



**Invecchiamento sano
e attivo, dalla ricerca
alle prospettive
di cura: risultati
dell'Aging Project UPO**

ABSTRACT BOOK

ABSTRACT BOOK

Sessione di apertura plenaria (Aula Magna)

- 10.30 - 10.50 **Saluti di benvenuto**
- Gianluca Aimaretti, Gian Carlo Avanzi, Alessandro Canelli, Marco Krenagli, Gianfranco Zulian
- 10.50 - 11.10 **Presentazione Aging Project UPO**
- Gianluca Aimaretti - Mattia Bellan
- 11.10 - 11.30 **Saluto Introduttivo**
- Alessandro Barbero

Sessione 1A (Aula Magna)

- 11.30 - 13.00 **I meccanismi molecolari dell'invecchiamento: dalla cellula alla malattia**
- Moderatori:** Daniela Ferrari e Antonia Follenzi
- 11.30 - 12.00 **Modeling age-related neurological diseases in vitro**
- Joel Glover
- 12.00 - 12.30 **Senescenza nell'invecchiamento delle cellule staminali**
- Raffaella Di Micco
- 12.30 - 13.00 **Risultati dall'Aging Project UPO**
- Discussant Umberto Dianzani
 - Nicoletta Filigheddu
 - Marco Varalda

Sessione 1B (Aula CS03)

- 11.30 - 13.00 **Osteoporosi**
- Moderatori:** Carlo Cisari e Marco Minetto
- 11.30 - 12.00 **Patogenesi e meccanismi molecolari dell'osteoporosi**
- Marco Invernizzi
- 12.00 - 12.30 **Opzioni terapeutiche e gestione clinica**
- Alessio Baricich
- 12.30 - 13.00 **Risultati dall'Aging Project UPO**
- Discussant Paolo Marzullo
 - Daiana Campani
 - Carmela Rinaldi
- 13.00 - 14.30 **Light lunch and Poster Viewing**

Sessione 2 Plenaria (Aula Magna)

- 14.30 - 16.00 **Efficacia dei farmaci e dei nutraceutici nella modulazione dei meccanismi dell'invecchiamento**
- Moderatori:** Roberto Cantello e Armando Genazzani
- 14.30 - 15.00 **Le nuove frontiere terapeutiche nella malattia di Alzheimer**
- Andrea Arighi
- 15.00 - 15.30 **L'estratto standardizzato di Equisetum arvense per combattere l'osteosarcopenia durante l'invecchiamento**
- Francesca Riuzzi
- 15.30 - 16.00 **Risultati dall'Aging Project UPO**
- Discussant Claudio Molinari
 - Nicoletta Filigheddu
 - Cristoforo Comi
- 16.00 - 16.30 **Coffee break**
- 16.30 - 18.00 **Relazioni dagli abstract (Aula Magna)**
- Moderatori:** Francesco Della Corte e Giuseppe Patti

Sessione 3A (Aula CS03)

9.00 - 10.30

Multimica dell'invecchiamento**Moderatori:**

Marisa Gariglio e Lia Rimondini

9.00 - 9.30

Metaboliti plasmatici dell'invecchiamento

- Annalisa Chiocchetti

9.30 - 10.00

Microbioma intestinale, invecchiamento e malattie cardiovascolari

- Clelia Peano

10.00 - 10.30

Risultati dall'Aging Project UPO

- Discussant Alessandra Gennari
 - Sandra D'Alfonso
 - Alessandra Gennari

Sessione 3B (Aula Magna)

9.00 - 11.00

La sfida dell'invecchiamento in tempi della pandemia**Moderatori:**

Valerio Dimonte e Massimiliano Panella

9.00 - 9.15

Lettura: L'impatto del Covid-19 sulle cure ospedaliere

- Gian Carlo Avanzi

9.15 - 9.30

La sindrome da Long Covid

- Mattia Bellan

9.30 - 9.45

L'impatto del Covid - 19 sull'assistenza agli anziani

- Ermellina Zanetti

9.45 - 11.00

TAVOLA ROTONDA

- Discussant Gianluca Aimaretti e Paolo Pomati

Pandemia da Covid-19: insegnamenti, e aspetti da dover sviluppare

- Il contesto territoriale SIMG – Pierangelo Lora Aprile
- Ordine dei medici – Lucio Gatti
- Il contesto ospedaliero – Mario Pirisi
- FNOPI / continuità ospedale - territorio – Carmelo Gagliano
- Associazione Piemontese Psicogeriatría – Antonino Cotroneo

11.00 - 11.30

Coffee break**Sessione 4A (Aula Magna)**

11.30 - 13.00

Predittori biologici della salute e della longevità: l'utilità delle Biobanche**Moderatori:**

Vincenzo Cantaluppi e Letizia Mazzini

11.30 - 12.00

Predittori di salute e longevità: messaggi dal "Neuromed Biobanking Centre"

- Maria Benedetta Donati

12.00 - 12.30

Biobanking nell'assistenza sanitaria e nella ricerca traslazionale: il progetto UPO Biobank

- Daniela Capello

12.30 - 13.00

Risultati dall'Aging Project UPO

- Discussant Alberto Dal Molin
 - Vincenzo Cantaluppi
 - Simone Gobbato

Sessione 4B (Aula CS03)11.30 - 13.00 **Promuovere interventi per la salute - Less is more****Moderatori:** Gianluca Aimaretti e Flavia Prodam11.30 - 12.00 **Approccio non farmacologico all'invecchiamento sano**

- Chiara Pavan

12.00 - 12.30 **L'arte della deprescrizione**

- Matteo Grezzana

12.30 - 13.00 **Approcci dietetici che impattano sull'invecchiamento**

- Massimiliano Caprio

13.00 - 14.30 **Light lunch and Poster Viewing****Sessione 5 Plenaria (Aula Magna)**14.30 - 16.30 **Predittori biologici di salute e longevità: cosa abbiamo imparato dalle coorti e cosa possiamo imparare****Moderatori:** Sandra D'Alfonso e Fabrizio Faggiano14.30 - 15.00 **Gli studi di coorte sono ancora utili per la ricerca sull'invecchiamento?**

- Paolo Vineis

15.00 - 15.30 **Biomarcatori biologici dell'invecchiamento nella coorte sarda**

- Francesco Cucca

15.30 - 16.00 **Genetica ed epigenetica dell'invecchiamento sano**

- Paolo Garagnani

16.00 - 16.30 **Risultati dall'Aging Project UPO**

- Discussant Ernesto Salinelli
 - Chiara Aleni
 - Diego Concina

16.30 - 17.00 **Coffee break**17.00 - 18.00 **Relazioni dagli abstract (Aula Magna)****Moderatore:** Mario Malerba18.00 - 18.30 **Take-home message**

- Gianluca Aimaretti, Mattia Bellan, Fabrizio Faggiano

- 9.00 – 9.15 **Saluti istituzionali**
- Moderatore: • Fabrizio Faggiano
- 9.15 – 9.30 **Aging project: un progetto sull'invecchiamento sano e attivo**
- Gianluca Aimaretti
 - Mattia Bellan
- 9.30 – 10.00 **La sanità territoriale al centro del Servizio Sanitario del futuro?**
- Renato Balduzzi
- 10.00 – 10.30 **Active Aging, inventarsi un'altra vita**
- Gianfranco Quaglia
- 10.30 – 11.00 **Uno studio di popolazione sull'invecchiamento nel territorio di Novara: il Novara Cohort Study**
- Daniela Capello
 - Team Biobanca
- 11.00 – 11.30 **Coffee break**
- 11.30 – 12.00 **Le indicazioni in campo di prevenzione e invecchiamento sano per la popolazione: UPO SOGUD e sito Aging**
- Giulia Candiani
 - Massimiliano Panella
 - Carmela Rinaldi
- 12.00 – 13.30 **TAVOLA ROTONDA**
La ricerca incontra i cittadini
- Discussant: Natalia Milazzo

LA RICERCA SULL'INVECCHIAMENTO E L'IMPORTANZA DEGLI STUDI DI COORTE: IL NOVARA COHORT STUDY

**Chiara Aleni¹, Valentina Bettio²⁻³, Eleonora Mazzucco²⁻³,
Silvia Vittoria Cracas³, Annamaria Antona³, Daniela Capello²⁻³,
Fabrizio Faggiano¹**

¹ Dipartimento per lo Sviluppo Sostenibile e la Transizione Ecologica, Università del Piemonte Orientale, 13100 Vercelli, Italia

² UPO Biobank, Università del Piemonte Orientale, 28100 Novara, Italia

³ Dipartimento di Medicina Traslazionale, Università del Piemonte Orientale, 28100 Novara, Italia

chiara.aleni@uniupo.it

Le evidenze epidemiologiche dimostrano che la probabilità di andare incontro ad un invecchiamento sano o accelerato è determinata dalla complessa interazione fra stile di vita, abitudini, ambiente e suscettibilità personale. Data la complessità di queste interazioni, gli studi epidemiologici prospettici basati sulla raccolta di campioni biologici associati a dettagliate informazioni personali rappresentano una risorsa per comprendere le traiettorie di invecchiamento. Grandi studi di coorte internazionali ed europei alla fine del secolo scorso (il Framingham Study negli USA e lo studio EPIC in Europa)^{1,2} hanno dato un contributo essenziale per svelare le basi e i meccanismi dello sviluppo e della eziologia delle malattie.

Negli ultimi anni l'invecchiamento della popolazione europea è diventato un problema estremamente rilevante. I progressi nella scienza medica hanno infatti permesso l'allungamento dell'attesa di vita senza però garantire un miglioramento della qualità degli anni vissuti^{4,5} con gravi ricadute sulle componenti sociali e sanitarie. Per far fronte a questa problematica è necessario comprendere i meccanismi e i fattori coinvolti nell'invecchiamento accelerato in modo da mettere in atto misure di promozione della salute. In Europa, al momento, sono in corso più di 15 grandi studi di popolazione sull'invecchiamento e che mirano ad esaminare le interazioni tra ambiente, abitudini, stili di vita e l'insorgenza di malattie non trasmissibili. In Italia, sono 3 gli studi che indagano l'invecchiamento da punti di vista differenti: lo studio Moli-Sani che focalizza la sua ricerca su malattie cardiovascolari e neurodegenerative⁶, lo studio CHRIS che esplora le variazioni genetiche coinvolte nelle malattie non comunicabili⁷, lo studio SARDINIA che studia la genetica e l'epigenetica dell'invecchiamento⁸. Nel panorama italiano manca ancora però uno studio che vada ad indagare la complessità e i diversi fattori coinvolti non solo nell'insorgenza delle malattie croniche, associate all'avanzamento dell'età ma anche nel favorire e sostenere l'invecchiamento sano.

Nell'ambito della ricerca sull'invecchiamento dell'Aging Project del Piemonte Orientale e con il supporto di UPO Biobank, nasce il Novara Cohort Study (NCS) uno studio di coorte sull'invecchiamento della popolazione Novarese, che si caratterizza per l'approccio multidisciplinare allo studio dei determinanti e dei meccanismi dell'invecchiamento e alla ricerca di soluzioni che promuovano la qualità della vita nella longevità. Grazie alla creazione di una rete collaborativa in cui partecipano i diversi dipartimenti dell'Ateneo, l'AOU Maggiore della Carità e l'ASL di Novara sarà possibile ricavare una fotografia dello stato di salute della popolazione novarese e studiare le traiettorie dell'invecchiamento della popolazione novarese dal punto di vista biologico, sociale, comportamentale e psicologico⁹.

Grazie alla identificazione di potenziali fattori di rischio, il NCS consentirà anche di implementare misure di promozione della salute e di prevenzione primaria, secondaria e

terziaria. Grazie al NCS, gli stakeholder, le istituzioni e i cittadini sono chiamati a svolgere un ruolo attivo, consapevole e responsabile nella ricerca scientifica e ad un confronto diretto con scienziati e medici sui temi riguardanti la ricerca scientifica, la salute e la qualità dell'invecchiamento. I campioni biologici saranno sottoposti ad approfondite analisi molecolari per indagare i biomarcatori di invecchiamento¹⁰. In particolare saranno indagati i biomarcatori di "inflammaging"¹¹; (infiammazione cronica associata all'invecchiamento), fragilità, carico allostatico, modificazioni epigenetiche associate all'invecchiamento biologico ("epigenetic clock")¹² e varianti genetiche associate al rischio di insorgenza di malattie croniche e degenerative (cardiovascolari, metaboliche, neurodegenerative). I campioni e le informazioni associate conservati presso UPO Biobank saranno inoltre resi disponibili a tutta la comunità scientifica nazionale ed internazionale.

¹Framingham Heart Study: <http://www.framinghamheartstudy.org/>; ²European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC); ³UK Biobank: UK Biobank - UK Biobank; ⁴UN. World Population Ageing 2019 (2019).; ⁵ISTAT. Dati ISTAT popolazione Italiana. (2021).; ⁶Iacoviello, L., et al. "on behalf of the Moli-sani Project Investigators. The Moli-Sani Project, a randomized, prospective cohort study in the Molise region in Italy; design, rationale and objectives." Ital J Public Health 4 (2007): 110-118. ⁷Pattaro, C., Gögele, M., Mascalzoni, D. et al. The Cooperative Health Research in South Tyrol (CHRIS) study: rationale, objectives, and preliminary results. J Transl Med 13, 348 (2015). <https://doi.org/10.1186/s12967-015-0704-9>;

⁸<https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00182949>; ⁹Depp, C. A. & Jeste, D. V. Definitions and predictors of successful aging: A comprehensive review of larger quantitative studies. Am. J. Geriatr. Psychiatry 14, 6–20 (2006).; ¹⁰Blodgett JM, Theou O, Howlett SE, Wu FC, Rockwood K. "A frailty index based on laboratory deficits in community-dwelling men predicted their risk of adverse ¹¹Seeman, T E et al. "Allostatic load as a marker of cumulative biological risk: MacArthur studies of successful aging." Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America vol. 98,8 (2001): 4770-5. doi:10.1073/pnas.081072698; healthnoutcomes". Age Ageing. 2016 Jul;45(4):463-8. doi: 10.1093/ageing/afw054.; ¹²Bergsma T, Rogaeva E. DNA Methylation Clocks and Their Predictive Capacity for Aging Phenotypes and Healthspan. Neurosci Insights. 2020 Jul 21;15:2633105520942221. doi:10.1177/2633105520942221

LE NUOVE FRONTIERE TERAPEUTICHE NELLA MALATTIA DI ALZHEIMER

Andrea Arighi

Fondazione IRCCS Ca' Granda Ospedale Maggiore Policlinico, Neurodegenerative Disease Unit, via Francesco Sforza 35, 20122

La malattia di Alzheimer è una patologia neurologica degenerativa che colpisce il cervello, coinvolgendo inizialmente in modo lieve alcune funzioni cognitive, con una evoluzione progressiva, che porta nel tempo il malato a uno stato di totale dipendenza, in una situazione molto complessa e difficile per la famiglia che lo deve assistere.

La malattia di Alzheimer è la più comune malattia neurodegenerativa: si stima che nel mondo venga posta una nuova diagnosi di demenza ogni 3 secondi. Nel mondo si stima circa 46 milioni di pazienti con demenza, dei quali più di un milione sono in Italia. Con l'invecchiamento progressivo della popolazione globale, si stima che il numero di persone affette da demenza raddoppierà nei prossimi 15 anni, con enormi costi assistenziali e sociali. Pertanto la riduzione del rischio di questa malattia sta entrando a tutti gli effetti tra le priorità dell'Organizzazione Mondiale della Sanità.

