
 - Storelli L, Pagani E, Pantano P, Tedeschi G, De Stefano N, Rocca MA, Filippi M, INNI network. Quantification of thalamic volume in multiple sclerosis: from the multicenter INNI dataset towards the clinical application. *Mult Scler J* 2022; 28 (3S): 265-266 (P202) (ECTRIMS 2022)
 - Storelli L, Pagani E, Pantano P, Tedeschi G, De Stefano N, Rocca MA, Filippi M. Quantification of thalamic volume in multiple sclerosis: from the multicenter INNI dataset towards the clinical application. *Neurol Sci* 2022; 43 (Suppl 1): S365 (SIN 2022)
 - Storelli L, Pagani E, Pantano P, Tedeschi G, De Stefano N, Preziosa P, Rocca MA, Filippi M. Quantification of thalamic volume in multiple sclerosis: from the multicenter INNI dataset towards the clinical application. *Neurol Sci* 2022; 43 (Suppl 1): S365 (SIN 2022)



- nical application (P10-3.002). *Neurology* 2023; 100 (17 Supplement 2): 2938
- Storelli L, Pagani E, Pantano P, Tedeschi G, De Stefano N, Rocca MA, Filippi M. Quantification of thalamic volume in multiple sclerosis: from the multicenter INNI dataset towards the clinical application. *Proc Intl Soc Mag Reson Med* 2023; 31: 3385, ISMRM 2023, June, 3-8, Toronto
 - Preziosa P, Storelli L, Pagani E, Pantano P, Tedeschi G, De Stefano N, Rocca MA, Filippi M, INNI Network Quantification of Thalamic Volume in Multiple Sclerosis: From the Multicenter INNI Dataset Towards Clinical Application. *Eur J Neurol* 2023; 30 (Suppl 1): 705 (EAN 2023)
 - De Rosa AP, d'Ambrosio A, Marzi C, Cirillo M, Bi-secco A, Altieri M, Diciotti S, Rocca MA, De Stefano N, Pantano P, Filippi M, Tedeschi G, Gallo A, Esposito F. XGBoost vs. TabPFN in Neuroimaging Machine Learning-based analysis. *Congresso Gruppo Nazionale di Bioingegneria* 2023. Padova, 21-23 giugno 2023
 - Tedone N, Vizzino C, Meani A, Gallo A, Altieri M, d'Ambrosio A, Pantano P, Piervincenzi C, Tomasini S, De Stefano N, Cortese R, Stromillo ML, Rocca MA, Filippi M. The brief repeatable battery of neuropsychological test (BRB-N) version a: update of Italian normative data from the Italian neuroimaging network initiative (INNI). *Neurol Sci* 2023; 44 (Suppl 2): S99-S100 (SIN 2023)

Fondi totali assegnati al progetto INNI dal 2013 al 2023: 2.453.690 €

Funds awarded to INNI project from 2013 to 2023: € 2,453,690

Registro Italiano Sclerosi Multipla e Patologie Correlate

Italian Multiple
Sclerosis And Related
Disorders Register

Indice / Index

REGISTRO ITALIANO SCLEROSI MULTIPLA E PATOLOGIE CORRELATE ITALIAN MULTIPLE SCLEROSIS AND RELATED DISORDERS REGISTER

Introduzione / Introduction	173
Progetti terminati / Ended projects	190
Roberto Bergamaschi L'inquinamento atmosferico come fattore di rischio della sclerosi multipla. Uno studio ecologico nella popolazione italiana (Studio AIRMUS) Air pollution as a risk factor of multiple sclerosis. An ecological study in the Italian population (The AIRMUS study)	190
Maurizio Leone Integrazione di dati genetici e fenotipici tra il data-base PROGEMUS e il Registro Italiano Sclerosi Multipla e patologie correlate Integrating genetic and phenotypic data from the PROGEMUS data-base and the Italian Multiple Sclerosis and Related Disorders Register	192
Francesco Patti Pazienti con sclerosi multipla secondaria progressiva attiva e non attiva presentano una progressione della disabilità simile: risultati di uno studio del Registro Italiano SM (ASPERA) Active and non-active Secondary Progressive Multiple Sclerosis patients exhibit similar disability progression: results of an Italian MS Registry study (ASPERA)	195
Emilio Portaccio Verso una definizione unificata di progressione indipendente dall'attività di ricaduta nella sclerosi multipla Towards a unified definition of progression independent of relapse activity in multiple sclerosis	198
Shalom Haggiag Confronto tra Cladribina e modulatori del recettore S1P nei pazienti naive al trattamento con sclerosi multipla recidivante: studio retrospettivo con il Propensity Score Matching Real-World comparison of Cladribine and S1P receptor modulators in treatment, naive relapsing MS: a Propensity Score, matched study	201
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 factors in Neuromyelitis Optica Spectrum Disorders (NMOSD) and Myelin Oligodendrocyte Glycoprotein Antibody-Associated Disease (MOGAD). A cohort analysis by Italian MS National Registry through the implementation of a specific data set	207

Francesco Patti	213
Studio retrospettivo sulle caratteristiche cliniche e radiologiche dei pazienti ad esordio tardivo di sclerosi multipla	
Clinical and neuroradiological findings in patients with late-onset multiple sclerosis (LOMS)	
Marta Simone	216
Studio multicentrico, prospettico/retrospettivo, randomizzato, in aperto e pragmatico per confrontare l'efficacia e la sicurezza dell'interferone beta-1a (IFN beta-1a) somministrato settimanalmente per via intramuscolare e del glatiramer acetato (GA) in pazienti pediatrici affetti da sclerosi multipla	
Multicentre, prospective/retrospective, randomised, open label pragmatic trial to compare the effectiveness and safety of interferon beta-1a (IFN beta-1a) administered weekly i.m. and glatiramer-acetate (GA) in pediatric patients affected by multiple sclerosis	
Francesco Patti	218
Valutazione dell'efficacia di Rituximab nei pazienti affetti da Sclerosi Multipla recidivante precedentemente trattati con farmaci ad elevata efficacia (RENEGADE)	
Effectiveness of Rituximab in rELapsiNg Multiple Sclerosis patiEnts previously treated with hiGhly-Active Disease modifying thErapiEs (RENEGADE study)	
Ermelinda De Meo	221
Fenotipi di peggioramento della disabilità nella SM a esordio recidivante: un approccio basato sui dati dal Registro Italiano della SM	
Disability Worsening Phenotypes in Relapse-Onset MS: A Data-Driven Approach from the Italian MS Register	

Il Registro Italiano Sclerosi Multipla e patologie correlate è realizzato con il contributo di FISM, 5per mille e donazioni, e delle aziende:

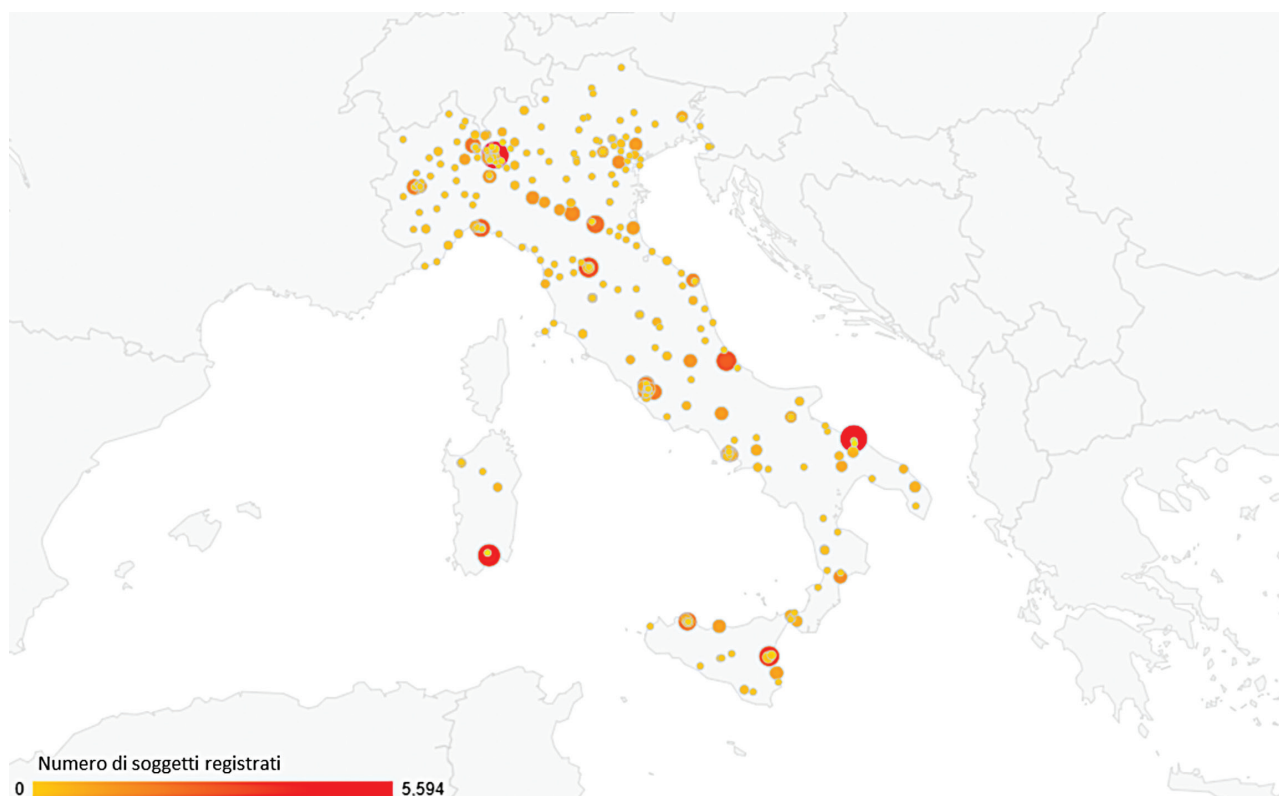
The Italian Multiple Sclerosis Registry and related disorders is supported by the contribution of FISM, the Italian "5x1000" Income tax, donations, and the following companies:



Registro Italiano Sclerosi Multipla e Patologie Correlate

INTRODUZIONE

Il progetto Registro Italiano Sclerosi Multipla e Patologie Correlate (RISM) è uno dei principali Progetti Speciali di Ricerca sostenuti dall'Associazione Italiana Sclerosi Multipla (AISM) e dalla sua Fondazione (FISM). È stato avviato **con l'obiettivo di creare un'infrastruttura multicentrica organizzata per raccogliere i dati di tutte le persone con sclerosi multipla (SM) seguite nei Centri SM in Italia**¹



Distribuzione dei soggetti e dei Centri Clinici SM in Italia. Il grafico ad area proporzionale (cerchi) rappresenta il numero di soggetti per ciascun centro clinico

LA STORIA DEL REGISTRO ITALIANO SM E PATOLOGIE CORRELATE

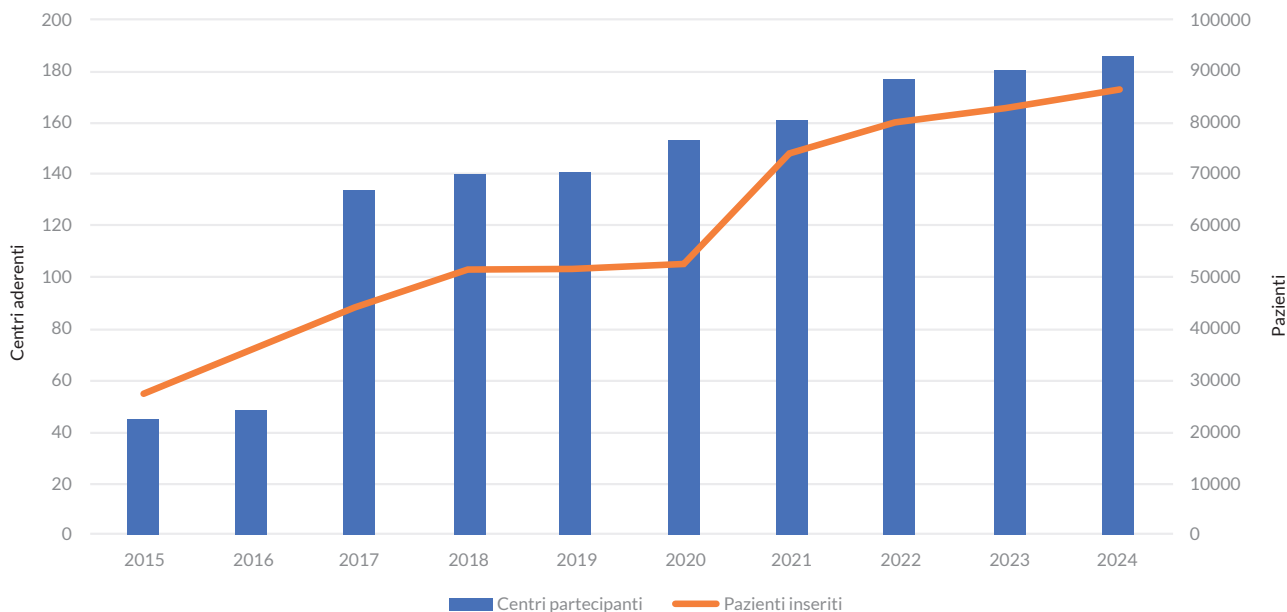
Dal 2000, la raccolta italiana di dati clinici sulla SM è iniziata presso diversi Centri SM italiani nell'ambito del progetto di ricerca multicentrico dal titolo "Italian Multiple Sclerosis Database Network".

Dal 2014, la FISM, in collaborazione con l'Università di Bari e i Centri clinici italiani sulla SM, ha promosso e finanziato la creazione del progetto Registro Italiano Sclerosi Multipla (RISM).

Dal 2021, per garantire una maggiore inclusività, il nome del Registro è stato modificato in: Registro Italiano Sclerosi Multipla e Patologie Correlate (RISM). È stato aggiunto un nuovo modulo per la raccolta di informazioni sulle forme rare di malattie demielinizzanti: lo Spettro della Neuromielite Ottica (NMOSD), come la neuromielite ottica e le patologie associate alla presenza di anticorpi anti-MOG (MOGAD). **189 Centri clinici italiani** hanno aderito al progetto e, ad oggi, il RISM raccoglie i dati demografici e clinici di circa **92.000 persone** in cura presso i Centri clinici italiani (aggiornamento al 31 Dicembre 2024).

Il Registro è quindi pronto a diventare un vero strumento di ricerca scientifica utile per lo sviluppo di studi epidemiologici e clinici, oltre a rappresentare un valido strumento di sanità pubblica per promuovere l'equità di accesso alle cure, confrontando le pratiche assistenziali dei diversi centri e studiando/valutando le politiche assistenziali nazionali e locali.

¹ Trojano M, Bergamaschi R, Amato MP, et al. The Italian multiple sclerosis register. *Neurol Sci.* 2019 Apr; doi: 10.1007/s10072-018-3610-0



Centri arruolati e soggetti partecipanti al progetto RISM dal 2015 al 2024

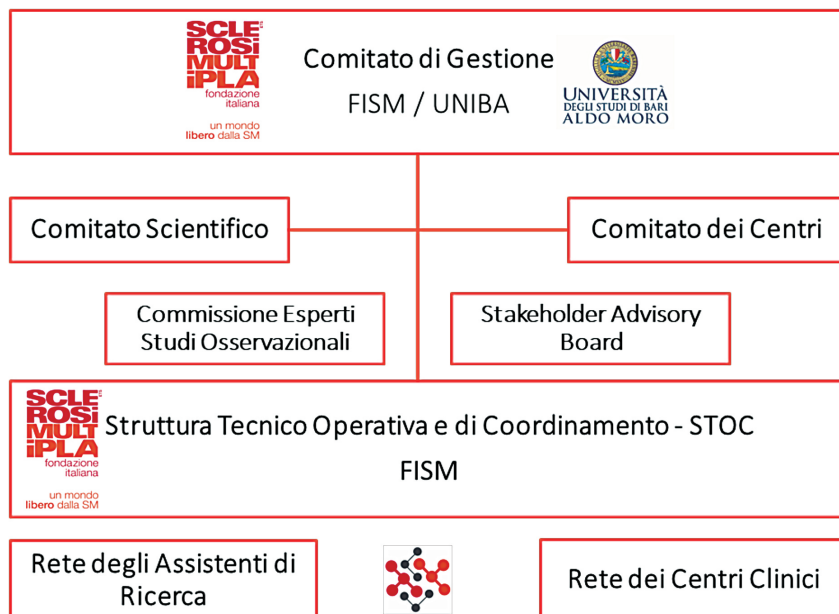
AREE PRIORITARIE

Il Comitato Scientifico del RISM ha individuato due aree di alta priorità:

- **SANITÀ PUBBLICA:** condurre un censimento universale dei pazienti, sistematico e continuamente aggiornato, per ottenere stime accurate di prevalenza e incidenza della malattia a livello regionale e nazionale. Questo al fine di migliorare la qualità delle cure, ottimizzare la salute, fornire informazioni sociali e assistenziali e garantire l'accesso ai trattamenti e ai servizi sanitari.
- **RICERCA:** raccogliere informazioni utili per la pianificazione di studi di ricerca per progetti specifici. In particolare, studi su epidemiologia e prognosi, ottimizzazione dei trattamenti (efficacia e sicurezza), decorso della malattia, fasi iniziali e precliniche/subcliniche della malattia (CIS e RIS).

INFRASTRUTTURA ORGANIZZATIVA

INFRASTRUTTURA DEL RISM



LA GOVERNANCE

La governance del RISM comprende un **Comitato di Gestione** (presieduto da FISM e dall'Università di Bari) con ruolo amministrativo e organizzativo e un **Comitato Scientifico** (comprendente clinici, statistici, rappresentanti dei centri SM e della Società Italiana di Neurologia) che sovrintende alle iniziative scientifiche, promuove specifici progetti strategici e approva le richieste di accesso ai dati centralizzati per ulteriori progetti di ricerca.

L'attuale **Comitato di Gestione** è composto da:

Maria Trojano (rappresentante Università di Bari, Presidente)

Centro SM, Dipartimento di Biomedicina Traslazionale e Neuroscienze (DiBraiN), Università di Bari, Bari

Mario Alberto Battaglia (rappresentante FISM, Vicepresidente)

Fondazione Italiana Sclerosi Multipla - FISM, Genova

L'attuale **Comitato Scientifico** è composto da:

Maria Trojano (rappresentante Università di Bari, Presidente)

Centro SM, Dipartimento di Biomedicina Traslazionale e Neuroscienze (DiBraiN), Università di Bari, Bari

Mario Alberto Battaglia (rappresentante FISM, Vicepresidente)

Fondazione Italiana Sclerosi Multipla - FISM, Genova

Paola Mosconi

Fondazione Italiana Sclerosi Multipla - FISM, Genova

Claudio Gasperini (rappresentante Società Italiana di Neurologia, SIN)

Dipartimento di Neuroscienze, Azienda Ospedaliera San Camillo-Forlanini, Roma

Eleonora Cocco (rappresentante Centri clinici)

Centro Regionale per la diagnosi e la cura della Sclerosi Multipla ASL8 P.O. Binaghi, Cagliari

Matilde Inglese (rappresentante Centri clinici)

Centro per lo studio e la cura della Sclerosi Multipla e Malattie Demielinizzanti - Dipartimento di Neuroscienze, Riabilitazione, Oftalmologia, Genetica e Scienze Materno - Infantili, Clinica Neurologica - Ospedale Policlinico San Martino (DiNOGMI), Genova

Carla Tortorella (rappresentante Centri clinici)

Centro Sclerosi Multipla - Az. Osp. S. Camillo Forlanini, Roma

Marco Capobianco (segretario)

Centro Sclerosi Multipla, SC Neurologia, AO Santa Croce e Carle, Cuneo

Maria Pia Amato (esperto)

Dipartimento di NEUROFARBA, Università di Firenze, IRCCS Fondazione Don Carlo Gnocchi, Firenze

Massimo Filippi (esperto)

Centro Sclerosi Multipla - Ospedale San Raffaele, Milano

STRUTTURA TECNICO OPERATIVA E DI COORDINAMENTO

Per il Registro opera la **Struttura Tecnico Operativa e di Coordinamento (STOC)**, con sede presso la FISM di Genova. La STOC gestisce sia la parte amministrativa che quella tecnico-operativa legate al progetto RISM.

LO STAFF DELLA STRUTTURA TECNICO OPERATIVA E DI COORDINAMENTO

Fondazione Italiana Sclerosi Multipla, Genova

Coordinamento: Michela Ponzio, Paola Mosconi, Vito Lepore

Study coordinators: Marco Salivetto, Pasquale Paletta

Assistente RISM: Sabrina Rutigliano

Ufficio legale e compliance: Paolo Bandiera, Laura De Barbieri, Martina Bassi, Lorenzo Garzarelli

I NETWORK DEL REGISTRO

IL NETWORK DEI CENTRI CLINICI PER LA SM

I Centri per la SM sono riconosciuti come componenti chiave per la cura della SM in Italia. Ci sono circa 240 centri per la SM di varie dimensioni e spesso si trovano all'interno di Dipartimenti di Neurologia degli ospedali pubblici. Attualmente circa il **79% dei Centri italiani** per la SM ha aderito al RISM.

NETWORK DEGLI ASSISTENTI DI RICERCA

Con l'obiettivo di aumentare la qualità della raccolta e dell'inserimento dei dati, è stata formata ad hoc una rete di giovani assistenti di ricerca. Attualmente **25 assistenti di ricerca** sono attivi in 15 regioni italiane (coprendo circa 130 centri) e sono assegnati a uno o più centri in base al loro contributo al progetto in termini di numero di pazienti registrati e distribuzione geografica. Le attività degli assistenti di ricerca comprendono: supportare la fase di avvio del progetto e la sua attuazione puntuale presso i centri SM e garantire una raccolta e una gestione standardizzate dei dati.

ELENCO DEGLI ASSISTENTI DI RICERCA ATTIVI

Fondazione Italiana Sclerosi Multipla, Genova

Senior staff: Beatrice Biolzi, Daniele Dell'Anna, Sonia Di Lemme, Chiara Di Tillio, Ilaria Maietta, Federica Martini, Ornella Moreggia, Silvia Perugini, Ramona Piredda, Chiara Raimondi, Antonino Rallo, Monica Romoli, Ilaria Rossi.

Junior staff: Paola Crida, Alessandra Del Prete, Teresa Fonsdituri, Agata Marchese, Martina Marciano, Silvia Marinetto, Chiara Monetti, Rosanna Petrillo, Ludovica Roselli, Valentina Tallarico, Stefania Treccarichi, Eliana Zaccone.

COMITATI CONSULTIVI DEGLI STAKEHOLDER

Per soddisfare le priorità strategiche del Registro, gli stakeholder, comprese le industrie, sono coinvolti attraverso un forum consultivo. Attualmente è attivo un **Industry Advisory Board**, che include le principali compagnie farmaceutiche che si occupano di SM.

COMMISSIONE ESPERTI STUDI OSSERVAZIONALI

Questa commissione è composta da neurologi (n=6) e statistici (n=3) con le seguenti responsabilità:

- 1) attività di formazione per giovani neurologi che desiderano migliorare le proprie competenze nella progettazione, conduzione e analisi di studi osservazionali su set di dati estratti dal RISM;
- 2) attività di consulenza per studi in corso o futuri.

Un gruppo di consulenti con competenze specifiche è chiamato a collaborare con la commissione.

L'attuale commissione è composta da:

Massimiliano Copetti (statistico)

Unità di Biostatistica, I.R.C.C.S. Casa Sollievo della Sofferenza Hospital, San Giovanni Rotondo, Foggia

Giuseppe Lucisano (statistico)

Centro SM, Dipartimento di Biomedicina Traslazionale e Neuroscienze (DiBrain), Università di Bari

Claudia Santucci (statistico)

Dipartimento di Scienze Cliniche e di Comunità, Università degli Studi di Milano

Diana Ferraro (neurologo)

Centro dell'Ospedale Civile di Baggiovara, Azienda Ospedaliero-Universitaria di Modena Sclerosi Multipla

Pietro Iaffaldano (neurologo)

Centro SM, Dipartimento di Biomedicina Traslazionale e Neuroscienze (DiBrain), Università di Bari

Lorena Lorefice (neurologo)

Centro Sclerosi Multipla Ospedale Binaghi, Cagliari

Emilio Portaccio (neurologo)

Dipartimento NEUROFARBA, Università di Firenze

Luca Prosperini (neurologo)

U.O.C. Neurologia e Neurofisiopatologia, A.O. S. Camillo-Forlanini, Roma

Maria Assunta Rocca (neurologo)
Istituto San Raffaele, Università Vita-Salute San Raffaele, Milano

Consulenti della Commissione Esperti Studi Osservazionali:

Roberto Bergamaschi (neurologo)
Centro Sclerosi Multipla, IRCCS Fondazione Mondino

Matteo Foschi (neurologo)
Dipartimento di Neuroscienze, Centro SM e Malattie Neurodegenerative - U.O.C. Neurologia, Ospedale S. Maria delle Croci, AUSL Romagna, Ravenna

Giorgia Teresa Maniscalco (neurologo)
Centro Regionale di Diagnosi e Terapia della Sclerosi Multipla, UOSC di Neurologia e Unità Stoke, Ospedale "A. Cardarelli", Napoli

Elisabetta Signoriello (neurologo)
Centro Clinico per la Sclerosi Multipla - II Clinica Neurologica - II Università di Napoli

SOFTWARE DEDICATO

Durante i primi anni, il RISM ha utilizzato un software di soluzione client-server, una cartella medica computerizzata offline che necessitava di un caricamento periodico da parte dei centri clinici. A fine 2016 è stato sviluppato un nuovo software web-based, denominato **RISM-App**. Da aprile 2021, il Registro utilizza esclusivamente la RISM-App, attualmente alla versione 3.14. L'accesso al software avviene attraverso l'area riservata del sito web del progetto (<https://www.registroitalianosm.it/>).

CARATTERISTICHE DELLA NUOVA PIATTAFORMA

- **Focalizzata sul paziente:** il paziente viene registrato una sola volta nella banca dati attraverso il codice fiscale (codice personale identificativo univoco). Questo è un punto cruciale perché l'unicità e univocità del soggetto SM registrato produce un miglioramento significativo nella messa in comune dei dati nella banca dati centrale.
- **Pratica:** l'inserimento dei dati è possibile attraverso diversi dispositivi (PC, cellulare, tablet).
- **Sicura:** il sistema rispetta gli standard richiesti dal Regolamento Generale sulla Protezione dei Dati dell'Unione Europea (GDPR) 2016/679 e ogni centro inserisce i dati attraverso una password personalizzata.
- **Facilmente accessibile:** è sufficiente un accesso a internet. È stata effettuata una valutazione dell'impatto sulla privacy per valutare il livello di sicurezza del sito web.
- **Standardizzata:** il database utilizza una codifica standardizzata. Un manuale di procedure operative standard viene aggiornato periodicamente per standardizzare la raccolta dei dati e l'utilizzo di RISM-App.
- **Stampabile:** è possibile stampare un referto contenente le informazioni sul paziente.
- **Modulare:** è possibile aggiungere più moduli.

STRUTTURA DEL SOFTWARE

Il database del Registro raccoglie un set di dati essenziali per caratterizzare il profilo clinico delle persone con SM e PC, più altre variabili incluse in moduli specifici come:

Farmaci

Questa sezione è dedicata alla storia del trattamento del paziente. Questo modulo include il piano di gestione del rischio clinico per tutti i trattamenti modificanti il decorso di malattia (DMT). Inoltre gli eventi avversi e gli eventi avversi gravi sono codificati utilizzando il dizionario medico MedDRA, mentre le comorbidità sono codificate utilizzando la classificazione internazionale ICD9CM.

Risonanza magnetica

Questa sezione è dedicata alle misure di risonanza magnetica per immagini (RMI) convenzionale (numero di lesioni cerebrali in T2 e in T1 e Gd+T1).

Esami strumentali

Questa sezione raccoglie informazioni su test di laboratorio (es. virologici, immunologici, di funzionalità tiroidea e altri test specifici), liquor, potenziali evocati, EEG, ECG.

Covid-19

Questa sezione raccoglie informazioni relative all'infezione da SARS-CoV-2 come: diagnosi, gravità, esito e correlazione con farmaci DMT e vaccinazioni.

NMOSD e MOGAD

Questa sezione è dedicata alle forme rare di malattie demielinizzanti: i disturbi dello spettro della neuromielite ottica (NMOSD) come la neuromielite ottica e le patologie associate alla presenza di anticorpi anti-MOG (MOGAD)..

Gravidanza

Questa sezione raccoglie informazioni riguardanti la gravidanza, gli outcome materni e fetali delle donne con SM e dei loro figli.

SM a esordio pediatrico

Questa sezione raccoglie informazioni sulla SM a esordio pediatrico. Questo modulo include informazioni quali: fattori di rischio ambientale, vaccinazioni, funzionamento cognitivo nel tempo e caratteristiche specifiche legate alla risonanza magnetica.

MONITORAGGIO DEI DATI

Per garantire un'elevata qualità delle informazioni raccolte i dati vengono monitorati centralmente. Sono stati implementati diversi strumenti di controllo al fine di aumentare la qualità e la generalizzazione dei dati raccolti. Periodicamente, tutti i centri vengono raggiunti con un report su tutti i dati raccolti e un report personalizzato con richieste sui dati mancanti o sulle incongruenze tra le variabili inserite. I controlli di qualità riguardano:

- **date:** presenza/assenza, completezza, anomalie e coerenza tra tutti i dati raccolti nel dataset
- **completezza:** valutazione complessiva del livello di completezza delle variabili incluse
- **accuratezza:** proporzione di variabili con valore corrispondente al loro range
- **consistenza:** congruenza con altre variabili.