Oggi purtroppo non esistono farmaci in grado di fermare e far regredire la malattia e tutti i trattamenti disponibili puntano a controllare i sintomi. La messa a punto di nuovi farmaci per la demenza di Alzheimer è un campo in grande sviluppo, per individuare principi attivi che aiutino a prevenire o a rallentare la malattia.

La ricerca attuale nell'ambito della malattia di Alzheimer sta proseguendo su due binari: il primo, quello più noto, è costituito dalla ricerca in ambito farmacologico, per trovare nuove terapie che possano bloccare il processo neurodegenerativo. Le difficoltà ed i fallimenti in questo campo hanno dimostrato ai ricercatori che uno degli obiettivi dei prossimi anni è cercare di utilizzare le nuove terapie nelle fasi iniziali della malattia, addirittura prima dell'esordio dei sintomi. Da questa necessità il secondo binario della ricerca, che è costituito dalla definizione di nuovi biomarcatori, che permettano di predire lo sviluppo della patologia.

Oggi qual è il panorama dei farmaci in fase di studio? Degli ultimi mesi la notizia che alcuni nuovi farmaci per la malattia di Alzheimer sono stati approvati in alcune parti del mondo: quali le conseguenze di questa decisione? Come cambierà l'assistenza ai malati? E nei prossimi anni cosa succederà?

L'IMPATTO DEL COVID-19 SULLE CURE OSPEDALIERE

Gian Carlo Avanzi

La pandemia da Covid-19 in Italia ha generato una situazione emergenziale che ha determinato uno stato di enorme sovraccarico sui sistemi sanitari. L'Italia settentrionale, soprattutto la Lombardia, il Veneto e il Piemonte, sono state le regioni ad essere per prime colpite dalla diffusione pandemica a partire da fine febbraio 2020 ma anche le regioni che hanno avuto un maggiore impatto della Pandemia sul SSN.

Tra il mese di marzo ed aprile 2020, nel pieno della prima ondata della pandemia, i sanitari che si occupavano di Covid-19 erano sopraffatti dalla numerosità dei casi, dall'affollamento degli ospedali, dalla necessità di reperire nuovi posti letto, ossigeno ed erogatori dello stesso, operavano nella più completa mancanza di conoscenze sulla fisiopatologia, sulla clinica e mancanza di elementi di certezza o di accettabile probabilità di efficacia delle terapie proposte per la malattia. L'unica terapia giudicata universalmente utile, ma non sufficiente, nel contrastare l'insufficienza respiratoria, in quel periodo, era la somministrazione di ossigeno.

La conseguenza più evidente della virulenza del virus, e della concomitante presenza dei limiti su esposti, è l'eccesso di mortalità associato alla pandemia Covid-19, calcolato con la differenza tra morti complessive per qualsiasi causa dall'inizio della pandemia ed il livello atteso di decessi calcolato sulla base della media del periodo 2015-2019. L'eccesso di mortalità è stato assunto come rappresentativo della situazione di mortalità pre-Covid. Questo indicatore permette di misurare l'influenza sia diretta che indiretta delle pandemie fornendo una misura complessiva dell'impatto delle stesse sulla mortalità. L'eccesso di mortalità associato a Covid-19 è stato drammatico, l'analisi condotta dall'ISS e dall'ISTAT dimostra che dall'inizio pandemia (marzo 2020) alla fine di gennaio 2022 l'eccesso di mortalità totale, rispetto alla media 2015-2019, è stato di 178 mila decessi. Nel 2020 il totale dei decessi per il complesso delle cause è stato il più alto mai registrato nel nostro Paese dal secondo dopoguerra: 746.146 decessi, 100.526 decessi in più rispetto alla media 2015-2019 (15,6% di eccesso). A partire dal secondo semestre del 2021 il totale dei decessi per il complesso delle cause è progressivamente e sensibilmente calato grazie alla campagna vaccinale.

OSTEOPOROSI: OPZIONI TERAPEUTICHE E GESTIONE CLINICA

Alessio Baricich^{1,2}, Margherita Borg³

¹ S.C.D.U. Medicina Fisica e Riabilitativa, AOU Maggiore della Carità, Novara

² Dipartimento di Scienze della Salute (DISS) – Università del Piemonte Orientale, Novara

³ Scuola di Specializzazione in Medicina Fisica e Riabilitativa, Università del Piemonte Orientale, Novara

L'osteoporosi è una condizione clinica caratterizzata da una bassa massa ossea e da un contestuale deterioramento della microarchitettura ossea, determinante un più elevato rischio di frattura. Il suo trattamento prevede un approccio multidisciplinare.

Il primo passo per la prevenzione della fragilità ossea è garantire uno stile di vita sano, partendo da un'adeguata nutrizione con sufficiente introito di calcio e vitamina D; laddove ciò non sia possibile è indicato provvedere ad una supplementazione per migliorare il metabolismo calcico.

Il trattamento farmacologico dell'osteoporosi può prevedere il ricorso a diverse molecole, la cui prescrivibilità è normata dalla Nota 79 dell'AIFA.

I SERMs (Selective Estrogen Receptor Modulators) sono molecole che agiscono sui recettori estrogenici esplicando azioni estrogeniche, anti-estrogeniche o inerti a seconda del tessuto su cui agiscono. Il capostipite per il trattamento dell'osteoporosi è il Raloxifene, successivamente è stato sviluppato anche il Bazedoxifene. Tali molecole esercitano un effetto estrogenico a livello osseo risultando invece inerti a livello mammario ed uterino.

Gli aminobifosfonati sono farmaci antiriassorbitivi che agiscono mediante un'azione pro-apoptotica sugli osteoclasti. Sono disponibili bifosfonati orali e parenterali, con diversi profili di utilizzo.

Tra i farmaci antiriassorbitivi figura anche Denosumab, anticorpo monoclonale diretto contro il RANK-L. Esso agisce inibendo il legame di RANK-L con il suo specifico recettore inibendo così la formazione, la funzione e la sopravvivenza degli osteoclasti. Viene somministrato per via sottocutanea, 1 volta ogni 6 mesi.

Vi sono poi i farmaci anabolizzanti, i quali agiscono stimolando la formazione ossea. Tra questi figura Teriparatide, che prevede somministrazioni quotidiane, per via sottocutanea, per 24 mesi.

Romozosumab è l'ultimo farmaco approvato in Italia per il trattamento dell'osteoporosi, classificato come anabolico, è un anticorpo monoclonale anti-sclerostina. Romozosumab inibisce il riassorbimento osseo e ne stimola la formazione

Infine, considerando che l'osteoporosi è una patologia cronica, la terapia sequenziale riveste un ruolo cruciale.

La corretta scelta del farmaco e l'aderenza del paziente alla terapia sono i principi cardine della presa in carico del paziente, unitamente all'osservazione di corretti stili di vita.

LA SINDROME DA LONG COVID

Mattia Bellan

Dipartimento di Medicina Traslazionale (DIMET) – UPO

Sin dai primi mesi della pandemia da SARS-CoV-2, è risultato evidente che una proporzione non trascurabile di soggetti che sopravvivono all'infezione nella sua fase acuta può sviluppare una sintomatologia residua. Con il termine di "long COVID" viene ad oggi definite la persistenza di un sintomo, o un cluster di sintomi, che si sviluppano durante o dopo la malattia COVID-19, che continuano per almeno 2 mesi, che hanno un impatto sulla vita del paziente e che non sono spiegate da diagnosi alternative.

La prevalenza del long COVID nella popolazione generale è difficile da stimare, ma è progressivamente aumentata man mano che si riduceva la mortalità correlate alla malattia nella sua fase acuta.

Mentre i meccanismi patogenetici sottesi allo sviluppo del COVID-19 e delle manifestazioni d'organo ad esso correlate sono ben noti, poco si sa sulla fisiopatologia e i fattori di rischio del long COVID. In questi anni, abbiamo condotto uno studio multidisciplinare di coorte prospettica, su una popolazione di soggetti ricoverati presso l'AOU di Maggiore di Novara a causa di un'infezione da SARS-CoV-2. L'obiettivo dello studio è stato quello di valutare la prevalenza e l'evoluzione nel tempo del "long COVID", oltre a cercare di identificarne possibili fattori di rischio.

Dopo 4 mesi dalla dimissione, abbiamo documentato che più della metà dei soggetti dimessi presenta una riduzione della diffusione del monossido di carbonio (DLCO), test funzionale che permette di valutare la capacità dei polmoni di scambiare i gas; il 15% circa presenta una alterazione severa (DLCO < 60% rispetto all'atteso). Inoltre abbiamo documentato un deficit funzionale motorio in oltre il 50% dei soggetti, mentre il 25% dei soggetti presentava un disturbo post-traumatico da stress di grado lieve, l'11% dei casi moderato e il 6% severo. Infine circa il 33% dei soggetti presentava sintomi residui di ansia e un altro 30% sintomi residui depressivi.

A distanza di un anno dalla dimissione, abbiamo documentato che circa il 38% dei soggetti lamenta almeno un sintomo residuo di malattia. Il valore di DLCO è risultata essere l'unica variabile indipendentemente associata alla presenza di sintomi residui, suggerendo che il danno funzionale polmonare residuo possa rappresentare il principale fattore etiopatogenetico implicato nello sviluppo del long COVID.

E' tuttavia interessante notare che esiste un sottogruppo di soggetti con sintomi residui che mostrano una DLCO assolutamente normale; in questo sottogruppo, i principali fattori associati ai sintomi residui sono risultati essere: persistenza di sintomi di ansia, persistenza di sintomi depressivi ed elevazione di una serie di citochine pro-infiammatorie: interferon-gamma, tumor necrosis factor-alpha, interleukin (IL)-2, IL-12, IL-1 β , IL-17. Questi dati suggeriscono che l'impatto sulla salute mentale e la persistenza di uno stato infiammatorio sub-clinico, testimoniato dalla elevazione delle citochine pro-infiammatorie, potrebbero essere determinanti nello sviluppo del long COVID in pazienti senza danno d'organo persistente.

IL MICROAMBIENTE CELLULARE NEL TUMORE A CELLULE DI MERKEL

**Cinzia Borgogna¹, Silvia Albertini^{1,2}, Licia Martuscelli¹,
Sanamjeet Viridi³, Daniela Indenbirken³, Irene Lo Cigno¹,
Gloria Griffante¹, Federica Calati¹, Renzo Boldorini⁴,
Nicole Fischer², Marisa Gariglio¹**

¹ Virology Unit, Department of Translational Medicine, Novara Medical School, Novara, 28100, Italy.

² Institute for Medical Microbiology, Virology and Hygiene, University Medical Center Hamburg-Eppendorf, Hamburg, 20251, Germany.

³ Leibniz Institute for Experimental Virology, Research Unit Viral Genomics, Hamburg, 20251, Germany.

⁴ Pathology Unit, Department of Health Sciences, Novara Medical School, Novara, 28100, Italy.

Il carcinoma a cellule di Merkel (MCC) è un carcinoma cutaneo-neuroendocrino raro con un tasso di mortalità superiore a quello del melanoma. MCC si sviluppa tipicamente nel soggetto anziano e/o immunodepresso. Infatti, l'incidenza di questo tumore si è triplicata negli ultimi venti anni anche per il progressivo invecchiamento della popolazione e si prevede per il 2025 una incidenza superiore ai 3/100.000 abitanti l'anno. Questo tumore viene solitamente diagnosticato in fase avanzata di malattia e il trattamento cardine è la chirurgia. Nonostante sia ben nota l'estrema variabilità al follow up di questi tumori (in termini di recidiva locale e sviluppo di metastasi), i meccanismi patogenetici che determinano lo sviluppo e la prognosi di questa neoplasia non sono ancora noti, di conseguenza anche l'approccio diagnostico e terapeutico è molto limitato.

Il microambiente tumorale rappresenta l'intero ecosistema che circonda il tumore ed è costituito da matrice extracellulare, vasi sanguigni, cellule immunitarie e fibroblasti. Si tratta di un ambiente molto dinamico che si influenza reciprocamente con il tumore. Sebbene in letteratura, per molti tipi di cancro, il microambiente sia considerato uno dei principali attori nell'iniziazione e progressione tumorale, il suo coinvolgimento nello sviluppo di MCC è tuttora ignoto. In questo studio, per la prima volta abbiamo caratterizzato a livello molecolare e funzionale i fibroblasti associati al cancro (CAF) isolati da una serie di MCC. Abbiamo dimostrato come la co-iniezione sottocutanea di CAF e della linea di cellulare di MCC (MKL-1) in topi SCID promuova significativamente la crescita e la metastatizzazione del tumore. Inoltre, abbiamo osservato come gli xenotrapianti a "crescita rapida" siano caratterizzati da aree densamente popolate da CAF, i quali si localizzano principalmente intorno ai vasi sanguigni. Meccanicisticamente, con diversi saggi *in vitro*, abbiamo dimostrato che la crescita tumorale indotta dai CAF sia principalmente dovuta all'aumentata angiogenesi mediata dall'asse APA/Ang II-III/AT1R, in cui l'espressione dell'aminopeptidasi A (APA) da parte dei CAF rappresenta un evento fondamentale. In conclusione, i nostri risultati indicano APA come un potenziale marker per la stratificazione prognostica del MCC e nuovo possibile target terapeutico.

ACUTE KIDNEY INJURY (AKI) AS A BIOLOGICAL ACCELERATOR OF AGING

Vincenzo Cantaluppi

On behalf of the AKI and CRRT Project Group of the Italian Society of Nephrology (SIN)

Nephrology and Kidney Transplantation Unit, Department of Translational Medicine (DI-MET), University of Piemonte Orientale (UPO) and AKI and CRRT Project Group of the Italian Society of Nephrology (SIN)

Acute Kidney Injury (AKI) is a complex and underestimated syndrome characterized by high in-hospital mortality and progression toward chronic kidney disease (CKD). These effects are mainly ascribed to a systemic inflammatory response able to trigger senescence in different organs (*inflammaging*).

We herein describe the study sustained by the Italian Society of Nephrology (SIN) aimed to identify progressors from AKI to CKD after hospital discharge, proposing a new model of network between the hospital and the general practitioners. Part of the project will be dedicated to *biomarker discovery* for the identification of plasmatic and urinary molecules involved in tissue aging.