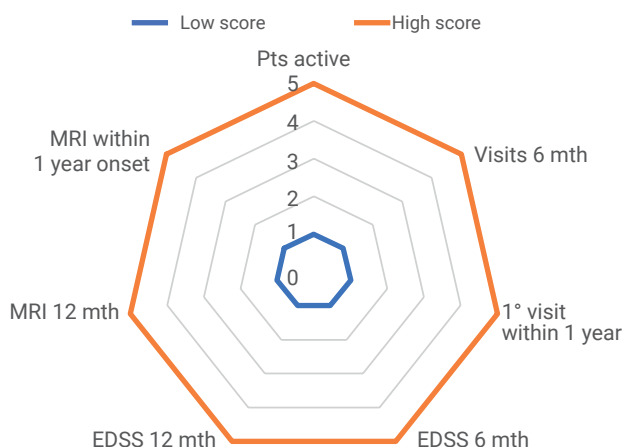
Ogni 2 mesi gli assistenti di ricerca ricevono un aggiornamento sull'andamento dei centri che hanno in carico e lo condividono con il responsabile del centro partecipante. Quest'ultimo riceve mensilmente una comunicazione con aggiornamenti e chiarimenti riguardo l'inserimento di dati e le procedure inerenti al progetto.

Sulla base della nostra precedente esperienza pubblicata, è stato istituito un gruppo di lavoro ad hoc che ha rivisto la precedente serie di indicatori con l'obiettivo di migliorare la qualità, la completezza, la generalizzazione e la rappresentatività dei dati raccolti.

Di conseguenza, sono stati stabiliti i seguenti indicatori:

- un set di **7 indicatori di performance** descritti attraverso un grafico a radar. Per ogni indicatore o dominio esaminato, a ciascun centro partecipante è stato assegnato un punteggio di 5 per la performance più alta, mentre sono stati attribuiti punteggi da 4 a 1 per le performance progressivamente inferiori.
- una serie di **4 indicatori epidemiologico-descrittivi**:
 - rapporto femmine/maschi,
 - distribuzione dei pazienti con/senza prescrizione di DMT,
 - distribuzione dell'età all'esordio, dell'intervallo tra la data di esordio e la data di diagnosi e dell'intervallo tra la data di diagnosi e la data di inizio del DMT,
 - frequenze del primo e dell'ultimo DMT

Di seguito i 7 indicatori di performance e la loro rappresentazione grafica (grafico radar):



1. **Pts active:** almeno 1 visita negli ultimi 2 anni
2. **Visits 6 mth:** almeno 1 visita ogni 6 mesi
3. **1° visit within 1 year:** almeno 1 visita entro 1 anno dall'esordio
4. **EDSS 6 mth:** almeno 1 valutazione EDSS ogni 6 mesi/Follow-up
5. **EDSS 12 mth:** almeno 1 valutazione EDSS ogni 12 mesi/Follow-up
6. **MRI 12 mth:** almeno 1 valutazione MRI (encefalo e midollo spinale) ogni anno
7. **MRI within 1 year onset:** almeno 1 valutazione MRI (encefalo e midollo spinale) entro 1 anno dall'esordio

Ogni 6 mesi, ogni centro partecipante riceve un report in cui i dati e gli indicatori di performance del proprio centro vengono confrontati con l'intero campione: in questo modo ogni centro può valutare le prestazioni più critiche e il livello di miglioramento nel tempo.

Parallelamente a questo lavoro, è stata effettuata una valutazione approfondita dell'accuratezza e della coerenza dei dati, identificando i potenziali duplicati nell'intero database questo ha permesso di correggere le incongruenze e unificando i duplicati.

SVILUPPO DI QUERY PER L'INTERROGAZIONE DEL DATABASE RISM

Nonostante la possibilità di ogni centro di scaricare i propri dati per analisi e verifiche interne, la complessità del database RISM e la necessità dei centri di seguire e analizzare la propria casistica in modo longitudinale, hanno reso necessario lo studio e l'implementazione di un sistema di queries. Questo sistema, che è ancora in fase di valutazione con una lista ristretta di centri e assistenti di ricerca, consentirà agli utenti di un centro di interrogare in maniera veloce, comoda e intuitiva il proprio database per effettuare analisi sulla propria casistica, anche se tuttavia non risponderà alla complessità e specificità delle analisi per progetti di ricerca. Non appena possibile, il sistema delle queries sarà messo a regime e sarà disponibile per tutti i centri.

L'INIZIATIVA EMA (EUROPEAN MEDICINES AGENCY) PER I REGISTRI DEI PAZIENTI

I dati real-world sono importanti in quanto offrono una raccolta di dati a lungo termine e consentono di valutare la storia del trattamento del paziente durante il decorso della malattia.

L'uso dei registri di malattia può fornire una migliore comprensione sull'efficacia e sicurezza dei trattamenti per SM nella popolazione generale, inclusi i gruppi di soggetti che sono esclusi dalla partecipazione alle sperimentazioni cliniche (ad esempio soggetti anziani o pediatrici e i soggetti con comorbidità). L'EMA è interessata ai dati real-world relativi alla conduzione di studi sulla sicurezza dei farmaci post-autorizzazione (ovvero, studio sulla sicurezza post-autorizzazione - PASS).

Anche il progetto RISM collabora agli studi PASS. Di seguito, vengono riportati i progetti attualmente attivi:

1. Sorveglianza a lungo termine (studio MANUSCRIPT) di pazienti con SM trattati con **Ocrelizumab (ROCHE)**
2. Sorveglianza a lungo termine (studio CLARION) in pazienti con SM recidivante altamente attiva trattati con **Cladribina orale (MERCK)**
3. Studio retrospettivo di sicurezza a lungo termine sul farmaco **Kesimpta** che utilizza dati reali provenienti da registri di SM esistenti e da database di diversi paesi (**NOVARTIS**)

IL NETWORK INTERNAZIONALE DEI REGISTRI SULLA SM: IL BIG MS DATA NETWORK

L'iniziativa internazionale di condivisione dei dati "**Big MS Data network**" (**BMSD network**), che include il RISM, è nata nel 2014 con l'obiettivo di creare una rete di collaborazione tra registri nazionali e database internazionali per permettere la conduzione di studi sulla SM con una grande quantità di dati e quindi una maggiore potenza statistica. Il network attualmente comprende, oltre al progetto RISM, i registri di Francia, Svezia, Danimarca, Repubblica Ceca e il database internazionale MSBase che ha sede in Australia, ed è stato riconosciuto dall'EMA come un'iniziativa di alta qualità in grado di fornire dati per studi importanti a livello regolatorio e scientifico come i progetti PASS. Dal 2019 al 2024 il network è stato coordinato dal gruppo di ricerca svedese, mentre da gennaio 2025 il gruppo italiano del RISM ha assunto questa responsabilità.

PROGETTI DI RICERCA BASATI SUI DATI DEL REGISTRO ITALIANO SM E PATOLOGIE CORRELATE

Attualmente sono **65 i progetti approvati, 42 completati e 23 in corso**. Le principali aree prioritarie dei progetti di ricerca sono:

- **Epidemiologia descrittiva** (prevalenza, incidenza e mortalità)
- **Epidemiologia analitica** (fattori di rischio, comorbidità e fattori prognostici)
- **Decorsi SM e patologie correlate** (benigno, RIS, CIS, forma progressiva, esordio pediatrico, esordio tardivo, forma aggressiva, NMOSD e MOGAD)
- **Terapia** (fattori prognostici e modelli predittivi di risposta al trattamento, aderenza al trattamento, efficacia del trattamento a breve e lungo termine, sicurezza, efficacia comparativa/sicurezza tra trattamenti, algoritmi di trattamento e switch).

Dal 2018 al 2024 sono state pubblicate oltre **40 pubblicazioni peer-reviewed** su riviste internazionali. Di seguito è riportata la lista dei **23 progetti in corso**.

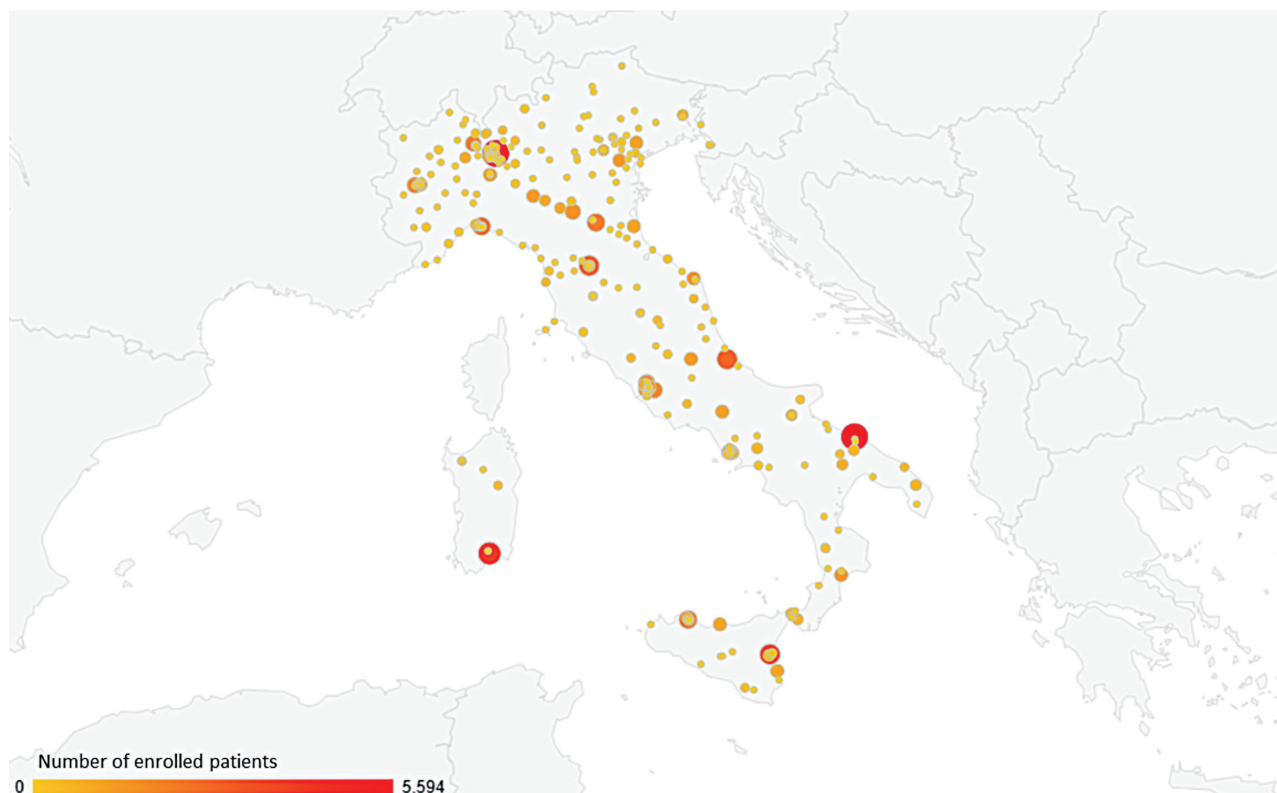
Responsabile progetto	Titolo progetto	Area prioritaria
Marco Salvetti	<i>Use of Machine Learning techniques in predicting the course of relapsing-remitting Multiple Sclerosis in individual patients.</i>	<i>Epidemiologia analitica</i>
Maria Trojano onbehalf Comitato Scientifico	<i>Valutazione dell'efficacia clinica di Ocrelizumab nel Registro Italiano di Sclerosi Multipla: confronto su PIRA e RAW nell'utilizzo precoce o tardivo del trattamento (STATIONARY)</i>	<i>Epidemiologia analitica</i>
Pietro Iaffaldano	<i>Fattori predittivi di progressione e attività di malattia nella sclerosi multipla: elaborazione di uno score prognostico e di un sistema di supporto decisionale - studio PROMISING</i>	<i>Epidemiologia descrittiva</i>
Monica Ulivelli	<i>Stato di immunizzazione verso le principali malattie trasmissibili -prevenibili da vaccino-, e sicurezza dei vaccini, in una coorte di pazienti con sclerosi multipla. Studio multicentrico italiano</i>	<i>Epidemiologia descrittiva</i>
Eleonora Tavazzi	<i>L'impatto di sesso/genere su epidemiologia, accesso alle strutture sanitarie e approccio terapeutico nelle persone con sclerosi multipla. Risultati dal Registro Italiano Sclerosi Multipla e Patologie Correlate</i>	<i>Epidemiologia descrittiva</i>
Emanuele D'Amico	<i>Interrompere o continuare le terapie modificanti il decorso di malattia nella forma secondariamente progressiva di Sclerosi Multipla: uno studio di confronto sulle traiettorie di disabilità</i>	<i>Terapia-Efficacia/sicurezza comparativa tra trattamenti</i>
Tomas Kalincik	<i>Timing ed efficacia comparativa dei trattamenti modificanti il decorso ad elevata efficacia in pazienti con SM ad esordio in età infantile</i>	<i>Terapia-Efficacia/sicurezza comparativa tra trattamenti</i>
Emilio Portaccio	<i>Efficacia comparativa dei trattamenti modificanti il decorso e del trapianto autologo di cellule staminali ematopoietiche sul rischio di progressione indipendente dalle ricadute nei pazienti con sclerosi multipla recidivante</i>	<i>Terapia-Efficacia/sicurezza comparativa tra trattamenti</i>
Aurora Zanghì	<i>Exit strategy da Fingolimod: dati dal registro italiano Sclerosi Multipla</i>	<i>Terapia-Efficacia/sicurezza comparativa tra trattamenti</i>
Massimo Filippi	<i>Fattori predittivi di risposta alla terapia con cladribina in pazienti affetti da sclerosi multipla</i>	<i>Terapia-Fattori prognostici e modelli predittivi di risposta alle terapie</i>
Emilio Portaccio	<i>Optimal responder alle terapie disease modifying "platform", in una coorte Italiana di pazienti con sclerosi multipla ad esordio recidivante remittente</i>	<i>Terapia-Fattori prognostici e modelli predittivi di risposta alle terapie</i>
Maria Pia Amato	<i>Valutazione della efficacia in relazione all'età dei Trattamenti per la sclerosi multipla in una coorte di pazienti real-world.</i>	<i>Terapia-Fattori prognostici e modelli predittivi di risposta alle terapie</i>
Massimo Filippi	<i>Profilo di efficacia e sicurezza delle terapie anti-CD20 in un'ampia coorte di pazienti affetti da sclerosi multipla: lo studio AFFeCTS</i>	<i>Terapia-Fattori prognostici e modelli predittivi di risposta alle terapie</i>
Pietro Iaffaldano	<i>Valutazione nel lungo termine della terapia con cladribina: efficacia, sicurezza, sequenze di trattamento oltre il quarto anno</i>	<i>Terapia-Fattori prognostici e modelli predittivi di risposta alle terapie</i>
Roberto Bergamaschi	<i>La nuova generazione di modulatori del recettore della sfingosina 1-fosfato (S1P) nella pratica clinica: studio osservazionale dal Registro Italiano della SM</i>	<i>Terapia-Efficacia/sicurezza a breve e lungo termine</i>
Luigi Maria Edoardo Grimaldi	<i>Ricerca degli effetti neurologici del Semaglutide e di altri farmaci antidiabetici in persone con sclerosi multipla e diabete</i>	<i>Terapia-Efficacia/sicurezza a breve e lungo termine</i>
Tomas Kalincik	<i>De-escalation e cessazione del trattamento dopo l'uso di agenti per il traffico cellulare in pazienti con SM di età superiore a 60 anni</i>	<i>Terapia-Algoritmi e switch terapeutici</i>

Melinda Magyari	<i>De-escalation della terapia modificante la malattia ad alta efficacia rispetto alla continuazione o all'interruzione nei pazienti di età superiore ai 50 anni con sclerosi multipla non attiva</i>	<i>Terapia-Algoritmi e switch terapeutici</i>
Pietro Iaffaldano	<i>Caratterizzazione della sclerosi multipla progressiva secondaria non attiva: sfide diagnostiche e valutazione dei fenomeni di progressione indipendente dall'attività di ricaduta</i>	<i>Decorsi di SM e Patologie Correlate</i>
Mattia Pozzato	<i>"HIGH-EFFECT-POMS vs AOMS - L'impatto delle terapia ad alta efficacia nei pazienti con esordio pediatrico di sclerosi multipla rispetto ai pazienti con esordio in età adulta: uno studio del Registro Italiano Sclerosi Multipla"</i>	<i>Decorsi di SM e Patologie Correlate</i>
David Laplaud	<i>TARgeting Treatment Optimization in Pediatric Onset Multiple Sclerosis (TARTOPOMS)</i>	<i>Decorsi di SM e Patologie Correlate</i>
Luca Massacesi	<i>Efficacia comparativa della terapia con ciclofosfamide ev versus assenza di trattamento o siponimod nel ritardare la progressione di disabilità nella sclerosi multipla secondariamente progressiva</i>	<i>Decorsi di SM e Patologie Correlate</i>

Italian Multiple Sclerosis And Related Disorders Register

INTRODUCTION

The Italian Multiple Sclerosis and Related Disorders Register (RISM) is one of the main Research Special Projects supported by the Italian MS Society (AISM) and its Foundation (FISM), which was launched with the aim of creating a multicentric organized infrastructure to collect the data of all people with MS followed in the various MS centers in Italy¹



Distribution of patients and clinical multiple sclerosis centers in Italy. The proportional area chart (circles) represents the number of patients for each MS clinical center.

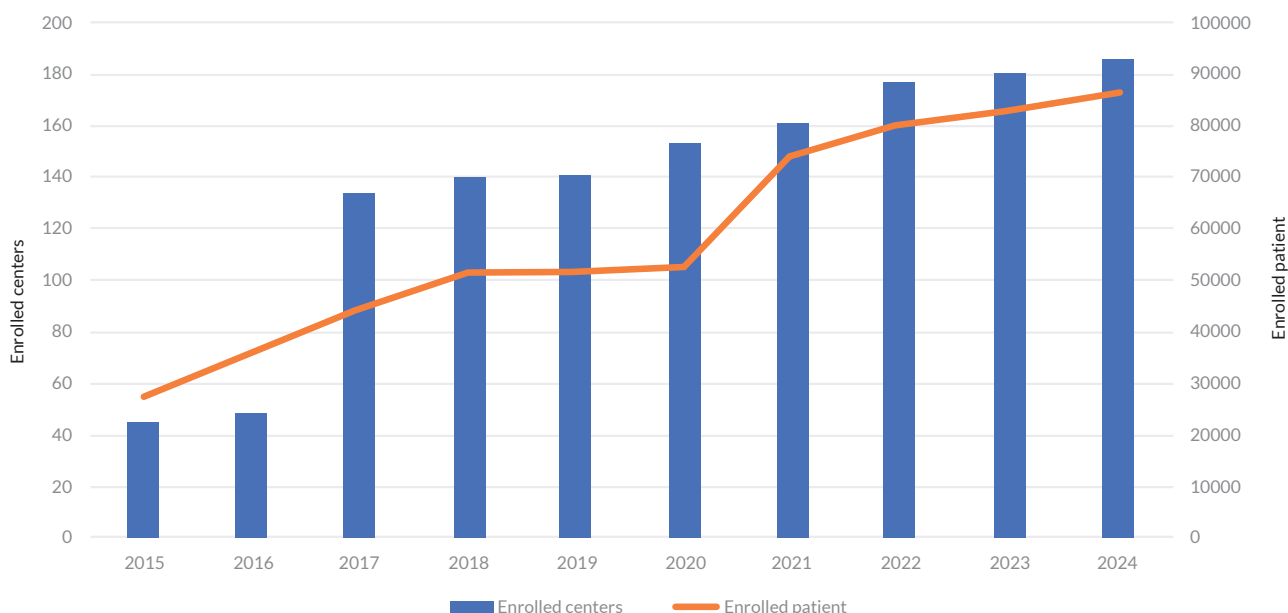
THE HISTORY OF RISM

Since 2000, the Italian collection of MS clinical data started at different Italian MS centers in the framework of the Italian Multiple Sclerosis Database Network.

Since 2014, FISM in collaboration with the University of Bari and the Italian MS clinical centers, promoted and funded the creation of the Italian MS Register (RISM).

Since 2021, for a greater inclusiveness, the name of the Register has been changed to: Italian Multiple Sclerosis & Related Disorders Register (RISM). A new module has been included for the collection of information on rare forms of demyelinating diseases: Neuromyelitis Optica Spectrum Disorder (NMOSD) such as neuromyelitis optica and pathologies associated with the presence of anti-MOG antibodies (MOGAD). Approximately 190 Italian clinical centers have joined the project and RISM collects the demographic and clinical data of approximately 92.000 people in care by Italian clinical centers (data updated at December 31st, 2024).

The Register is therefore ready to become a factual scientific research tool that can be useful for the development of epidemiological and clinical studies, as well as a public health valid tool for promoting the equity of access to care by comparing the welfare practices of the different centers and to study/evaluate national and local welfare policies.



Development and enrolled centers and patients in the RISM Project from 2015 to 2024

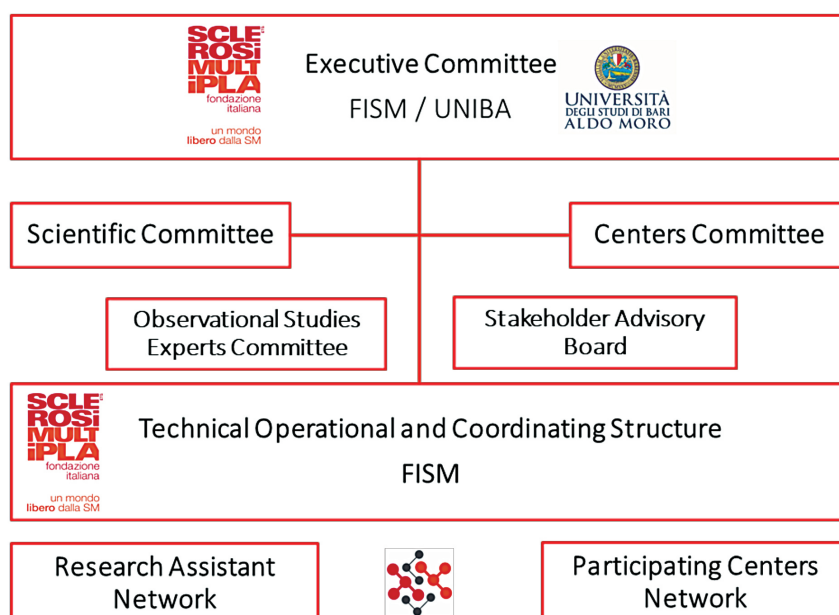
HIGH-PRIORITY AREAS

The Scientific Committee of the RISM has identified two high-priority areas:

- PUBLIC HEALTH:** to set up a universal census of patients systematically and continuously updated, in order to obtain accurate estimates of prevalence and incidence of the disease at regional and national level in order to improve quality of care, health optimization, social and welfare information, access to healthcare treatments and services.
- RESEARCH:** to gather useful information for the planning of research studies for specific projects. Particularly, studies on epidemiology and prognosis, treatment optimization (effectiveness and safety), disease course, early and pre-clinical/subclinical disease stages (CIS and RIS).

INFRASTRUCTURE ORGANIZATION

RISM INFRASTRUCTURE



GOVERNANCE

The governance of RISM includes an **Executive Committee** (chaired by FISM and the University of Bari) with the administrative and organizational role and a **Scientific Committee** (including clinicians, methodologists, and representatives of both MS centers and of the Italian Neurological Society) which oversees the scientific initiatives, promotes specific strategic projects, and approves requests of access to centralized data for further research projects.

The current **Executive Committee** is composed of:

Maria Trojano (University of Bari representative, Chair)

MS Center, Department of Translational Biomedicine and Neuroscience (DiBrain), University of Bari, Bari

Mario Alberto Battaglia (FISM representative, vice president)

Italian Multiple Sclerosis Foundation - FISM, Genoa

The current **Scientific Committee** is composed of:

Maria Trojano (University of Bari representative, Chair)

MS Center, Department of Translational Biomedicine and Neuroscience (DiBrain), University of Bari, Bari

Mario Alberto Battaglia (FISM representative, vice president)

Italian Multiple Sclerosis Foundation - FISM, Genoa

Paola Mosconi

Italian Multiple Sclerosis Foundation - FISM, Genoa

Claudio Gasperini (Italian Neurological Society Representative)

Department of Neuroscience, Azienda Ospedaliera San Camillo-Forlanini, Rome

Eleonora Cocco (Clinical Centers representative)

Regional Center for the Diagnosis and Treatment of Multiple Sclerosis ASL8 P.O. Binaghi, Cagliari, Italy

Matilde Inglese (Clinical Centers representative)

Center for the Study and Treatment of Multiple Sclerosis and Demyelinating Diseases - Department of Neuroscience, Rehabilitation, Ophthalmology, Genetics and Maternal - Child Sciences, Neurological Clinic - Policlinico San Martino Hospital (DiNOG-MI), Genoa

Carla Tortorella (Clinical Center Representative)

Multiple Sclerosis Center - Az. Osp. S. Camillo Forlanini, Rome

Marco Capobianco (Secretary)

Multiple Sclerosis Center, CS Neurology, AO Santa Croce e Carle, Cuneo

Maria Pia Amato (Expert)

Department of NEUROFARBA, University of Florence, IRCCS Fondazione Don Carlo Gnocchi, Florence

Massimo Filippi (Expert)

Multiple Sclerosis Center - San Raffaele Hospital, Milan

OPERATIONAL STRUCTURE

The Technical Operational and Coordinating Structure, based at FISM in Genoa, operates on behalf of the RISM and manages both administrative and technical-operational aspects of the project.

THE STAFF OF THE TECHNICAL OPERATIONAL AND COORDINATING STRUCTURE

Italian Multiple Sclerosis Foundation, Genoa

Coordination: Michela Ponzio, Paola Mosconi, Vito Lepore

Study Coordinators: Marco Salivetto, Pasquale Paletta

RISM Assistant: Sabrina Rutigliano

Legal and Compliance Office: Paolo Bandiera, Laura De Barbieri, Martina Bassi, Lorenzo Garzarelli

NETWORKS RELATED TO RISM

MS CLINICAL CENTERS NETWORK

MS centers are recognized as the key component of MS care in Italy. There are approximately 240 MS centers of varying size, and they are often located within public hospital neurology departments. Currently 79% of the Italian MS centers have joined the RISM project.

RESEARCH ASSISTANT NETWORK

With the aim of increasing the quality of data collection and data entry, a network of young research assistants (RAs) has been ad hoc trained. Currently, 25 RAs are active in 15 Italian Regions (following approximately 130 centers) and are allocated to one or more centers according to centers' contribution to the project in terms of number of patients enrolled and their geographic distribution. RAs activities include: supporting the start-up phase of the project at MS centers, supporting the on-time implementation of the project at MS centers, and ensuring a standardized data collection and management.

LIST OF ACTIVE RESEARCH ASSISTANTS

Italian Multiple Sclerosis Foundation, Genoa

Senior staff: Beatrice Biolzi, Daniele Dell'Anna, Sonia Di Lemme, Chiara Di Tillio, Ilaria Maietta, Federica Martini, Ornella Moreggia, Silvia Perugini, Ramona Piredda, Chiara Raimondi, Antonino Rallo, Monica Romoli, Ilaria Rossi.

Junior staff: Paola Crida, Alessandra Del Prete, Teresa Fonsdituri, Agata Marchese, Martina Marciano, Silvia Marinetto, Chiara Monetti, Rosanna Petrillo, Ludovica Roselli, Valentina Tallarico, Stefania Treccarichi, Eliana Zaccone.

STAKEHOLDER ADVISORY BOARD(S)

To meet the strategic priorities of the RISM project, relevant stakeholders, including industries, are engaged with an advisory forum. Currently, an Industry Advisory Board, including the main pharma companies with interest in MS, is active.

OBSERVATIONAL STUDIES EXPERTS COMMITTEE

This committee is composed of neurologists (n=6) and statisticians (n=3) with the following responsibilities:

- 1) training activities designed for young neurologists who wish to enhance their skills in designing, conducting, and analysing observational studies on datasets extracted from RISM;
- 2) consultation activities for ongoing or upcoming studies.

A group of consultants with relevant expertise is called upon to collaborate with the 'Expert Committee of Observational Studies'.

CURRENT OBSERVATIONAL STUDIES EXPERTS COMMITTEE

Copetti Massimiliano (statistician)

Head of Unit of Biostatistics, I.R.C.C.S. Casa Sollievo della Sofferenza Hospital, San Giovanni Rotondo, Foggia

Lucisano Giuseppe (statistician)

Department of Basic Medical Sciences, MS Center, Department of Translational Biomedicine and Neuroscience (DiBraiN), University of Bari, Bari

Santucci Claudia (statistician)

Department of Clinical and Community Sciences, University of Milan

Ferraro Diana (neurologist)

Centro dell'Ospedale Civile di Baggiovara, Azienda Ospedaliero-Universitaria di Modena Sclerosi Multipla

Iaffaldano Pietro (neurologist)

University of Bari Aldo Moro, Department of Biomedicine Translational and Neuroscience "DiBraiN"

Multiple Sclerosis Center, Bari

Lorefice Lorena (neurologist)

Centro Sclerosi Multipla Ospedale Binaghi, Cagliari

Portaccio Emilio (neurologist)

Department of NEUROFARBA, University of Florence, Florence

Prosperini Luca (neurologist)

U.O.C. Neurologia e Neurofisiopatologia, A.O. S. Camillo-Forlanini, Roma

Rocca Maria Assunta (neurologist)

San Raffaele Scientific Institute, Vita-Salute San Raffaele University, Milan

CONSULTANTS:

Bergamaschi Roberto (Multiple Sclerosis Center, IRCCS Mondino Foundation); Foschi Matteo (Dipartimento di Neuroscienze, Centro SM e Malattie Neurodegenerative - U.O.C. Neurologia, Ospedale S. Maria delle Croci, AUSL Romagna, Ravenna); Maniscalco Giorgia Teresa (Centro Regionale di Diagnosi e Terapia della Sclerosi Multipla); Signoriello Elisabetta (Centro Clinico per la Sclerosi Multipla - II Clinica Neurologica - II Università di Napoli).