BIOBANKING NELL'ASSISTENZA SANITARIA E NELLA RICERCA TRASLAZIONALE: IL PROGETTO UPO BIOBANK

Daniela Capello

Dipartimento di Medicina Traslazionale e UPO Biobank, UPO

La medicina sta sempre più affinando le proprie capacità di fornire risposte "su misura". Questo approccio personalizzato, basato sul concetto dell'unicità della persona, permette di sviluppare la cosiddetta medicina personalizzata e di precisione, che consente di ottimizzare le strategie di prevenzione e identificare le terapie più adatte. Questa evoluzione, che viene considerata un cambiamento di paradigma nella medicina, impone però la necessità di disporre di una massa critica di campioni biologici ordinati in collezioni organizzate secondo criteri scientifici ed elevati standard qualitativi indispensabili per le analisi stesse. A tal fine si è resa necessaria la creazione di apposite strutture destinate a raccogliere ordinatamente questi materiali: le biobanche (o banche biologiche). Le biobanche sono unità di servizio, senza scopo di lucro che, nel pieno rispetto dei diritti dei soggetti coinvolti, garantiscono e gestiscono la raccolta sistematica, la conservazione e la distribuzione, secondo comprovati standard di qualità, di campioni biologici umani e delle informazioni collegate, per finalità biomediche (di ricerca, di diagnosi, di prevenzione o di terapia). Le biobanche costituiscono, pertanto, uno strumento fondamentale per lo svolgimento di attività di ricerca d'avanguardia, multidisciplinari e su scala globale, finalizzate alla comprensione dei diversi fattori associati allo stato di salute o di malattia, con vantaggi prevedibili per la collettività, in termini di conoscenze, cure e tecnologie.

UPO Biobank è la biobanca istituzionale dell'Università del Piemonte Orientale, prima biobanca di malattia multispecialistica e di popolazione piemontese, istituita con l'obiettivo di promuovere e sostenere la ricerca scientifica multidisciplinare (<https://www.uniupo.it/upo-biobank>). Come biobanca di malattia, UPO Biobank supporta i progetti di ricerca clinica o preclinica avviati nell'ambito di progetti finalizzati allo studio di specifiche malattie; come biobanca di popolazione promuove e sostiene studi di coorte di tipo epidemiologico e di salute pubblica che prevedono il coinvolgimento della popolazione generale. UPO Biobank è dotata di un ambulatorio e di spazi dedicati a incontrare i partecipanti, di un laboratorio per trattamento del materiale biologico e di una sala criogenica per la conservazione dei campioni. L'attività di UPO Biobank si fonda su un Regolamento e un Codice Etico riconosciuti dal Comitato Etico di Novara; gli organi di governance sono costituiti da un Direttore Scientifico, un Comitato d'Indirizzo, un Comitato Tecnico Scientifico, e un Comitato degli Stakeholders. Da gennaio 2021 è parte di BBMRI Italia, il nodo Italiano della infrastruttura di ricerca paneuropea di biobanche e risorse di ricerca biomolecolari (Biobanking and Biomolecular Resources Research Infrastructure, BBMRI-ERIC) ed è in corso di accreditamento e certificazione ISO20387. UPO Biobank è diventata operativa nell'aprile 2020, in risposta all'emergenza COVID-19. Da allora la sua attività è in continua espansione e, ad oggi, ha in attivo 11 progetti di biobanking, di cui 4 conclusi e 7 in corso. Sono stati finora raccolti i campioni biologici di quasi 1000 soggetti, per un totale di più di 20.000 aliquote.

UPO Biobank è un supporto alla ricerca innovativo e prezioso, presente sul territorio, che si fonda su una concreta collaborazione tra popolazione, ricercatori e Istituzioni. È uno strumento per il coinvolgimento attivo dei singoli che richiede e promuove un nuovo modello di cittadinanza, di etica e di costruzione della conoscenza scientifica, partecipativo, inclusivo e responsabilizzante. In tal senso, UPO Biobank sostiene la realizzazione di studi che coinvolgono la popolazione e, in particolare il "Novara Cohort Study" (NCS), uno studio di coorte che coinvolge la popolazione Novarese e che si propone di indagare i meccanismi dell'invecchiamento e la ricerca di soluzioni che promuovano la qualità della vita nella longevità. Obiettivo primario del NCS è di indagare le traiettorie d'invecchiamento popolazione del territorio Novarese, per identificare gli stili di vita che portano a un invecchiamento sano e i fattori di rischio associati alle malattie tipiche dell'anziano, includendo oltre ai determinanti biologici e sanitari, anche quelli economici, ambientali, sociali e culturali.

APPROCCI DIETETICI CHE IMPATTANO SULL'INVECCHIAMENTO

Massimiliano Caprio

Dipartimento di Scienze Umane e Promozione della Qualità della Vita, Università San Raffaele Roma, Roma, Italia

Laboratorio di Endocrinologia Cardiovascolare, IRCCS San Raffaele Roma, Roma, Italia

Negli ultimi 30 anni la comunità scientifica si è interrogata sugli aspetti genetici e legati allo stile di vita, che influenzano l'invecchiamento, allo scopo di identificare un vero e proprio "ageing phenotype". La ricerca scientifica in tal senso ha permesso di identificare diverse vie di segnale che regolano il processo di invecchiamento. La maggior parte delle vie di segnale identificate sono, di fatto, a loro volta, regolate da fattori legati allo stile di vita, come la dieta e l'attività fisica. Le principali vie di segnale coinvolte includono il segnale insulinico, il segnale di IGF-1, (Insulin-like growth factor-1) e la via di mTOR, (mammalian target of rapamycin), la cui inibizione è associata ad un aumento delle aspettative di vita. L'introito calorico e la scelta dei nutrienti influenzano direttamente i processi metabolici che contribuiscono a mantenere lo stato di salute nell'invecchiamento. E' ben noto che una dieta con un apporto eccessivo di grassi saturi e zuccheri semplici porti ad un bilancio energetico positivo nell'organismo, con accumulo di grasso viscerale, sviluppo di obesità e patologie croniche associate. Studi preclinici hanno dimostrato che, nell'ambito di regimi calorici non restrittivi, un eccessivo consumo di proteine animali sia associato ad un aumento dei livelli di GH e IGF-1, con riduzione delle aspettative di vita.

Anche un consumo eccessivo di zuccheri semplici è associato ad una accelerazione dei processi di invecchiamento, aumentando il rilascio di insulina circolante e attivando altre vie di segnale che favoriscono l'invecchiamento. Alla luce di queste evidenze, numerosi studi hanno dimostrato che la restrizione calorica ha un effetto benefico sulla salute, rallentando la progressione di diverse patologie legate all'invecchiamento. I meccanismi coinvolti includono sia un effetto diretto dei nutrienti nella regolazione delle vie sopra citate, sia un'azione preventiva nei confronti dello sviluppo di alterazioni metaboliche legate ad un'eccessiva adiposità viscerale, come insulino-resistenza e steatosi epatica. Anche il digiuno intermittente ha dimostrato di essere efficace nell'indurre il calo ponderale, con relativa riduzione dei livelli di infiammazione e miglioramento dei parametri metabolici. Diversi studi hanno dimostrato che l'utilizzo delle diete chetogeniche, che implicano una transizione da un metabolismo basato sul consumo di glucosio come fonte di energia ad un metabolismo basato sulla produzione di corpi chetonici, è associato ad un aumento della longevità, grazie alla regolazione negativa del segnale insulinico, della via di mTOR e della via di sintesi degli acidi grassi. Nell'ambito delle diete chetogeniche, la Very Low Calorie Ketogenic Diet (VLCKD) si è dimostrata un'opzione dieto-terapica sicura ed efficace nella riduzione del grasso viscerale e nel miglioramento dei parametri metabolici in pazienti obesi. In particolare, uno degli aspetti caratteristici dell'invecchiamento dal punto di vista della composizione corporea è la perdita di massa muscolare ed è stato osservato che la VLCKD è in grado di preservare il muscolo scheletrico nelle persone affette da obesità sarcopenica in fase di dimagrimento. È stato inoltre dimostrato che i corpi chetonici hanno un effetto neuroprotettivo. Ulteriori studi sono necessari per individuare i meccanismi che mediano i potenziali effetti benefici dei corpi chetonici sui processi di invecchiamento.

METABOLITI PLASMATICI NELL'INVECCHIAMENTO – ANALISI MULTIOMICA NELLA SCLEROSI LATERALE AMIOTROFICA

Annalisa Chiocchetti

DISS - UPO

La sclerosi laterale amiotrofica (SLA) è una malattia neurodegenerativa fatale, la cui diagnosi, clinica, richiede in genere molti mesi per essere confermata. Nell'ambito del progetto neuroaging è stata scelta come modello di invecchiamento cerebrale. L'identificazione di biomarcatori specifici potrebbe agevolare la diagnosi precoce della malattia, e aiutare la corretta gestione clinica dei pazienti, monitorare la progressione della malattia e testare l'efficacia di farmaci negli studi clinici.

Negli ultimi anni, le vescicole extracellulari sono emerse come strumenti preziosi per comprendere la patogenesi della malattia e come biomarcatori diagnostici e prognostici; si tratta di microparticelle che originano dalla superficie di tutte le cellule, e diffondono nei fluidi biologici trasportando diverse molecole della cellula che le ha generate. Per tale ragione sono in grado di modificare la cellula bersaglio riprogrammandola.

Molti studi hanno indagato le vescicole extracellulari nella SLA per valutare la correlazione tra la loro concentrazione ematica e i parametri clinici. Tuttavia, questi risultati non sono stati tradotti nella pratica clinica. Questo è principalmente dovuto alla complessità dei metodi e alla mancanza di procedure di isolamento standardizzate.

In questo studio, abbiamo adottato approcci multiomici, tra cui citomica, proteomica/trascrittomica a singola cellula e vesciclomica, per studiare il fenotipo delle cellule immunitarie circolanti e le vescicole extracellulari nei pazienti affetti da SLA, con l'obiettivo di identificare i biomarcatori di questa malattia. Abbiamo arruolato un totale di 61 pazienti e 31 controlli sani appaiati per sesso ed età.

I risultati hanno mostrato un aumento significativo dei linfociti T citotossici e di una popolazione di Natural Killer CD8+ nei pazienti con SLA rispetto ai controlli, mentre i linfociti T helper e T helper memoria hanno mostrato una diminuzione nei pazienti con SLA. Le analisi a singola cellula ci hanno inoltre consentito di individuare un'interessante popolazione di linfociti T CD8+ con un profilo trascrizionale diverso fra pazienti e controlli sani.

Abbiamo in ultimo identificato una vescicola extracellulare derivante dagli astrociti che esprime il marcatore GLAST. Gli astrociti sono coinvolti nella patogenesi della SLA e un aumento di queste cellule può essere una causa della morte dei motoneuroni. Le vescicole GLAST+ sono risultate essere aumentate nei pazienti con SLA rispetto ai controlli.

In conclusione, tramite questo lavoro abbiamo posto le basi multiomiche per identificare una *signature* (insieme di biomarcatori) correlata alla SLA. Il lavoro terminerà con l'analisi clinica dei pazienti stratificati per la *signature*.

EFFETTO DI PROBIOTICI NELLA MALATTIA DI PARKINSON: UNO STUDIO CLINICO RANDOMIZZATO CONTROLLATO

**Cristoforo Comi; Luca Magistrelli, Elena Contaldi,
Francesca Leo, Roberto Cantello**

Dipartimento di Medicina Traslazionale, Università del Piemonte Orientale, Novara

Background e obiettivi. La malattia di Parkinson è la seconda malattia neurodegenerativa più diffusa dopo la malattia di Alzheimer. Il suo quadro clinico, classicamente descritto dalla comparsa dei sintomi motori, riflette la perdita dei neuroni dopaminergici nella pars compacta della substantia nigra. Tuttavia, sintomi non motori, quali la stipsi e l'iposmia, hanno acquisito sempre maggiore rilevanza, come conseguenza della loro alta prevalenza e della loro precoce comparsa. La scoperta dell'interazione tra il tratto gastrointestinale e il sistema nervoso centrale ha permesso di evidenziare il ruolo del microbiota intestinale nella patogenesi della malattia di Parkinson, ipotizzando l'utilizzo dei probiotici per modulare l'asse intestino-cervello ed influenzare l'immunità periferica.

In questo studio, attraverso un trial clinico randomizzato controllato in doppio cieco, che ha coinvolto quaranta pazienti con malattia di Parkinson, è stato possibile confrontare gli effetti in vivo di una miscela di probiotici rispetto al placebo.

Metodi. Dei quaranta pazienti arruolati, venti sono stati randomizzati nel gruppo, che ha ricevuto il prodotto attivo (*Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BS01, *Bifidobacterium longum* 03, *Bifidobacterium adolescentis* BA02, Frutto-oligosaccaridi 2500 mg, Maltodestrina), gli altri venti sono stati randomizzati nel gruppo placebo (Maltodestrina).

Specifiche scale di valutazione hanno permesso di valutare, a dodici settimane dall'inizio della terapia, i cambiamenti nel quadro motorio (UPDRS e H&Y), non motorio (NMSS, Compass-31, PaC-Qol, CAS, Wexner, Zung e BDI-II) e cognitivo (MoCA). Le evacuazioni settimanali, registrate al basale e dopo il trattamento, hanno costituito ulteriori strumenti per il monitoraggio dei disturbi gastrointestinali. I dosaggi relativi alle citochine intracellulari, extracellulari ed ai ROS, ancora in fase di analisi, sono invece stati acquisiti mediante un prelievo di sangue venoso periferico.

Risultati. Dei 40 pazienti reclutati, 39 hanno completato lo studio: 19 hanno ricevuto il probiotico e 20 il placebo. A 12 settimane, nel gruppo trattato con il prodotto attivo è emerso un miglioramento del quadro motorio, non motorio e cognitivo, con particolare riferimento all'UPDRS (da $13,89 \pm 4,08$ a $12,74 \pm 4,57$, $p = 0,028$), al punteggio totale della NMSS (da $34,32 \pm 21,41$ a $30,11 \pm 19,89$, $p = 0,041$) e al subitem, relativo ai disturbi gastrointestinali (da $3,79 \pm 4,14$ a $1,89 \pm 2,54$, $p = 0,021$), di cui sono risultati cambiamenti significativi. In aggiunta, un trend in miglioramento è stato evidenziato anche in altri parametri (CAS, MoCA, Compass-31 e PaC-Qol). I benefici sulla stipsi sono stati ulteriormente confermati da un aumento, seppur non significativo, della media delle

evacuazioni settimanali (da $5,95 \pm 2,25$ a $6,63 \pm 3,71$) e del rapporto, espresso in percentuale, tra le evacuazioni efficaci ed i tentativi totali (da $81,11 \pm 28,41$ a $89,33 \pm 24,32$). Nessuno dei pazienti ha riportato effetti avversi, correlati al trattamento in studio.

Conclusioni. La somministrazione di un trattamento a base di probiotici per dodici settimane si è dimostrata efficace nel migliorare il quadro motorio, non motorio e cognitivo, suggerendo una loro possibile aggiunta alla terapia anti-parkinsoniana standard. Studi successivi, di durata maggiore e su un maggior numero di pazienti, potranno essere indispensabili per confermare i risultati ottenuti.

LONGEVITY CHECK-UP PROJECT

**Concina D.^a; Conti A.^a; Opizzi A.^a; Rinaldi C.^a; Zeppegno P.^a;
Gramaglia C.M.^a; Grossini E.^a; Panella M.^a**

^a Dipartimento di Medicina Traslazionale, Università del Piemonte Orientale, via Solaroli 17, 28100 Novara, Italia

diego.concina@uniupo.it

Razionale. L'Organizzazione Mondiale della Sanità (WHO) definisce Healthy Aging come il processo di sviluppo e mantenimento delle Abilità Funzionali (FA) che permettono il benessere nell'età anziana, determinate dalle capacità individuali intrinseche (insieme delle capacità fisiche e cognitive e psicologiche) e dalle loro interazioni ambientali (politiche sociali e di salute pubblica) in cui una persona vive.