DEDICATED SOFTWARE

During the first years, RISM used a client-server solution software (iMed® software), an offline computerized medical folder that needed a periodic upload by clinical centers. At the end of 2016, a new web-based software named the RISM-App was developed. From April 2021, RISM is exclusively running on this new modular web-based software, currently at its 3.14 release. The software access happens via the reserved area of the website of the project (<https://www.registroitalianosm.it/>).

FEATURES OF THE NEW PLATFORM

- **Patient-centered:** the patient is registered only once in the database through a tax code (unique personal identification code). This is a crucial point because the uniqueness of the registered MS subject produces a significant improvement in the pooling of the data in the central database.
- **Practical:** data entry is possible through different devices (PC, mobile, tablet).
- **Secure:** the system respects the standards required by the European Union General Data Protection Regulation (GDPR) 2016/679 and each center enters the data through a personalized password.
- **Easily accessible:** an internet access is sufficient. A Privacy Impact Assessment has been made to assess the security level of the website.
- **Standardized:** the database uses standardized coding databases, such as MedDRA, ICD9CM, Eurocat and Farmadati. A Standard Operating Procedures manual is periodically updated to standardize data collection and RISM-App utilization.
- **Printable:** it is possible to print a report containing patient information.
- **Modular:** it is possible to add several modules.

SOFTWARE STRUCTURE OF RISM

The RISM database collects a minimum data set of variables including crucial information that are useful to characterize the MS patient, and other variables included in specific modules such as:

Drugs

This section is dedicated to the patient's treatment history. This module includes the risk-management plan for all the Disease Modifying Therapies (Adverse Events and Serious Adverse Events are codified through MedDRA; Comorbidities are codified through ICD9CM).

MRI

This section is dedicated to conventional magnetic resonance imaging (MRI) measures (Brain and spinal cord T2 and T1, and Gd+T1 lesion numbers).

Instrumental Examinations

This section collects information about: laboratory tests (i.e. virologic, immunological, thyroid function and other specific tests), liquor, evoked potentials, EEG, ECG, etc.

Covid-19

This section collects information about the SARS-CoV-2 infection such as: diagnosis, severity, outcome and correlation with DMTs and vaccinations.

NMOSD and MOGAD

This section is dedicated to rare forms of demyelinating diseases: Neuromyelitis Optica Spectrum Disorder (NMOSD) such as Neuromyelitis Optica and pathologies associated with the presence of anti-MOG antibodies (MOGAD).

Pregnancy

This section collects information regarding pregnancy, maternal and fetal outcomes of women with MS and their children.

MS Pediatric Onset

This section collects information on people with an MS pediatric onset. This module includes information such as environmental risk factors, vaccinations, cognitive functioning over time and specific MRI features.

DATA MONITORING

Data are centrally monitored in order to guarantee the high quality of the information collected. Several quality control tools have been implemented in order to increase the quality and generalizability of the data collected. Centers are periodically contacted with *ad hoc* reports with queries on the missing data or inconsistencies among the variables collected. Quality controls regard:

- **dates:** presence/absence, completeness, anomalies and consistency among all the data collected in the dataset
- **completeness:** overall evaluation of the completeness level of the variables included
- **accuracy:** proportion of variables with a value corresponding to their range
- **consistency:** congruency with other variables

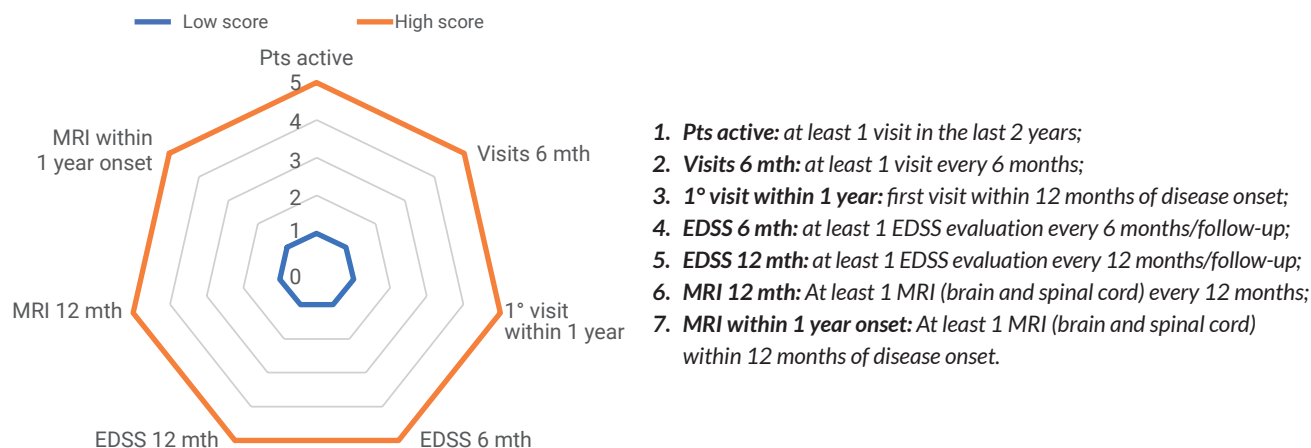
Every 2 months, RAs receive an update on the progress of the centers they are in charge of and share it with the participating center manager. Each participating center receives a monthly communication with updates and clarifications regarding data entry and procedures pertaining to the project.

Based on our previous published experience², an *ad hoc* working group was established and reviewed the previous set of indicators with the aim to improve the quality, completeness, timeliness, generalization, and representativeness of the collected data.

Accordingly, the following indicators were established:

- a set of seven performance indicators reported as radar graph; for each indicator all the centers were awarded with a score of 5 for the best performance, while lower scores from 4 to 1 were attributed for progressively lower performances.
- a set of four epidemiological-descriptive indicators:
 - female/male ratio,
 - distribution of patients with/without a DMT prescription,
 - distributions of age at onset, interval between onset and diagnosis dates, and interval between diagnosis and first DMT start dates,
 - frequencies of first and last DMT.

Here the seven performance indicators and their graphical representation (radar graph):



Every six months, each participating center receives a report where their data and performance indicators are benchmarked with the whole sample: in this way, each center can assess its own performances and the level of improvement over time.

Alongside with this work, a thorough assessment of data accuracy and consistency was carried out identifying potential duplicates in the whole database and checking them one by one, fixing the incongruencies and unifying the duplicates.

² Mosconi P, Guerra T, Paletta P, D'Ettore A, Ponzio M, Battaglia MA, Amato MP, Bergamaschi R, Capobianco M, Comi G, Gasperini C, Patti F, Pugliatti M, Olivelli M, Trojano M, Lepore V; Italian Multiple Sclerosis and Related Disorders Register Centres Group. Data monitoring roadmap. The experience of the Italian Multiple Sclerosis and Related Disorders Register. *Neurol Sci.* 2023 Jun; doi: 10.1007/s10072-023-06876-9.

DEVELOPMENT OF QUERIES FOR THE RISM DATABASE

Despite the ability of each center to download its own data for internal analysis and verification, the complexity of the RISM database and the need for centers to track and analyze their patients longitudinally, required the study and implementation of a query system. This system, which is still being under evaluation with a shortlist of centers and RAs, will allow center users to quickly, conveniently, and intuitively query their database to perform analyses on their patients, although it will not, however, completely meet the complexity and specificity of analyses for research projects. As soon as possible, the query system will be brought up to speed and will be available to all centers.

THE EMA (EUROPEAN MEDICINES AGENCY) INITIATIVE FOR PATIENT REGISTRIES

Real-world data are vital as they offer long-term data collection and allow to evaluate patient's treatment history throughout the disease course. The use of disease registries may provide a better understanding of the effectiveness and safety of disease-modifying therapies in the general population with MS, including groups of individuals who are excluded from participating in clinical trials (such as elderly or pediatric subjects and individuals with comorbidities). EMA is interested in real-world data regarding the post-marketing drug safety assessment (i.e., Post-Authorization Safety Study—PASS). The RISM project also collaborates on PASS studies. Below, the current active projects are listed:

- MANUSCRIPT study for long-term surveillance of Ocrelizumab treated patients with Multiple Sclerosis (ROCHE)
- CLARION study, for long-term surveillance of oral Cladribine in patients with highly active RMS (MERCK)
- Kesimpta long-term retrospective safety study utilizing real-world data from existing multiple sclerosis registries and databases from multiple countries (NOVARTIS)

BIG MS DATA NETWORK

The international data-sharing initiative "Big MS Data network" (BMSD network), which includes RISM, was established in 2014 with the aim of creating a collaborative network between national registries and international databases to enable the conduct of MS studies with a large amount of data and thus greater statistical power. The network currently includes, in addition to the RISM, registries from France, Sweden, Denmark, the Czech Republic, and the international MSBase database based in Australia, and has been recognized by the EMA as a high-quality initiative capable of providing data for important regulatory and scientific studies such as the PASS projects. From 2019 to 2024 the network was coordinated by the Swedish research group, while from January 2025 the Italian RISM group assumed this responsibility.

RESEARCH PROJECTS BASED ON THE RISM DATA

Currently 65 projects are approved, 42 are completed and 23 are ongoing. The main priority areas of the research projects are:

- **Descriptive Epidemiology** (prevalence, incidence and mortality)
- **Analytical Epidemiology** (risk factors, comorbidity and prognostic factors)
- **MS and RD courses** (benign, RIS, CIS, progressive form, pediatric onset, late onset, aggressive form, NMOSD and MOGAD)
- **Therapy** (prognostic factors and predictive models of treatment response, treatment adherence, short and long-term treatment effectiveness, safety, comparative effectiveness/safety between treatments, treatment algorithms and switches)

From 2018 to 2024, more than **40 peer-reviewed publications** have been published in international journals. Below are reported the titles of **23 ongoing projects**.

Principal Investigator	Title of the project	Priority areas
Marco Salvetti	Use of Machine Learning techniques in predicting the course of relapsing-remitting Multiple Sclerosis in individual patients	Analytical Epidemiology
Maria Trojano on behalf Comitato Scientifico	ASsessing long Term effectiveness of OcrelizumAb in Italian Multiple Sclerosis Registry: a cOmparisoN on PIRA and RAW in early vs delaYed treatment (STATIONARY)	Analytical Epidemiology

Pietro Iaffaldano	<i>Predicting multiple sclerosis disease activity and progression: development of a prognostic score and decisional support system - PROMISING study</i>	<i>Descriptive Epidemiology</i>
Monica Ulivelli	<i>Immunisation status against major communicable diseases preventable with vaccines, and safety of vaccines, in a cohort of multiple sclerosis patients. An Italian multicenter study</i>	<i>Descriptive Epidemiology</i>
Eleonora Tavazzi	<i>L'impatto di sesso/genere su epidemiologia, accesso alle strutture sanitarie e approccio terapeutico nelle persone con sclerosi multipla. Risultati dal Registro Italiano Sclerosi Multipla e Patologie Correlate</i>	<i>Descriptive Epidemiology</i>
Emanuele D'Amico	<i>The impact of sex/gender on epidemiology, access to health facilities and treatment approach in people with multiple sclerosis. Results from the Italian Multiple Sclerosis and Related Disorders Register</i>	<i>Therapy - comparative effectiveness/ safety between treatments</i>
Tomas Kalincik	<i>The impact of sex/gender on epidemiology, access to health facilities and treatment approach in people with multiple sclerosis. Results from the Italian Multiple Sclerosis and Related Disorders Register</i>	<i>Therapy - comparative effectiveness/ safety between treatments</i>
Emilio Portaccio	<i>Comparative effectiveness of disease modifying treatments and Autologous Hematopoietic Stem Cell Transplant on the risk of first progression independent of relapse activity in relapsing multiple sclerosis</i>	<i>Therapy - comparative effectiveness/ safety between treatments</i>
Aurora Zanghi	<i>Fingolimod Exit strategy: a real word Italian registry study</i>	<i>Therapy - comparative effectiveness/ safety between treatments</i>
Massimo Filippi	<i>Predictors of response to cladribine in multiple sclerosis patients</i>	<i>Therapy - prognostic factors and predictive models of treatment response</i>
Emilio Portaccio	<i>Optimal responders to platform disease modifying therapies in an Italian cohort of relapsing-onset multiple sclerosis patients</i>	<i>Therapy - prognostic factors and predictive models of treatment response</i>
Maria Pia Amato	<i>Evaluating Age-Dependent Efficacy of Multiple Sclerosis Treatments in a Real-Life Cohort</i>	<i>Therapy - prognostic factors and predictive models of treatment response</i>
Massimo Filippi	<i>AFFectS – Anti-CD20 eFFectiveness and Safety profile in a large cohort of multiple sclerosis patients</i>	<i>Therapy - prognostic factors and predictive models of treatment response</i>
Pietro Iaffaldano	<i>Assessment of cladribine therapy over time: effectiveness, safety and evaluation of treatment sequencing beyond year four</i>	<i>Therapy - prognostic factors and predictive models of treatment response</i>
Roberto Bergamaschi	<i>New generation of sphingosine 1-phosphate (S1P) receptor modulators in clinical practice: a real-world study from the Italian MS Registry</i>	<i>Therapy - short and long-term treatment effectiveness</i>
Luigi Maria Edoardo Grimaldi	<i>A search for neurological effects of Semaglutide and other anti-diabetic drugs in people with multiple sclerosis and diabetes</i>	<i>Therapy - short and long-term treatment effectiveness</i>
Tomas Kalincik	<i>Treatment de-escalation and cessation after cell trafficking agents in MS patients older than 60 years</i>	<i>Treatment algorithms and switches</i>
Melinda Magyari	<i>De-escalation of High-Efficacy disease-modifying therapy compared to continuation or discontinuation in patients older than 50 years with non-active multiple sclerosis</i>	<i>Treatment algorithms and switches</i>
Pietro Iaffaldano	<i>Characterization of non-active secondary progressive multiple sclerosis: diagnosis challenge and assessment of progression independent from relapse activity phenomena</i>	<i>MS and RD courses</i>
Mattia Pozzato	<i>HIGH-EFFECT-POMS vs AOMS - Impact of high-efficacy disease modifying treatments in pediatric-onset multiple sclerosis patients compared to adult-onset: a study from the Italian Multiple Sclerosis Registry</i>	<i>MS and RD courses</i>
David Laplaud	<i>TARgeting Treatment Optimization in Pediatric Onset Multiple Sclerosis (TARTOPOMS)</i>	<i>MS and RD courses</i>
Luca Massacesi	<i>Comparative effectiveness of IV cyclophosphamide therapy versus no- or siponimod treatment in delaying disability accrual in secondary progressive multiple sclerosis</i>	<i>MS and RD courses</i>

L'inquinamento atmosferico come fattore di rischio della sclerosi multipla. Uno studio ecologico nella popolazione italiana (Studio AIRMUS)



Roberto Bergamaschi

Centro Sclerosi Multipla, IRCCS Fondazione Mondino, Pavia, Italia

COLLABORATORI/COLLABORATORS

Eleonora Tavazzi, Giulia Mallucci

COLLABORAZIONI CON ALTRI GRUPPI / COLLABORATIONS WITH OTHER GROUPS

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

Enrico Pisoni, *Commissione Europea, Joint Research Centre (JRC), ISPRA (VA), Italia on behalf of the Italian Multiple Sclerosis Register*

PREMESSE E OBIETTIVI

Le possibili relazioni tra inquinamento atmosferico e sclerosi multipla (SM) sono state indagate in alcuni studi ecologici che hanno rilevato associazioni tra i livelli di particolato (PM) e la prevalenza di SM in differenti aree geografiche. Inoltre, sono state segnalate anche correlazioni tra il rischio di esacerbazioni di SM ed i picchi di PM_{10} e $PM_{2.5}$. Queste relazioni potrebbero essere non casuali, poiché sono ipotizzabili alcuni meccanismi attraverso i quali la SM potrebbe essere innescata dagli inquinanti atmosferici a) la loro inalazione nel tratto respiratorio inferiore potrebbe indurre una risposta pro-infiammatoria nel polmone, favorendo l'ingresso dei linfociti autoreattivi nel sistema nervoso centrale b) potrebbero sostenere risposte infiammatorie disimmuni attraverso lo stress ossidativo, che porta alla neuroinfiammazione e alla rottura del normale equilibrio tra immunità e autotolleranza c) potrebbero agire come un filtro atmosferico per la luce ultravioletta, che la componente più importante per la sintesi della vitamina D, causando di conseguenza insufficienza di vitamina D in individui suscettibili d) potrebbero innescare cambiamenti epigenetici, in particolare alterazioni della metilazione del DNA, con conseguente produzione di citochine pro-infiammatorie. Queste osservazioni suggeriscono che l'inquinamento atmosferico potrebbe essere uno dei fattori di rischio per la SM, influenzando potenzialmente la patogenesi dei processi immunitari ed infiammatori. Per supportare tale ipotesi, il presente studio si è proposto di analizza-

re l'impatto del $PM_{2.5}$ sui pazienti con SM in concomitanza con la fase di ricaduta clinica rispetto alla fase di stabilità.

RISULTATI

Sono stati raccolti dal database del Registro Italiano Sclerosi Multipla e Patologie Correlate i dati di persone con sclerosi multipla (pSM) per le quali era disponibile il luogo di residenza. L'area di studio era l'intera Italia, suddivisa in 107 province. Sono stati estratti i dati di 39,078 persone con sclerosi multipla (pSM); dopo la verifica di qualità dei dati, sono stati analizzati i dati di 37,640 pMS.

Le informazioni spaziali sugli inquinanti atmosferici sono state raccolte dal database del Programma europeo EMEP, un programma basato su dati scientifiche e guidato dalle politiche nell'ambito della Convenzione sull'inquinamento atmosferico transfrontaliero a lungo raggio, firmato dagli stati membri della Commissione economica per l'Europa delle Nazioni Unite (UNECE), che mira a ridurre le emissioni atmosferiche provenienti da diverse fonti.

È stata condotta un'analisi di regressione condizionale che aggiustava l'errore standard e che consentiva la correlazione intragruppo per confrontare negli stessi soggetti: a) i livelli settimanali di $PM_{2.5}$ nella prima, seconda, terza e quarta settimana prima della ricaduta clinica di SM rispetto ai livelli settimanali di $PM_{2.5}$ nella prima, seconda, terza e quarta settimana prima del riscontro di stabilità clinica di SM; b) il numero di giorni in cui i livelli di $PM_{2.5}$ erano risultati superiori ai limiti nella prima, seconda, terza e quarta

settimana prima della ricaduta clinica della SM rispetto al numero di giorni in cui i livelli di $PM_{2.5}$ erano risultati superiori ai limiti nella prima, seconda, terza e quarta settimana prima della stabilità clinica della SM. Abbiamo rilevato che per un incremento di $30 \mu g/m^3$ della media settimanale di $PM_{2.5}$, la probabilità di avere una ricaduta clinica di SM era aumentata del 6.2% ($p<0.001$), 4.9% ($p=0.001$), 8.5% ($p<0.001$), e 11.7% ($p<0.001$), rispettivamente nella prima, seconda, terza e quarta settimana prima della data della visita. Con un incremento per 5 giorni dei livelli di $PM_{2.5}$ al di sopra dei limiti durante la prima, la seconda, la terza e la quarta settimana prima della data della visita, la proba-

bilità di avere una ricidiva clinica di SM era aumentata rispettivamente del 6,5% ($p<0,001$), del 3,1% ($p<0,001$), del 3,2% ($p<0,001$) e del 3,1% ($p<0,001$).

CONCLUSIONI

Una maggiore esposizione agli inquinanti atmosferici, sia in termini di livelli medi di $PM_{2.5}$ che del numero di giorni al di sopra della soglia, aumenta il rischio di ricadute cliniche nel corso della SM. Sebbene l'aumento sia statisticamente significativo, è comunque relativamente piccolo, il che suggerisce che il rischio di ricadute è influenzato anche da fattori diversi dall'inquinamento atmosferico.

Air pollution as a risk factor of multiple sclerosis. An ecological study in the Italian population (The AIRMUS study)

INTRODUCTION AND AIMS

The existence of possible links between air pollution and multiple sclerosis (MS) has been investigated in some ecological studies which found association between particulate matter (PM) levels and MS prevalence in different geographical areas. In addition, correlations between the risk of MS exacerbations and peaks of PM_{10} and $PM_{2.5}$ were also reported. These relationships could be not casual, since there are some mechanisms through which MS might be triggered by air pollutants a) their inhalation into the lower respiratory tract might induce a pro-inflammatory response in the lung, licensing auto-reactive lymphocytes to enter the central nervous system b) they might sustain dysimmune inflammatory responses through oxidative stress, which leads to neuroinflammation and breakdown of the normal balance between immunity and self-tolerance c) they might act as an atmospheric filter for ultraviolet light, that is the most important component for vitamin D synthesis, consequently causing vitamin D insufficiency in susceptible individuals d) they might trigger epigenetic changes, especially DNA methylation alterations, resulting in pro-inflammatory cytokine production. These findings suggest that air pollution might be one of the risk factors for MS, potentially influencing the pathogenesis of immune and inflammatory processes. In order to support this hypothesis, the main aim of the present study was to analyze the impact of $PM_{2.5}$ on MS patients in concomitance with clinical relapse versus stability phase.

RESULTS

We collected data from the Italian Register of Multiple Sclerosis and Related Disorders data-base of persons with MS (pwMS) whose residence place were available. Study area was Italy, subdivided into 107 provinces. Data from 39,078 pwMS were extracted; after data cleaning, data from 37,640 pwMS were analyzed. Spatial information on

air pollutants were gathered from the database of the European Monitoring and Evaluation Program (EMEP), a scientifically based and policy-driven program under the Convention on Long-range Transboundary Air Pollution, signed by member states of the United Nations Economic Commission for Europe (UNECE), which aims to cut down air emissions from several sources. A conditional regression analysis adjusting for cluster-robust standard error that allowed intragroup correlation was implemented to compare in the same subjects: a) the weekly $PM_{2.5}$ levels on the first, second, third and fourth week before MS clinical relapse versus the weekly $PM_{2.5}$ levels on the first, second, third and fourth week before MS clinical stability, respectively; b) the number of days where $PM_{2.5}$ levels were above the limits on the first, second, third and fourth week before MS clinical relapse versus the number of the day where $PM_{2.5}$ levels were above the limits on the first, second, third and fourth week before MS clinical stability, respectively. We found that with an increase of $30 \mu g/m^3$ in the weekly average of $PM_{2.5}$, the probability of having an MS clinical relapse increased by 6.2% ($p<0.001$), 4.9% ($p=0.001$), 8.5% ($p<0.001$), and 11.7% ($p<0.001$), respectively the in first, second, third and fourth weeks before the visit date. With an increase of 5 days of $PM_{2.5}$ levels above the limits during the first, second, third and fourth weeks before the visit date, the probability of having a clinical MS relapse increased by 6.5% ($p<0.001$), 3.1% ($p<0.001$), 3.2% ($p<0.001$) and 3.1% ($p<0.001$), respectively.

CONCLUSIONS

A greater exposure to air pollutants, both in terms of $PM_{2.5}$ average levels and the number of days above the threshold, increases the risk of clinical relapses in the course of MS. Although the increase is statistically significant, it is still relatively small, suggesting that the risk of relapse is influenced by factors other than air pollution.

Integrazione di dati genetici e fenotipici tra il data-base PROGEMUS e il Registro Italiano Sclerosi Multipla e patologie correlate



Maurizio Leone

Direzione Scientifica, Fondazione IRCCS Casa Sollievo della Sofferenza, San Giovanni Rotondo, Italia

COLLABORAZIONI CON ALTRI GRUPPI / COLLABORATIONS WITH OTHER GROUPS

Sandra D'Alfonso, Nicola Pomella, Nadia Barizzone, *Dipartimento di Scienze della Salute, Laboratorio di Genetica, Università del Piemonte Orientale, Novara, Italia*

Maria Trojano, Giuseppe Lucisano, *Dipartimento di Biomedicina Traslazionale e Neuroscienze, Università di Bari, Bari, Italia*

PREMESSE E OBIETTIVI

I grandi studi internazionali sulla sclerosi multipla (SM) hanno identificato oltre 200 loci di suscettibilità al di fuori della regione HLA, attraverso un approccio genome-wide. Al contrario, gli stessi studi hanno scarsamente contribuito a comprendere come la genetica possa influenzare l'eterogeneità clinica e la progressione della malattia. Per colmare questa lacuna, il nostro progetto sfrutta un'opportunità unica per collegare i dati genetici di un ampio campione di pazienti genotipizzati (PROGEMUS Consortium - PROgnostic GENetic study in MULTiple Sclerosis) e il Registro italiano sulla SM e disturbi correlati (Registro), che raccoglie dati fenotipici in un'ampia coorte di pazienti, seguiti per un lungo periodo di tempo. La nostra ipotesi generale è che le varianti genetiche possano essere associate a specifici fenotipi clinici, decorso della malattia e risposte ai farmaci, consentendo così previsioni per ogni singolo paziente. Lo scopo di questo progetto proof-of-concept è implementare, testare e valutare la fattibilità di una procedura per collegare i due database con l'obiettivo finale di costruire un'infrastruttura di condivisione dei dati per esplorare possibili associazioni di varianti genetiche con fattori coinvolti nell'eterogeneità clinica.

RISULTATI

Il progetto è stato sviluppato attraverso cinque fasi:

1) Identificazione dei centri: l'elenco dei 25 centri SM inclusi in PROGEMUS è stato verificato con l'elenco dei centri partecipanti al Registro. Venti centri si sovrapponevano, men-

tre 5 erano nella rete PROGEMUS, ma non nel Registro.

2) Pre-processing del database PROGEMUS: PROGEMUS è costituito da due diversi dataset clinici, che coprono periodi di tempo diversi. I loro formati sono stati armonizzati e le varianti nei diversi campi dei due dataset sono state uniformate. Sono stati sviluppati due codici e i due dataset sono stati uniti tramite campi chiave, utilizzando il linguaggio di programmazione Python con la libreria PANDAS. I campioni biologici di DNA erano disponibili per 3332 pazienti. I dataset genetici dei Centri identificati sono stati pre-processati e uniti per costruire un database genetico multicentrico, essenziale per il linkage. I dati genetici includevano il genotipo per gli SNP (polimorfismi a singolo nucleotide) presenti in array con contenuto genome-wide (Illumina Global Screening Array, GSA o Human Quad) e/o gli SNP presenti in array focalizzati solo sulle regioni associate alla SM (Immunochip, MS chip). Le fasi di elaborazione sono state: a) armonizzazione dei formati dei dati e fusione dei dataset genetici; b) filtraggio di SNP e individui scarsamente caratterizzati, in base al tasso di genotipizzazione, al tasso di eterozigosi, alla discrepanza di sesso, alla frequenza degli alleli minori, all'equilibrio di Hardy-Weinberg e ai campioni duplicati; c) analisi delle componenti principali per determinare potenziali sottopopolazioni e outliers; d) imputazione generale con il più recente e ricco pannello di riferimento ad oggi disponibile (Haplotype Reference Consortium); e) imputazione specifica per HLA con il più recente e ricco pannello di riferimento HLA disponibile (4digit multi-ethnic HLA v1 reference panel, SN-

P2HLA accoppiato con Beagle v3.3.); f) filtraggio post-imputazione degli SNP, in base alla qualità dell'imputazione e alla frequenza degli alleli minori di SNP imputati; g) analisi del dosaggio dei file output per determinare la soglia hard-call più corretta e per ottenere il genotipo più attendibile. Dopo l'unione dei marcatori imputati bona-fide nei tre diversi strati, è stata costituita una coorte finale di 3.064 pazienti con SM imputati su 6.339.414 marcatori autosomici a partire da circa 700.000 marcatori genotipizzati nelle piattaforme array.

3) Determinazione e preparazione dei campi per il linkage: sono stati organizzati diversi incontri tra i partner dello studio e il gruppo di gestione del Registro (IRCCS Istituto Ricerche Farmacologiche Mario Negri, Co-research, Milano) per esplorare diverse procedure per collegare il database PROGEMUS (inclusi i dati genetici e clinici) con il Registro, con una speciale attenzione alla protezione delle informazioni personali dei pazienti. Considerando che i pazienti PROGEMUS hanno già fornito un consenso informato per collegare i propri dati con registri nazionali e internazionali, è stato deciso un approccio Centro per Centro per il linkage, consistente in un controllo incrociato manuale dei singoli pazienti a livello di Centro per verificare i pazienti PROGEMUS che erano inclusi nel Registro. Poiché gli ID di ciascun paziente sono noti solo ai Centri, questa operazione è stata identificata come il modo più sicuro e semplice per stimare il numero di pazienti incrociabili. Questa operazione è stata eseguita in tredici Centri per un totale di 2.456 pazienti, identificati solamente dal loro ID di Registro.

4) L'elenco dei pazienti incrociati provenienti da singoli Centri è stato unito e i pazienti conteggiati due volte in PROGEMUS sono stati esclusi, per un totale finale di 2.373 pazienti. Di questi, 1.587 erano presenti nel Registro (66,9%), mentre 786 non lo erano. È stato eseguito un controllo incrociato incentrato su genere ed età, rivelando 89 soggetti che erano collegati per ID ma non per genere o

data di nascita. Per 36 soggetti, i dati non erano disponibili in PROGEMUS; tra i restanti 53, 21 erano incoerenti per genere, 30 per data di nascita e 2 per entrambi. Abbiamo richiesto chiarimenti ai Centri in merito ai dati mancanti o non corrispondenti, risolvendo con successo 62 incongruenze o lacune nei dati. Pertanto, il file finale includeva 1.564 pazienti.

5) Estrazione e confronto dei dati: abbiamo effettuato un confronto preliminare dei dati disponibili sia in PROGEMUS che nel Registro italiano, escludendo i dati mancanti. La percentuale di accordo per le singole variabili varia dal 72 al 91%.