L'importanza delle strategie per migliorare la qualità di vita delle persone anziane rappresenta un tema centrale degli ultimi anni, in particolare alla luce della cosiddetta "Terza transizione demografica". Tra queste la promozione dell'invecchiamento sano ricopre un ruolo centrale, in particolare combinando un appropriato stile di vita.

Il settore del Long Term Care, rappresenta una componente cruciale nel sistema sanitario, ma concettualmente, in particolare nell'ambito delle presidi Residenziali sanitari assistenziali per anziani non autosufficienti (RSA), si pone maggiore enfasi nella gestione e mantenimento delle capacità residue di un anziano piuttosto che nella promozione di interventi mirati alla prevenzione e gestione delle patologie geriatriche promuovendo l'invecchiamento di successo.

Per questo motivo è stato sviluppato un protocollo clinico e laboratoristico di valutazione dell'anziano in RSA, volto all'identificazione precoce e al trattamento delle principali cause di morbilità e mortalità, definito "Longevity Check-Up" (LCU) e contestualmente è stato definito un protocollo di intervento evidence-based di Lifestyle Medicine definito "Lifestyle Medicine for Longevity" (LSM4Long).

Metodi. Al fine di definire il protocollo LCU è stato disegnato uno studio osservazionale non prospettico, trasversale/cross-sectional, volto a indagare le caratteristiche individuali dei soggetti arruolati su tre livelli: livello funzionale, livello metabolico e livello biologico. Al fine di definire il protocollo LSM4Long e valutarne l'impatto in termini di salute è stato progettato uno studio sperimentale (trial clinico randomizzato in monocentricità, controllato), basato sui risultati di due revisioni sistematiche

Entrambi gli studi sono stati condotti arruolando la popolazione di anziani residenti C/o la CDR Belletti Bona, Biella (Anteo Cooperativa Sociale Onlus).

Risultati. 60 ospiti della CDR Belletti Bona sono stati arruolati nel protocollo LCU, i risultati dello studio hanno permesso di individuare come parametri di longevità l'indice di massa muscolare (SMI), misurato in Kg/m², angolo di fase (SPA), idratazione, punteggio MOCA e 8-isoprostano [pg/mL].

A causa della pandemia COVID-19 è stata condotta, nella stessa popolazione, una analisi di correlazione tra biomarcatori dell'infiammazione e probabilità di sviluppare sintomi simil-influenzali o COVID-19. I risultati dimostrano l'importanza della funzione mitocondriale nel predisporre gli anziani al rischio infettivo COVID-19 like, in particolare il livello di timosina-B4 può rappresentare un biomarcatore utile a valutare tale rischio.

54 ospiti della CDR Belletti Bona hanno partecipato al protocollo di intervento evidence-based LSM4Long, i risultati dimostrano che un incremento positivo nei punteggi della scala funzionale (ADL) ed un miglioramento significativo dei parametri biologici (GSH, Tbars, SOD, 25-OH-Vit D, MTT, JC1) e una riduzione significativa dei parametri ROS.

Conclusione. Lo studio permette quindi di dimostrare che è possibile riorganizzare il sistema di assistenza del LCT come centri pro-attivi di ricerca in cui promuovere l'invecchiamento sano, la prevenzione e la gestione delle patologie geriatriche, non limitandosi esclusivamente al semplice mantenimento delle abilità residue.

GENOMIC SIGNATURE OF BRAIN AGING IN NEURODEGENERATIVE DISEASES: IDENTIFICATION OF NEW VARIANTS IN PATIENTS WITH ALS OR OTHER NEURODEGENERATIVE DISORDERS BY WHOLE GENOME SEQUENCING DATA.

L. Corrado¹, N. Barizzone¹, M. Tosi¹, F. Caushi¹, B. Piola¹, E. Visha¹, L. Follia¹, A. Pizzino¹, R. Croce¹, A. Di Pierro¹, L.M. Genovese², F. Geraci², E. Mangano³, R. D'Aurizio², R. Bordoni³, D. Corà¹, F. Favero¹, C. Comi¹, F. De Marchi⁴, L. Magistrelli⁴, R. Cantello¹, G. Manzini^{2,5}, Jan H. Veldink⁶, G. De Bellis³, A. Brusco⁷, M. Severgnini³, M. Pellegrini², L. Mazzini⁴, S. D'Alfonso¹

¹ University of Eastern Piedmont UPO, Novara, Italy,

² Institute of Informatics and Telematics of CNR, Pisa, Italy,

³ National Research Council of Italy, Institute for Biomedical Technologies, Segrate (MILANO), Italy,

⁴ ALS Center AOU Maggiore della Carità, Novara, Italy,

⁵ University of eastern Piedmont, UPO, Alessandria, Italy.

⁶ Utrecht University, Utrecht, The Netherland,

⁷ University of Torino, Turin, Italy.

To explore the missing heritability in a cohort of patients affected by Neurodegenerative disorders (NDDs), we performed WGS of 140 NDDs patients including Amyotrophic Lateral Sclerosis(ALS), Frontotemporal Dementia(FTD), Parkinson disease(PD) and Spinocerebellar Ataxia(SCA).

This approach allowed us to investigate the following sequence variants:

a) **Single Nucleotide Variants (SNV)** in coding and non-coding sequences in a panel of 855 genes implicated in NDDs. We found 16 pathogenic/likely pathogenic variants (ACMG) in genes causative of NDDs rare forms (10 in ALS) and 8 in genes causing a phenotype different from patient clinical presentation (4 in ALS).

We applied SpliceAI to predict a possible effect of SNV on splicing mechanism and 138 rare variants (delta score >0.6) were identified. Among those we performed in vitro studies for 9 variants and for 6 of them, we confirmed a role in splicing alteration. In addition, for the rare variants mapping in putative regulative regions, we tested their role on gene expression with Massively Parallel Reporter Assay (MPRA), an innovative high throughput in vitro assay.

b) **Tandem Repeat (TR)** analysis. Using Expansion Hunter, GangSTR and novel tools, 5 novel loci with a possible TR expansion were identified in ALS cohort. The results were replicated in larger independent Italian (763 ALS 1018 controls) and Dutch cohorts (3121 ALS and 1217 controls). Preliminary data confirmed one of these loci, showing that TR was present in patients and not in controls (HC) (ITFG2: 1/352 ALS vs. 0/249 HC). Results were not replicated for the remaining 4 loci (**FRA10AC1, RFC1, HK1, INPP5B**).

c) Structural variants analysis. Using Delly and CNVkit, we identified a 15q25 deletion (about 1.2Mb), previously associated with mild intellectual disability and dysmorphisms, in a PD patient.

In conclusion, the prioritization pipeline identified for the first-time non-coding SNV with a possible pathogenic role in ALS. In addition, we proposed novel TR loci involved in ALS whose replication is ongoing. Moreover, we found patients with pathogenic variants in genes involved in different NDDs, reinforcing the idea of a shared genetic cause among different NDDs.

CELLULAR SENESCENCE: AN UNINTENDED TWIST FOR GENE AND CELL THERAPY APPLICATIONS

Raffaella Di Micco

San Raffaele Telethon Institute for Gene Therapy, 20132, Milan, Italy
New York Stem Cell Foundation Robertson Investigator

The success of Hematopoietic Stem and Progenitor Cell (HSPC) gene therapies critically depends on the capacity to genetically engineer HSPCs without compromising their functional properties. Emerging evidence, including our own, indicates that HSPC exposure to currently available gene transfer and gene editing technologies –which require prolonged ex-vivo culture, high viral vector doses and nuclease-induced DNA double strand breaks– unexpectedly converge on the DNA damage response (DDR), a signaling cascade leading to cell cycle arrest. Protracted DDR impairs the hematopoietic reconstitution of gene-modified cells upon transplantation; instead, its transient inhibition significantly improves their functionality. This experimental evidence uncovers a previously unappreciated interplay between viral vector sensing and the host cell DDR machinery in human HSPCs.

Yet, we have just scratched the surface of a plethora of still unexplored cellular programs potentially hampering the clonal composition and the dynamics of reconstitution upon transplantation of this primitive cell compartment. We build on the innovative concept that current gene engineering protocols may inadvertently trigger the activation of a cellular senescence program in HSPCs with both cell-autonomous and paracrine short- and long-term consequences on engineered human hematopoiesis. By employing quantitative imaging and cutting-edge genomic technologies and taking advantage of uniquely available gene therapy platforms and primary patient samples, we will identify the molecular determinants that promote senescence in HSPCs and design innovative hypothesis-driven strategies to mitigate senescence barriers for more effective, safer and clinically broader gene therapy applications. Our findings will unveil a new set of mechanisms controlling the biology of gene-engineered HSPCs and open novel scientific horizons for the development of innovative gene and cell therapies.

HEALTH PREDICTORS AND LONGEVITY: MESSAGES FROM THE NEUROMED BIOBANKING CENTRE

**Maria Benedetta Donati¹, Amalia De Curtis¹,
Alessandro Gialluisi^{1,2} and Licia Iacoviello^{1,2},
on behalf of the Moli-sani Study investigators**

¹ Neuromed Biobanking Centre Department of Epidemiology and Prevention IRCCS Neuromed, Pozzilli (IS)

² Department of Medicine and Surgery, University of Insubria, Varese

Neuromed Biobanking Centre is a Research Infrastructure located in the Molise region at IRCCS Neuromed. It started its activity in 2006 with the launch of a population biobank associated with the Moli-sani study. The latter is a prospective, population-based Italian cohort study which randomly selected, between 2005 and 2010, 24,345 adults from Molise region municipalities, to investigate genetic and environmental determinants of cardio-vascular/neurodegenerative/cancer disorders and of their common pathogenetic background and risk factors ("common soil" hypothesis).

The follow-up of the study, still going on, monitors incident events of hospital admission/death by regional data base. Since 2017, a partial recall of the cohort was started.

A biobank of biological samples has been established (Moli-bank, >700,000 specimens, 28 aliquots per subject, including plasma, serum, buffy coat, urine), with highly sophisticated systems for sample control, security, storage and redistribution. The parameters measured per subject yield a huge number of data (over 6,000) including traditional and new generation biomarkers.

Deep Neural Networks (DNN) have been recently developed for the estimation of Biological Age (BA), the hypothetical underlying age of an organism, which can differ from its chronological age (CA). These population-specific algorithms warrant further characterization and validation, since their biological, clinical and environmental associations remain largely unexplored.

We trained an accurate DNN to compute BA based on 36 circulating biomarkers in the Moli-sani population. BA was heavily influenced by markers of metabolic, heart, kidney and liver function. The resulting difference with CA (Δ age) significantly predicted mortality and hospitalization risk among participants.

Δ age was negatively associated with both mental and physical well-being (SF-36 scale), and with protective lifestyles like adherence to Mediterranean Diet. Conversely, it was positively associated with smoking and obesity. Δ age significantly decreased with increasing educational attainment, household income and housing status and increased with decreasing occupational status.

These results will contribute to strengthen the concept of population biobanks as a new powerful tool in public health and to shift the paradigm of public health policies towards a focus on healthy ageing rather than on ageing-related diseases

DIETA E CAMBIAMENTI ORMONALI NELLO SVILUPPO DI SARCOPENIA

**S. Reano¹, T. Raiteri¹, A. Scircoli¹, I. Zaggia¹, A. Antonioli²,
S. Tini², S. Sutti², F. Prodam², N. Filigheddu¹**

¹ Dipartimento di Medicina Traslazionale,

² Dipartimento di Scienze della Salute, UPO

La perdita di massa muscolare tipica dell'invecchiamento (sarcopenia) è associata alla fisiologica diminuzione di molti ormoni, ma molto spesso la supplementazione di tali sostanze non è in grado di ripristinare la perdita di tessuto e la sua funzionalità. Nel corso del progetto MODESTHE ci siamo concentrati su due ormoni con effetti sul muscolo: ghrelina e vitamina D. La ricerca ha evidenziato come piccole differenze nelle molecole somministrate (la presenza o meno di un acido grasso su ghrelina o di un particolare idrossile sulla vitamina D) possono essere determinanti per l'efficacia del trattamento o avere più controindicazioni che benefici.

Anche la dieta in sé, come noto, può influire su come si invecchia e, in particolare, può contribuire a mantenere o a perdere più rapidamente la massa muscolare. Nel dettaglio abbiamo visto come una dieta ricca di grassi saturi e zuccheri tipica dei paesi occidentali (la cosiddetta "Western diet") dopo un iniziale stimolo di accrescimento del muscolo, ne determina una consistente perdita che potrebbe contribuire al deterioramento generale della qualità di vita durante l'invecchiamento.

DALLA TRADIZIONE ALLA PREVENZIONE DI SARCOPENIA E OSTEOPOROSI: LA RISCOPERTA DELLE PIANTE DELLA TRADIZIONE

**L. Salvadori¹, M. Paiella¹, A. Scircoli¹, M. Bosetti², M. Leigheb³,
D. Porporato⁴, F. Riuzzi⁵, N. Filigheddu¹**

¹ Dipartimento di Medicina Traslazionale,

² Dipartimento di Scienze del Farmaco,

³ Dipartimento di Scienze della Salute,

⁴ Dipartimento di Studi Umanistici, UPO;

⁵ Dipartimento di Medicina e Chirurgia, Università di Perugia

Con il costante aumento dell'aspettativa di vita, patologie come sarcopenia e osteoporosi potrebbero avere un importante impatto sociale e finanziario e la prevenzione di tali patologie è di fondamentale importanza. Nel corso del progetto MODESTHE abbiamo visto come tale prevenzione potrebbe passare anche attraverso l'utilizzo di fitoestratti sotto forma di supplementi alimentari. Abbiamo infatti valutato l'efficacia di diversi fitoestratti, alcuni dei quali derivanti da piante tradizionalmente usate come tonici, nel mantenere l'omeostasi del muscolo e dell'osso. Abbiamo inoltre messo a punto un nuovo modello *in vitro* per mimare il muscolo "anziano" su cui testare l'efficacia di nuovi prodotti.

LA SFIDA DELL'INVECCHIAMENTO IN TEMPI DELLA PANDEMIA

Continuità ospedale - territorio

Carmelo Gagliano

Federazione Nazionale Ordini Professioni Infermieristiche (FNOPI)

Lo sviluppo della professione infermieristica non è solo manageriale, ma anche clinico e per questo di fondamentale importanza è riconoscere ai professionisti le specializzazioni e il loro percorso formativo, non solo come approfondimento professionale legato ai master, ma come vero e proprio livello di istruzione universitaria superiore. Questo il panorama prossimo che la Federazione nazionale degli ordini delle professioni infermieristiche (FNO-PI) sta disegnando per lo sviluppo dell'attività assistenziale degli oltre 450mila suoi iscritti di cui 385mila in servizio e di questi 270mila circa alle dipendenze del Servizio sanitario nazionale.

Lo sviluppo territoriale del Sistema Sanitario Nazionale (SSN) è un elemento centrale della riforma prevista dal PNRR e presuppone una serie di azioni coordinate per ridisegnare l'asset assistenziale territoriale per una transizione del sistema verso una maggiore capillarità e prossimità.

A seguito dell'intesa sancita nella Conferenza Stato Regioni, è stato emanato in data 18 dicembre 2019 il Patto per la Salute per il triennio 2019-2021. Il documento prevede, tra i numerosi punti, la valorizzazione della professione infermieristica nell'ambito dell'assistenza territoriale per un contributo volto a mantenere la continuità dell'assistenza e l'applicazione dei percorsi clinico-assistenziali, garantire appropriatezza dei trasferimenti nelle diverse aree di intensità (alta – media-bassa intensità), migliorare i percorsi di dimissione dei pazienti, integrare al massimo ospedale e territorio, utilizzare in modo razionale le risorse rispetto alla tipologia di paziente e al suo piano di dimissione, valutare i pazienti proposti per il trasferimento da altre unità operative.

È in corso un ripensamento dei modelli organizzativi dell'assistenza territoriale in virtù dei cambiamenti sociodemografici del Paese. Infatti, si assiste: al progressivo invecchiamento della popolazione (1); all'incremento di persone con almeno una patologia cronica (40,8% della popolazione) e di condizioni di co-morbidità, in particolare in soggetti over settantacinquenni (66,6%); alla progressiva semplificazione della dimensione e composizione delle famiglie, con il 29,6% delle persone over sessantacinquenni che vivono sole (2); a una riduzione del circa il 50% degli anni di vita liberi da disabilità nelle persone sopra i 65 anni, con sostanziali differenze sulla base delle condizioni socio economiche (3).

Ciò significa passaggio dai Percorsi Diagnostico Terapeutici Assistenziali al Population Health Management ripensando ad un sistema che investa nei fondi per la non autosufficienza, e sulle cure primarie, in termini di modelli condivisi di stratificazione della popolazione in funzione della gravità/complessità.

All'interno di questa riorganizzazione è previsto il ruolo strategico dell'Infermiere di Famiglia o Comunità (IFoC) che viene annoverato tra le figure professionali che interagiscono e lavorano sinergicamente all'interno del sistema di rete. L'IFoC viene quindi individuato come il professionista deputato all'assistenza infermieristica di Famiglia o Comunità che collabora con la rete dei professionisti secondo la definizione del DM77 che lo identifica quale "Referente della risposta ai bisogni assistenziali e di autocura, contempla tra le sue attività la prevenzione e la promozione della salute nella presa in carico del singolo e della sua rete relazionale, si relaziona con gli attori del processo ed è di supporto per l'assistito nelle diverse fasi della presa in carico".

L'IFoC opera all'interno dei Distretti che ricomprendono le Case della Comunità dislocate sul territorio collaborando nel servizio di cure primarie. L'assistenza primaria è un modello organizzativo di prossimità che si esplicita nell'erogazione di interventi integrati multidisciplinari orientati alla sanità di iniziativa.

PANDEMIA DA COVID-19: INSEGNAMENTI E ASPETTI DA DOVER SVILUPPARE - L'ORDINE DEI MEDICI

Gatti Lucio

Vicepresidente Ordine Provinciale dei Medici e Odontoiatri Novara

DECRETO DEL PRESIDENTE DEL CONSIGLIO DEI MINISTRI 8 marzo 2020

Ulteriori disposizioni attuative del decreto-legge 23 febbraio 2020, n. 6, recante misure urgenti in materia di contenimento e gestione dell'emergenza epidemiologica da COVID-19. (20A01522) (GU n.59 del 8-3-2020)

Il 10 marzo 2020 la FMONCeO comunicava ufficialmente agli Ordine dei Medici e Odontoiatri Provinciali l'inizio dell'ERA COVID.

Nessuno, né le istituzioni, né i singoli, era preparato ad affrontare un momento così catastrofico.

Gli Ordini sono stati da subito presi d'assalto da colleghi che chiedevano delucidazioni sul modus operandi, sulle precauzioni da mettere in atto per sé e per i pazienti; le risposte non potevano che essere vaghe ed improntate dalla prudenza del buon senso.

Già nel mese di marzo si registravano le prime vittime tra i professionisti che sono arrivate (FNOMCeO 08/9/2022) a 376 colleghi deceduti durante il servizio.

Il Covid ci ha svelato tanti aspetti, primo fra tutti che i medici, diversamente impegnati, sono stati una risorsa unica e duttile; in pochissimo tempo, con immensa professionalità e immane dedizione, sono stati in grado di porre in atto la prima linea di difesa, adattandosi alle nuove emergenze ovunque si manifestassero (territorio, ospedali, RSA), spesso ben prima delle decisioni ufficiali talvolta confuse e contraddittorie. Eravamo "eroi".

Contestualmente si sono evidenziati le zone d'ombra di un Sistema Sanitario che ha bisogno di un rinnovamento radicale, frutto di confronto tra i professionisti sanitari ed i medici per trovare soluzioni operative più adeguate ai tempi.

L'era dei tagli trasversali, delle riduzioni di organico e dei posti letto ci ha condotti ad un angolo buio da cui si deve rapidamente uscire.

La Sanità non può, e non deve, essere considerata una mera spesa, evitando investimenti sulla prevenzione, sul territorio, sull'igiene pubblica in ogni suo aspetto. Il sistema ha retto ma, se una nuova emergenza si dovesse manifestare, potremmo davvero trovarci in difficoltà.

Già prima del febbraio 2020 si lavorava, in tutti gli ambiti sanitari, in situazione precaria.

Non è accettabile che i professionisti siano mortificati e gravati da compiti non conformi alle proprie specifiche competenze; che la cura, primo atto dovuto, sia subordinata alla burocrazia, che le scelte sanitarie siano gestite da manager spesso lontani dalla realtà quotidiana.

Gli Ordine dei Medici, Organi sussidiari dello Stato, devono essere coinvolti nei percorsi decisionali e gestionali in modo concreto, non si deve essere coinvolti solo per i Decreti di sospensione di colleghi No-Vax; sono il termometro dello stato di salute della sanità operativa, quella più vicina ai pazienti ed alle loro necessità; devono essere "referenti della politica" sulle problematiche sanitarie e sulla condivisione di scelte che si riverberano sul territorio in modo decisivo.

La salute è un diritto fondamentale dell'individuo, è necessaria una riforma, che rispetti lo spirito della Costituzione e che con il Codice di Deontologia permetta al medico di mantenere fede alla sua missione.

Bibliografia: <https://portalefnomceo.it>

L'ARTE DELLA DEPRESCRIZIONE

Matteo Grezzana; Chiara Pavan

Azienda Ulss 9 Scaligera – Distretto 4 Ovest Veronese

La deprescrizione è un processo sistematico e proattivo che dovrebbe entrare a far parte del bagaglio culturale di ogni medico che abbia in cura un paziente anziano. Ne possono trarre il maggior beneficio gli individui in polifarmacoterapia, affetti da insufficienza renale o severo deterioramento cognitivo, in trattamento con la cosiddetta "cascata terapeutica" (principi attivi che vengono prescritti per contrastare un effetto indesiderato di un altro farmaco), frequentemente sottoposti a transizioni tra differenti setting assistenziali od in condizione di limitata aspettativa di vita. L'obiettivo finale è il miglioramento della qualità di vita del paziente – con particolare attenzione in primo luogo agli obiettivi ed alle priorità del malato - nonché la riduzione del rischio di morte ed ospedalizzazione.

La deprescrizione deve essere strutturata come un processo continuo e circolare composto di diverse fasi che si susseguono ed auspicabilmente attuata in ogni occasione di contatto con il paziente (visita ambulatoriale o domiciliare, ricovero in reparto per acuti, ricovero in struttura di cure intermedie o residenza sanitaria assistenziale). Se possibile dovrebbero tuttavia essere previsti anche dei momenti specifici (visite dedicate, gruppi multidisciplinari) per attuare efficacemente la deprescrizione. Il primo passo è la ricognizione sistematica di tutta la terapia assunta dal paziente (inclusi farmaci senza obbligo di ricetta ed integratori alimentari) basandosi su quanto realmente a disposizione del malato (è opportuno visionare le confezioni dei farmaci) e non su precedenti documenti clinici. Il secondo passo è la valutazione della corretta indicazione per ogni principio attivo a cui segue la comunicazione e la condivisione degli obiettivi terapeutici con il paziente/caregiver: il medico che attua la deprescrizione deve possedere infatti competenze specifiche nell'attuazione del processo di shared decision-making. Il quarto passo consiste nella sospensione graduale della terapia inappropriata.

Tale pratica andrà incentrata su un singolo principio attivo per volta, provvedendo ad una riduzione graduale del dosaggio ove indicato. Il quinto ed ultimo passo è rappresentato dalla rivalutazione periodica del paziente. Attuare la deprescrizione implica infatti necessariamente rivedere il paziente a distanza per monitorare gli effetti dell'intervento, proseguire nel processo e rinsaldare l'alleanza terapeutica con il paziente/caregiver. La deprescrizione deve entrare a far parte del corretto continuum prescrittivo dove si susseguono l'inizio della terapia, la titolazione del dosaggio, le modifiche terapeutiche e la sospensione dei farmaci non più necessari. Per attuare la deprescrizione nella pratica clinica sono disponibili molteplici strumenti: linee guida generali, indicazioni per specifiche classi di farmaci, liste di farmaci potenzialmente inappropriati, supporti decisionali informatizzati. Tutti gli strumenti devono essere sempre utilizzati da medici preparati ed adeguatamente formati. Il setting ideale per la messa in pratica ottimale della deprescrizione sarebbe il domicilio del paziente, unico luogo ove è possibile fare una revisione sistematica di tutti i farmaci nei quali il paziente si è imbattuto a vario titolo. Gli ostacoli alla deprescrizione sono molteplici: mancanza di chiare linee guida, cultura della "prescrizione" come parte fondante il processo di cura, inerzia terapeutica, frammentazione della cura tra molteplici medici, mancanza di tempo da dedicare specificamente a questa attività, assenza di specifici programmi di formazione, mancanza di comunicazione tra operatori sanitari.

La deprescrizione è uno degli atti medici più qualificanti da mettere in pratica nei confronti del paziente geriatrico e dovrebbe essere elemento caratterizzante la competenza specialistica del geriatra.

PATOGENESI E MECCANISMI MOLECOLARI DELL'OSTEOPOROSI

Marco Invernizzi

Dipartimento di Scienze della Salute, Università del Piemonte Orientale, Novara

Negli ultimi anni, numerosi studi hanno sottolineato la necessità di una precisa comprensione dei meccanismi biologici alla base dello sviluppo di osteoporosi per poter strutturare un intervento su misura per il paziente. In questo scenario, diversi meccanismi sono stati proposti come promotori o diretti responsabili dello sviluppo della patologia, e molti di questi sono alterati in base alla causa specifica di osteoporosi.

Ad esempio, il deficit estrogenico, l'infiammazione cronica sistemica, alcuni trattamenti farmacologici e lo stesso stile di vita influenzano il rimodellamento osseo attraverso diversi meccanismi. Più in dettaglio, una risposta infiammatoria anormale caratterizzata da un aumento delle citochine pro-infiammatorie potrebbe alterare l'equilibrio tra deposizione ossea e riassorbimento osseo. Inoltre, alcune terapie per il cancro hanno conseguenze cruciali sulla densità minerale ossea e sulla qualità ossea, con conseguente aumento del rischio di fratture da fragilità.

Negli ultimi anni, lo studio dei miRNA ha destato un crescente interesse in letteratura, con numerosi studi che hanno identificato specifici miRNA come potenziali biomarcatori utili nell'identificare precocemente i meccanismi biologici alla base dello sviluppo dell'osteoporosi, con implicazioni interessanti su possibili interventi di prevenzione in specifiche popolazioni. Inoltre, alcuni autori hanno suggerito come una specifica modulazione della regolazione di alcuni miRNA potrebbe rappresentare un target per future terapie di precisione atte a modulare la risposta scheletrica a determinati stimoli biologici.

Parallelamente, la sarcopenia è una patologia che potrebbe essere altamente prevalente nei pazienti con osteoporosi, con implicazioni cruciali per il rischio di cadute e di fratture. La coesistenza di osteoporosi e sarcopenia potrebbe influenzare negativamente il rischio di disabilità, determinando un onere cruciale sia per l'assistenza che per i costi sanitari.

Considerando i legami funzionali, embriologici e biochimici tra i tessuti ossei e muscolari, una crescente letteratura si sta ora concentrando sul crosstalk osso-muscolo che potrebbe essere un obiettivo chiave di un approccio preciso alle fratture da fragilità. In questo contesto, ricerche recenti hanno evidenziato che ossa e muscoli condividono interazioni multi-livello, con implicazioni intriganti per un approccio multitarget che abbia come obiettivo entrambi questi tessuti.

Tuttavia, un approccio globale al sistema muscolo-scheletrico è ancora impegnativo e c'è ancora un ampio divario di conoscenze sull'approccio ottimale incentrato sulle specifiche modifiche biologiche che caratterizzano le diverse patologie.

Bibliografia

1. Barnsley J, Buckland G, Chan PE, Ong A, Ramos AS, Baxter M, Laskou F, Dennison EM, Cooper C, Patel HP. Pathophysiology and treatment of osteoporosis: challenges for clinical practice in older people. *Aging Clin Exp Res.* 2021 Apr;33(4):759-773. doi: 10.1007/s40520-021-01817-y.
2. Srivastava RK, Sapra L. The Rising Era of "Immunoporosis": Role of Immune System in the Pathophysiology of Osteoporosis. *J Inflamm Res.* 2022 Mar 5;15:1667-1698. doi: 10.2147/JIR.S351918.
3. Li MCM, Chow SKH, Wong RMY, Qin L, Cheung WH. The role of osteocytes-specific molecular mechanism in regulation of mechanotransduction - A systematic review. *J Orthop Translat.* 2021 May 13;29:1-9. doi: 10.1016/j.jot.2021.04.005.
4. Invernizzi M, de Sire A, Carda S, Venetis K, Renò F, Cisari C, Fusco N. Bone Muscle Crosstalk in Spinal Cord Injuries: Pathophysiology and Implications for Patients' Quality of Life. *Curr Osteoporos Rep.* 2020 Aug;18(4):422-431. doi: 10.1007/s11914-020-00601-7.
5. Invernizzi M, Venetis K, Sajjadi E, Piciotti R, de Sire A, Fusco N. Understanding the biology of volumetric muscle loss for an individualized exercise rehabilitation approach in breast cancer patients. *Curr Opin Pharmacol.* 2021 Jun;58:27-34. doi: 10.1016/j.coph.2021.03.007.
6. Panahi N, Arjmand B, Ostovar A, Kouhestani E, Heshmat R, Soltani A, Larijani B. Metabolomic biomarkers of low BMD: a systematic review. *Osteoporos Int.* 2021 Dec;32(12):2407-2431. doi: 10.1007/s00198-021-06037-8.
7. Wu YZ, Huang HT, Cheng TL, Lu YM, Lin SY, Ho CJ, Lee TC, Hsu CH, Huang PJ, Huang HH, Li JY, Su YD, Chen SC, Kang L, Chen CH. Application of microRNA in Human Osteoporosis and Fragility Fracture: A Systemic Review of Literatures. *Int J Mol Sci.* 2021 May 15;22(10):5232. doi: 10.3390/ijms22105232.
8. Reid IR, Billington EO. Drug therapy for osteoporosis in older adults. *Lancet.* 2022 Mar 12;399(10329):1080-1092. doi: 10.1016/S0140-6736(21)02646-5. Erratum in: *Lancet.* 2022 Sep 3;400(10354):732.