RISULTATI ATTESI

stiamo attualmente ampliando il confronto di altre variabili dei database PROGEMUS e Registro per accertare la loro concordanza. Quindi, come proof-of-concept, esploreremo l'influenza della genetica su due aspetti clinici: fenotipo delle ricadute e progressione. Studieremo l'associazione delle caratteristiche fenotipiche della ricaduta (sintomi, numero di sistemi funzionali coinvolti, probabilità di recupero, tasso di ricaduta) e misure di progressione (tempo per raggiungere EDSS 3 e 4 e tempo per il primo PIRA) con quattro set di marcatori genetici: i) un punteggio di rischio genetico ponderato basato sui loci associati alla suscettibilità per SM emersi dallo studio genome-wide più recente e più ampio; ii) un punteggio di rischio genetico ponderato basato sui loci della SM associati alla gravità; gli alleli HLA più fortemente associati (DRB1*15, A*02); iv) SNP con associazioni già segnalate con la severità della SM. Ci aspettiamo che il collegamento tra i due database possa produrre uno strumento di ricerca unico per la comunità scientifica, aprendo numerose opportunità di ricerca per aumentare la nostra conoscenza dell'influenza genetica sul decorso di malattia, sui fenotipi, sui pattern di progressione e sulla risposta alle terapie che modificano la malattia.

Integrating genetic and phenotypic data from the PROGEMUS data-base and the Italian Multiple Sclerosis and Related Disorders Register

INTRODUCTION AND AIMS

Large international Multiple Sclerosis (MS) studies have identified over 200 susceptibility loci outside the HLA region, through a genome-wide association study approach. Conversely, the same studies have poorly contributed to understand how genetics may influence clinical heterogeneity and disease progression. To fill this gap, our project capitalizes on a unique opportunity to link genetic data from a large sample of genotyped patients (PROGEMUS

Consortium - PROgnostic GENetic study in Multiple Sclerosis) and the Italian MS and Related Disorders Register (Register), a well-established resource for phenotypic data in a large cohort of patients, followed for a long period of time. Our general hypothesis is that genetic variants may be associated to specific clinical phenotypes, disease courses, and responses to drugs, thus allowing predictions for each individual patient. The aim of this proof-of-concept project is to implement, test and evaluate the feasi-

bility of a procedure to link the two above databases with the final goal to build an infrastructure of data sharing to explore possible associations of genetic variants with factors involved in clinical heterogeneity.

RESULTS

The project has been developed through five steps:

1) Identification of Centers: the list of the 25 MS Centers included in PROGEMUS has been cross-checked with the list of Centres participating to the Register. Twenty Centers were overlapping, whereas 5 were in the PROGEMUS network, but not in the Register.

2) Pre-processing of the PROGEMUS data-base: The PROGEMUS data-base consists of two different clinical datasets, covering different periods of time. Formats of the two clinical databases were harmonized and variants in the different dataset fields were uniformed. Two code-books were developed and the two datasets were merged through key columns using the Python programming language with PANDAS library.

DNA biosamples were available for 3332 patients. The genetic datasets from the identified Centers were pre-processed and merged to construct a genetic multi-centric database, essential for the linkage. The genetic data included either genotype for SNPs (Single Nucleotide Polymorphisms) present in arrays with genome-wide content (Illumina Global Screening Array, GSA or Human Quad) and/or SNPs present in array focused only on MS associated regions (Immunochip, MS chip). The processing steps were as follows: a) Harmonization of data formats and merging of the genetic datasets; b) Filtering out badly characterized SNPs and individuals, based on genotyping rate, heterozygosity rate, sex discrepancy, minor allele frequency, Hardy-Weinberg equilibrium and duplicated samples; c) Principal Component Analysis to determine potential sub-populations and outliers; d) General Imputation with the latest and richest reference panel available to date (Haplotype Reference Consortium reference panel); e) HLA-specific Imputation with the latest and richest reference HLA panel available to date (4digit multi-ethnic HLA v1 reference panel, SNP2HLA coupled with Beagle v3.3.); f) Post-imputation filtering of SNPs, based on imputation quality and minor allele frequency of imputed SNPs; g) Analysis of the dosage output files to determine the proper hard-call threshold and to get the best-guess genotype

Upon merging of bona-fide imputed markers across the three different strata, a final cohort of 3.064 MS patients imputed on 6,339,414 autosomal markers was constituted starting from about 700.000 markers genotyped in the array platforms.

3) Determination and preparation of the linking fields: Several meeting among the partners of the study and the managing group of the Register (IRCCS Istituto Ricerche Farmacologiche Mario Negri-Coresearch, Milano) were arranged to explore the different procedures to link the PROGEMUS database (including genetic and clinical data) with the Register, focusing on the protection of personal

patient information. Considering that PROGEMUS patients already have given an appropriate informed consent to link their data with national and international registries, a center-by-center approach was decided for linkage, consisting in a manual cross-check of single patients at Centre level to verify those PROGEMUS patients that were included in the Register. Since the identifiers of each patient are known only by Centres, this operation was identified as the more safe and easiest way to estimate the number of crossable patients. This operation was done at thirteen Centres for a total of 2,456 patients, identified only by their Register ID.

4) The list of crossed patients from single Centers was merged, and patients that were double counted in PROGEMUS were excluded, for a final total of 2,373 patients. Out of these, 1,587 were present in the Register (66.9%), while 786 were not. A cross-check focused on gender and age was performed, revealing 89 subjects who were linked by ID but not by gender or date of birth. For 36 subjects, the data were not available in PROGEMUS; among the remaining 53, 21 were inconsistent in terms of gender, 30 for date of birth, and 2 for both. We requested clarification from the Centers regarding the missing or non-corresponding data, successfully resolving 62 inconsistencies or data gaps. Therefore, the final file included 1,564 patients.

5) Extraction and comparison of data: We have done a preliminary comparison of data available in both PROGEMUS and the Italian Register, excluding missing data. The percentage of agreement for single variables ranges from 72 to 91%.

EXPECTED RESULTS

We are currently expanding the comparison of the PROGEMUS and Register databases on other variables to ascertain the agreement between the two databases. Then, as a proof-of-concept, we will explore the genetic influence on two clinical aspects: relapse phenotype, and progression. We will study the association of phenotypical characteristics of relapse (clinical presentation, number of functional systems involved, probability to recovery, relapse rate), and measures of progression (time to reach EDSS 3 and 4 and time to first PIRA) with four sets of genetic markers: i) a weighted Genetic Risk Score based on the MS loci associated with MS susceptibility emerged from the most recent and largest association study; ii) a weighted Genetic Risk Score based on the MS loci associated with severity; the most strongly associated HLA alleles (DRB1*15, A*02); iv) SNPs with already reported associations with MS severity.

We expect that the linkage between the two data-bases will yield a unique research tool that could be offered to the scientific community, opening several research opportunities to increase our knowledge of the genetic influence on different disease course, phenotypes, patterns of progression, and response to diseases-modifying therapies.

Pazienti con sclerosi multipla secondaria progressiva attiva e non attiva presentano una progressione della disabilità simile: risultati di uno studio del Registro Italiano SM (ASPERA)



Francesco Patti

Dipartimento di Scienze Mediche e Chirurgiche e Tecnologie Avanzate "GF Ingrassia", Università degli Studi di Catania; Centro Sclerosi Multipla, Università degli Studi di Catania, Catania, Italia

COLLABORATORI/COLLABORATORS

Clara G. Chisari

COLLABORAZIONI CON ALTRI GRUPPI/COLLABORATIONS WITH OTHER GROUPS

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

Alessia Di Sapia, Dipartimento di Neurologia, Centro di Riferimento Regionale Sclerosi Multipla, Azienda Ospedaliero-Universitaria San Luigi Gonzaga, Orbassano, Torino, Italia

Matteo Foschi, Dipartimento di Neuroscienze, Centro Sclerosi Multipla, UO Neurologia, Ospedale S. Maria delle Croci, Ravenna; Dipartimento di Scienze Cliniche Biotechologiche e Applicate, Università degli Studi dell'Aquila, L'Aquila, Italia

Pietro Iaffaldano, Dipartimento di Biomedicina Traslazionale e Neuroscienze (DiBrain), Università degli Studi di Bari Aldo Moro, Bari, Italia

Matilde Inglese, Dipartimento Di Neuroscienze, Riabilitazione, Oftalmologia, Genetica e Scienze Materno-Infantili (DINOEMI), Università degli Studi di Genova; IRCCS Ospedale Policlinico San Martino, Genova, Italia

Salvatore Lo Fermo, Unità Sclerosi Multipla, Università di Catania, Catania, Italia

Alessandra Lugaresi, IRCCS Istituto delle Scienze Neurologiche di Bologna; Dipartimento di Scienze Biomediche e Neuromotorie, Università di Bologna, Bologna, Italia

Giacomo Lus, Centro Sclerosi Multipla, Seconda Divisione di Neurologia, Dipartimento di Scienze Mediche e Chirurgiche Avanzate, Università della Campania Luigi Vanvitelli, Napoli, Italia

Nerina Mascoli, Unità di Neurologia, Dipartimento di Medicina, Ospedale S. Anna, Como, Italia

Sara Montepietra, Centro SM, Ospedale SMN, AUSL Reggio Emilia, Reggio Emilia, Italia

Ilaria Pesci, Centro Sclerosi Multipla, Unità Operativa Neurologia, Azienda Unità Sanitaria Locale, Ospedale Di Vaio, Fidenza, Parma, Italia

Rocco Quatrala, Dipartimento Di Scienze Neurologiche, UOC di Neurologia, Ospedale dell'Angelo AULSS 3 Serenissima, Venezia Mestre, Italia

Giuseppe Salemi, Dipartimento di Biomedicina, Neuroscienze e Diagnostica Avanzata, Università degli Studi di Palermo, Palermo, Italia

Valentina Torri Clerici, Fondazione IRCCS Istituto Neurologico Carlo Besta, Milano, Italia

Rocco Totaro, Centro Malattie Demyelinizzanti-Clinica Neurologica, Ospedale San Salvatore, L'Aquila, Coppito, Italia

Paola Valentino, Istituto di Neurologia, Università degli Studi Magna Graecia, Catanzaro, Italia

Massimo Filippi, Unità di Ricerca di Neuroimaging, Divisione di Neuroscienze, Unità Operativa di Neurologia, Unità di Neuroriabilitazione, Servizio di Neurofisiologia, IRCCS Istituto Scientifico San Raffaele, Università Vita-Salute San Raffaele, Milano, Italia

PREMESSE E OBIETTIVI

La sclerosi multipla secondariamente progressiva (SPMS) rappresenta una fase della malattia caratterizzata da progressione clinica, spesso indipendente dalle ricadute. Tradizionalmente, la SPMS viene suddivisa in “attiva” e “non attiva” in base alla presenza di ricadute o attività radiologica (lesioni T2 nuove o CELs). Tuttavia, non vi è consenso unanime sulla reale frequenza di queste forme nel contesto reale, né sul loro impatto sulla progressione della disabilità. Valutare, in un ampio campione multicentrico italiano, la frequenza delle forme attive e non attive di SPMS e analizzare le differenze in termini di caratteristiche cliniche, MRI e progressione della disabilità.

Questo è uno studio retrospettivo su pazienti del Registro Italiano SM che sono passati a SPMS tra il 2014 e il 2019. Sono stati classificati in SPMS “attiva” o “non attiva” in base a ricadute cliniche e/o attività RM nell’anno precedente la conversione.

Sono state effettuate analisi della progressione della disabilità (PIRA – Progressione indipendente da ricadute e RAW – peggioramento associato a ricadute) e sono stati misurati come endpoint il raggiungimento di EDSS 6.0 e 7.0, e l’attività clinica e RM a 12 e 24 mesi.

RISULTATI

Su 8.316 pazienti con SPMS, ne sono stati classificati 872 (237 attivi e 635 non attivi). I pazienti “non attivi” erano più anziani e con durata di malattia maggiore. La percentuale di PIRA a 24 mesi era simile tra i gruppi: 27.4% (attivi) vs 29.6% (non attivi). Il RAW era più frequente nei pazienti “attivi” (15.2%) rispetto ai “non attivi” (1.4%). Nessuna differenza significativa nei tempi di raggiungimento dei punteggi EDSS a 6.0 e 7.0 tra i due gruppi. Alcuni pazienti non attivi hanno mostrato una bassa attività clinica e RM a 24 mesi, suggerendo che l’attività possa non essere costante nel tempo.

CONCLUSIONI

I pazienti con SPMS attiva e non attiva mostrano una progressione della disabilità simile. Ciò suggerisce che la progressione dipende principalmente da processi neurodegenerativi (PIRA), piuttosto che dall’attività infiammatoria. Questo mette in discussione la dicotomia “attivo/non attivo” e rafforza l’ipotesi che la SM evolva lungo un continuum patologico. L’introduzione futura di nuove terapie per la SPMS potrebbe modificare questo paradigma.

Active and non-active Secondary Progressive Multiple Sclerosis patients exhibit similar disability progression: results of an Italian MS Registry study (ASPERA)

INTRODUCTION AND AIMS

Secondary progressive multiple sclerosis (SPMS) is characterized by a gradual accumulation of disability, often independent of relapses. The distinction between “active” and “non-active” SPMS is traditionally based on the presence of relapses and/or MRI activity. However, there is no clear consensus on how frequently these phenotypes occur or how they influence progression.

The main objective was to determine the prevalence of active and non-active SPMS in a large Italian real-world cohort and assess differences in clinical, MRI, and disability progression outcomes.

A retrospective multicenter cohort study using data from the Italian MS Registry (2014–2019). SPMS patients were categorized as “active” (with relapses and/or MRI activity) or “non-active” (without either). The outcomes included clinical relapse, MRI activity, disability progression at 12 and 24 months, and time to EDSS 6.0 and 7.0. PIRA and RAW events were analysed.

RESULTS

Out of 8,316 SPMS patients, 872 were classifiable: 237 actives (27.2%), 635 non-actives (72.8%).

Non-actives patients were older and had longer disease duration. PIRA at 24 months: similar between groups (27.4% active vs 29.6% non-active). RAW occurred more often in the active group (15.2%) than the non-active group (1.4%). No significant differences in time to reach EDSS 6.0 or 7.0 were observed. Some non-active patients exhibited activity at 12 or 24 months, indicating fluctuating disease activity.

CONCLUSIONS

Active and non-active SPMS patients experience similar disability progression, implying that PIRA, likely linked to neurodegeneration, plays a predominant role. The findings challenge the rigid classification of SPMS phenotypes and support a spectrum model of MS progression. New therapies may shift this balance and improve long-term outcomes.



PUBBLICAZIONI E COMUNICAZIONI A CONGRESSI

PUBLICATIONS AND CONGRESS PRESENTATIONS

- Chisari CG, Amato MP, Di Sapio A, Foschi M, Iaffaldano P, Inglese M, Fermo SL, Lugaesi A, Lus G, Mascoli N, Montepietra S, Pesci I, Quatralè R, Salemi G, Torri Clerici V, Totaro R, Valentino P, Filippi M, Patti F. Active and non-active secondary

progressive multiple sclerosis patients exhibit similar disability progression: results of an Italian MS registry study (ASPERA). J Neurol. 2024 Oct;271(10):6801-6810

Verso una definizione unificata di progressione indipendente dall'attività di ricaduta nella sclerosi multipla



Emilio Portaccio

Dipartimento NEUROFRABA, Università degli Studi di Firenze, Firenze Italia

COLLABORAZIONI CON ALTRI GRUPPI / COLLABORATIONS WITH OTHER GROUPS

Michele Betti, Ermelinda De Meo, Dipartimento NEUROFRABA, Università degli Studi di Firenze, Firenze Italia

Luisa Pastò, Elio Prestipino, SOD Neurologia, Azienda Ospedaliera Universitaria Careggi, Firenze Italia

Alessandra Lugaresi, UOSI Riabilitazione Sclerosi Multipla, IRCCS Istituto delle Scienze Neurologiche di Bologna; Dipartimento di Scienze Biomediche e Neuromotorie, Università di Bologna, Bologna, Italia

Eleonora Cocco, University of Cagliari, Dpt Medical Science and Public health, Centro Sclerosi Multipla, Cagliari, Italy;

Giovanna De Luca, Clinica neurologica, Centro SM, Ospedale SS. Annunziata, Chieti, Italia

Francesco Patti, Dipartimento di Scienze mediche, chirurgiche e tecnologie avanzate "G.F. Ingrassia", Università di Catania, Catania, Italia

Valentina Torri Clerici, Unità, di Neuroimmunologia. Fondazione IRCCS Istituto Neurologico C. Besta, Milano, Italia

Diana Ferraro, Dipartimento di Scienze Biomediche, Metaboliche e Neuroscienze, Ospedale Civile di Baggiovara, Azienda Ospedaliero-Universitaria, Modena, Italia

Vincenzo Brescia Morra, Centro SM, Dipartimento di Neuroscienze (NSRO), Università degli Studi di Napoli Federico II, Napoli, Italia

Giuseppe Salemi, Dipartimento di Biomedicina, Neuroscienze e Diagnostica Avanzata, Università degli Studi di Palermo, Palermo, Italia

Marika Vianello, O.U. Neurologia, Ospedale "Ca' Foncello", Unità SM, Treviso, Italia,

Raffaella Cerqua, Clinica Neurologica - AOU delle Marche, Ancona, Italia

Matilde Inglese, Dipartimento di Neuroscienze, Riabilitazione, Oftalmologia, Genetica e Salute Materno-Infantile (DINOEMI), Università degli Studi di Genova, IRCCS Ospedale Policlinico San Martino, Genova, Italia

Maria Barbara Pasanisi, Centro SM, Fondazione Don Carlo Gnocchi IRCCS, Milano, Italia

Paola Perini, Centro Specializzato Regionale per la Sclerosi Multipla (CeSMuV), Regione Veneto, Dipartimento di Neuroscienze DNS, Azienda Ospedaliera, Università degli Studi di Padova, Padova, Italia

Silvia Romano, Centro Neurologico Terapie Sperimentali, Sapienza Università di Roma, AO S. Andrea, Roma Italia

Carlo Pozzilli, Centro SM, Policlinico S. Andrea, Sapienza Università di Roma, Roma, Italia

Carla Tortorella, Centro Sclerosi Multipla, AO S. Camillo Forlanini, Roma, Italia

Alessia Di Sapia, Centro di Riferimento Regionale SM (CRESM), SCDO Neurologia, AOU San Luigi Gonzaga, Orbassano (TO), Italia

Pietro Annovazzi, Neurologia ad Indirizzo Neuroimmunologico - Centro Sclerosi Multipla - ASST della Valle Olona, Ospedale di Gallarate, Gallarate (VA), Italia

Marta Simone, Unità di Neuropsichiatria Infantile, Dipartimento di Medicina di Precisione e Rigenerativa e Area Jonica (Dimepre-J), Università degli Studi di Bari "Aldo Moro," Bari, Italia



Maria Trojano, *Pietro Iaffaldano, Centro SM, Dipartimento di Biomedicina Traslazionale e Neuroscienze, Università di Bari, Bari, Italia*

Massimo Filippi, Maria Assunta Rocca, *Centro Sclerosi Multipla, Unità di Neurologia, IRCCS Ospedale San Raffaele, Milano, Italia*

Maria Pia Amato, *Dipartimento NEUROFRABA, Università degli Studi di Firenze; IRCCS Fondazione Don Carlo Gnocchi, Firenze Italia*
on behalf of the Italian Multiple Sclerosis and Related Disorders Register

PREMESSE E OBIETTIVI

Negli ultimi anni, la ricerca sulla sclerosi multipla (SM) si è concentrata sempre più sull'accumulo inesorabile della disabilità che avviene indipendentemente dalle manifestazioni cliniche acute o subacute dell'attività infiammatoria focale, noto come progressione indipendente dall'attività di ricaduta (PIRA). In passato si riteneva che la PIRA fosse confinata agli stadi avanzati e progressivi della SM, ma essa viene osservata con costanza anche nelle fasi iniziali della SM recidivante. Tuttavia, le variazioni nelle definizioni di PIRA hanno ostacolato la comparabilità e l'interpretazione dei risultati principali.

Recentemente è stata proposta una definizione armonizzata di PIRA, ma questa definizione basata sul consenso necessita di validazione in contesti reali. Poiché la PIRA rappresenta il principale meccanismo che guida la progressione della disabilità nella SM, una definizione affidabile di PIRA dovrebbe garantire la massima accuratezza predittiva sugli esiti a lungo termine. In questa analisi, abbiamo testato diverse definizioni di PIRA rispetto al rischio di raggiungere una soglia significativa di disabilità, ovvero un punteggio pari a 6.0 nella Expanded Disability Status Scale (EDSS).

Definizioni di PIRA

L'accumulo di disabilità (DA) è stato definito come un aumento della disabilità rispetto al basale, misurato tramite l'EDSS ($\geq 1,5$ punti se EDSS basale = 0; $\geq 1,0$ punto se EDSS basale $\geq 1,0$ e $< 5,5$; $\geq 0,5$ punto se EDSS basale $\geq 5,5$). Otto differenti definizioni di PIRA sono state calcolate combinando le seguenti caratteristiche:

- Baseline fisso (Bfix): la prima visita disponibile nel database, oppure baseline mobile (Brov), secondo le definizioni di Müller et al. In particolare, Brov stabilisce un nuovo punteggio di riferimento ogni volta che l'EDSS è inferiore alla misura precedente ed è confermato alla visita successiva;
- DA confermata a 24 settimane (24w) oppure DA sostenuta (Sust). Nel caso di DA sostenuta, il punteggio EDSS che definisce la DA non migliora al di sotto del requisito per un aumento significativo rispetto al basale;
- Assenza di ricadute nei 90 giorni precedenti e nei 30 giorni successivi (criterio 90d) rispetto al punteggio evento, oppure assenza di ricadute dall'inizio fino alla conferma (criterio ABS).

Analisi Statistica

Per ogni definizione di PIRA, sono stati calcolati sensibilità, specificità, valori predittivi positivo e negativo (con intervallo di confidenza al 95% - IC), e accuratezza rispetto al raggiungimento di EDSS 6.0 alla fine del follow-up. Tutte le analisi statistiche sono state eseguite utilizzando il software SPSS, versione 25.0 (SPSS Inc.). Un valore di p a due code $< 0,05$ è stato considerato statisticamente significativo.

RISULTATI

Applicando i criteri di inclusione ed esclusione, sono stati identificati 30.203 pazienti.

Dopo un follow-up di $11,3 \pm 4,3$ anni, utilizzando la baseline fissa, sono stati rilevati 15.043 (49,8%) DA confermati a 24 settimane e 9.882 (32,7%) DA sostenuti. Con la baseline mobile, i valori corrispondenti sono stati 18.187 (60,2%) DA confermati a 24 settimane e 11.593 (38,4%) DA sostenuti.

Utilizzando il criterio 90d, la proporzione di PIRA variava dal 67,4% al 74,1%. Con il criterio ABS, variava dal 39,1% al 44,4%.

Alla fine del follow-up, un EDSS 6.0 è stato rilevato in 4.401 pazienti (15%) su 29.410 pazienti con EDSS basale $< 5,5$. Nel complesso, la sensibilità era maggiore con il criterio 90d (66,7%-69,4%), mentre il criterio ABS aumentava la specificità (55,3%-62,2%).

CONCLUSIONI

La definizione proposta di PIRA come qualsiasi accumulo di disabilità confermato a 24 settimane, con baseline mobile e assenza di ricadute nei 90 giorni precedenti e 30 giorni successivi al punteggio evento, bilancia sensibilità, fattibilità e valore predittivo, supportandone l'utilizzo nei trial clinici, nella ricerca real-world e nella pratica clinica per identificare i trattamenti contro la progressione della disabilità indipendente dalle ricadute.

Towards a unified definition of progression independent of relapse activity in multiple sclerosis

INTRODUCTION AND AIMS

In recent years, multiple sclerosis (MS) research has increasingly focused on the relentless accumulation of disability occurring independently of acute or subacute clinical manifestations of focal inflammatory activity, known as progression independent of relapse activity (PIRA). Once thought to be confined to the advanced, progressive stages of MS, PIRA is consistently observed in the early phases of relapsing MS. However, variations in PIRA definitions have hindered the comparability and interpretability of key findings. Recently, a harmonized definition of PIRA was proposed, but this consensus-based definition requires validation in real-world settings.

Since PIRA is the primary mechanism driving disability progression in MS, a reliable definition of PIRA should obtain the highest predictive accuracy for long-term outcomes. In this analysis, we tested various PIRA definitions against the risk of reaching a robust disability milestone, the Expanded Disability Status Scale (EDSS) score of 6.0.

PIRA definitions

Disability accrual (DA) was defined as a disability increase from baseline, measured by the EDSS (≥ 1.5 points if baseline EDSS = 0; ≥ 1.0 point if baseline EDSS ≥ 1.0 and < 5.5 ; ≥ 0.5 point if baseline EDSS ≥ 5.5). Eight different definitions of PIRA were calculated by combining the following characteristics:

- Fixed baseline (B_{fix} : the first available visit in the database) or roving baseline (B_{rov}) according to the definitions by Muller et al.⁵ In particular, B_{rov} sets a new reference score every time the EDSS is lower than the previous measure and confirmed at the following visit;
- 24-week confirmed (24w) DA or sustained (Sust) DA. When sustained, the EDSS score defining DA did not improve beyond the requirement for a significant EDSS score increase compared to the baseline;
- no relapses < 90 days before and < 30 days (90d) after the event score or absence of relapses from baseline to confirmation score (ABS)

Statistical Analysis

For each definition of PIRA, sensitivity, specificity, negative and positive predictive values (with 95% confidence interval – CI), and accuracy against the reaching of EDSS 6.0 at the end of follow-up were calculated.

All statistical analyses were performed with SPSS software, version 25.0 (SPSS inc.). A 2-sided P-value < 0.05 was considered statistically significant.

RESULTS

By applying inclusion and exclusion criteria, we identified 30,203 patients.

After a follow-up of 11.3 ± 4.3 years, using a fixed baseline, 15,043 (49.8%) 24w DA and 9882 (32.7%) Sust DA were detected. Using a roving baseline, the corresponding values were 18187 (60.2%) 24w DA and 11593 (38.4%) Sust DA. Using the 90d criterion the proportion of PIRA ranged from 67.4% to 74.1%. Using the ABS criterion, it ranged from 39.1% to 44.4%.

At the end of the follow-up, EDSS 6.0 was detected in 4,401 (15%) out of 29,410 patients with baseline EDSS < 5.5 . Overall, sensitivity was higher using the 90d criterion (66.7%-69.4%), while the ABS criterion increased specificity (55.3%-62.2%).

CONCLUSIONS

The proposed definition of PIRA as any 24-week confirmed disability accrual, with roving baseline and no relapses 90 days before and 30 days after the event score, balances sensitivity, feasibility, and predictive value, supporting its use in clinical trials, real-world research, and routine practice to identify treatments for relapse-independent disability progression.