PANDEMIA DA COVID-19: INSEGNAMENTI, E ASPETTI DA DOVER SVILUPPARE IL CONTESTO TERRITORIALE

Pierangelo Lora Aprile

Società Italiana di Medicina Generale e delle Cure Primarie

Secondo l'Institute for Health Metrics and Evaluation (Commissione Lancet Settembre 2022), al 31 maggio 2022 sono stati segnalati 6,9 milioni di decessi per COVID-19 mentre ne sono stati stimati 17,2 milioni (stima media). Questo sbalorditivo bilancio delle vittime è stata sì una profonda tragedia, ma anche un enorme fallimento globale. Nel documento vengono elencate le 10 cause che maggiormente hanno contribuito al disastro, fra esse: costosi ritardi nel riconoscere il percorso cruciale di esposizione di SARS-CoV-2 e nell'attuazione di misure appropriate; l'incapacità di garantire forniture globali adeguate e un'equa distribuzione di prodotti chiave, inclusi dispositivi di protezione, diagnostici, medicinali, e vaccini; la mancanza di dati tempestivi, accurati e sistematici su infezioni, decessi, varianti virali, l'incapacità di combattere la disinformazione sistematica; la mancanza di reti di sicurezza globali e nazionali per proteggere le popolazioni vulnerabili.

Il territorio, ed in particolare la Medicina Generale, si è trovato totalmente impreparato ad affrontare la pandemia, ma le cause sono esattamente quelle elencate. Tuttavia la pandemia ha solo slatentizzato un problema che data da anni: mancata programmazione e investimenti, mancato inserimento delle cure primarie nel sistema generale di cura ai cittadini hanno reso impotenti i medici di medicina generale che hanno combattuto una battaglia dignitosa anche a prezzo della loro stessa vita, curando a casa una grande quantità di persone, nonostante si diffondesse una seconda pandemia fatta di un proliferare di delibere, disposizioni confuse e contrastanti, incertezze nell'organizzare l'assistenza sul territorio che nei primi tempi era totalmente sguarnita dei più elementari strumenti per evitare il contagio.

Il 20 Marzo 2020 SIMG pubblicava il primo documento sul ruolo e i compiti del Medico di Famiglia descrivendo nel dettaglio le azioni da compiere: identifica, segnala, valuta, pianifica, imposta terapia, monitora utilizzando una dettagliata scheda informatizzata. La Pandemia ha stimolato SIMG a trovare soluzioni pronte, collaborando con le Istituzioni, offrendo strumenti utili per prevedere con largo anticipo le aree dove il contagio avrebbe ripreso vigore (Rete di monitoraggio COVID-19), strumenti per stratificare la popolazione vulnerabile a forte rischio di ospedalizzazione/morte avvalendosi del sua Scuola di Ricerca (validazione di un score di vulnerabilità per il paziente affetto da Sars-CoV-2-HS-VI: HS Vulnerability Index), soprattutto fornendo ai Medici un chiaro percorso di orientamento con la descrizione delle azioni ritenute indispensabili per contenere contagio, ricoveri, decessi.

Il Report OCSE del 30 maggio 2020 *"Realising the Potential of Primary Health Care"* ribadisce l'importanza di sviluppare nuovi modelli di assistenza sanitaria territoriale, basati sull'integrazione del Medico di Medicina Generale con altri professionisti nel contesto di una rete di servizi sanitaria strutturata. Il territorio va infatti considerato il luogo per rispondere in modo più efficace, appropriato e sostenibile ai nuovi bisogni di salute determinati dalla transizione epidemiologica e demografica (a maggior ragione nella pandemia), tramite lo sviluppo di team multiprofessionali composti da medici, infermieri e altri operatori sanitari, dotati di strumenti di tecnologia digitale e con modalità di lavoro a forte integrazione con tutti gli altri comparti della sanità pubblica.

EVALUATION OF COMPREHENSIVE GERIATRIC ASSESSMENT (CGA) INTERVENTION AND CIRCULATING SENESCENT T-CELLS IN ONCOGERIATRIC PATIENTS

Mahmoud A.M.¹; Gobbato S.¹; Martini V.²; Varughese F.²; Vachanaram A.¹; Branni C.²; Gioffi E.²; Tassone A.¹; Stella A.¹; Ciocca M.¹; Alsati R.¹; Ben Ayed R.¹; Biello F.²; Borra G.²; Ferrante D.¹; Bruna R.³; Deambrogi D.³; Patriarca A.³; Gaidano G.³; Gennari A.⁴

¹ Dimet - Università Del Piemonte Orientale, Novara, Italy

² SCU Oncologia - AOU Maggiore della Carità, Novara, Italy

³ SCU Ematologia - Università del Piemonte Orientale, Novara, Italy

⁴ SCU Oncologia - Università del Piemonte Orientale, Scuola di Medicina, Novara, Italy

abdurraouf.mahmoud@uniupo.it

Background. The incidence of frailty often higher in older patients with cancer treatments due to their functional age and co-morbidities. Frailty is a state characterized by the decline in the physiologic reserve, leading to extreme vulnerability to stressors, which can lead to detrimental health outcomes for patients. In this perspective, a frailty assessment entails the management of personalised treatment approach to increase the older patients' independence and quality of life. The aim of the study was to evaluate the impact of four different questionnaires identified frailty, and its association with circulating T-cell senescence on the outcome of elderly oncologic patients, in terms of mortality and progression free survival (PFS).

Methods. Patients aged > 65 years, candidate to target directed agents or to RT + CT treatments are screened for frailty by the G8 test; those patients classified as frail ($G8 \leq 14$) are randomized to receive a Comprehensive Geriatric Assay (CGA), using RFI (Rockwood Frailty Index), at baseline or to conventional care. Quality Of Life (QOL) was assessed by EORTC QLQ-C30C. The CD3+ T cells were isolated from Peripheral Blood Mononuclear Cells (PBMCs) at baseline and at the end of the study (after 12 months or disease progression). The cyclin-dependent kinase inhibitors (CDKi) p16^{INK4a} was evaluated as senescent T-cell marker by RT-PCR and ddPCR.

Results. Patients were randomly and equally distributed between intervention arm (49.12%) and control arm (50.88%). Median age was 75 years (range 64-92). Most represented diagnosis included lung, breast, skin, and colon cancer. We showed a negative correlation between RFI and both QLQ and p16 expression on T CD3+ cells ($r = -0.63$; $p = 0.002$; $r = -0.74$ and $p = 0.009$ Spearman test, respectively). Moreover, we demonstrated that patient with low RFI presented high level of CD3+ cells senescence ($r = -0.74$; $p = 0.009$ Spearman test), suggesting a protective role of T cell senescence against progression disease.

Conclusions. These results suggest that oncogeriatric frail patients have greater risk of mortality as compared to older fit patients and that the presence of CD3+ senescent cells seems to be a risk factor with death and protective one for progression disease. Associations between questionnaire shows that short G8 cannot replace a complete CGA, which is able to better identify frailty.

GUT MICROBIOME, AGEING AND CARDIOVASCULAR DISEASES

Clelia Peano

Revolutionary advancements of high-throughput sequencing and metagenomic tools have provided new insights to microbiome function, including a bidirectional relationship between the microbiome and host aging. In a healthy gut, microbial communities maintain a homeostatic metabolism and reside within the host in a state of immune tolerance. Abnormal shifts in the gut microbiome, however, have been implicated in the pathogenesis of age-related chronic diseases, including obesity, cardiovascular diseases and neurodegenerative diseases. The gut microbiome is emerging as a key factor in the aging process. Extrinsic factors, such as lifestyle and diet, are shown to be essential in the control of human healthy aging, and thus, longevity. They do so by targeting at least in part the gut microbiome, a collection of commensal microorganisms (microbiota), which colonize the intestinal tract starting after birth, and is established by the age of three. The composition and abundance of individual microbiota appears to continue to change until adulthood, presumably reflecting lifestyle and geographic, and individual differences. Recent reports indicate that dysbiosis is increased in aging and that the gut microbiota of elderly people is enriched in pro-inflammatory commensals at the expense of beneficial microbes. The clinical consequence of this change remains confusing due to contradictory reports and a high degree of variability of human microbiota and methodologies used.

Gut microbiome dysbiosis is a primary cause of aging-associated morbidities, and thus, premature death of elderly people. There is evidence that the dysbiosis triggers a chain of pathological and inflammatory events. Examples include alteration of levels of microbiota-affected metabolites, impaired function and integrity of the gastrointestinal tract, and increased gut leakiness. All of these enhance systemic inflammation, which when associated with aging is termed inflammaging, and result in consequent aging-associated pathologies, such as for example Cardiovascular Diseases.

Gut Microbiota (GM) dysbiosis associates with Atherosclerotic Cardiovascular Diseases (ACVD), but whether this also holds true in subjects without clinically manifest ACVD represents a challenge of personalized prevention. We connected exposure to diet (self-reported by food diaries) and markers of Subclinical Carotid Atherosclerosis (SCA) with individual taxonomic and functional GM profiles (from fecal metagenomic DNA) of 345 subjects without previous clinically manifest ACVD. Subjects without SCA reported consuming higher amounts of cereals, starchy vegetables, milky products, yoghurts and bakery products versus those with SCA (who reported to consume more mechanically separated meats). The variety of dietary sources significantly overlapped with the separations in GM composition between subjects without SCA and those with SCA (RV coefficient between nutrients quantities and microbial relative abundances at genus level = 0.65, p-value = 0.047). Additionally, specific bacterial species (*Faecalibacterium prausnitzii* in the absence of SCA and *Escherichia coli* in the presence of SCA) are directly related to over-representation of metagenomic pathways linked to different dietary sources (sulfur oxidation and starch degradation in absence of SCA, and metabolism of amino acids, syntheses of palmitate, choline, carnitines and Trimethylamine n-oxide in presence of SCA). These findings might contribute to hypothesize future strategies of personalized dietary intervention for primary CVD prevention setting also in elderly people.

MICROBIOMA INTESTINALE, INVECCHIAMENTO E MALATTIE CARDIOVASCOLARI

Clelia Peano

I progressi rivoluzionari del sequenziamento di ultima generazione applicati agli studi metagenomici hanno fornito nuove conoscenze sulla funzione del microbioma, compresa una relazione bidirezionale tra il microbioma e l'invecchiamento dell'ospite. In un intestino sano, le comunità microbiche mantengono un metabolismo omeostatico e risiedono nell'ospite in uno stato di tolleranza immunitaria. Tuttavia, cambiamenti anomali nel microbioma intestinale sono stati implicati nella patogenesi di malattie croniche legate all'età, tra cui l'obesità, le malattie cardiovascolari e le malattie neurodegenerative. Il microbioma intestinale sta emergendo come fattore chiave nel processo di invecchiamento.

È stato dimostrato che i fattori estrinseci, come lo stile di vita e la dieta, sono essenziali nel controllo dell'invecchiamento sano dell'uomo e quindi della longevità. Essi agiscono, almeno in parte, sul microbioma intestinale, un insieme di microrganismi commensali che colonizza il tratto intestinale a partire dalla nascita e si stabilisce all'età di tre anni. La composizione e l'abbondanza del microbiota individuale sembra continuare a cambiare fino all'età adulta, presumibilmente riflettendo lo stile di vita e le differenze geografiche e individuali. Studi recenti indicano che la disbiosi aumenta con l'invecchiamento e che il microbiota intestinale degli anziani si arricchisce di commensali pro-infiammatori a scapito dei microbi benefici. Le conseguenze cliniche di questo cambiamento rimangono confuse a causa di rapporti contraddittori e di un elevato grado di variabilità del microbiota umano e delle metodologie utilizzate.

La disbiosi del microbioma intestinale è una causa primaria delle patologie associate all'invecchiamento e quindi della morte prematura degli anziani. È dimostrato che la disbiosi innesca una catena di eventi patologici e infiammatori. Tra gli esempi vi sono l'alterazione dei livelli di metaboliti influenzati dal microbiota, la compromissione della funzione e dell'integrità del tratto gastrointestinale e l'aumento della permeabilità delle pareti intestinali. Tutti questi fattori aumentano l'infiammazione sistemica, che se associata all'invecchiamento viene definita *inflammaging*, e portano a patologie associate all'invecchiamento, come ad esempio le malattie cardiovascolari.

La disbiosi del microbiota intestinale (GM) si associa alle malattie cardiovascolari aterosclerotiche (ACVD), ma se ciò sia vero anche nei soggetti senza ACVD clinicamente manifesta rappresenta una sfida per la prevenzione personalizzata. Abbiamo collegato l'esposizione alla dieta e i marcatori di aterosclerosi carotidea subclinica (SCA) con i profili GM individuali tassonomici e funzionali di 345 soggetti senza precedenti ACVD clinicamente manifeste. I soggetti senza SCA hanno riferito di consumare quantità maggiori di cereali, verdure amidacee, prodotti lattiero-caseari, yogurt e prodotti da forno rispetto a quelli con SCA che hanno riferito di consumare più carne.

La varietà delle fonti alimentari si è sovrapposta in modo significativo alle separazioni nella composizione del GM tra i soggetti senza SCA e quelli con SCA (coefficiente RV tra quantità di nutrienti e abbondanze relative microbiche a livello di genere = 0,65, valore $p = 0,047$). Inoltre, specifiche specie batteriche (*Faecalibacterium prausnitzii* in assenza di SCA ed *Escherichia coli* in presenza di SCA) sono direttamente correlate alla sovra-rappresentazione di funzioni metagenomiche legate a diverse fonti alimentari. Questi risultati potrebbero contribuire a ipotizzare future strategie di intervento dietetico personalizzato per la prevenzione primaria delle CVD anche negli anziani.

PANDEMIA DA COVID-19: INSEGNAMENTI, E ASPETTI DA DOVER SVILUPPARE – IL CONTESTO OSPEDALIERO

Mario Pirisi

Dipartimento di Medicina Traslazionale, Università del Piemonte Orientale e AOU Maggiore della Carità, Novara (NO).

La pandemia da Covid-19 ha avuto un profondo impatto sul sistema sanitario Italiano, tale che è facile prevedere che, in un futuro, si parlerà di una sanità prima del COVID e di una sanità dopo il Covid. Per quanto riguarda gli ospedali, il Covid-19 è stato uno stress test estremo, che ha evidenziato alcuni dei mali dei quali – a ben guardare - erano ampiamente visibili i segnali prima della pandemia stessa. In estrema sintesi, alcuni dei principali elementi clinici emersi con la pandemia sono stati:

- **vetustà delle strutture** ospedaliere, con grandi difficoltà nella gestione di reparti “puliti” e “sporchi” nello stesso ospedale, nello stesso padiglione, talora nello stesso piano; scarsa possibilità di ampliare/ridurre i posti letto in funzione dell’andamento pandemico; posti letto negli ospedali per acuti e più specificatamente nelle terapie intensive insufficienti;
- **personale medico e infermieristico** disabituato a gestire problemi al di fuori del proprio ambito specialistico o superspecialistico; carico estremo di lavoro di personale non di rado non più giovane e sostanzialmente sottopagato; difficoltà a reclutare nuovo personale;
- scarsa comunicazione e collaborazione tra **ospedale e territorio**.

Più in generale, il sistema sanitario nel suo complesso si è dimostrato non sufficientemente preparato ad affrontare uno dei nodi centrali del Paese, che è chiaramente quello demografico.

Allo stesso tempo, il Covid-19 è stato promotore di una migliore cultura della prevenzione delle infezioni ospedaliere, ha accelerato la transizione verso nuove forme di sanità digitale e ha dato una spinta al lavoro interdisciplinare. Molti – sfortunatamente, bisogna dirlo, non tutti – hanno imparato a rispettare il metodo scientifico nella valutazione di efficacia delle terapie (*quomodo, nisi experimentum?*).

Ci si può domandare cosa sia cambiato negli ospedali in era post-Covid rispetto all’era pre-Covid. La risposta, dalla prospettiva della medicina interna è: non molto. La carenza cronica di posti-letto internistici non si è ridotta, ma piuttosto si è acuita; l’età media dei malati (già molto elevata) si è ulteriormente alzata, arrivando a 83 anni; la mortalità è rimasta molto elevata. Si sono però ridotti i re-ricoveri, probabilmente per una maggiore mortalità in malati estremamente fragili e comorbidi, piuttosto che per una presa in carico sul territorio. In breve, rimane molto da fare per trasformare le criticità evidenziate dal Covid in opportunità per il futuro.

ACTIVE AGING, INVENTARSI UN'ALTRA VITA

Gianfranco Quaglia

Aging o Active Aging? Invecchiamento o invecchiamento attivo? In un paese come il nostro, il secondo più vecchio del mondo (14 milioni di ultra 65enni) sarebbe assurdo anche solo immaginare una popolazione che, raggiunta l'età pensionabile, si siede letteralmente su una panchina o trascorre le giornate al bar. A un noto magistrato italiano, arrivato al fatidico giorno della quiescenza, i colleghi hanno regalato una pettorina arancione accompagnandola a una ironica scritta augurale: "Ora potrai dedicarti alla visita dei cantieri". E' l'immagine oleografica e classica dei cosiddetti "Umarell", quei pensionati che trascorrono ore e ore davanti a un cantiere qualsiasi, osservando il progredire dei lavori. Quel magistrato, dopo aver sorriso, ha fatto esattamente l'opposto: è diventato un conferenziere e un relatore nelle scuole, dove parla di legalità ai giovani.

Ecco un esempio di invecchiamento attivo e intelligente. Interpretato da parte di chi, dopo una vita dedicata a lavori appassionanti, ha deciso di trasmettere esperienza mettendosi al servizio degli altri.

Ma accade anche con donne e uomini che – dopo aver svolto una professione non appagante sotto il profilo della creatività, oppure troppo faticosa fisicamente – vogliono dedicarsi alla famiglia, ai nipoti. Ma sentono anche il bisogno di stimoli sociali e creativi entrando nel mondo del volontariato.

C'è un altro aspetto da considerare. Negli ultimi anni l'espulsione affrettata e anticipata dal mondo del lavoro può creare - in chi li subisce - scompensi di carattere psicologico, disadattamenti. L'impressione di essere esclusi nel momento in cui un dipendente (in posizione subalterna o apicale) ha raggiunto il massimo dell'esperienza professionale. Accade sovente in molte realtà produttive, come l'editoria. Il settore dell'informazione, stravolto da una crisi che dura ormai da oltre dieci anni, è un esempio lampante. Migliaia di giornalisti prepensionati, cassintegrati tra i 58 e i 63 anni, scaricati dai giornali che in questo modo hanno cercato di salvare i bilanci in rosso, usufruendo degli stati di crisi e delle provvidenze stanziare dai Governi che si sono succeduti. Le conseguenze: l'istituto di previdenza dei giornalisti è andato in default perché non riedce più a pagare le pensioni ed è stato assorbito dall'Inps. Ma l'aspetto più drammatico è un altro: la rinuncia a un patrimonio del sapere, del know how, senza il quale il mondo dell'informazione si impoverisce. Tra l'altro l'uscita anticipata favorisce, soltanto in minima parte, il ricambio generazionale, perché le aziende non assumono quasi più. Ecco un esempio di spreco culturale e sociale.

UPO SOGUD PREVENTION - BUONE PRATICHE NELLA PREVENZIONE DELL'OSTEOPOROSI

**Carmela Rinaldi^{1,2}, Diego Concina¹, Massimiliano Panella¹
e Gruppo di lavoro UPO SoGuD**

Keywords: Osteoporosi, Prevenzione primaria, Best practices.

¹ Dipartimento di Medicina Traslazionale - Università del Piemonte Orientale - Novara

² Area Formazione e Ricerca DiPSa - AOU Maggiore della Carità - Novara

L'osteoporosi è la malattia non-trasmissibile metabolica dell'osso più frequente. Il carico globale di malattia causato dall'osteoporosi viene quantificato in DALYs (Disability Adjusted Life Years) che integra gli anni di vita persi dovuti a una frattura con la disabilità in coloro che sopravvivono. In Europa il carico di malattia determinato dalle fratture osteoporotiche supera il carico dovuto alla patologia ipertensiva (1,2 milioni) o artrite reumatoide (1 milione), pur restando meno impattanti a confronto con le bronco-pneumopatie croniche ostruttive (3,4 milioni) o patologie ischemiche cardiache (16 milioni). Fatta eccezione per il tumore del polmone (3,2 milioni DALYs), complessivamente le fratture osteoporotiche superano come causa di mortalità e morbilità qualsiasi tipologia di neoplasia.

Il programma UPOSoGud Prevention (Università del Piemonte Orientale Summaries of Guidelines Upon Disease Primary Prevention) ha l'obiettivo di identificare le raccomandazioni o best practices di prevenzione primaria per un selezionato gruppo di patologie non trasmissibili tipiche dell'età adulta-anziana (come l'osteoporosi), utilizzando una metodologia sviluppata a priori per formulare un percorso diagnostico preventivo (PDP) dedicato a uno specifico target di pubblico: decisori politici, professionisti sanitari e cittadini. Le fasi del protocollo UPO SoGuD prevedono: identificazione, attraverso revisione della letteratura (UpToDate), dei fattori di rischio modificabili e non modificabili per la malattia; ricerca sistematica di linee guida internazionali attraverso 16 database oltre a PubMed, coprendo un arco temporale di 10 anni; valutazione in doppio cieco dei criteri di inclusione; valutazione della qualità delle linee guida selezionate con metodologia AGREE II (punteggio >50%); categorizzazione delle raccomandazioni in base al tipo di intervento, ai fattori di rischio e agli stakeholders; valutazione delle raccomandazioni per la loro rilevanza per la salute individuale con punteggio dicotomico a opera di un pool di esperti (clinici e professionisti di sanità pubblica) usando il metodo Delphi. Hanno soddisfatto i criteri di inclusione 31 linee guida su 103 e 11 sono state incluse nelle analisi qualitative. 5 linee guida hanno ottenuto un punteggio Agree II >50% e sono state incluse nella valutazione finale (miglior punteggio Agree 75,00%). Sono state identificate 86/232 (37%) raccomandazioni di prevenzione primaria che il pool di esperti ha valutato: 81/86 (94%) riguardanti i professionisti della salute, 24/86 (28%) riguardanti anche i decisori politici e 49/86 (57%) riguardanti anche la popolazione generale. 55/86 (64%) raccomandazioni sono state considerate di alta priorità dal pool di esperti.

Questo è, a nostra conoscenza, il primo tentativo di riassumere sistematicamente le migliori pratiche evidenziate dalle migliori linee guida presenti in letteratura scientifica sull'osteoporosi. I risultati hanno permesso la formulazione del PDP per la valutazione del rischio di Osteoporosi, la prevenzione primaria mediante interventi sullo stile di vita e la programmazione di piani di follow-up. Inoltre, i risultati hanno contribuito a validare il processo metodologico che è stato poi utilizzato per la sintesi dei PDP relativi a Broncopneumopatia cronica ostruttiva e Decadimento Cognitivo/Demenza.

EQUISETUM ARVENSE STANDARDIZED EXTRACT TO COUNTERACT OSTEOSARCOPENIA DURING AGING

**Francesca Riuzzi^{1,2}, Laura Salvadori^{2,3},
Maria Laura Belladonna¹, Martina Paiella^{2,3},
Tommaso Manenti⁴, Catia Ercolani⁴, Luca Cornioli⁴,
Sara Chiappalupi^{1,2}, Giulia Gentili^{1,2}, Guglielmo Sorci^{1,2}
and Nicoletta Filigheddu^{2,3}**

¹ Dept Medicine and Surgery, University of Perugia, Perugia, Italy;

² Interuniversity Institute of Myology (IIM), Perugia, Italy;

³ Dept Translational Medicine, University of Piemonte Orientale, Novara, Italy;

⁴ Laboratori Biokyma srl, Anghiari, Italy

Osteosarcopenia is an age-associated and unresolved condition characterized by concomitant bone (osteoporosis) and skeletal muscle (sarcopenia) wasting increasing the risk of fractures, loss of independence, morbidity and mortality. Common factors, such as low-grade chronic inflammation and excessive treatment with glucocorticoids (GCs), are responsible for bone and muscle loss. The imbalance between muscle protein breakdown and synthesis leading to a reduction in muscle type II myosin heavy chain (MyHC-II), and between bone formation and resorption due to excess activity of osteoclasts, are the many causes of osteosarcopenia. Considering the growing interest in identifying natural active compounds useful in treating or preventing sarcopenia, we focused on the *Equisetum arvense* (EQ) medical plant traditionally recommended for the treatment of many conditions in virtue of its numerous active metabolites. We tested a standardized dry extract of EQ in *in vitro* experimental models mimicking muscle atrophy [i.e., C2C12 myotubes treated with proinflammatory cytokines (TNF α /IFN γ) or excess GCs (dexamethasone)] or osteoclastogenesis (i.e., RAW 264.7 cells treated with RANKL). We found that EQ extract: i) counteracted MyHC-II degradation blunting the activity of different catabolic pathways depending on the atrophying stimulus applied, and ii) reduced RANKL-dependent osteoclast formation, as evidenced by a decrease in TRAP-positive cells, TRAP enzymatic activity, and expression of osteoclastogenic markers. We investigated the effects of EQ administration on pre-geriatric (21-month-old) C57BL/6 mice by melting the extract (500 mg/kg/die) directly into the drinking water for 3 months. We found that EQ consumption during aging: i) improved muscle performance; ii) preserved muscle mass and myofiber area; iii) maintained the expression of fast MyHC-II balancing the shift towards slow MyHC-I; and, iv) preserved the expression levels of genes involved in the maintenance of muscle mass and fatty acid metabolism. The mechanisms underlying the effects of EQ consumption were also investigated. Altogether, our data suggest that EQ might be proposed as a new treatment helping to preserve both muscle functionality and physiological bone remodelling during aging, thus ameliorating the quality of life and reducing healthcare costs.

CARATTERIZZAZIONE DI UN MODELLO DI CELLULE STAMINALI MESENCHIMALI DI TESSUTO ADIPOSO VISCERALE PER LO STUDIO DI MALATTIE ASSOCIATE ALL'INVECCHIAMENTO

Varalda M.¹, Venetucci J.¹, Antona A.¹ Nikaj H.³, Cracas S.¹, Shaar A.¹, Sseguya P.¹, Valente G.^{1,4}, Marzullo P.¹, Gentili S.^{1,3,5}, Capello D.^{1,2}

¹ Dipartimento di medicina traslazionale, Centro di eccellenza in Aging, Università del Piemonte Orientale, Novara 28100, Italia;

² UPO Biobank, Università del Piemonte Orientale, Novara 28100, Italia;

³ Reparto di chirurgia generale, Università di Piemonte Orientale, AOU Maggiore della Carità, Novara 28100, Italia,

⁴ Unità di patologia, Ospedale Sant'Andrea, Vercelli 13100, Italia, ⁵Dipartimento di scienza della salute, Università del Piemonte Orientale, Novara 28100, Italia

Il tessuto adiposo bianco (WAT) è un organo complesso che svolge fondamentali funzioni energetiche ed endocrine. Durante l'invecchiamento il WAT va incontro a modificazioni metaboliche e funzionali che contribuiscono allo sviluppo di alterazioni del metabolismo energetico, come il diabete, disordini cardiovascolari e tumori. Il WAT è costituito da diversi tipi cellulari, tra cui adipociti, cellule immunitarie e cellule staminali mesenchimali (MSC). In particolare, le MSC, negli ultimi anni, sono state largamente studiate nel campo della medicina rigenerativa come opzione terapeutica nel trattamento di malattie metaboliche, disordini immunitari e malattie legate all'invecchiamento. Inoltre, studi recenti hanno anche evidenziato come le MSC possano costituire un'importante componente del microambiente tumorale (TME), sostenendone la crescita. Considerando la grande rilevanza del WAT nelle malattie metaboliche e legate all'invecchiamento, la nostra ricerca si pone l'obiettivo di caratterizzare le vie di segnalazione e i meccanismi molecolari coinvolti nello sviluppo di tali patologie. A tale scopo, è stato messo a punto un modello in vitro di cellule staminali mesenchimali umane derivate da tessuto adiposo (ADSC).

Le MSC isolate da campioni biotipici di WAT viscerale umano sono state espanse in vitro e caratterizzate per l'espressione dei principali marcatori di staminalità e per la capacità di differenziare in adipociti. Le linee di ADSC ottenute sono poi state impiegate per: i) caratterizzare i meccanismi molecolari associati alla senescenza; ii) individuare nuovi marcatori di senescenza; iii) definire le interazioni metaboliche tra WAT e cancro, con una particolare attenzione rivolta al carcinoma del colon-retto (CRC) e dell'endometrio (EC), per i quali l'obesità è un fattore di rischi riconosciuto. Per lo studio della senescenza è stato messo a punto un modello di senescenza indotta da stress ossidativo, mediante trattamento delle ADSC con H₂O₂.

Queste cellule hanno dimostrato una ridotta capacità proliferativa e di differenziamento, nonché un'aumentata espressione di marcatori di danno al DNA, quali p53, p21 e p16^{INK4A}, pari a quella osservabile in cellule in stato di senescenza replicativa. Riguardo le interazioni tra WAT e CRC abbiamo osservato che cellule tumorali trattate con terreno condizionato di ADSC "naive" mostrano una significativa riduzione della vitalità cellulare. Al contrario, la crescita delle cellule tumorali aumenta quando queste vengono mantenute in co-cultura per due settimane con ADSC. Le ADSC cresciute a contatto con le cellule tumorali mostrano un significativo cambiamento della morfologia e del metabolismo, caratterizzato dall'accumulo di lipidi neutri, espressione di marcatori di differenziamento fibroblastoide e riduzione del potenziale di membrana mitocondriale. La degradazione del network mitocondriale, l'aumentata co-localizzazione di LC3B in prossimità dei mitocondri, la riduzione

della fosforilazione T172 di AMPK e dell'espressione di PGC1 α in ADSC trattate con terreno condizionato suggeriscono l'attivazione del processo mitofagico e l'inibizione di biogenesi mitocondriale. Infine, studi preliminari effettuati sull'interazione tra ADSC e EC hanno mostrato, analogamente a quanto precedentemente osservato in CRC, un aumento della crescita tumorale e della chemioresistenza quando le cellule tumorali vengono mantenute in cocultura con ADSC.