PUBBLICAZIONI E COMUNICAZIONI A CONGRESSI PUBLICATIONS AND CONGRESS PRESENTATIONS

- Oral presentation at the 40th Congress of the ECTRIMS (2024)
- Poster presentation at the 54th Congress of SIN (2024)
- Manuscript currently under revision

Confronto tra Cladribina e modulatori del recettore S1P nei pazienti naive al trattamento con sclerosi multipla recidivante: studio retrospettivo con il Propensity Score Matching



Shalom Haggiag

Centro Sclerosi Multipla, AO San Camillo Forlanini, Roma, Italia

COLLABORAZIONI CON ALTRI CENTRI / COLLABORATIONS WITH OTHER CENTERS

Carla Tortorella, Serena Ruggieri, Claudio Gasperini, Luca Prosperini, Centro Sclerosi Multipla, AO San Camillo Forlanini, Roma, Italia

Massimo Filippi, Maria Assunta Rocca, Centro Sclerosi Multipla, Unità di Neurologia, IRCCS Ospedale San Raffaele, Milano, Italia

Maria Trojano, Pietro Iaffaldano, Centro SM, DiBrain, Dipartimento di Biomedicina Traslazionale e Neuroscienze, Università di Bari, Bari, Italia

Francesco Patti, Centro Sclerosi Multipla, AOL Policlinico Vittorio Emanuele, Università di Catania, Catania, Italia

Matilde Inglese, Centro per lo Studio e la Cura della Sclerosi Multipla e Malattie Demyelinizzanti, Dipartimento di Neuroscienze, Riabilitazione, Oftalmologia, Genetica e Scienze Materno, Infantili, Clinica Neurologica, Ospedale Policlinico San Martino (DiNOGMI), Genova, Italia

Giovanna Borriello, Centro Sclerosi Multipla - Ospedale Fatebenefratelli San Pietro, Roma

Rocco Totaro, Centro Malattie Demyelinizzanti, Clinica Neurologica Ospedale San Salvatore, L'Aquila, Italia

Giacomo Lus, Centro Clinico per la Sclerosi Multipla, II Clinica Neurologica, II Università degli Studi di Napoli, Napoli, Italia

Roberta Fantozzi, Centro Sclerosi Multipla, IRCCS Neuromed, Pozzilli (IS), Italia

Vincenzo Brescia Morra, Centro Regionale Sclerosi Multipla, Unità Operativa Semplice, AOU Policlinico Federico II, Napoli, Italia

Silvia Romano, CENTERS Centro Neurologico Terapie Sperimentali, Sapienza Università di Roma, AO S. Andrea, Roma, Italia

Eleonora Cocco, Centro Regionale per la diagnosi e la cura della Sclerosi Multipla ASL8, PO Binaghi, Cagliari, Italia

Girolama Alessandra Marfia, UOSD Sclerosi Multipla, Dipartimento Medicina dei Sistemi, Università Tor Vergata, Roma, Italia

Giorgia Teresa Maniscalco, Centro Regionale di Diagnosi e Terapia della Sclerosi Multipla, Napoli, Italia

Maria Pia Amato, Dipartimento NEUROFARBA, Sezione Neuroscienze, Università degli Studi di Firenze, Centro SM SODc Riabilitazione Neurologica, AOU Careggi, Firenze, Italia

Alessia Di Sapia, Centro di Riferimento Regionale SM (CRESM), SCDO Neurologia, AOU San Luigi Gonzaga, Orbassano (TO), Italia

Giovanna De Luca, Centro Sclerosi Multipla, Clinica Neurologica Policlinico SS, Annunziata, Chieti, Italia

Valentina Torri Clerici, Divisione di Neuroimmunologia e Malattie Neuromuscolari, Centro Sclerosi Multipla, Istituto Neurologico Carlo Besta, Milano, Italia

Franco Granella, Centro Sclerosi Multipla, UOC di Neurologia, Dipartimento di Medicina Generale e Specialistica, AOU di Parma, Parma, Italia



Matteo Foschi, Dipartimento di Neuroscienze, Centro Sclerosi Multipla, UO Neurologia, Ospedale S. Maria delle Croci, AUSL Romagna, Ravenna, Italia

Paola Cavalla, Centro SM, Neurologia 1U, AOU Città della Salute e della Scienza di Torino, Torino, Italia

Giuseppe Salemi, Dipartimento di Radiologia, Diagnostica, Interventistica e Stroke, Azienda Ospedaliera Universitaria Policlinico Paolo Giaccone, Palermo, Italia

Antonella Conte, Centro Sclerosi Multipla, AOU del Policlinico Umberto I, Sapienza Università di Roma, Roma, Italia - IRCCS Neuromed, Pozzilli (IS)

Paola Valentino, Centro Sclerosi Multipla, Policlinico Universitario, Campus Germaneto, Catanzaro, Italia

Diana Ferraro, Dipartimento di Neuroscienze, Ospedale Civile di Baggiovara, Azienda Ospedaliero, Universitaria, Baggiovara MO, Italia

Alessandra Lugaresi, IRCCS Istituto delle Scienze Neurologiche di Bologna, UOSI Riabilitazione Sclerosi Multipla, Bologna, Italia - Dipartimento di Scienze Biomediche e Neuromotorie di Bologna

Sabrina Realmuto, Centro Sclerosi Multipla, UOC di Neurologia con Stroke Unit, AOOR Villa Sofia, Cervello, Palermo, Italia

Paolo Gallo, Centro Specializzato Regionale per la Sclerosi Multipla (CeSMuV), Regione Veneto, Dipartimento di Neuroscienze DNS, Azienda Ospedaliera, Università degli Studi di Padova, Padova, Italia

Elisabetta Ferraro, Centro SM, PO San Filippo Neri, ASL Roma 1, Roma, Italia

Sara Montepietra, Centro SM, UOC Neurologia, Arcispedale Santa Maria Nuova, AUSL Reggio Emilia, Italia

Carlo Avolio, Centro Interdipartimentale per le Malattie Demyelinizzanti, SC Neurologia Universitaria, AOU Policlinico Foggia, Italia

Marika Vianello, Centro Sclerosi Multipla, UOC Neurologia, Ospedale Ca' Foncello, ULSS2 Marca Trevigiana, Treviso, Italia

Paola Gazzola, SC Neurologia, Centro Sclerosi Multipla, Ospedale Padre Antero Micone, ASL3 Genovese, Genova, Italia

Fabiana Marinelli, Centro SM, Ospedale Spaziani, Frosinone, Italia

Livia Pasquali, Centro Malattie Demyelinizzanti UO Neurologia, Dipartimento di Medicina Clinica e Sperimentale, Università di Pisa, D.A.I. Neuroscienze AOUP, Pisa, Italia

Sebastiano Bucello, Ospedale E. Muscatello, Siracusa, Italia

Domizia Vecchio, Centro Sclerosi Multipla, Clinica Neurologica, Dipartimento di Medicina Traslazionale, Università del Piemonte Orientale, Novara, Italia

Alessandra Protti, ASST Grande Ospedale Metropolitano Niguarda, Centro SM, Milano, Italia

Raffaella Clerici, Centro ad Alta Specializzazione per la diagnosi e la cura della Sclerosi Multipla, Ospedale Valduce, Como, Italia

Marco Rovaris, Centro SM, IRCCS Fondazione Don Carlo Gnocchi, Milano, Italia

Milena De Riz, Centro Sclerosi Multipla, Fondazione IRCCS Ca' Granda, Ospedale Maggiore Policlinico di Milano, Milano, Italia

Luigi M. E. Grimaldi, Centro SM, Fondazione Istituto G. Giglio, Cefalù, Italia
UniCamillus – Saint Camillus International University of Health Sciences, Roma, Italia

Paolo Barone, Divisione Neurologi, Ospedale San Giovanni di Dio e Ruggi d'Aragona, Salerno, Italia

Valentina Scarano, Centro Sclerosi Multipla, UOC Neurologia, AORN San Giuseppe Moscati, Avellino, Italia

Ardito Bonaventura, Centro Sclerosi Multipla UOC di Neurologia, Ospedale Della Murgia Fabio Perinei, Bari, Italia

Leonardo Sinisi, Centro SM, UOC di Neurologia, Ospedale San Paolo, ASL Napoli 1 Centro, Napoli, Italia

Paolo Immovilli, UOC Neurologia, Azienda Unità Sanitaria Locale di Piacenza, Ospedale Guglielmo da Saliceto, Piacenza, Italia

Ilaria Pesci, Centro SM, UOC Neurologia, Ospedale di Vaio Fidenza, AUSL PR, Fidenza (PR), Italia

Elena Colombo, Centro Sclerosi Multipla, IRCCS Fondazione Mondino, Pavia, Italia

Marco Capobianco, Centro Sclerosi Multipla, SC Neurologia, Azienda Ospedaliera Santa Croce e Carle, Cuneo, Italia

Cristina Fioretti, Ambulatorio Sclerosi Multipla, Unità Operativa di Neurologia e Neurofisiopatologia, Spedali Riuniti, Brescia, Italia

Maria Gabriella Coniglio, Centro Sclerosi Multipla, PO Madonna delle Grazie, Matera, Italia

Antonello Giordano, SC Provinciale di Neurologia, ASP Ragusa, PO Guzzardi, Ragusa, Italia



Tiziana Tassinari, Centro SM Pietra Ligure SC Neurologia, Ospedale Santa Corona, Pietra Ligure, Italia
Daniela Cargnelutti, SOC Neurologia, Day Hospital, ASU FC, PO Santa Maria Della Misericordia, Udine, Italia
Francesca Matta, Centro Sclerosi Multipla, UOC Neurologia, Ospedale Garibaldi Centro, Catania, Italia
Mario Falcini, Centro per la Sclerosi Multipla, Unità Operativa di Neurologia, Ospedale di Prato, Prato PO, Italia
Maurizia Gatto, Centro Malattie Demyelinizzanti, Ospedale Generale Regionale F. Miulli, Acquaviva delle Fonti (BA), Italia
Nerina Mascoli, Centro SM UO Neurologia ASST Lariana Ospedale S. Anna
Roberto Balgera, Centro Sclerosi Multipla, Divisione di Neurologia, Azienda Ospedaliera A. Manzoni, Lecco, Italia
Edoardo Sessa, IRCCS, Centro Neurolesi Bonino Pulejo, Messina, Italia
Rosa Iodice, UOC Neurologia, UOS Neurofisiologia, Dipartimento di Neuroscienze, Scienze Riproduttive ed Odontostomatologiche, Università di Napoli Federico II, Napoli, Italia
Paola Banfi, Centro SM, Ambulatorio Malattie Demyelinizzanti, Ospedale di Circolo e Fondazione Macchi, Varese, Italia
Claudio Solaro, Ambulatorio Sclerosi Multipla, EO Ospedali Galliera, Genova, Italia
Katrin Plewnia, Centro SM PO di Grosseto, Azienda USL Toscana Sud Est, Ospedale Misericordia, Grosseto, Italia
Mario Santangelo, UOC di Neurologia, Ospedale Ramazzini, Carpi, Italia
Valeria Barcella, Centro Provinciale Sclerosi Multipla, ASST Papa Giovanni XXIII, Bergamo, Italia
Maria Teresa Ferrò, Neuroimmunologia, Centro Provinciale per la Diagnosi e Terapia della Sclerosi Multipla, ASST Crema, Crema, Italia
Francesco Sica, Servizio di Neurologia, Ospedale Santa Maria Goretti, Latina, Italia
Raffaella Cerqua, Clinica Neurologica, AOU delle Marche, Ancona, Italia
Giuseppe Santuccio, Centro Sclerosi Multipla, Ospedale San Carlo, ASST Santi Paolo e Carlo, Milano, Italia
Francesco Coreia, Neurologia Centro SM, Ospedale San Giovanni Battista, Roma, Italia
Alessandro Leone, Reparto di Neurologia, Azienda Socio Sanitaria Territoriale (ASST) della Valtellina e Alto Lario, Sedi di Sondrio e Sondalo, Sondrio, Italia
Davide Nasuelli, ASST della Valle Olona, PO di Saronno, Ambulatorio Sclerosi Multipla, Saronno (MI), Italia
Augusto Rini, Centro Sclerosi Multipla, UOC Neurologi, Ospedale A. Perrino, Brindisi, Italia
Giampaolo Brichetto, Servizio di Riabilitazione AISM Liguria, Genova, Italia
Salvatore Cottone, Centro Sclerosi Multipla, Ospedale ARNAS Civico Di Cristina Benfratelli, Palermo, Italia
Monica Olivelli, UOC Neurologia e Neurofisiologia Clinica, Università degli Studi di Siena, Siena, Italia
Matteo Pizzorno, Centro Sclerosi Multipla, Divisione di Neurologia, Ospedale San Paolo, Savona, Italia
Eva Milano, Centro Sclerosi Multipla, Divisione di Neurologia, Ospedale Maria Vittoria, Torino
Patrizia Rossi, Ambulatorio Sclerosi Multipla e Malattie Demyelinizzanti del SNC, UOC di Neurologia, Ospedale San Bassiano AULSS7, Bassano del Grappa (VI), Italia
Luigi Zuliani, Centro Sclerosi Multipla, UOC Neurologia, Ospedale San Bortolo, Vicenza, Italia

PREMESSE E OBIETTIVI

I modulatori del recettore della sfingosina-1-fosfato (S1PRMs) e le compresse di cladribina sono opzioni terapeutiche orali efficaci per il trattamento della sclerosi multipla recidivante-remittente (RRMS). In numerosi sistemi sanitari, inclusa l'Italia, questi farmaci sono generalmente rimborsati come terapie di seconda linea o per pazienti *naïve* con evidenza di elevata attività di malattia. Tuttavia, crescenti evidenze suggeriscono che il loro impiego in prima linea possa portare a benefici superiori, in particolare in termini di controllo a lungo termine della malattia

e degli esiti legati alla disabilità. L'assenza di studi clinici diretti che confrontino S1PRMs e cladribina evidenzia la necessità di dati *real-world* per valutare l'efficacia relativa di queste terapie. Studi precedenti indicano che entrambe le opzioni terapeutiche assicurano un controllo comparabile delle recidive, con potenziali vantaggi in termini di persistenza terapeutica e riduzione della progressione della disabilità. Tuttavia, la maggior parte delle analisi ha incluso pazienti con pregressa esposizione a trattamenti *disease-modifying* (DMT), limitando così la estendibilità dei risultati ai pazienti *naïve* al trattamento.

Questo studio si propone di colmare tale lacuna, confrontando l'efficacia di cladribina e S1PRMs in una coorte di pazienti con RRMS naive al trattamento, attraverso l'analisi di dati real-world.

Questo studio retrospettivo ha incluso pazienti con RRMS naive al trattamento, di età compresa tra 18 e 65 anni, trattati con cladribina o S1PRMs (fingolimod, ozanimod, ponesimod) tra gennaio 2011 e ottobre 2021 in 108 centri per la SM in Italia. Sono stati esclusi i pazienti diagnosticati prima dell'introduzione dei criteri di McDonald del 2001 o con SM secondariamente progressiva.

Gli outcome valutati includevano lo stato NEDA-3 (assenza di recidive cliniche, progressione della disabilità e attività radiologica). Le recidive sono state definite come l'insorgenza di nuovi sintomi neurologici della durata di almeno 24 ore. Il peggioramento della disabilità è stato misurato tramite Expanded Disability Status Scale (EDSS), mentre l'attività radiologica è stata valutata sulla base della presenza di lesioni T1 captanti gadolinio o nuove lesioni T2 iperintense.

L'analisi statistica è stata condotta mediante propensity score matching basato sulle caratteristiche basali e pairwise censoring per correggere le differenze nella durata del follow-up tra i gruppi. Il confronto tra i trattamenti è stato effettuato utilizzando modelli di regressione di Cox, controllando per la frequenza delle visite e degli esami di RM e stratificando per i casi appaiati.

RISULTATI

Sono stati analizzati i dati di 485 pazienti trattati con cladribina e 1.102 pazienti trattati con S1PRMs. Le caratteristiche basali dei pazienti inclusi, prima e dopo il processo di matching. Dopo il propensity score matching, l'analisi ha incluso 475 pazienti per ciascun gruppo.

Il follow-up mediano è stato di 25 mesi (intervallo: 12–60 mesi) in entrambi i gruppi. Le recidive precoci (entro 3 mesi) sono state osservate nel 5,7% dei pazienti trattati con cladribina e nel 6,5% di quelli trattati con S1PRMs ($p = 0,68$). Il peggioramento precoce della disabilità è stato rilevato nell'1,9% e nel 2,5% dei pazienti, rispettivamente ($p = 0,66$). I tassi di NEDA-3 e delle sue sotto-componenti ricadute cliniche, attività radiologica e progressione della disabilità nei pazienti trattati con cladribina e S1PRMs durante il follow-up.

Nell'analisi primaria, non sono emerse differenze statisticamente significative nel rischio di recidiva tra i gruppi di trattamento (hazard ratio [HR] = 0,86; intervallo di confidenza [IC] al 95%: 0,61–1,22; $p = 0,399$). I pazienti trattati con cladribina hanno tuttavia mostrato un rischio significativamente inferiore di peggioramento della disabilità, misurato tramite EDSS, rispetto a quelli trattati con modulatori del recettore della sfigosina-1-fosfato (S1PRMs) (HR = 0,64; IC 95%: 0,42–0,96; $p = 0,031$). Non sono state osservate differenze significative nel rischio di attività di malattia alla risonanza magnetica (HR = 1,16; IC 95%: 0,86–1,56; $p = 0,328$), né nella perdita dello stato di assenza di evidenza di attività di malattia (NEDA-3) (HR = 1,14; IC 95%: 0,87–1,49; $p = 0,342$).

Le analisi di sottogruppo hanno confermato l'associazione tra il trattamento con cladribina e un rischio inferiore di peggioramento della disabilità nei pazienti di età inferiore ai 40 anni (HR = 0,52, 95% CI: 0,28–0,93, $p = 0,029$), nei pazienti diagnosticati secondo i criteri McDonald 2017 (HR = 0,48, 95% CI: 0,25–0,93, $p = 0,028$) e in quelli con punteggio EDSS $\leq 3,0$ (HR = 0,62, 95% CI: 0,39–0,98, $p = 0,041$). Nei pazienti con un follow-up superiore ai 36 mesi, il trattamento con cladribina è risultato associato a un aumento del rischio di recidiva (HR = 1,81, 95% CI: 1,02–3,20, $p = 0,042$) e di attività complessiva della malattia (HR = 2,08, 95% CI: 1,18–3,67, $p = 0,011$).

Abbiamo inoltre valutato se variabili di base, oltre all'assegnazione del trattamento, fossero associate al rischio di attività della malattia. A tal fine, sono state condotte analisi di regressione di Cox per tutti gli esiti esplorati, separando i due gruppi di trattamento. Tutti i modelli sono stati aggiustati per la frequenza delle visite e/o delle scansioni di RM. Nessuna variabile di base è risultata significativamente associata al rischio di raggiungere gli esiti sopra menzionati in entrambi i gruppi.

L'interruzione del trattamento si è verificata nel 18,1% dei pazienti trattati con cladribina e nel 20,5% di quelli trattati con S1PRMs (HR = 0,92, $p = 0,58$). L'attività clinica/radiologica o gli eventi avversi sono risultati più frequenti nel gruppo S1PRM ($p < 0,05$). La maggior parte dei pazienti ha effettuato un'escalation terapeutica verso trattamenti a base di anticorpi monoclonali (63,6%), mentre per 37 pazienti trattati con S1PRMs non erano disponibili dati relativi a un eventuale switch terapeutico.

CONCLUSIONI

Questo studio fornisce evidenze real-world sul confronto tra cladribina e S1PRMs nella gestione dei pazienti RRMS naive al trattamento. Entrambe le strategie terapeutiche si sono confermate efficaci nel controllo dello stato NEDA-3, sebbene presentino vantaggi distinti. La cladribina è stata associata a una riduzione significativa della progressione della disabilità, in particolare nei pazienti più giovani e con disabilità di base inferiore, suggerendo il suo potenziale come opzione terapeutica precoce. Mentre, non sono state osservate differenze significative nei tassi di recidiva o nell'attività radiologica tra cladribina e S1PRMs, indicando un'efficacia comparabile nella prevenzione dell'attività di malattia.

Nei pazienti con follow-up superiore ai 36 mesi, è stato osservato un aumento significativo del rischio di recidive cliniche con cladribina rispetto agli S1PRMs, insieme a una tendenza verso un'attività radiologica più elevata. Questo suggerisce una potenziale riduzione dell'efficacia della cladribina nel tempo, probabilmente dovuta al suo regime di dosaggio intermittente, mentre la somministrazione continua degli S1PRMs potrebbe contribuire a un controllo più sostenuto della malattia.

I punti di forza di questo studio includono un ampio campione, il matching per punteggio di propensione e le analisi di sensibilità. Tuttavia, le limitazioni comprendono il design osservazionale, potenziali bias dovuti alla non rando-

mizzazione dei trattamenti e l'esclusione di pazienti con un follow-up inferiore ai 12 mesi, che potrebbe introdurre un bias di selezione. Inoltre, lo studio non ha preso in considerazione le differenze nell'aderenza al trattamento o nella tollerabilità tra i gruppi. I risultati suggeriscono che sia la cladribina che gli S1PRMs possano essere trattamenti efficaci per i pazienti naïve al trattamento, con la cladribina che potrebbe offrire un maggior beneficio nella prevenzione della progressione della disabilità. Inoltre, i

nostri risultati suggeriscono di considerare una reintroduzione precoce della cladribina o un cambio a un altro DMT, possibilmente prima dei quattro anni, anche in pazienti senza evidenza di attività della malattia. Studi futuri dovrebbero puntare a rivalutare questa coorte con periodi di follow-up più lunghi e condurre ulteriori studi prospettici per confermare questi risultati. Sarà inoltre fondamentale esplorare l'impatto a lungo termine di questi trattamenti sulla qualità della vita e sulle funzioni cognitive.

Real-World comparison of Cladribine and S1P receptor modulators in treatment, naïve relapsing MS: a Propensity Score, matched study

INTRODUCTION AND AIMS

Sphingosine-1-phosphate receptor modulators (S1PRMs) and cladribine tablets have emerged as effective oral disease-modifying therapies (DMTs) for relapsing-remitting multiple sclerosis (RRMS). In many healthcare systems, including Italy, these agents are typically reimbursed as second-line treatments or for treatment-naïve patients with highly active disease. However, accumulating evidence suggests that their use as first-line therapies may offer superior benefits in terms of long-term disease control and disability outcomes.

The absence of direct head-to-head trials between S1PRMs and cladribine underscores the need for real-world evidence to evaluate their relative efficacy. Previous studies indicate that both therapies offer comparable relapse control, with potential advantages in treatment persistence and disability outcomes. However, most analyses have included patients with prior DMT exposure, limiting their applicability to treatment-naïve populations. This study aims to address this gap by assessing the comparative effectiveness of cladribine and S1PRMs in treatment-naïve RRMS patients using real-world data.

This retrospective study included treatment-naïve RRMS patients aged 18-65, treated with cladribine or S1PRMs (fingolimod, ozanimod, ponesimod) between January 2011 and October 2021 at 108 MS centers in Italy. Exclusions were patients diagnosed before the 2001 McDonald Criteria or with Secondary Progressive MS. Outcomes evaluated included NEDA-3 status (absence of clinical relapses, disability progression, and radiologic activity), with relapses defined as new neurological symptoms lasting ≥ 24 hours, disability worsening measured by EDSS, and radiological activity assessed by T1 gadolinium-enhancing lesions or new T2 lesions. Statistical analysis involved propensity score matching based on baseline characteristics and pairwise censoring to adjust for between-group dif-

ference in length of follow-up, with Cox regression models to compare treatment groups, controlling for visit or scan frequency and stratifying for matched cases.

RESULTS

Data were analyzed from 485 patients treated with cladribine and 1,102 treated with S1PRMs. The baseline characteristics of the included patients, both before and after matching. After propensity score matching, 475 patients from each group were compared. The median follow-up was 25 months (range: 12-60 months) for both groups, with early relapses (within 3 months) observed in 5.7% of cladribine patients and 6.5% of S1PRM patients ($p = 0.68$). Early disability worsening (within 3 months) occurred in 1.9% and 2.5% of patients, respectively ($p = 0.66$).

Percentages of NEDA-3 and its subcomponents in patients treated with cladribine and S1PRMs during follow-up.

In the primary analysis, there was no significant difference in relapse risk between treatment groups (HR = 0.86, 95% CI: 0.61-1.22, $p = 0.399$). However, patients treated with cladribine had a significantly lower risk of EDSS worsening compared to those receiving S1PRMs (HR = 0.64, 95% CI: 0.42-0.96, $p = 0.031$). No significant differences were observed in the risk of MRI activity (HR = 1.16, 95% CI: 0.86-1.56, $p = 0.328$) or loss of NEDA-3 (HR = 1.14, 95% CI: 0.87-1.49, $p = 0.342$).

Subgroup analyses showed that cladribine was significantly associated with a lower risk of disability worsening in patients under 40 years (HR = 0.52, 95% CI: 0.28-0.93, $p = 0.029$), those diagnosed according to the 2017 revised McDonald Criteria (HR = 0.48, 95% CI: 0.25-0.93, $p = 0.028$), and patients with an EDSS score ≤ 3.0 (HR = 0.62, 95% CI: 0.39-0.98, $p = 0.041$). In those with a follow-up of more than 36 months, cladribine was associated with a higher risk of relapse (HR = 1.81, 95% CI: 1.02-3.20, p

= 0.042) and overall disease activity (HR = 2.08, 95% CI: 1.18–3.67, $p = 0.011$).

We also explored whether there were significant associations between the risk of experiencing disease activity and baseline variables other than treatment allocation. For this purpose, we conducted Cox regression analyses for all the explored outcomes after separating the two treatment groups; all models were adjusted for visit frequency and/or scan frequency. We found no baseline variable to be significantly associated with the risk of reaching any of the aforementioned outcomes in either treatment group. Treatment discontinuation occurred in 18.1% of cladribine and 20.5% of S1PRM patients (HR = 0.92, $p = 0.58$), with clinical/MRI activity or adverse effects more frequent in the S1PRM group ($p < 0.05$). Most patients escalated to monoclonal antibodies (63.6%), while 37 S1PRM patients had no recorded subsequent DMT.

CONCLUSIONS

This study provides real-world evidence comparing cladribine and S1PRMs in the management of treatment-naïve RRMS patients. Both therapeutic strategies demonstrated efficacy in maintaining NEDA-3 status, with each offering distinct advantages. Cladribine was associated with a significant reduction in disability progression, particularly in younger patients and those with lower baseline disability, suggesting its potential as an effective early treatment option. However, no significant differences were observed in relapse rates or MRI activity between

cladribine and S1PRMs, indicating comparable efficacy in relapse prevention and radiologic outcomes.

In patients who exceeded 36 months of follow-up, a significant increase in the risk of clinical relapses was observed with cladribine compared to S1PRMs, along with a trend toward higher radiological disease activity. This suggests a potential waning of cladribine's efficacy over time, likely due to its intermittent dosing regimen, whereas the continuous administration of S1PRMs may contribute to more sustained disease control.

This study's strengths include its large sample size, propensity score matching, and sensitivity analyses. However, limitations include its observational design, potential biases from non-random treatment allocation, and the exclusion of patients with less than 12 months of follow-up, which may introduce selection bias. Additionally, the study did not account for differences in treatment adherence or tolerability between groups. These findings suggest that both cladribine and S1PRMs may be effective treatments for treatment-naïve patients, with cladribine potentially providing greater benefit in preventing disability progression. Furthermore, our findings suggest considering earlier cladribine re-treatment or switching to another DMT, potentially before four years, even in patients without disease activity. Future studies should aim to reassess this cohort with longer follow-up periods and conduct additional prospective studies to confirm these results. Additionally, it will be essential to explore the long-term impact of these treatments on quality of life and cognitive function.

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



Carla Tortorella

Centro Sclerosi Multipla, AO San Camillo Forlanini, Roma, Italia

COLLABORAZIONI CON ALTRI CENTRI / COLLABORATIONS WITH OTHER CENTERS

Alessandro Cruciani, Claudio Gasperini, Shalom Haggiag, Luca Prosperini, Serena Ruggieri, Centro Sclerosi Multipla, AO S. Camillo Forlanini, Roma, Italia

Francesco Patti, Clara Chisari, Centro Sclerosi Multipla, AOL Policlinico Vittorio Emanuele, Università di Catania, Italia

Marco Capobianco, Centro Sclerosi Multipla, SC Neurologia, AO S. Croce e Carle, Cuneo, Italia

Massimiliano Mirabella, UO Sclerosi Multipla, Fondazione Policlinico Universitario A. Gemelli IRCCS, Università Cattolica del Sacro Cuore, Roma, Italia

Maria Trojano, Pietro Iaffaldano, Centro Sclerosi Multipla DiBrain, Dipartimento di Biomedicina Traslazionale e Neuroscienze, Università degli Studi di Bari, Italia

Matilde Inglese, Centro per lo Studio e la Cura della Sclerosi Multipla e Malattie Demyelinizzanti, Dipartimento di Neuroscienze, Riabilitazione, Oftalmologia, Genetica e Scienze Materno-Infantili, Clinica Neurologica, Ospedale Policlinico San Martino (DiNOGMI), Genova, Italia

Maria Pia Amato, Luisa Pastò, Dipartimento NEUROFARBA, Sezione Neuroscienze, Università degli Studi di Firenze, Centro SM, SODc Riabilitazione Neurologica, AOU Careggi, Italia

Roberta Fantozzi, Centro Sclerosi Multipla, IRCCS Neuromed, Isernia, Italia

Giovanna De Luca, Centro Sclerosi Multipla, Clinica Neurologica Policlinico SS. Annunziata, Chieti, Italia

Giuseppe Salemi, Dipartimento di Radiologia, Diagnostica, Interventistica e Stroke, Azienda Ospedaliera Universitaria Policlinico Paolo Giaccone, Palermo, Italia

Matteo Foschi, Dipartimento di Neuroscienze, Centro Sclerosi Multipla, UO Neurologia, Ospedale S. Maria delle Croci, AUSL Romagna, Italia

Franco Granella, Centro Sclerosi Multipla, UOC di Neurologia, Dipartimento di Medicina Generale e Specialistica, AOU di Parma, Italia

Vianello Marika, Centro Sclerosi Multipla, UOC Neurologia, Ospedale Ca' Foncello, ULSS2 Marca Trevigiana, Treviso, Italia

Gerola Alessandra Marfia, UOSD Sclerosi Multipla, Dipartimento Medicina dei Sistemi, Università Tor Vergata, Roma, Italia

Valentina Torri Clerici, Fondazione IRCCS Istituto Neurologico Carlo Besta, Milano, Italia

Sara Montepietra, Centro SM, UOC Neurologia, Arcispedale Santa Maria Nuova, AUSL Reggio Emilia, Italia

Diana Ferraro, Dipartimento di Neuroscienze, Ospedale Civile di Baggiovara, Azienda Ospedaliero, Universitaria, Modena, Italia

Ferrò Maria Teresa, Neuroimmunologia, Centro Provinciale per la diagnosi e terapia della Sclerosi Multipla, ASST Crema, Italia

Paolo Gallo, Centro Specializzato Regionale per la Sclerosi Multipla (CeSMuV), Regione Veneto, Dipartimento di Neuroscienze DNS, Azienda Ospedaliera, Università degli Studi di Padova, Italia



Alessia Di Sapia, Centro di riferimento Regionale SM (CRESM), SCDO Neurologia, AOU San Luigi Gonzaga, Torino, Italia
Eleonora Cocco, Centro Regionale per la diagnosi e la cura della Sclerosi Multipla ASL8, PO Binaghi; Cagliari, Italia
Maria Gabriella Coniglio, Centro Sclerosi Multipla, PO Madonna delle Grazie, Matera, Italia
Elena Colombo, Centro Sclerosi Multipla, IRCCS Fondazione Mondino, Pavia, Italia
Sabrina Realmuto, UOC di Neurologia con Stroke Unit, AOOR Villa Sofia, Cervello, Palermo, Italia
Massimo Filippi, Mara Rocca, Centro Sclerosi Multipla, Unità di Neurologia, IRCCS Ospedale San Raffaele, Milano, Italia
Paola Cavalla, Centro SM, Neurologia 1U, AOU Città della Salute e della Scienza di Torino, Italia
Ilaria Pesci, Centro SM UOC Neurologia, Ospedale di Vaio, AUSL PR, Parma, Italia
Umberto Aguglia, Ambulatorio SM, Grande Ospedale Metropolitano Bianchi Melacrino Morelli, Reggio Calabria, Italia
Silvia Romano, CENTERS Centro Neurologico Terapie Sperimentali, Sapienza Università di Roma, AO S. Andrea, Roma, Italia
Pietro Annovazzi, Neurologia ad Indirizzo Neuroimmunologico, Centro Sclerosi Multipla, ASST della Valle Olona, Ospedale di Gallarate, Gallarate (VA), Italia
Luigi Zulian, Centro Sclerosi Multipla, UOC Neurologia, Ospedale San Bortolo, Vicenza, Italia
Ardito Bonaventura, Centro Sclerosi Multipla UOC di Neurologia, Ospedale Della Murgia Fabio Perinei, Altamura, Italia
Alessandra Lugaresi, IRCCS Istituto delle Scienze Neurologiche di Bologna, UOSI Riabilitazione Sclerosi Multipla, Italia
Raffella Clerici, Centro ad Alta Specializzazione per la diagnosi e la cura della Sclerosi Multipla, Ospedale Valduce, Firenze, Italia
Luca Massacesi, Centro di Riferimento Regionale per il Trattamento della Sclerosi Multipla, SOD Neurologia II, AOU Careggi, Italia
Giacomo Lus, Centro Clinico per la Sclerosi Multipla, II Clinica Neurologica, II Università di Napoli, Italia
Carlo Pozzilli, Centro SM, Policlinico S. Andrea, Università Sapienza, Roma, Italia
Paola Valetino, Centro Sclerosi Multipla, Policlinico Universitario, Campus Germaneto, Catanzaro, Italia
Carlo Avolio, Centro Interdipartimentale per le Malattie Demielinizzanti, SC Neurologia Universitaria, AOU Policlinico Foggia, Italia
Gazzola Paola, SC Neurologia, Centro Sclerosi Multipla, Ospedale Padre Antero Micone, ASL3 Genovese, Genova, Italia
Giuseppe Santuccio, Centro Sclerosi Multipla, Ospedale San Carlo, ASST Santi Paolo e Carlo, Milano, Italia
Protti Alessandra, SST Grande Ospedale Metropolitano Niguarda, Centro SM, Milano, Italia
Livia Pasquali, Centro Malattie Demielinizzanti UO Neurologia, Dipartimento di Medicina Clinica e Sperimentale, Università di Pisa, D.A.I. Neuroscienze AOUP, Pisa, Italia
Alessandro Leone, Azienda Socio Sanitaria Territoriale (ASST) della Valtellina e Alto Lario, Sedi di Sondrio e Sondalo, Reparto di Neurologia, Sondrio, Italia
Sebastiano Bucello, Centro Sclerosi Multipla, Ospedale Muscatello di Augusta, UOC Neurologia, Siracusa Italia
Augusto Rini, Centro Sclerosi Multipla, UOC Neurologia, Ospedale A. Perrino, Brindisi, Italia
Nerina Mascoli, Centro SM UO Neurologia ASST Lariana Ospedale S. Anna, Como, Italia
Maria Grazia Celani, SC di Neurofisiopatologia, AO di Perugia, Perugia, Italia
Antonella Conte, Centro Sclerosi Multipla, AOU del Policlinico Umberto I, Università Sapienza, Roma, Italia
Elisabetta Ferraro, Centro SM, PO San Filippo Neri, ASL Roma 1, Roma, Italia
Matteo Pizzorno, Centro Sclerosi Multipla, Divisione di Neurologia, Ospedale San Paolo, Savona;
Marco Carrozzi, Struttura Complessa di Neuropsichiatria Infantile, IRCCS Materno Infantile Burlo Garofolo, Trieste, Italia
Gatto Maurizia, Centro Malattie Demielinizzanti, Ospedale Generale Regionale F. Miulli, Bari, Italia
Simonetta Venturi, Ambulatorio Sclerosi Multipla, EO Ospedali Galliera, Genova, Italia
Giuseppe Trivelli, Ambulatorio Sclerosi Multipla, Neurologia ASL 4 Chiavarese, Genova, Italia
Francesca De Robertis, Divisione di Neurologia, Ospedale Vito Fazzi, Lecce, Italia
Francesco Sica, Servizio di Neurologia, Ospedale Santa Maria Goretti, Latina, Italia



Cristina Fioretti, Ambulatorio Sclerosi Multipla, Unità Operativa di Neurologia e Neurofisiopatologia, Spedali Riuniti, Livorno, Italia
Guido Cavaletti, Centro di Neuroimmunologia, Fondazione IRCCS San Gerardo, dei Tintori, Monza, Italia
Mario Santangelo, UOC di Neurologia, Ospedale Ramazzini, Modena, Italia
Vincenzo Brescia Morra, Centro Regionale Sclerosi Multipla, Unità Operativa Semplice, AOU Policlinico Federico II, Italia
Giuseppe Santangelo, UOC di Neuropsichiatria Infantile Centro Regionale Sclerosi Multipla e Malattie Demielinizzanti Ospedale Pediatrico Giovanni Di Cristina dell'Azienda ARNAS Civico, Di Cristina Benfratelli, Palermo, Italia
Paolo Immovilli, Azienda Unità Sanitaria Locale di Piacenza, Ospedale Guglielmo da Saliceto, UOC Neurologia, Piacenza, Italia
Francesco Coreia, Neurologia Centro SM, Ospedale San Giovanni Battista, Perugia, Italia
Mario Falcini, Ospedale di Prato, Centro per la Sclerosi Multipla, Unità Operativa di Neurologia; Prato, Italia
Marco Peresson, Centro Clinico Sclerosi Multipla, Ospedale Fatebenefratelli San Pietro, Roma, Italia
Fioravante Capone, Centro SM, UOC di Neurologia, Policlinico Universitario Campus Bio, Medico, Roma, Italia
Nicola De Stefano, Ambulatorio SM, UOC Clinica Neurologica e Malattie Neurometaboliche, AOU Senese, Siena, Italia
Monica Ulivelli, UOC Neurologia e Neurofisiologia Clinica, Università degli Studi di Siena, Siena, Italia
Eva Milano, Centro Sclerosi Multipla, Divisione di Neurologia, Ospedale Maria Vittoria, Torino, Italia
Carlotta Chiavazza, Divisione di Neurologia, Ospedale Civile, Torino, Italia
Bruno Marini, UOC Neurologia, ULSS2 Marca Trevigiana, Ospedale S. Giacomo Apostolo, Treviso Italia
Patrizia Rossi, Ambulatorio Sclerosi Multipla e Malattie Demielinizzanti del SNC, UOC di Neurologia, Ospedale San Bassiano AULSS10, Vicenza, Italia
Alberto Gajofatto, Centro Regionale Specializzato per la Sclerosi Multipla, UOC Neurologia B, Ospedale di Borgo Roma, AOUI Verona, Verona, Italia
Paola Mosconi, Vito Lepore, Public Health Department, Istituto di Ricerche Farmacologiche Mario Negri IRCCS, Milano, Italia

PREMESSE E OBIETTIVI

Le malattie dello Spettro della Neuromielite Ottica (NMOSD) e le malattie da anticorpi anti MOG (MOGAD) sono malattie autoimmuni demielinizzanti rare, storicamente considerate varianti della Sclerosi Multipla (SM). L'identificazione di autoanticorpi patogenetici e la chiarificazione dei meccanismi alla base della malattia hanno evidenziato la necessità di approcci diagnostici e terapeutici distinti. La differenziazione tra NMOSD, MOGAD e SM rimane una sfida talora complessa, ma le strategie terapeutiche per la gestione dei sintomi e la prevenzione delle ricadute sono ora ben definite e chiaramente distinte nelle tre patologie. Il Registro Italiano della Sclerosi Multipla (I-MS&RD) è stato una risorsa fondamentale per raccogliere dati sull'epidemiologia, i fattori prognostici e le risposte ai trattamenti nella SM. Tale Registro ha storicamente incluso dalla sua istituzione, anche pazienti con NMOSD e MOGAD seguiti nei centri SM italiani, anche prima della definizione degli attuali criteri diagnostici.

Obiettivi del progetto

1. Valutare la completezza e la qualità dei dati NMOSD/MOGAD presenti nel I-MS&RD.
2. Implementare un dataset specifico per NMOSD/MOGAD.
3. Descrivere le caratteristiche cliniche e radiologiche e valutare i fattori prognostici di disabilità a lungo termine.

Metodi

Creazione del dataset e estrazione dati

L'analisi retrospettiva dei dati dei pazienti con NMOSD e MOGAD inclusi nella vecchia versione del I-MS&RD ha rivelato incongruenze nella classificazione di tali patologie con conseguente difficoltà nell'analisi dei dati inclusi. È stato sviluppato un dataset aggiornato da utilizzare per la raccolta dati. Tale data set è stato testato in 10 centri SM prima dell'implementazione completa e la messa a disposizione di tutti i centri partecipanti. Al 31 gennaio 2024, i dati estratti hanno consentito un'analisi statistica descrittiva e uno studio trasversale sui predittori clinici di disabilità e risposta ai trattamenti.

Le analisi statistiche sono state condotte con SPSS (v.25) e R Studio (v.4.4.1). Sono stati applicati test chi-quadrato e ANOVA, con correzioni Bonferroni ove appropriato. Un modello di regressione logistica multivariata è stato utilizzato per valutare i predittori di risposta al trattamento con

Rituximab (covariate: età, EDSS alla diagnosi, tempo dall'esordio dei sintomi alla diagnosi). L'analisi di sopravvivenza di Kaplan-Meier è stata infine utilizzata per confrontare il tempo alla prima ricaduta tra pazienti trattati con anticorpi monoclonali (Rituximab, Eculizumab, Satralizumab, Tocilizumab, Ravulizumab, Ocrelizumab) e quelli trattati con altre terapie immunosoppressive (Azatioprina, Ciclofosfamide, Immunoglobuline).

RISULTATI

Sono stati analizzati dati di 598 pazienti provenienti da 74 centri SM: 297 NMOSD-AQP4+ (50%), 158 NMOSD-AQP4- (26%) e 143 MOGAD (24%). Durante il follow-up sono state registrate 1663 ricadute.

Dati descrittivi

- NMOSD-AQP4+: 85% donne, età media 55 anni, EDSS 3.5, follow-up medio 7.4 anni, ritardo diagnostico 3.2 anni. Sintomi d'esordio più comuni: mielite (41%) e neurite ottica (40.7%). Il trattamento più frequente era Rituximab (60.1%), 35 pazienti erano in trattamento con altre terapie monoclonali e 49 pazienti con altri farmaci modificanti la malattia mentre l'11.4% dei pazienti non era trattato.
- NMOSD-AQP4-: 73% donne, età media 50 anni, EDSS 3.0, follow-up 5.5 anni, ritardo diagnostico 3.2 anni. Mielite (38.6%) e neurite ottica (36.7%) erano i sintomi d'esordio più frequenti. Il 63.3% dei pazienti era in trattamento con Rituximab, 2 pazienti erano in terapia con tocilizumab e i rimanenti con altri farmaci modificanti la malattia; mentre il 24% dei pazienti non era trattato.
- MOGAD: 63% donne, età media 43 anni, EDSS 2.0, follow-up 2.8 anni, ritardo diagnostico 3.8 anni. Sintomi d'esordio più frequenti: neurite ottica (38.5%), mielite (23.8%). Il 56% dei pazienti era in terapia con Rituximab, 7 pazienti erano trattati con altri farmaci monoclonali, 16 con altri farmaci, mentre il 27.3% era non trattato.

Analisi comparativa

I pazienti NMOSD-AQP4+ erano significativamente più anziani rispetto ai gruppi NMOSD-AQP4- e MOGAD ($p < 0.001$) e mostravano una maggiore disabilità rispetto a MOGAD ($p = 0.03$). I pazienti con NMOSD-AQP4- avevano una disabilità maggiore rispetto a MOGAD, ma non differente da quelli con NMOSD-AQP4+. I pazienti con NMOSD-AQP4+ avevano il maggior follow-up ($p < 0.001$). Non erano evidenti significative differenze nel ritardo diagnostico, nella distribuzione di genere e nel tipo di trattamento fra i tre gruppi.

Un'analisi logistica multivariata mostrava che la disabilità dopo il primo attacco era l'unico fattore in grado di predire il raggiungimento dell'EDSS 6 al follow-up in tutti e tre i gruppi di pazienti ($p < 0.003$).

Predittori di risposta al Rituximab

La regressione logistica multivariata nel gruppo NMOSD-AQP4+ ($N = 179$) ha evidenziato che il sesso femmi-

nile ($OR = 0.37$; $p = 0.038$) e i sintomi spinali all'esordio ($OR = 0.36$; $p = 0.017$) erano associati a una minore probabilità di essere liberi da ricadute. Per NMOSD-AQP4- non sono stati identificati predittori significativi. Nei MOGAD, la neurite ottica alla diagnosi era associata a una minore probabilità di remissione delle relapse con trattamento con Rituximab ($OR = 0.20$; $p = 0.038$).

Anticorpi monoclonali vs altre terapie: rischio di recidiva

Il tempo alla recidiva è stato confrontato tra pazienti trattati con anticorpi monoclonali e quelli trattati con altre terapie:

Nel gruppo NMOSD-AQP4+, sono state incluse 348 osservazioni: 221 pazienti hanno ricevuto trattamento con anticorpi monoclonali, mentre 127 sono stati trattati con altri farmaci. Tra i pazienti in trattamento con monoclonali, 59 avevano avuto almeno una ricaduta al momento dell'estrazione dei dati (26,6%). Al contrario, nel gruppo trattato con altri farmaci, 73 pazienti su 127 avevano avuto almeno una ricaduta (57,4%). Il tempo mediano alla prima ricaduta era significativamente più alto nei pazienti trattati con monoclonali [11,9 anni (IC 9,1 – 14 anni)] rispetto ai pazienti trattati con altri farmaci [8,3 anni (IC 5,3 – 11,1 anni)] (test Log-rank, $p = 0,012$).

Nel gruppo NMOSD-AQP4-, sono stati analizzati 176 casi: 103 pazienti trattati con monoclonali e 73 con altri farmaci. Venti pazienti che erano in trattamento con monoclonali, avevano presentato avuto almeno una ricaduta (19,4%) contro 32 pazienti in trattamento con altri farmaci (43,8%). Il tempo mediano alla prima ricaduta era significativamente maggiore nel gruppo in trattamento con monoclonali [10,8 anni (IC 7,7 – 13,8 anni)] rispetto ai pazienti trattati con altri farmaci [7,8 anni (IC 4,8 – 10,7 anni)] (test Log-rank, $p = 0,035$).

Infine, nel gruppo MOGAD, sono stati inclusi 172 casi: 92 pazienti erano in trattamento con monoclonali e 80 con altri farmaci. Nel gruppo trattato con monoclonali, sono state registrate 17 ricadute (18,4%), mentre nel gruppo trattato con altri farmaci si sono verificate 36 ricadute (45%). Non sono state riscontrate differenze statisticamente significative nei tempi di sopravvivenza mediana tra i pazienti trattati con monoclonali (7,22 anni; IC 4,8 – 9,6) e quelli trattati con altri farmaci (7,5 anni; IC 3,3 – 11,7) (test Log-rank, $p = 0,19$).

CONCLUSIONI

L'analisi preliminare dei dati dell'I-MS&RD ha fornito preziose informazioni sulle caratteristiche cliniche, le risposte ai trattamenti e i predittori degli esiti a lungo termine in una vasta coorte di pazienti NMOSD e MOGAD. I risultati confermano che i pazienti NMOSD-AQP4+ sono generalmente più anziani e più disabili rispetto a NMOSD-AQP4- e MOGAD. La disabilità dopo il primo attacco risulta esser predittiva della disabilità al follow-up in tutti i gruppi. Inoltre, i trattamenti con anticorpi monoclonali sono associati a una sopravvivenza libera da recidive più lunga rispetto agli immunosoppressori convenzionali in NMOSD-AQP4+ e NMOSD-AQP4-. Tuttavia, la risposta terapeutica nei

MOGAD appare più variabile, suggerendo la necessità di ulteriori studi per ottimizzare le strategie terapeutiche. Questi risultati supportano l'implementazione di un dataset dedicato a NMOSD/MOGAD nel I-MS&RD per mi-

gliorare la classificazione della malattia, la qualità dei dati e facilitare future ricerche. Studi longitudinali saranno essenziali per confermare questi risultati e migliorare la gestione dei pazienti.

Clinical and radiological prognostic factors in Neuromyelitis Optica Spectrum Disorders (NMOSD) and Myelin Oligodendrocyte Glycoprotein Antibody-Associated Disease (MOGAD). A cohort analysis by Italian MS National Registry through the implementation of a specific data set

INTRODUCTION AND AIMS

Neuromyelitis Optica Spectrum Disorders (NMOSD) and Myelin Oligodendrocyte Glycoprotein Antibody-Associated Disease (MOGAD) are rare autoimmune demyelinating diseases, historically considered variants of Multiple Sclerosis (MS). The identification of pathogenic autoantibodies [1,2] and advances in pathogenesis understanding have highlighted the need for distinct diagnostic and therapeutic approaches [3,4]. Differentiating NMOSD and MOGAD from MS remains challenging, yet their different treatment strategies for symptom management and relapse prevention are now well established.

The Italian MS National Registry (I-MS&RD) is a key resource for collecting data on MS epidemiology, prognostic factors, and treatment responses. Since its establishment, the I-MS&RD already included NMOSD and MOGAD patients followed in MS centres even before the consolidation of current diagnostic criteria. Aims of the project

1. Assess the completeness and quality of NMOSD/MOGAD data in the I-MS&RD.
2. Implement a disease-specific dataset for NMOSD/MOGAD.
3. Describe clinical and radiologic features and evaluate baseline prognostic factors for long-term disability.

Methods

Data set creation and data Extraction

A retrospective analysis of the previous I-MS&RD data version identified inconsistencies in the classification of NMOSD and MOGAD. To address this, a refined dataset was developed and tested in 10 MS centres before full registry implementation. On January 31, 2024, extracted data enabled a descriptive statistical analysis and a cross-sectional study on clinical predictors of disability and treatment response.

Statistical analyses were performed using SPSS (v.25) and R Studio (v.4.4.1). Chi-squared and ANOVA tests were applied, with Bonferroni corrections where appropriate. A multivariate logistic regression model assessed predictors of Rituximab response (covariates: age, EDSS at diagnosis, and time from symptom onset to diagnosis). Kaplan-Meier survival analysis compared time to first relapse between patients treated with monoclonal antibodies (Rituximab, Eculizumab, Satralizumab, Tocilizumab, Ravulizumab, Ocrelizumab) and those on other immunosuppressive therapies (Azathioprine, Cyclophosphamide, Immunosuppressants). For this analysis, we included in the 'Monoclonals' group patients who were receiving monoclonal drugs at the time of data extraction, as well as those whose prior treatment—before transitioning to the monoclonal therapy ongoing at the time of data extraction—also involved a monoclonal drug. Similarly, in the "Other Drugs" group, we included patients who were receiving the specified treatments at the time of data extraction as well as those whose previous treatment, before switching to the monoclonal therapy ongoing at the time of data extraction, was listed in "Other Drugs".

RESULTS

We analysed data from 598 patients across 74 MS centers: 297 NMOSD-AQP4+ (50%), 158 NMOSD-AQP4- (26%), and 143 MOGAD (24%). A total of 1663 relapses were recorded during follow-up. We report preliminary results:

Descriptive data

- NMOSD-AQP4+: 85% female, mean age 55 years, EDSS 3.5, follow-up 7.4 years, diagnostic delay 3.2 years. Most common onset symptoms: myelitis (41%) and optic neuritis (40.7%). Most patients (60.1%) were on Rituximab treatment, 35 were receiving other mon-

oclonal antibodies and 49 other, older, disease modifying drugs-DMDs; 34 patients (11.4%) were untreated.

- NMOSD-AQP4-: 73% female, mean age 50 years, EDSS 3.0, follow-up 5.5 years, diagnostic delay 3.2 years. Myelitis (38.6%) and optic neuritis (36.7%) were the most common onset symptoms. Rituximab was the current treatment for 63.3% of patients (n=100), whereas 2 were receiving tocilizumab and the rest were under other DMDs. 38 patients (24%) were untreated.
- MOGAD: 63% female, mean age 43 years, EDSS 2.0, follow-up 2.8 years, diagnostic delay 3.8 years. Most frequent symptoms: optic neuritis (38.5%), myelitis (23.8%). Rituximab was used in 56.6%, 7 were treated with other monoclonal drugs, 16 with other drugs and 39 patients (27.3%) were untreated.

Comparative Analysis

NMOSD-AQP4+ patients were significantly older than NMOSD-AQP4- and MOGAD ($p < 0.001$) and showed greater disability than MOGAD ($p = 0.03$). NMOSD-AQP4- patients were more disabled than MOGAD, but not significantly different from NMOSD-AQP4+. NMOSD-AQP4+ had the longest follow-up ($p < 0.001$). No differences were found in diagnostic delay, gender distribution, or type of treatment frequency.

The multivariate logistic regression model suggested that disability after the first attack was the only factor influencing the probability of reaching disability milestone (EDSS 6) at follow-up in all groups ($p < 0.003$).

Predictors of response to Rituximab

Multivariate logistic regression in NMOSD-AQP4+ (N=179) revealed that female sex (OR=0.37; $p = 0.038$) and spinal cord symptoms at onset (OR=0.36; $p = 0.017$) were associated with a lower probability of being relapse-free. No significant predictors were identified in NMOSD-AQP4-. In MOGAD, optic neuritis at diagnosis was linked to a lower probability of being relapse-free under Rituximab (OR=0.20; $p = 0.038$).

Relapse-Free Survival: Monoclonal Antibodies vs Other Therapies

Predictors of response to Rituximab

Multivariate logistic regression in NMOSD-AQP4+ (N=179) revealed that female sex (OR=0.37; $p = 0.038$) and spinal cord symptoms at onset (OR=0.36; $p = 0.017$) were associated with a lower probability of being relapse-free. No significant predictors were identified in NMOSD-AQP4-. In MOGAD, optic neuritis at diagnosis was linked to a lower probability of being relapse-free under Rituximab (OR=0.20; $p = 0.038$).

Relapse-Free Survival: Monoclonal Antibodies vs Other Therapies

Relapse-free survival was compared between patients currently or previously treated with monoclonal antibodies and those on other drugs.

In the NMOSD-AQP4+ group, 348 observations were included: 221 received monoclonal treatments and 127

were treated with other drugs. Of the 221 patients on monoclonal, 59 experienced at least one relapse by the time of data extraction (26.6%). Conversely, in the other drug group, 73 out of 127 patients had at least one relapse (57.4%). The median survival time for patients treated with other "older" drugs was 8.3 years (CI 5.3 – 11.1 years) against 11.9 years (9.1 – 14 years) for patients treated with monoclonal (Log-rank test, $p = 0.012$). In the NMOSD-AQP4- group, 176 cases were analysed: 103 were treated with monoclonal and 73 with other drugs. Among those on monoclonal, 20 had at least one relapse (19.4%), compared to 32 in the other drug group (43.8%). The median survival time was 10.8 years; (CI 7.7 – 13.8 years) for patients in the monoclonal group and 7.8 years; (CI 4.8 – 10.7 years) in patients treated with other drugs (Log-rank test, $p = 0.035$).

Finally, in the MOGAD group, we included 172 cases, with 92 receiving monoclonal treatments and 80 treated with other drugs. In the monoclonal group, 17 relapses were recorded (18.4%), while 36 relapses occurred in the other drug group (45%). No statistically significant differences in median survival times (7.22 years; CI 4.8 – 9.6 vs 7.5 years; CI 3.3 – 11.7 years, respectively) has been observed between monoclonal treated patients and patients treated with other drugs (Log-rank test, $p = 0.19$).

CONCLUSIONS

Our analysis of the Italian MS National Registry (I-MS&RD) data provided valuable insights into the clinical characteristics, treatment responses, and predictors of long-term outcomes in a large cohort of NMOSD and MOGAD patients. The results confirm that NMOSD-AQP4+ patients are generally older and more disabled than those with NMOSD-AQP4- or MOGAD. Disability after the first attack is the mainly prognostic factors of disability at follow-up. Furthermore, treatment response analysis suggests that monoclonal antibodies are associated with prolonged relapse-free survival compared to conventional immunosuppressants NMOSD-AQP4+ but also in NMOSD-AQP4- cohort. In MOGAD patients, treatment response appears more variable, indicating a need for further research to optimize therapeutic strategies.

These findings support the implementation of a dedicated NMOSD/MOGAD dataset within I-MS&RD to improve disease classification, enhance data quality, and facilitate future research. A more refined registry could also enable prospective studies and pragmatic head-to-head trials to identify optimal treatment strategies for these rare disorders. Further longitudinal studies will be essential to validate these results and refine patient management approaches.

Studio retrospettivo sulle caratteristiche cliniche e radiologiche dei pazienti ad esordio tardivo di sclerosi multipla



Francesco Patti

Dipartimento di Scienze Mediche e Chirurgiche e Tecnologie Avanzate "GF Ingrassia", Università degli Studi di Catania; Centro Sclerosi Multipla, Università degli Studi di Catania, Catania, Italia

COLLABORATORI/COLLABORATORS

Clara G. Chisari

COLLABORAZIONI CON ALTRI GRUPPI / COLLABORATIONS WITH OTHER GROUPS

Assunta Bianco, Centro Sclerosi Multipla, Fondazione Policlinico Universitario Agostino Gemelli IRCCS, Rome, Italia

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

Paola Cavalla, Centro Sclerosi Multipla, Azienda Ospedaliero-Universitaria Città della Salute e della Scienza, Torino, Italia

Massimo Filippi, Unità di Ricerca di Neuroimaging, Divisione di Neuroscienze, Unità Operativa di Neurologia, Unità di Neuroriabilitazione, Servizio di Neurofisiologia, IRCCS Istituto Scientifico San Raffaele, Università Vita-Salute San Raffaele, Milano, Italia

Pietro Iaffaldano, Dipartimento di Scienze Mediche di Base, Neuroscienze e Organi di Senso, Università degli Studi di Bari, Bari, Italia

Alessandra Lugaresi, IRCCS Istituto delle Scienze Neurologiche di Bologna; Dipartimento di Scienze Biomediche e Neuromotorie, Università di Bologna, Bologna, Italia

Giacomo Lus, Centro Sclerosi Multipla, Seconda Divisione di Neurologia, Dipartimento di Scienze Mediche e Chirurgiche Avanzate, Università della Campania Luigi Vanvitelli, Napoli, Italia

Lucia Moiola, Unità di Neurologia e Neuroriabilitazione, IRCCS Ospedale San Raffaele, Milano, Italia

Chiara Perin, Dipartimento Specialistico - Unità Operativa di Neurologia - ULSS 5 Polesana, Rovigo, Italia

Sabrina Realmuto, Centro Sclerosi Multipla, Unità di Neurologia e Stroke Unit, AOOR "Villa Sofia-Cervello", Palermo, Italia

Maria Trojano, Dipartimento di Scienze Mediche di Base, Neuroscienze e Organi di Senso, Università degli Studi di Bari, Bari, Italia
on behalf of the Italian MS Registry

PREMESSE E OBIETTIVI

La sclerosi multipla (SM) è storicamente considerata una malattia a esordio giovanile, con un picco d'incidenza tra i 20 e i 40 anni. Tuttavia, grazie al miglioramento degli strumenti diagnostici e all'aumento dell'aspettativa di vita, i casi diagnosticati dopo i 50 anni stanno aumentando, portando l'attenzione sulla cosiddetta SM a esordio tardivo

(LOMS), a esordio molto tardivo (VLOMS) e a esordio molto molto tardivo (VVLOMS, >60 anni).

Studi precedenti hanno riportato incidenze molto variabili per queste forme, e il loro impatto prognostico rimane oggetto di dibattito. La letteratura suggerisce che l'età avanzata all'esordio sia associata a una progressione più rapida della disabilità, a una maggiore prevalenza del decorso

progressivo e a una risposta differente ai trattamenti. L'obiettivo primario è stato valutare la frequenza dei casi di SM a esordio in età avanzata (sopra i 50 anni) in una coorte italiana, quello secondario è stato confrontare i pazienti in base all'età di esordio (da 18 a oltre 60 anni) rispetto a:

- caratteristiche cliniche (sintomi, decorso, EDSS)
- profili neuroradiologici (lesioni cerebrali e spinali)
- presenza di comorbidità
- trattamenti ricevuti e risposta terapeutica.

RISULTATI

L'analisi dei dati è ancora in corso di definizione. Lo studio ha incluso 5.872 pazienti afferenti ai Centri SM che contribuiscono al Registro Italiano Sclerosi Multipla tra il 2005 e il 2018. I pazienti sono stati suddivisi in 5 gruppi in base all'età d'esordio: YOMS (18–30 anni) con 2.056 pazienti (35%); AOMS (31–40 anni) con 1.745 pazienti (27.9%); LOMS (41–50 anni) con 1.044 (17.8%); VLOMS (51–60 anni) con 841 pazienti (14.3%); VVLOMS (>60 anni) con 186 pazienti (3.2%)

I principali risultati sono stati:

- Incidenza:
I pazienti con esordio >50 anni rappresentano il 17.5% della coorte; tra questi, i VVLOMS sono il 3.2%.
- Genere:
Le donne predominavano nei gruppi giovanili, mentre VLOMS e VVLOMS mostravano una maggiore percentuale maschile.
- Disabilità (EDSS):
EDSS all'esordio significativamente più alto in VLOMS e VVLOMS. Alla visita finale, i VVLOMS avevano l'EDSS mediano più alto (6.5), suggerendo una più rapida progressione della disabilità.
- Decorso clinico:
SM recidivante remittente (RR) più comune nei gruppi giovani. Mentre il decorso progressivo (PP o SP) più frequente nei gruppi più anziani, con incidenza signifi-

cativamente maggiore in VLOMS e VVLOMS.

- Comorbidità:
Molto più frequenti nei VVLOMS (84.2%) rispetto ai gruppi più giovani (es. 24.1% in YOMS). Comorbidità cardiovascolari, neoplastiche, osteo-articolari e genito-urinarie erano più prevalenti nei gruppi più anziani.
- Aspetti neuroradiologici:
I pazienti VVLOMS presentavano un numero significativamente maggiore di lesioni T1 cerebrali sia all'esordio che al follow-up.
- Trattamento:
La proporzione di pazienti trattati con DMT diminuiva con l'aumentare dell'età. Solo il 73.7% dei VVLOMS era in trattamento rispetto al 95.9% degli YOMS. L'uso di interferone beta, dimetilfumarato e natalizumab era più frequente nei pazienti giovani; i VVLOMS erano trattati più spesso con glatiramer acetato o non ricevevano alcun trattamento specifico.

CONCLUSIONI

I pazienti con SM a esordio molto tardivo presentano un quadro clinico peculiare, caratterizzato da una maggiore disabilità sin dall'esordio, da un'elevata prevalenza di comorbidità, da un decorso clinico meno infiammatorio ma più rapidamente progressivo, e da una minore esposizione a terapie modificanti.

L'età avanzata all'esordio, il sesso maschile e la presenza di lesioni T1 cerebrali sono emersi come fattori indipendenti associati a una maggiore disabilità.

Questi dati suggeriscono l'importanza di riconoscere precocemente la SM anche nei soggetti anziani, per migliorare la prognosi attraverso una diagnosi tempestiva e un trattamento personalizzato.

Alla luce dell'invecchiamento della popolazione e del possibile aumento dell'incidenza delle forme a esordio tardivo, sono necessari studi longitudinali per comprendere meglio la loro storia naturale e la risposta ai trattamenti.

Clinical and neuroradiological findings in patients with late-onset multiple sclerosis (LOMS)

INTRODUCTION AND AIMS

Multiple sclerosis (MS) is classically diagnosed in young adults, with a peak incidence between the ages of 20 and 40. However, with growing life expectancy and advances in diagnostic techniques (especially MRI), an increasing number of MS cases are being diagnosed in individuals over the age of 50. These cases are categorized as Late-Onset MS (LOMS), Very Late-Onset MS (VLOMS), and Very Very Late-Onset MS (VVLOMS, over 60 years of age).

Available literature provides inconsistent data on the prevalence and prognosis of these late-onset cases. Some studies suggest that older onset is associated with more rapid disability progression, higher frequency of progressive disease course, and potentially different responses to treatment.

The study primary objective was determining the frequency of MS onset in elderly individuals, the secondary objectives were comparing clinical features, MRI profiles,

comorbidities, and treatment patterns among patients stratified by age at onset and identify prognostic factors associated with disability progression in VVLOMS.

RESULTS

The study included 5,872 MS patients from the MS Centres of the Italian MS Registry (2005–2018), stratified by age at disease onset into five groups: YOMS (18–30 years), 2,056 patients (35%); AOMS (31–40 years), 1,745 patients (27.9%); LOMS (41–50 years), 1,044 patients (17.8%); VLOMS (51–60 years), 841 patients (14.3%); VVLOMS (>60 years), 186 patients (3.2%).

The main results were:

- Incidence: MS onset after age 50 occurred in 17.5% of patients; VVLOMS represented 3.2% of the cohort.
- Gender differences: Female predominance was higher in younger groups; male patients were more prevalent among older onset groups.
- Disability progression: Baseline and follow-up EDSS were significantly higher in VLOMS and VVLOMS. VVLOMS reached EDSS 6.0 faster than younger counterparts.
- Disease course: RRMS predominated in younger groups. Progressive forms (PPMS, SPMS) were more frequent in LOMS, VLOMS, and especially VVLOMS.
- Comorbidities: Markedly more common in VVLOMS (84.2%) versus YOMS (24.1%). Cardiovascular, oncological, and mus-

culoskeletal conditions were more frequent in older patients.

- MRI findings: VVLOMS showed significantly more T1 brain lesions at baseline and follow-up.
- Treatment patterns: Only 73.7% of VVLOMS patients received disease-modifying therapies (vs 95.9% in YOMS). Younger patients were more frequently treated with interferon, natalizumab, or dimethylfumarate. Glatiramer acetate was more common in VVLOMS.

CONCLUSIONS

MS with onset after age 60 (VVLOMS) constitutes a unique clinical phenotype, with faster disability progression, greater comorbidity burden, and lower exposure to high-efficacy DMTs. Older age at onset, male gender, and baseline T1 lesions were independently associated with poorer outcomes.

The underrepresentation of elderly patients in clinical trials, along with diagnostic challenges in this group, necessitates more dedicated research. A better understanding of immunological and radiological biomarkers in late-onset MS could facilitate earlier diagnosis and appropriate treatment.

With an aging global population, recognizing and managing MS in older adults is an emerging challenge that requires tailored clinical strategies.



PUBBLICAZIONI E COMUNICAZIONI A CONGRESSI PUBLICATIONS AND CONGRESS PRESENTATIONS

- *L'analisi dei dati è ancora in fase di ulteriore definizione. Il lavoro non è stato presentato ad alcun congresso.*
- *The data analysis is still in the process of further definition. The work has not been presented at any congress.*

Studio multicentrico, prospettico/retrospettivo, randomizzato, in aperto e pragmatico per confrontare l'efficacia e la sicurezza dell'interferone beta-1a (IFN beta-1a) somministrato settimanalmente per via intramuscolare e del glatiramer acetato (GA) in pazienti pediatrici affetti da sclerosi multipla



Marta Simone

Unità di Neuropsichiatria Infantile, Dipartimento di Medicina di Precisione e Rigenerativa e Area Jonica (Dimepre-J), Università degli Studi di Bari "Aldo Moro," Bari, Italia

COLLABORAZIONI CON ALTRI GRUPPI / COLLABORATIONS WITH OTHER GROUPS

Antonia Pescechiera, Alessandra Gabellone, Lucia Marzulli, Lucia Margari, Unità di Neuropsichiatria Infantile, Dipartimento di Medicina di Precisione e Rigenerativa e Area Jonica (Dimepre-J), Università degli Studi di Bari "Aldo Moro," Bari, Italia

Roberto Palumbi, Mariacarla Achille, Stefania Micella, Mara Pascali, Unità di Neuropsichiatria Infantile, Dipartimento di Biomedicina Traslazionale e Neuroscienze (DiBrain), Università degli Studi di Bari "Aldo Moro," Bari, Italia

Giulia Maggi, Rosa Padula, Consorzio per Valutazioni Biologiche e Farmacologiche (CVBF), Bari, Italia

Giorgio Reggiardo, Giorgio Reggiardo, Mariagrazia Felisi, Donato Bonifazi, Consorzio per Valutazioni Biologiche e Farmacologiche (CVBF), Bari, Italia; TEDDY, Rete Europea di Eccellenza per la Ricerca Pediatrica, Pavia, Italia

Laura Papetti, Unità di Neurologia dello Sviluppo, Ospedale Pediatrico Bambino Gesù, IRCCS, Roma, Italia

Massimiliano Valeriani, Unità di Neurologia dello Sviluppo, Ospedale Pediatrico Bambino Gesù, IRCCS, Roma, Italia; Dipartimento di Medicina dei Sistemi, Università di Tor Vergata, Roma, Italia; Translational Pain Neuroscience and Precision Medicine, CNAP, Department of Health Science and Technology, School of Medicine, Aalborg University, Danimarca; Dipartimento di Neuroscienze e Scienze Riproduttive e Odontostomatologiche, Università degli Studi di Napoli Federico II, Napoli, Italia

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

Valentina Torri Clerici, Fondazione Istituto Neurologico C. Besta, Milano, Italia

PREMESSE E OBIETTIVI

La Sclerosi Multipla a esordio pediatrico (POMS) è una patologia rara, ad alta attività di malattia, che richiede una terapia tempestiva con terapie modificanti la malattia (DMTs). L'interferone beta-1a (IFN beta-1a) per via intramuscolare (i.m.) e il glatiramer acetato (GA) per via sottocutanea (s.c.) sono i DMTs più comunemente utilizzati.

Tuttavia, non esistono dati di real-world che confrontino la capacità di questi due farmaci nel controllare l'attività di malattia e la progressione della disabilità nei pazienti con POMS.

Questo studio randomizzato, in aperto, di fase IIIb, multicentrico, della durata di 96 settimane ha confrontato l'efficacia e la sicurezza dell'IFN beta-1a i.m. e del GA s.c.

RISULTATI

Abbiamo osservato che lo stato di assenza di attività di malattia alla risonanza magnetica non differiva tra i gruppi ($p=0,09$).

Il tasso annualizzato di ricadute (ARR) era significativamente inferiore nel gruppo GA (0,20; IC 95% 0,08–0,42) rispetto al gruppo IFN beta-1a (0,57; IC 95% 0,31–0,95, $p=0,02$).

Gli score all'Expanded Disability Scale Scores (EDSS), nonché i punteggi ottenuti con la somministrazione di scale relative al cognitivo (tramite la somministrazione di Symbol Digit Modalities Test, SDMT), alla fatica e alla qualità di vita erano comparabili tra i due gruppi.

È emerso, inoltre, che il 50% dei pazienti trattati con GA

e il 30% di quelli trattati con IFN beta-1a sono passati a terapie con maggiore efficacia (High Efficacy Treatments, HETs) durante il follow up.

CONCLUSIONI

Questo studio randomizzato pragmatico ha dimostrato una sostanziale equivalenza di efficacia tra IFN beta-1a i.m. e GA s.c. nei pazienti con POMS.

Entrambi i trattamenti hanno mostrato un profilo di efficacia e sicurezza simile, ma una terapia precoce ad alta efficacia potrebbe essere preferibile nella gestione della POMS. Attualmente, è in corso una valutazione retrospettiva, effettuata utilizzando i dati del Registro Italiano Sclerosi Multipla.

Multicentre, prospective/retrospective, randomised, open label pragmatic trial to compare the effectiveness and safety of interferon beta-1a (IFN beta-1a) administered weekly i.m. and glatiramer-acetate (GA) in pediatric patients affected by multiple sclerosis

INTRODUCTION AND AIMS

Paediatric-onset Multiple Sclerosis (POMS) is a rare, highly active disease requiring timely disease-modifying therapy. Intramuscular (i.m.) Interferon (IFN) beta-1a and subcutaneous (s.c.) Glatiramer Acetate (GA) are among the most common DMTs used for the longest time. Real-world data comparing the ability to control disease activity and disability accrual between these two drugs has never been assessed in POMS. This 96-week, Phase IIIb, multicentre, open-label randomized trial compared the efficacy and safety of intramuscular (i.m.) Interferon beta-1a (IFN-beta 1a) and subcutaneous (s.c.) Glatiramer Acetate (GA).

RESULTS

We have found that MRI disease activity-free status did not differ ($p=0.09$). ARR was significantly lower in the GA

group (0.20; 95% CI 0.08–0.42) than in the IFN-beta 1a group (0.57; 95% CI 0.31–0.95, $p=0.02$). EDSS, cognitive, fatigue, and quality-of-life scores were comparable. Notably, 50% of GA patients and 30% of IFN-beta 1a patients switched to higher efficacy treatments.

CONCLUSIONS

A substantial equivalence of efficacy between i.m. IFN-beta 1a and s.c. GA was demonstrated in POMS by this pragmatic randomized study. Both treatments showed similar efficacy and safety, but early high-efficacy therapy may be preferable for POMS management.

Currently, a retrospective evaluation is being carried out using data from the Italian Registry of Multiple Sclerosis.



PUBBLICAZIONI E COMUNICAZIONI A CONGRESSI PUBLICATIONS AND CONGRESS PRESENTATIONS

- I dati preliminari sono stati presentati sotto forma di poster al congresso annuale FISM, Roma, maggio 2024
- Preliminary data were presented as poster in the annual FISM conference, Rome, May 2024

Valutazione dell'efficacia di Rituximab nei pazienti affetti da Sclerosi Multipla recidivante precedentemente trattati con farmaci ad elevata efficacia (RENEGADE)



Francesco Patti

Dipartimento di Scienze Mediche e Chirurgiche e Tecnologie Avanzate "GF Ingrassia", Università degli Studi di Catania; Centro Sclerosi Multipla, Clinica Neurologica; Azienda Ospedaliera Universitaria "G.Rodolico-San Marco", Catania, Italia

COLLABORATORI/COLLABORATORS

Clara G. Chisari

COLLABORAZIONI CON ALTRI GRUPPI / COLLABORATIONS WITH OTHER GROUPS

Alessia Di Sapia, Dipartimento di Neurologia, Centro di Riferimento Regionale Sclerosi Multipla, Azienda Ospedaliero-Universitaria San Luigi Gonzaga, Orbassano, Torino, Italia

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

Giuseppe Salemi, Dipartimento di Biomedicina, Neuroscienze e Diagnostica Avanzata, Università degli Studi di Palermo, Palermo, Italia

Ilaria Pesci, Centro Sclerosi Multipla, Unità Operativa Neurologia, Azienda Unità Sanitaria Locale, Ospedale Di Vaio, Fidenza, Parma, Italia

Franco Granella, Dipartimento di Medicina e Chirurgia, Università degli Studi di Parma, Parma, Italia

Diana Ferraro, Dipartimento di Neuroscienze, Azienda Ospedaliera Universitaria, Modena, Italia

Alessandra Lugaresi, IRCCS Istituto delle Scienze Neurologiche di Bologna; Dipartimento di Scienze Biomediche e Neuromotorie, Università di Bologna, Bologna, Italia

Luca Massacesi, Dipartimento di Neuroscienze, Psicologia, Area del Farmaco e Salute del Bambino, Università degli studi di Firenze, Italia

Matilde Inglese, Dipartimento Di Neuroscienze, Riabilitazione, Oftalmologia, Genetica E Scienze Materno - Infantili (DINOEMI), Università degli Studi di Genova; IRCCS Ospedale Policlinico San Martino, Genova Italia

Paola Gazzola, Unità di Neurologia, Ospedale P.A. Micone, ASL3 Genovese, Genova, Italia

Sabrina Realmuto, Centro Sclerosi Multipla, Unità di Neurologia e Stroke Unit, AOOR "Villa Sofia-Cervello", Palermo, Italia

Cristina Fioretti, Centro Sclerosi Multipla della Toscana, Livorno, Italia

Umberto Aguglia, Dipartimento di Scienze Mediche e Chirurgiche, Università "Magna Graecia", Catanzaro, Italia, Centro Regionale per l'Epilessia, Grande Ospedale Metropolitano, Reggio Calabria, Italia

Sara Montepietra, Unità di ricerca di Neuroimaging, Divisione di Neuroscienze, IRCCS Istituto scientifico San Raffaele, Milano, Italia

Massimo Filippi, Unità di Ricerca di Neuroimaging, Divisione di Neuroscienze, Unità Operativa di Neurologia, Unità di Neuroriabilitazione, Servizio di Neurofisiologia, IRCCS Istituto Scientifico San Raffaele, Università Vita-Salute San Raffaele, Milano, Italia
on behalf of the Italian MS Registry

PREMESSE E OBIETTIVI

Negli ultimi anni, l'introduzione di terapie modificanti la malattia altamente efficaci (HEDMTs) ha rivoluzionato il trattamento della sclerosi multipla recidivante-remittente (RRMS). Farmaci come natalizumab (NTZ), fingolimod (FTY), alemtuzumab (ALM), cladribina (CLD), ciclofosfamide (CYC) e mitoxantrone (MIT) hanno mostrato una potente efficacia nella soppressione dell'attività infiammatoria. Tuttavia, la sospensione di queste terapie per motivi di sicurezza (come il rischio di leucoencefalopatia multifocale progressiva - PML), effetti collaterali o fallimento terapeutico può causare una recrudescenza della malattia o un "rebound".

In questo contesto, il Rituximab (RTX), un anticorpo monoclonale anti-CD20 che depleta i linfociti B, ha mostrato un potenziale come "terapia di salvataggio" in pazienti che devono sospendere HEDMTs. Tuttavia, i dati real-world sulla sua efficacia in questo scenario specifico sono ancora limitati. L'obiettivo dello studio è stato valutare l'efficacia e la sicurezza del Rituximab in pazienti con RRMS che hanno sospeso trattamenti altamente efficaci per motivi di efficacia o sicurezza, mediante una coorte multicentrica del Registro Italiano della Sclerosi Multipla.

RISULTATI

Lo studio ha incluso 362 pazienti provenienti da 23 centri italiani, precedentemente trattati con HEDMTs e successivamente passati a RTX. I principali risultati includono:

- Riduzione dell'attività di malattia: In tutti i gruppi, si è osservata una riduzione significativa dell'attività clinica (recidive, RAW) e di quella radiologica (lesioni cap-

tanti e nuove lesioni T2) dopo il passaggio a RTX, soprattutto nei pazienti provenienti da trattamenti con FTY, ALM e CLD.

- Stabilità della progressione della disabilità: Il 27,6% dei pazienti ha mostrato una progressione indipendente da recidive (PIRA) nei primi 2 anni. Tuttavia, non sono emerse differenze significative tra i gruppi in termini di tempo alla progressione (EDSS).
- Sicurezza: RTX si è dimostrato ben tollerato. Solo il 5% ha riportato eventi avversi moderati-gravi. Nessun caso di PML è stato registrato.
- Fattori predittivi: Un EDSS più alto prima dell'inizio del trattamento e un'età più avanzata al momento della somministrazione di RTX sono stati associati a un rischio maggiore di progressione indipendente da recidive e attività di risonanza (PIRMA).

CONCLUSIONI

Il Rituximab rappresenta una strategia terapeutica efficace e sicura nei pazienti con RRMS che hanno interrotto trattamenti altamente efficaci. La sua capacità di controllare l'attività infiammatoria e stabilizzare la progressione clinica lo rende una valida alternativa off-label in contesti difficili.

Inoltre, i dati supportano un suo potenziale ruolo anche in fase precoce del trattamento, specialmente in pazienti con attività di malattia persistente nonostante altri HEDMTs. In attesa di un'eventuale approvazione regolatoria, il crescente corpo di evidenze a favore del RTX dovrebbe guidare le decisioni cliniche, soprattutto nei pazienti più vulnerabili o refrattari ad altri trattamenti.

Effectiveness of Rituximab in relapsing Multiple Sclerosis patients previously treated with highly-Active Disease modifying therapies (RENEGADE study)

INTRODUCTION AND AIMS

In the evolving therapeutic landscape of multiple sclerosis (MS), high-efficacy disease-modifying therapies (HEDMTs) such as natalizumab (NTZ), fingolimod (FTY), alemtuzumab (ALM), cladribine (CLD), cyclophosphamide (CYC), and mitoxantrone (MIT) are frequently used to suppress disease activity in relapsing-remitting MS (RRMS). However, discontinuation of these drugs, due to lack of efficacy, adverse effects, or safety concerns like PML risk, can often lead to disease reactivation.

Rituximab (RTX), an anti-CD20 monoclonal antibody, has demonstrated potent immunosuppressive activity via B-cell depletion, showing promise as a "rescue therapy" in MS. Yet, real-world data in patients discontinuing

HEDMTs remain scarce. The objective of the study was to assess the real-world effectiveness and safety of RTX in RRMS patients who discontinued HEDMTs for efficacy or safety concerns.

RESULTS

This multicenter retrospective study included 362 patients from the Italian MS Register. Major findings were:

- Reduction in disease activity: RTX effectively reduced relapse rates, RAW, and MRI activity, especially in patients transitioning from FTY, ALM, and CLD. NTZ and CYC-MIT patients maintained stable disease parameters.
- Disability progression stabilization: 27.6% of patients

developed PIRA within two years, but no major differences across groups in disability milestones were observed.

- Safety: RTX was well tolerated, with no PML cases or serious safety signals. The most common adverse events were mild infusion reactions and infections.
- Predictive factors: Higher baseline EDSS and older age at RTX initiation were linked to a greater risk of PIRA and PIRMA, emphasizing the need for timely therapeutic decisions.

CONCLUSIONS

Rituximab appears to be a highly effective and well-tolerated treatment option for relapsing MS patients requiring

discontinuation of high-efficacy DMTs. It not only curtails relapse and MRI activity but also contributes to the stabilization of long-term disability progression.

This study supports RTX as a viable escape therapy in treatment-resistant or intolerant RRMS patients. Its off-label status notwithstanding, accumulating real-world evidence—such as from the RENEGADE study—reinforces the case for broader use and eventual regulatory approval of RTX in MS.

Future directions include randomized controlled trials, earlier positioning in treatment algorithms, and biomarker-driven patient selection strategies to optimize RTX use.



PUBBLICAZIONI E COMUNICAZIONI A CONGRESSI PUBLICATIONS AND CONGRESS PRESENTATIONS

- *Il manoscritto è ad oggi under review nella rivista "Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry" (JNNP)*
- *The manuscript is currently under review in the "Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry" (JNNP)*

Fenotipi di peggioramento della disabilità nella SM a esordio recidivante: un approccio basato sui dati dal Registro Italiano della SM



Ermelinda De Meo MD

Università degli Studi di Firenze, Firenze Italia
University College of London, London, UK

PREMESSE E OBIETTIVI

Questo studio ha identificato fenotipi distinti di “peggioremento della disabilità” nei pazienti con Sclerosi Multipla (SM) a esordio con ricadute, utilizzando i dati del Registro Italiano SM. In 2.563 pazienti non trattati è stato applicato un modello a classi latenti per analizzare i punteggi EDSS longitudinali, identificando quattro fenotipi: peggioramento minimo, peggioramento tardivo, peggioramento precoce e peggioramento rapido.

RISULTATI

Ogni fenotipo ha mostrato caratteristiche cliniche e di risonanza magnetica (RM) specifiche. I fenotipi più aggressivi (precoce e rapido) presentavano EDSS più elevato all'esordio, maggior carico lesionale e coinvolgimento midollare. Il modello è stato validato con cross-validation e applicato a 2.952 pazienti trattati con DMT, selezionati tramite propensity score. Un algoritmo di machine learning (random forest) è stato addestrato per prevedere l'assegnazione del

fenotipo con un'accuratezza del 71%.

Sono stati analizzati i meccanismi di peggioramento della disabilità (RAW e PIRA), mostrando una predominanza della PIRA in tutti i fenotipi. Tuttavia, i pazienti con peggioramento rapido avevano una maggiore quota di RAW, suggerendo un danno infiammatorio precoce. Nei pazienti trattati, le traiettorie di disabilità osservate sono state confrontate con quelle previste: i DMT ad alta efficacia o con escalation hanno ridotto significativamente la progressione, in particolare nei fenotipi più gravi.

È stato introdotto uno “z-score di disabilità” per quantificare la deviazione dalla traiettoria prevista, fornendo un indicatore personalizzato della risposta al trattamento.

CONCLUSIONI

Sebbene il modello richieda validazione esterna e non includa dati cognitivi o biomarcatori avanzati, rappresenta un approccio innovativo centrato sul paziente per ottimizzare prognosi e trattamento nella SM.

Disability Worsening Phenotypes in Relapse-Onset MS: A Data-Driven Approach from the Italian MS Register

INTRODUCTION AND AIMS

This study aimed to identify distinct “disability worsening phenotypes” in patients with relapse-onset Multiple Sclerosis (MS), using data from the Italian MS Register. A

cohort of 2,563 untreated patients was analysed through latent class mixture models to uncover homogeneous disability trajectories based on Expanded Disability Status Scale (EDSS) scores. Four phenotypes emerged: min-

imal-worsening, late-worsening, early-worsening, and rapid-worsening.

RESULTS

Each phenotype showed unique baseline clinical and MRI characteristics, with early- and rapid-worsening phenotypes displaying more aggressive profiles (higher EDSS, lesion load, and spinal cord involvement). The model was validated using cross-validation and then applied to an independent cohort of 2,952 DMT-treated patients matched via propensity scores. A machine learning model (random forest) was trained to predict phenotype classification from baseline data with 71% accuracy.

Relapse-associated worsening (RAW) and progression independent of relapse activity (PIRA) were analysed, revealing that PIRA predominates in all phenotypes.

Nonetheless, rapid-worsening patients had a higher RAW proportion, suggesting early inflammatory damage. Disability trajectories in treated patients were compared with predicted ones. High- and escalating-efficacy DMTs were most effective in reducing disability accrual, particularly in early and rapid-worsening phenotypes.

To enable clinical implementation, a “disability z-score” was introduced to measure deviation from predicted disability, offering a personalised treatment response index.

CONCLUSIONS

While the model needs external validation and does not include cognitive or advanced MRI metrics, it offers a novel patient-centric framework for prognosis and DMT optimisation in MS.



PUBBLICAZIONI E COMUNICAZIONI A CONGRESSI PUBLICATIONS AND CONGRESS PRESENTATIONS

- *Presentation at the 40th Congress of the ECTRIMS (2024)*
- *Manuscript currently under revision*

PROGETTI DI RICERCA E BORSE DI STUDIO FINANZIATI DA FISM 2024, 2023

FUNDED RESEARCH PROJECTS
AND FELLOWSHIPS 2024, 2023



Progetti di ricerca e borse di studio finanziati da FISM 2024

FISM funded research projects and fellowships 2024

DATA SHARING / DATA SHARING

Gianmarco Bellucci

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

Decifrare la complessità della sclerosi multipla mediante big data, intelligenza artificiale e grafi di conoscenza biomedica

Disentangling multiple sclerosis multiplicity leveraging big data, artificial intelligence and biomedical knowledge graphs

Borsa di Ricerca / Research Fellowship
€ 65.000 - 2 anni/ years

Floris Matteo

Univ degli Studi di Sassari
Dipartimento di Scienze Biomediche, Sassari

Analisi farmacoepidemiologica del Registro Italiano Sclerosi Multipla per il disegno di studi farmacogenetici delle DMT

Pharmacoepidemiological analysis of the Italian Multiple Sclerosis Registry for the design of pharmacogenetic studies of disease modifying therapies

Progetto di Ricerca / Research Project
€ 35.000 - 1 anno / year

CAUSE DELLA SM E FATTORI DI RISCHIO / THE CAUSES OF MS AND RISK FACTOR

Mandolesi Giorgia

IRCCS-San Raffaele Pisana,
Laboratorio di Immunopatologia Sinaptica, Roma

La sinaptopatia mediata dai linfociti B nella sclerosi multipla: impatto del metabolismo e dell'infezione da EBV

B cell-mediated synaptopathy in multiple sclerosis: the impact of metabolism and EBV infection

Progetto di Ricerca / Research Project
€ 185.000 - 2 anni / years

Veronica Ceci

IRCCS Fondazione Santa Lucia
Risoluzione della Neuroinfiammazione, Roma

Investigazione del ruolo pro-risolutivo del Plesso Coroideo nella Patogenesi della Sclerosi Multipla

Dissecting the pro-resolving role of the Choroid Plexus in the Pathogenesis of Multiple Sclerosis

Borsa di Ricerca Senior / Senior Research Fellowship
€ 35.000 - 1 anno / year

Luca De Feo

Istituto Clinico Humanitas
Department Leukocyte Biology, Pieve Emanuele (MI)

Caratterizzazione del ruolo di MS4A4A e MS4A6A nel processo patogenetico della sclerosi multipla

Deciphering the contribution of MS4A4A and MS4A6A in the multiple sclerosis pathogenesis

Progetto di Ricerca / Research Project
€ 34.736,84 - 1 anno / year

Antonella Mini

University of Miami
Miller School of Medicine
Neurological Surgery, Weston, FL

Studio dei meccanismi di progressione della sclerosi multipla con il modello "inside-out" di demielinizzazione in topi transgenici PLP:mtPstI

Investigating mechanisms of MS disease progression using the PLP:mtPstI inside-out model of demyelination

Borsa di Ricerca / Research Fellowship
€ 84.000 - 2 anni/ years

Domizia Vecchio

AOU Maggiore della Carità di Novara
Neurologia, Novara

Studio in vitro del nuovo modulatore negativo per l'ingresso del StoreOperated Calcium Entry sulle cellule immunitarie dei pazienti con sclerosi multipla (STOP-MS)

In vitro evaluation of novel Store-Operated Calcium Entry negative modulator on immune cells of Patients with Multiple Sclerosis (STOP-MS)

Progetto di Ricerca / Research Project

€ 35.000 - 1 anno / year

DIAGNOSI E MONITORAGGIO DELLA MALATTIA / DIAGNOSIS AND MONITORING OF THE DISEASE

Francesca Benedetta Pizzini

Università degli Studi di Verona
Dipartimento di Ingegneria per la Medicina di Innovazione (DIMI), Verona

Gradient Recalled Echo quantitativa (qGRE): un nuovo MRI biomarker di neurodegenerazione in sclerosi multipla

Quantitative Gradient Recalled Echo (qGRE) technique: novel MRI biomarker of neurodegeneration in multiple sclerosis

Progetto di Ricerca / Research Project

€ 120.000 - 3 anni / years

Matteo Gastaldi

Fondazione Istituto
Neurologico C. Mondino Neuroimmunology lab, Pavia

Rilevanza clinica, prognostica e patogenetica degli anticorpi conformazionali diretti contro la proteina proteolipidica 1 in malattie demielinizzanti autoimmuni del sistema nervoso centrale

Clinical, prognostic and pathogenic relevance of conformational antibodies to proteolipid 1 protein in MOGAD, seronegative NMOSD, MS and other autoimmune demyelinating diseases of the CNS

Progetto di Ricerca / Research Project

€ 179.550 - 2 anni / years

NEURORIABILITAZIONE E QUALITÀ DELLA VITA / NEUROREHABILITATION AND QUALITY OF LIFE

Maria Barbara Pasanisi

Istituto IRCCS Santa Maria Nascente
Fondazione Don Gnocchi, Milano

La voce in azione: sviluppo e validazione di un dispositivo indossabile per studiare la voce delle persone con sclerosi multipla durante le attività quotidiane

Voice in action: development and validation of a wearable device to investigate daily-life voice of people with multiple sclerosis

Progetto di Ricerca / Research Project

€ 246.367,20 - 2 anni / years

Claudia Piervincenzi

Sapienza Università di Roma
Human Neuroscience, Roma

Voci dei pazienti, Prospettive Funzionali: Analisi dei correlati funzionali dei Patient-Reported Outcomes nella Sclerosi Multipla

Patient Voices, Functional Insights: Exploring Functional Correlates of Patient-Reported Outcomes in Multiple Sclerosis

Progetto di Ricerca / Research Project

€ 80.430 - 1 anno / year

Michelangelo Dini

Casa di Cura Igea, Milano

Validazione di una versione elettronica del SDMT per il monitoraggio da remoto delle funzioni cognitive nei pazienti con sclerosi multipla

Validation of an Electronic SDMT for Remote Monitoring of People with Multiple Sclerosis

Borsa di Ricerca / Research Fellowship

€ 61.000 - 2 anni / years

Tiziana Lencioni

Fond. Don Carlo Gnocchi
IRCCS Santa Maria Nascente
Lab. Analisi del Movimento e Bioingegneria della Riabilitazione, Milano

Recupero della destrezza manuale nella Sclerosi Multipla: studio di fattibilità su stimolazione elettrica e stimolazione magnetica transcranica per aumentare la neuroplasticità

Restoring manual dexterity in Multiple Sclerosis: a feasibility study combining muscle electrostimulation and transcranial magnetic stimulation to enhance neuroplasticity

Progetto di Ricerca / Research Project

€ 177.325 - 2 anni / years

Maria Barbara Petracca

Sapienza Università di Roma
Dipartimento Neuroscienze Umane, Roma

Prevalenza del deterioramento cognitivo soggettivo in Sclerosi Multipla: uno studio multicentrico

Prevalence of subjective cognitive impairment in Multiple Sclerosis: a multi-center study

Progetto di Ricerca / Research Project

€ 73.609,2 - 2 anni / years

VERSO NUOVI TRATTAMENTI / TOWARDS NEW TREATMENTS

Elisabetta Coppi

Università degli Studi di Firenze
Dipartimento NEUROFARBA Neuroscienze, Psicologia,
Area del Farmaco e Salute del Bambino
Sez. di Farmacologia e Tossicologia, Firenze

Somministrazione intranasale di nuovi antagonisti "misti" dei recettori A2 dell'adenosina per migliorare il danno neurologico e muscolare nel modello murino di encefalomielite sperimentale autoimmune

Intranasal administration of new adenosine A2 receptor antagonists with "mixed" pharmacology to control neurological and muscular impairment caused by experimental autoimmune encephalomyelitis in mice

Progetto di Ricerca / Research Project

€ 135.500 - 2 anni / years

Valerio Castoldi

Università Vita-Salute San Raffaele,
INSPE, Milano

La stimolazione elettrica transcorneale come trattamento neuroprotettivo e rimielinizzante della neurite ottica - uno studio preclinico

Transcorneal electrical stimulation as a neuroprotective and remyelinating treatment of optic neuritis - a preclinical study

Borsa di Ricerca Senior / Senior Research Fellowship

€ 37.400 - 1 anno / year

Stefano Previtali

Università Vita-Salute San Raffaele, Milano

Identificazione dei meccanismi molecolari che promuovono la diffusione della senescenza e di strategie per contenerla per migliorare la neurodegenerazione in un modello murino di SM progressiva

Identification of molecular mechanisms of senescence spreading and strategies to its limitation to revert neurodegeneration in progressive multiple sclerosis - mouse model

Progetto di Ricerca / Research Project

€ 281.052,63 - 3 anni / years

Stefano Ugel

Università degli Studi di Verona
Dip. Medicina, Sez. Immunologia, Verona

Progettazione di cellule dendritiche con mRNA codificante FLIP per promuovere la tolleranza durante l'encefalomielite autoimmune sperimentale (ISTRUIRE)

Designing dendritic cells with FLIP-encoding mRNA to promote tolerance during experimental autoimmune encephalomyelitis (INSTRUCT)

Progetto di Ricerca / Research Project

€ 200.000 - 2 anni / years

Paola Giuseppina Sacerdote

Univ degli Studi di Milano
Dip. Scienze Farmacologiche e Biomolecolari, Milano

Bloccare l'attivazione del sistema delle prokineticine per contrastare il dolore in un modello murino di EAE

Targeting the Prokineticin system as novel approach to counteract pain in a murine EAE model

Progetto di Ricerca / Research Project

€ 35.000 - 1 anno/ year

Raffaele Iorio

FUniversità Cattolica del Sacro Cuore
Facoltà di Medicina e Chirurgia
Dipartimento di Neuroscienze, Roma

Indagine sull'effetto di AQP4-IgG sugli astrociti retinici mediante anticorpi monoclonali umani ricombinanti e organoidi retinici

Investigating the effect of AQP4-IgG on Retinal Astrocytes Using Recombinant Human Monoclonal Antibodies and Retinal Organoids

Progetto di Ricerca / Research Project

€ 30.000 - 1 anno/ year

Laura Marongiu

Università di Milano-Bicocca
Biotechnologie e Bioscienze, Milano

Espansione diretta in situ delle cellule staminali neurali come approccio terapeutico innovativo per il trattamento della sclerosi multipla

Direct in situ expansion of neural stem cells as an innovative therapeutic approach for the treatment of multiple sclerosis

Progetto di Ricerca / Research Project

€ 35.000 - 1 anno / year

Valentina Murtaj

Università Vita-Salute San Raffaele
Facoltà di Medicina
Div. Neuroscienze, Milano

Tracciamento tramite MRI con fluoro-19 di precursori neurali per la terapia cellulare della Sclerosi Multipla

Fluorine-19 MRI tracking of neural precursor cells for MS cell therapy

Progetto di Ricerca / Research Project

€ 33.100 - 1 anno / year

Elisabetta Volpe

Fondazione Santa Lucia
Molecular Neuroimmunology, Roma

Interleuchina-9: caratterizzazione della sua fonte nel cervello di pazienti con sclerosi multipla progressiva per migliorare la neuroprotezione

Interleukin-9: characterization of the source in the brain of progressive multiple sclerosis patients to improve neuroprotection

Progetto di Ricerca / Research Project

€ 100.000 - 2 anni / years

Sara Mariotto

Ospedale Borgo Roma
AOUI Verona
Dipartimento di Neuroscienze, Biomedicina e Movimento,
Univr, Verona

Studio prospettico longitudinale multicentrico che analizza i fattori determinanti la disabilità residua nei pazienti con malattia da anticorpi anti-proteina oligodendrocitaria della mielina (MOGAD)

A multicenter longitudinal prospective study to assess determinants of residual disability in patients with myelin oligodendrocyte glycoprotein antibody-associated disease (MOGAD)

Progetto di Ricerca / Research Project

€ 445.410 - 3 anni / years

Progetti di ricerca e borse di studio finanziati da FISM 2023

FISM funded research projects and fellowships 2023

CAUSE DELLA SM E FATTORI DI RISCHIO / THE CAUSES OF MS AND RISK FACTOR

Giovanna Borsellino

Fondazione Santa Lucia, Roma

Risposte immunitarie ai virus in persone con sclerosi multipla

Antigen-specific and bystander immune responses to viruses in persons with multiple sclerosis

Progetto di Ricerca / Research Project

€ 200.000 - 2 anni / years

Marta Pirronello

IRCCS Fondazione Santa Lucia, Dipartimento di Neuroimmunologia, Roma

Linfociti T AQP4-specifici e variazioni delle sottopopolazioni di linfociti B durante il decorso della neuromielite ottica

AQP4-specific T cells and fluctuations in B cell subsets during the course of NMOSD

Borsa di Ricerca / Research Fellowship

€ 56.000 - 2 anni / years

Jens Geginat

Università degli Studi di Milano, Dipartimento di Scienze Cliniche e di Comunità, Milano

Ruolo del midollo osseo nel mantenimento di T cell subsets patogenici o protettivi

Role of the bone marrow in the maintenance of pathogenic or protective CD4+T-cell subsets in multiple sclerosis

Progetto di Ricerca / Research Project

€ 180.000 - 2 anni / years

Lara Gibellini

Università degli Studi di Modena e Reggio Emilia, Dipartimento di Scienze Mediche e Chirurgiche Materno-Infantili e dell'Adulto, Modena

SM e invecchiamento: il ruolo dell'immunosenescenza e dell'inflamm-aging nella severità della malattia

MS in the elderly population: immunosenescence, inflamm-aging and their relation to disease severity

Progetto di Ricerca / Research Project

€ 30.000 - 1 anno / year

Gloria Dalla Costa

Harvard University, Department of Nutrition, Harvard T.H. Chan School of Public Health, Boston, Massachusetts, USA

Identificazione di metaboliti ignoti e vie biologiche associate a progressione della disabilità nella sclerosi multipla: un'analisi dettagliata dello Studio BENEFIT

Unraveling unknown metabolites and pathways in MS disability progression: a comprehensive analysis of the BENEFIT Study

Borsa di Ricerca Senior / Senior Research Fellowship

€ 97.000 - 2 anni / years

Roberta Magliozzi

Università degli Studi di Verona, Dipartimento di Neuroscienze, Biomedicina e Scienze Motorie, Verona

Studiare l'immunopatologia dell'infiammazione meningeale compartmentalizzata nella sclerosi multipla: analisi combinata neuropatologica, trascrittomico e proteico di campioni SM autoptici cerebrali e CSF

Understanding immunopathology of compartmentalized meningeal inflammation in multiple sclerosis: combined neuropathology, transcriptomic and protein study of post-mortem MS brain and CSF samples

Progetto di Ricerca / Research Project

€ 166.000 - 3 anni / years

Melissa Sorosina

IRCCS San Raffaele, INSPE, Ospedale San Raffaele, Milano

Identificazione dei fattori ormonali coinvolti nella progressione della sclerosi multipla

Identification of hormonal factors involved in multiple sclerosis disease progression

Progetto di Ricerca / Research Project

€ 100.275 - 1 anno / year

Maura Malpetti

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

Caratterizzazione in vivo della perdita sinaptica in pazienti con sclerosi multipla

Characterising in vivo synaptic loss in patients with multiple sclerosis

Progetto di Ricerca / Research Project

€ 29.905,56 - 1 anno / year

Laura Bellingacci

Università degli Studi di Perugia, Dipartimento Medicina e Chirurgia, Perugia

Infiammazione e trasmissione dopaminergica centrale nell'EAE: implicazioni per i sintomi psichiatrici e cognitivi nella SM

Inflammation and central dopaminergic transmission in the EAE brain: implications for psychiatric and cognitive symptoms in MS

Borsa di Ricerca / Research Fellowship

€ 62.000 - 2 anni / years

DIAGNOSI E MONITORAGGIO DELLA MALATTIA / DIAGNOSIS AND MONITORING OF THE DISEASE

Cecilia Irene Bava

Istituto di Neuroscienze della Fondazione Cavalieri Ottolenghi (NICO), Laboratorio di Neurobiologia Clinica (CRESM), Orbassano (TO)

Implementazione del dosaggio di GFAP, insieme a NFL nei pazienti con sclerosi multipla progressiva: un potenziale strumento per la misura oggettiva dei sintomi e segni di malattia

Implementation of GFAP, in addition to NFL, in progressive multiple sclerosis patients: a potential tool for objective measuring of clinical and patient-reported outcomes

Borsa di Ricerca / Research Fellowship

€ 25.500 - 1 anno / year

Massimiliano Di Filippo

Università degli Studi di Perugia, Dipartimento di Medicina e Chirurgia, Perugia

Quantificazione della disfunzione sinaptica nella sclerosi multipla mediante un pannello di biomarcatori del liquido cerebrospinale: uno studio pilota

Quantifying synaptic dysfunction in multiple sclerosis by means of a cerebrospinal fluid biomarker panel: a pilot study

Progetto di Ricerca / Research Project

€ 29.450 - 1 anno / year

Marcello Pinti

Università degli Studi di Modena e Reggio Emilia, Dipartimento di Scienze della Vita, Modena

Biosensori EGOFET per il monitoraggio ad alta sensibilità di neurofilamenti nella sclerosi multipla

EGOFET biosensors for high sensitivity monitoring of neurofilaments in multiple sclerosis

Progetto di Ricerca / Research Project

€ 70.000 - 1 anno / year

NEURORIABILITAZIONE E QUALITÀ DELLA VITA / NEUROREHABILITATION AND QUALITY OF LIFE

Silvia Marennà

Università Vita-Salute San Raffaele, INSPE Istituto di Neurologia Sperimentale, Milano

Stimolazione transcranica di corrente elettrica per rigenerare la mielina in modello di topo di encefalomielite autoimmune sperimentale

Transcranial direct current stimulation to restore myelin in experimental autoimmune encephalomyelitis mouse model

Borsa di Ricerca Senior / Senior Research Fellowship

€ 74.800 - 2 anni / years

Filippo Martinelli Boneschi

ASST Santi Paolo e Carlo, San Paolo University Hospital, Neurologia I, Milano

Studio della efficacia della stimolazione diretta transcranica erogata a domicilio sulla fatica, disabilità e biomarcatori di danno assonale ed attivazione astrocitica in sclerosi multipla

Study of the efficacy of home-based transcranial direct-current stimulation (tDCS) on fatigue, disability and biomarkers of axonal damage and astrocytic activation in multiple sclerosis

Progetto di Ricerca / Research Project

€ 225.894,74 - 2 anni / years

Federica Scarpina

I.R.C.C.S. Istituto Auxologico Italiano, U.O. di Neurologia e Neuoriabilitazione, Ospedale San Giuseppe Piancavallo (VB)

Evidenze comportamentali e neurofisiologiche della modulazione della fatica nella sclerosi multipla, forma recidivante-remittente: uno studio pilota

Behavioral and electrophysiological evidence of the modulation of fatigue in multiple sclerosis, relapsing remitting form: a pilot study

Progetto di Ricerca / Research Project

€ 30.000 - 1 anno / year

Franca Tecchio

CNR Consiglio Nazionale delle Ricerche, ISTC, Roma

Sollievo dalla fatica nelle persone con sclerosi multipla: consolidamento della neuromodulazione domiciliare personalizzata [FaremusS1H]

Fatigue Relief in people with multiple sclerosis: consolidating personalized home neuromodulation [FaremusS1H]

Progetto di Ricerca / Research Project

€ 181.000 - 2 anni / years

Maria Luisa Gandolfi

Università di Verona, Dipartimento di Neuroscienze, Biomedicina e Scienze del Movimento, Verona

L'efficacia di un programma di teleriabilitazione motoria digitale a domicilio combinato con riabilitazione convenzionale nella sclerosi multipla progressiva: studio multicentrico randomizzato e controllato

The effectiveness of combining a home-based digital motor telerehabilitation program with conventional therapy in progressive multiple sclerosis: a multicentre, randomized controlled trial

Progetto di Ricerca / Research Project

€ 240.600 - 2 anni / years

Loenzo Masia

Heidelberg University, Faculty of Engineering Sciences, Heidelberg, Germany

Robotica indossabile per la sclerosi multipla

SERIOUS Soft wEarable RobotIcs fOr mUltiple Sclerosis

Progetto di Ricerca / Research Project

€ 400.680 - 3 anni / years

VERSO NUOVI TRATTAMENTI / TOWARDS NEW TREATMENTS

Giorgio Grasselli

IRCCS Ospedale Policlinico San Martino, IIT-NSYN, Genova

Modulazione dell'eccitabilità neuronale come bersaglio terapeutico precoce per prevenire la neurodegenerazione nell'EAE

Modulation of neuronal excitability as an early therapeutic target to prevent neurodegeneration in EAE

Progetto di Ricerca / Research Project

€ 239.343,82 - 3 anni / years

Valerio Chiurchiù

IRCCS Fondazione Santa Lucia, Laboratorio di Risoluzione della Neuroinfiammazione, Roma

Stimolare la risoluzione dell'infiammazione come nuova strategia per modulare la neuroinfiammazione, promuovere la rimielinizzazione e prevenire la progressione della malattia nella SM

Boosting Resolution of inflammation as a novel strategy to modulate neuroinflammation, to promote remyelination and to slow down disease progression in MS

Progetto di Ricerca / Research Project

€ 136.600 - 2 anni / years

Martina Absinta

Università Vita-Salute San Raffaele, Dipartimento di Neuroscienze, Milano

Modello cellulare tridimensionale di infiammazione cronica in sclerosi multipla derivante da cellule staminali: verso una piattaforma per lo studio di composti ad attività farmacologica

Glial-enriched stem-cell 3D model of smoldering inflammation in multiple sclerosis: towards a drug screening cellular platform

Progetto di Ricerca / Research Project

€ 153.000 - 3 anni / years

Francesca Fagiani

IRCCS San Raffaele, Dipartimento di Neuroscienze, Milano

Modello tridimensionale di infiammazione cronica in sclerosi multipla derivante da cellule staminali: verso una piattaforma per lo studio di composti ad attività farmacologica

Glial-enriched stem-cell 3D model of smoldering inflammation in multiple sclerosis: towards a drug screening cellular platform

Borsa di Ricerca / Research Fellowship

€ 61.000 - 2 anni / years

Enrico Moro

Università degli Studi di Padova, Dipartimento di Medicina Molecolare, Padova

Impiego di molecole mirate ad indurre la remielinizzazione in un modello di pesce zebra di demielinizzazione focale come strategia per il trattamento della sclerosi multipla

Leveraging targeted small molecules to boost remyelination in a focal demyelination zebrafish model as a strategy for the treatment of multiple sclerosis

Progetto di Ricerca / Research Project

€ 99.000 - 2 anni / years

Antonella Ragnini-Wilson

Università degli Studi di Roma Tor Vergata, Dipartimento di Biologia, Macroarea Scienze, Roma

Il ricettore Smoothened come target farmacologico per promuovere la rigenerazione mielinica

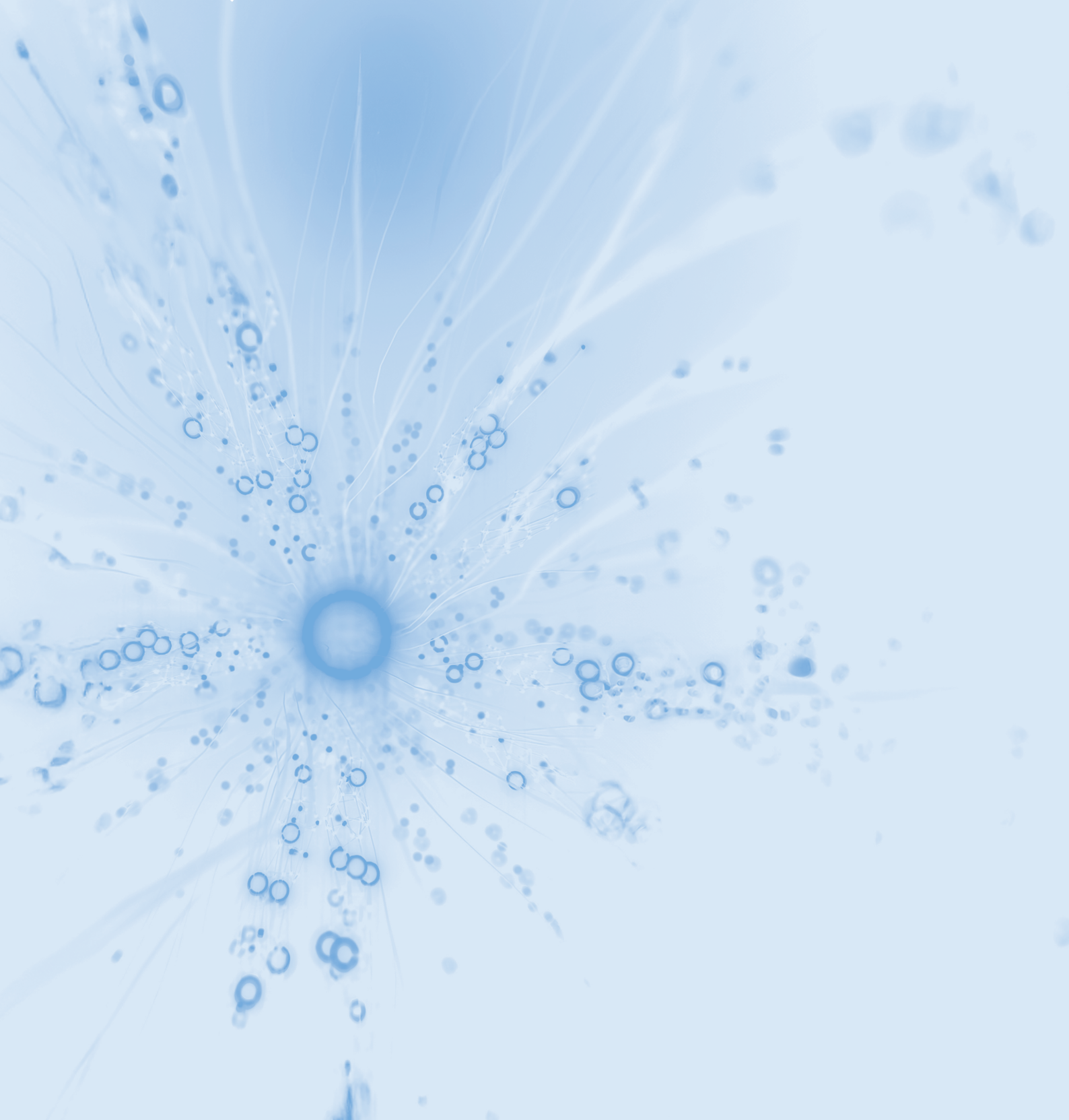
Targeting Smoothened/AMPK pathway to boost central nervous system remyelination

Progetto di Ricerca / Research Project

€ 246.750 - 3 anni / years

COMITATO SCIENTIFICO FISM
2024, 2023

FISM SCIENTIFIC COMMITTEE
2024, 2023



2024 Biomedical Research FISM Scientific Committee

Maria Pia Abbracchio

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

Martina Absinta

Fondazione Centro San Raffaele, Neuroimaging Research Unit, Division of Neuroscience,
Institute of Experimental Neurology, Milano, Italia

Clara Ballerini

Ad hoc

NEUROFARBA Dipartimento di Neuroscienze, Psicologia, Area del Farmaco e Salute del Bambino,
Università di Firenze, Firenze, Italia

Luca Battistini

IRCCS S. Lucia Neuroimmunology Unit European Centre for Brain Research, Roma, Italia

Benedetta Bodini

Institut du cerveau et de la moelle épinière (ICM), Hôpital Pitié Salpêtrière, Paris, France

Roberta Brambilla

University of Miami, The Miami Project To Cure Paralysis, Miller School of Medicine, Miami, USA

Valerio Chiurchiù

Istituto di Farmacologia Traslazionale (IFT)

European Center for Brain Research (CERC), IRCCS Fondazione Santa Lucia, Roma, Italia

Gabriela Constantin

Chairman

Dipartimento di Patologia e Diagnostica, Università degli Studi di Verona, Verona, Italia

Roberto Furlan

Ad hoc

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

Roberta Magliozzi

Dipartimento di Neuroscienze, Biomedicina e Scienze Motorie, Università degli Studi di Verona, Verona, Italia

Filippo Martinelli - Boneschi

ASST-Santi Paolo e Carlo, Milano, Italia

Giuseppe Matarese

Ad hoc

Dipartimento di Medicina Molecolare e Biotecnologie Mediche, Università di Napoli "Federico II", Napoli, Italia

Paolo Muraro

Department of Brain Sciences, Imperial College London, London, UK

Stefano Previtali

Ospedale San Raffaele, Milano, Italia

Giovanni Ristori

Ad hoc

Centro Neurologico Terapie Sperimentali (CENTERS), Neurologia e Dipartimento di Neuroscienze,
Salute Mentale e Organi di Senso NESMOS, Ospedale Sant'Andrea, Sapienza Università di Roma, Roma, Italia

2024 Social & Behavioural Science Research FISM Scientific Committee

Marta Bassi

Dipartimento di Scienze Biomediche e Cliniche, Università degli Studi di Milano, Milano, Italia

Marco Capobianco

Istituto di Neuroscienze della Fondazione Cavalieri Ottolenghi (NICO)

AOU San Luigi Gonzaga, Neurologia, Orbassano (TO), Italia

Davide Cattaneo

Dipartimento di Fisiopatologia e Trapianti, Università degli Studi di Milano, Milano, Italia

Roshan das Nair

University of Nottingham, Nottingham UK

SINTEF Digital, Health Services Research, Trondheim, Norway

Lorenzo De Michieli

Rehab Technologies - INAIL-IIT; Genova, Italia

Lars Næsby Hvid

Aarhus University, Aarhus C, Denmark

Matteo Laffranchi

Ad hoc

Rehab Technologies - INAIL-IIT; Genova

Jaume Sastre-Garriga

Chairman

Neurology-Neuroimmunology Department, Multiple Sclerosis Centre of Catalonia (Cemcat), Barcelona, Spain

Carlo Trompetto

IRCCS Ospedale Policlinico San Martino, Dipartimento di Neuroscienze, Riabilitazione, Oftalmologia, Genetica e Scienze

Materno-Infantili (DINOEMI), Università degli Studi di Genova, Genova, Italia

2023 Biomedical Research FISM Scientific Committee

Maria Pia Abbraccio

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

Martina Absinta

Fondazione Centro San Raffaele, Neuroimaging Research Unit, Division of Neuroscience,
Institute of Experimental Neurology, Milano, Italia

Clara Ballerini

Ad hoc

NEUROFARBA Dipartimento di Neuroscienze, Psicologia, Area del Farmaco e Salute del Bambino,
Università di Firenze, Firenze, Italia

Luca Battistini

IRCCS S. Lucia Neuroimmunology Unit European Centre for Brain Research, Roma, Italia

Benedetta Bodini

Institut du cerveau et de la moelle épinière (ICM), Hôpital Pitié Salpêtrière, Paris, France

Roberta Brambilla

University of Miami, The Miami Project To Cure Paralysis, Miller School of Medicine, Miami, USA

Valerio Chiurchiù

Istituto di Farmacologia Traslazionale (IFT)

European Center for Brain Research (CERC), IRCCS Fondazione Santa Lucia, Roma, Italia

Gabriela Constantin

Dipartimento di Patologia e Diagnostica, Università degli Studi di Verona, Verona, Italia

Roberto Furlan

Ad hoc

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

Roberta Magliozzi

Dipartimento di Neuroscienze, Biomedicina e Scienze Motorie, Università degli Studi di Verona, Verona, Italia

Filippo Martinelli - Boneschi

ASST-Santi Paolo e Carlo, Milano, Italia

Giuseppe Matarese

Dipartimento di Medicina Molecolare e Biotecnologie Mediche, Università di Napoli "Federico II", Napoli, Italia

Paolo Muraro

Department of Brain Sciences, Imperial College London, London, UK

Stefano Previtali

Ospedale San Raffaele, Milano, Italia

Giovanni Ristori

Ad hoc

Centro Neurologico Terapie Sperimentali (CENTERS), Neurologia e Dipartimento di Neuroscienze,
Salute Mentale e Organi di Senso NESMOS, Ospedale Sant'Andrea, Sapienza Università di Roma, Roma, Italia

2023 Social & Behavioural Science Research FISM Scientific Committee

Marta Bassi

Dipartimento di Scienze Biomediche e Cliniche, Università degli Studi di Milano, Milano, Italia

Marco Capobianco

Istituto di Neuroscienze della Fondazione Cavalieri Ottolenghi (NICO)

AOU San Luigi Gonzaga, Neurologia, Orbassano (TO), Italia

Davide Cattaneo

Dipartimento di Fisiopatologia e Trapianti, Università degli Studi di Milano, Milano, Italia

Roshan das Nair

University of Nottingham, Nottingham UK

SINTEF Digital, Health Services Research, Trondheim, Norway

Lorenzo De Michieli

Rehab Technologies - INAIL-IIT; Genova, Italia

Lars Næsby Hvid

Aarhus University, Aarhus C, Denmark

Jaume Sastre-Garriga

Neurology-Neuroimmunology Department, Multiple Sclerosis Centre of Catalonia (Cemcat), Barcelona, Spain

Carlo Trompetto

IRCCS Ospedale Policlinico San Martino, Dipartimento di Neuroscienze, Riabilitazione, Oftalmologia, Genetica e Scienze

Materno-Infantili (DINOI), Università degli Studi di Genova, Genova, Italia

AISM, Associazione Italiana Sclerosi Multipla, è l'unica organizzazione in Italia che si occupa in modo strutturato e organico di tutti gli aspetti legati alla sclerosi multipla (SM) e patologie correlate, attraverso una prospettiva d'insieme che abbraccia il tema dei diritti, i servizi sanitari e socio-sanitari, la promozione, l'indirizzo e il finanziamento della ricerca scientifica. Le patologie correlate includono lo spettro delle malattie della neuromielite ottica (NMOSD) e MOGAD, che necessitano di un'attenzione simile alla SM.

Per la ricerca, per individuare terapie e trattamenti efficaci a rallentare il decorso della malattia e per trovare, domani, una cura risolutiva, mettiamo in campo tutte le risorse, grazie anche, dal 1998, al lavoro della Fondazione Italiana Sclerosi Multipla (FISM). In questi ultimi 20 anni lo scenario di chi affronta ogni giorno la SM o patologie correlate è molto cambiato, grazie all'impatto positivo di farmaci e interventi terapeutici. A determinare questo risultato ha concorso la nostra capacità di indirizzare la ricerca scientifica verso l'eccellenza e l'innovazione, a livello nazionale e internazionale.

The Italian Multiple Sclerosis Society (AISM) is the only organization in Italy that deals with every aspect of multiple sclerosis (MS) and related pathologies with a structured and organic approach. AISM has an all-round perspective that covers points such as advocating for the rights of people with MS, health and social services, promotion, orientation and funding scientific research. The pathologies linked to MS include Neuromyelitis optica spectrum disorders (NMOSD) and MOGAD, which require similar attention from health and social services as MS.

Thanks to its Multiple Sclerosis Research Foundation (FISM), established in 1998, AISM promotes research to accelerate the discovery of effective therapies and treatments that slow the progression of the disease and to ensure that one day a definitive cure can be found.

Over the past 20 years, the scenario for people dealing with MS everyday has undergone radical change, thanks to the positive impact of new drugs and therapeutic advances. AISM has made a significant contribution to achieving these results thanks to our ability to orientate scientific research towards excellence and innovation on a national and international level.

Numero Verde AISM

800.80.30.28

www.aism.it