In conclusione, i nostri risultati mostrano come il modello di ADSC adottato sia utile per studiare alcuni aspetti fondamentali della fisiopatologia dell'invecchiamento. Una maggiore comprensione del processo di senescenza potrà contribuire alla scoperta di nuovi marcatori di invecchiamento da sfruttare come nuovi target predittivi e terapeutici. Allo stesso modo, gli studi effettuati sul microambiente tumorale possono contribuire alla comprensione dei processi che portano allo sviluppo della neoplasia e all'ideazione di nuove terapie antitumorali.

GLI STUDI DI COORTE SONO ANCORA UTILI PER LA RICERCA SULL'INVECCHIAMENTO?

Paolo Vineis

Imperial College, Londra UK

La domanda contenuta nel titolo è una domanda retorica. Non solo gli studi di coorte (cioè prospettici di popolazione) sono utili, ma proprio grazie alle domande da essi sollevate ne servono di migliori e di più grandi. Qui cito solamente un esempio di consorzio internazionale di studi di coorte sull'invecchiamento, Lifepath (H2020), che ha dato origine a un gran numero di risultati utili sull'interazione tra aspetti sociali (diseguaglianze) ed effetti biologici. Il modello che abbiamo proposto in Lifepath mirava a identificare meccanismi sottostanti alle relazioni causali attraverso il concetto di *embodiment* (incorporazione del sociale nel biologico).

Avendo dimostrato nel nostro studio che le diseguaglianze sociali e gli stili di vita si manifestano anche attraverso la trascrizione del DNA, gli orologi biologici (metilazione del DNA), il carico allostatico ecc., abbiamo cercato di fornire un substrato biologico e materiale alle abituali categorie sociologiche. Inoltre ricostruire i percorsi molecolari che legano le esposizioni agli esiti clinici ha il pregio di chiarire quali tra le cause distali sono più plausibili, anche attraverso le "analisi (statistiche) di mediazione". Siamo solo agli inizi del percorso, ma una delle finalità di queste analisi è capire se contano di più, tra i determinanti distali delle malattie, il reddito, l'istruzione, le reti sociali, i comportamenti, ecc.

Ciascuno di questi determinanti può essere caratterizzato da meccanismi intermedi diversi e dunque portare a ipotesi di intervento correttivo diverse. Per esempio, i nostri modelli controfattuali sembrano suggerire che intervenire sugli eventi avversi nell'infanzia (ACE) può avere, sulla riduzione della mortalità, la stessa efficacia della lotta al fumo.

Pertanto non vi è dubbio che disporre di ampie indagini prospettiche di popolazione, dotate di campioni biologici (incluso il DNA) e con misurazioni ripetute nel tempo costituisca un contributo prezioso alla ricerca biomedica.



EVALUATION OF PRO-INFLAMMATORY CYTOKINES IN PATIENTS ONE YEAR AFTER COVID-19: ASSOCIATION WITH LONG-TERM SEQUELAE

**Apostolo D.^a; Masera G.^{a,b}; Bertetto R.^{a,b}; Albè A.^{a,b};
Crevola M.^{a,b}; Errica N.^{a,b}; Ratano G.^{a,b}; Tonello S.^a;
Minisini R.^a; D'Onghia D.^a; Patrucco F.^{a,b}; Zeppegno P.^{a,b};
Gramaglia C.^{a,b}; Balbo P.E.^b; Baricich A.^{a,b}; Cappellano G.^a;
Casella S.^a; Chiocchetti A.^a; Clivati E.^b; Giordano M.^{a,b};
Manfredi M.^a; Pinato D. J.^{a,c}; Puricelli C.^{a,b}; Colangelo D.^d;
Raineri D.^a; Rolla R.^a; Sainaghi P.P.^{a,b}; Bellan M.^{a,b}; Pirisi M.^{a,b};
and the No-More COVID study group**

^a. Università del Piemonte Orientale UPO, via P. Solaroli 17, 28100 Novara, Italy.

^b. "AOU Maggiore della Carità", corso G. Mazzini 18, 28100 Novara, Italy.

^c. Department of Surgery & cancer, Imperial College London, Hammersmith Hospital, London UK.

^d. Dipartimento di Scienze della Salute, via P. Solaroli 17, 28100 Novara, Italy

20024276@studenti.uniupo.it

Introduction and aim

A relevant proportion of COVID-19 survivors continue to experience physical and neuropsychiatric symptoms, referred as Long COVID, even after the clearance of acute infection¹. In the present study we focused on the evaluation of the prevalence of long-term sequelae and their association with pro-inflammatory status.

Methods

A prospective cohort study was conducted including 247 post-COVID-19 patients discharged from Maggiore della Carità University Hospital in Novara. Patients were evaluated with a multidisciplinary approach during the 12-month follow-up visits. This evaluation included a clinical examination, a lung function assessment through diffusing capacity of the lungs for carbon monoxide (DLCO) and a mental health assessment.

Moreover, cytokines levels were analyzed using the Bio-Plex Pro™ Human Cytokine Assays. The aim was to investigate persistence of clinical symptoms, reduction of pulmonary function and anxiety and depressive symptoms and their association with plasma levels of cytokines after one year. In addition, in 73 patients the association with residual symptoms and cytokines levels was evaluated also through blood samples obtained during the acute phase of the disease.

Results

A significant proportion (37.7 %) of patients still complained at least one physical symptom one year after the acute phase of the disease. DLCO emerged as the only independent predictor of residual symptoms suggesting the relevance of residual organ impairment in the development of long COVID. Indeed, the prevalence of residual symptoms is higher among subjects with a reduction of DLCO (DLCO < 80% of predicted value) compared to those with a normal DLCO. Moreover, the presence of anxiety and depressive symptoms is associated with long COVID only among those subjects who did not show a significant reduction in DLCO. None of the assessed baseline cytokines predicted the development of persistent symptoms at the follow-up evaluation. Conversely, patients suffering from long Covid showed increased values of IL-12 (p=0.0003), IL-17 (p=0.0008), IL-1β (p=0.005),

IFN- γ ($p=0.006$) and TNF- α ($p=0.01$) at the follow-up evaluation. DLCO ($p=0.04$) and IL-12 ($p=0.04$) were the only variables independently associated with the persistence of symptoms at one year from hospital discharge.

Conclusion

Lung impairment has proven to be an independent predictor of residual symptoms, suggesting its relevance in the pathogenesis of the disease. On the other side, psychiatric symptoms are associated with long COVID only among those subjects who did not show a significant reduction of DLCO, indicating that also mental health may play a key role in the development of long COVID. In addition, between cytokines analyzed, IL-12 was associated with residual symptoms, showing that a pro-inflammatory state may be implicated in the pathogenesis of Long COVID syndrome.

Bibliography

¹Phetsouphanh, C., Darley, D.R., Wilson, D.B., Howe, A., Munier, C.M.L., Patel, S.K., Juno, J.A., Burrell, L.M., Kent, S.J., Dore, G.J., et al. (2022). Immunological dysfunction persists for 8 months following initial mild-to-moderate SARS-CoV-2 infection. *Nat. Immunol.* 23.

EFFICACIA E TOLLERABILITÀ DEL TRATTAMENTO CON ANTICORPI MONOCLONALI NEI PAZIENTI ANZIANI AFFETTI DA INFEZIONE SARS-COV-2 NOSOCOMIALE

**Lucio Boglione¹, Federica Poletti², Roberto Rostagno²,
Roberta Moglia², Marco Cantone², Maria Esposito²,
Silvio Borrè²**

¹ Università del Piemonte Orientale, Dipartimento di Medicina Traslazionale, Novara, Italia

² Ospedale Sant'Andrea, Unità di Malattie Infettive, Vercelli, Italia

Il trattamento con immunizzazione passiva nei pazienti con infezione SARS-CoV-2 avviene mediante la somministrazione di anticorpi monoclonali specifici; in Italia sono stati autorizzati a partire da aprile 2021 i differenti anticorpi monoclonali: bamlanivimab, bamlanivimab/etesevimab, casirivimab/imdevimab, sotrovimab. Sono candidabili al trattamento con questi farmaci i pazienti con recente insorgenza di sintomi da infezione SARS-CoV-2 (non oltre 10 giorni) e con rischio di progressione elevato della malattia, senza necessità di ossigenoterapia per COVID-19 al momento della diagnosi.

In questa analisi retrospettiva sono stati analizzati tutti i casi di trattamento con anticorpi monoclonali in pazienti con età ≥ 65 anni e diagnosi di COVID-19 nosocomiale nel periodo compreso fra aprile 2021 e marzo 2022. Sono stati analizzati i dati di 75 pazienti, di età mediana 75 anni, in prevalenza di sesso maschile (54.6%), che hanno ricevuto il trattamento con anticorpi monoclonali per i seguenti fattori di rischio: malattie cardiovascolari (14.6%), diabete scompensato (17.3%), obesità (28%), malattie neurodegenerative (5.3%), immunodepressione (12%), malattie respiratorie croniche (8%), malattie renali croniche (14.7%).

Il trattamento precoce (entro 6 giorni dall'inizio dei sintomi) è stato somministrato nel 41.3%, nel restante 58.6% fra 7-10 giorni. Le terapie somministrate sono state: bamlanivimab (5.3%), bamlanivimab/etesevimab (16%), casirivimab/imdevimab (36%) e sotrovimab (42.7%). Dopo la somministrazione della terapia il 18.7% dei pazienti ha sviluppato polmonite con necessità di ossigenoterapia a basso flusso, nell'8% è stato richiesto supporto ad alto flusso, nel 2.7% il trasferimento presso unità di terapia intensiva. La mortalità complessiva è stata del 13.3%.

Il miglioramento clinico è stato osservato nel 65.3% dei casi. Sono risultati fattori predittivi di fallimento terapeutico: lo stato di immunodepressione (OR=2.109, $p=0.012$), la presenza di dispnea (OR=1.224, $p=0.021$), la terapia somministrata fra 7-10 giorni (OR=4.610, $p<0.001$), la presenza di polmonite interstiziale (OR=1.463, $p=0.001$). Si sono verificati 1 evento avverso grave e 2 reazioni da ipersensibilità immediata che hanno richiesto la sospensione dell'infusione.

Complessivamente la mortalità del 13% è risultata significativamente più bassa rispetto ai casi di COVID-19 nosocomiali che non hanno effettuato il trattamento con anticorpi monoclonali (prima di aprile 2021, mortalità del 24.4%).

REACTION, RETI DI ASSISTENZA COMUNITARIA PER LA FRAGILITÀ

Busca E.^{a,b}, Cattaneo A.^a, Caristia S.^a, Dal Molin A.^{a,b}, Gruppo Comitato di Pilotaggio REAction*

^a Dipartimento di Medicina Traslazionale, Università del Piemonte Orientale, Via Solaroli 17, 28100, Novara

^b Azienda Ospedaliera Universitaria Maggiore della Carità, Corso Giuseppe Mazzini 18, 28100, Novara

erica.busca@uniupo.it

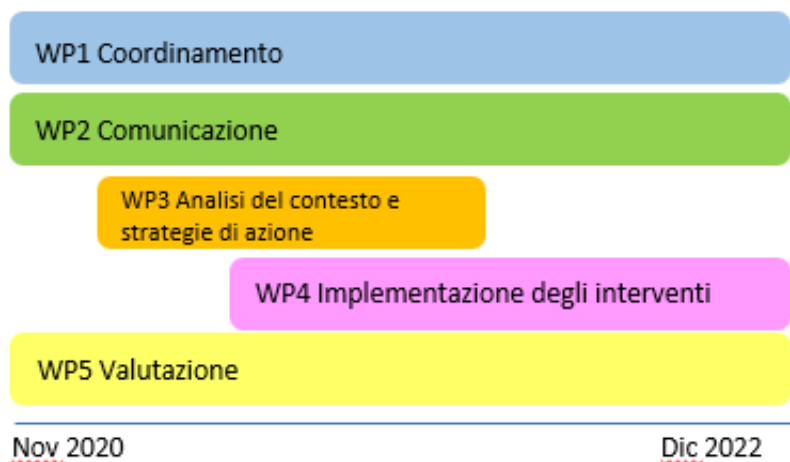
*Balestra G., Campagna S., Campani D., Clari M., Di Giulio P., Di Monte V., Faggiano F., Levati S., Mannamplackal S., Matella R., Maulini S., Prandi C., Pratillo S., Riccio F., Signorotti L., Suardi B., Vallana E., Vallerani T.

Background: Il fenomeno dell'invecchiamento globale della popolazione ha aumentato la domanda di servizi di assistenza e i bisogni di inclusione sociale. Per rispondere in maniera efficace e sostenibile a questi bisogni, garantendo all'anziano la maggiore autonomia possibile e una migliore qualità di vita, è necessario il supporto di tutta la comunità. Il progetto REAction si pone come obiettivo quello di favorire la permanenza dell'anziano fragile, che vive in piccoli centri urbani e comunità montane, al domicilio, il più possibile in buona salute.

Materiali e metodi: Il progetto ha avuto inizio nel dicembre 2020 ed ha una durata biennale. Le attività si realizzano all'interno di 5 Work Packages (Figura 1). I partner del progetto sono, per il versante italiano, l'Università del Piemonte Orientale (UPO) (Capofila di progetto), l'ASL di Vercelli, l'ASL di Novara, l'Università degli Studi di Torino e, per il versante svizzero, l'Associazione Locarnese e Valmaggese di Assistenza e cura a Domicilio (ALVAD). I destinatari del progetto sono gli anziani over 65 anni, i loro caregiver e gli Infermieri di Famiglia e Comunità (IFeC) dei tre territori sperimentali: distretto sud e urbano dell'ASL NO, comuni afferenti alla Casa della Salute di Santhià dell'ASL VC e il Locarnese e Valmaggese (ALVAD).

Risultati: dopo un'analisi del contesto socio-sanitario delle aree coinvolte nel progetto, è in corso la fase sperimentale di REAction, ovvero l'applicazione di interventi di rete negli ambiti di prevenzione e gestione delle cadute (ASL NO - ALVAD) e delle condizioni di solitudine (ASL VC - ALVAD) mediante l'utilizzo di dispositivi tecnologici innovativi. L'implementazione degli interventi sperimentali ha previsto l'attivazione di un corso formativo rivolto agli

Figura 1: WP di progetto



IFeC dei due versanti della frontiera, al fine di acquisire competenze specifiche nell'ambito dell'educazione sanitaria e dello sviluppo delle reti di prossimità dell'anziano. Inoltre, i partner sono stati coinvolti un processo di mappatura delle risorse locali disponibili e di formalizzazione delle reti. REACtion ha potuto ampliarsi di un modulo aggiuntivo dedicato al COVID-19, in cui l'UPO ha sviluppato un serious game con l'obiettivo principale di favorire l'apprendimento dei discenti (infermieri e assistenti sociali) nell'ambito dell'assistenza erogata al domicilio, attraverso una simulazione virtuale interattiva.

Conclusioni: REACtion è un progetto ancora in itinere e si evolve e si amplifica di pari passo alle connessioni che vengono a crearsi. La pandemia di COVID-19 ha rappresentato una sfida all'introduzione degli interventi sperimentali tecnologici ma anche un'opportunità per modulare le attività e far fronte ai nuovi bisogni della popolazione anziana. L'implementazione di reti a sostegno della domiciliarità è una condizione favorente al miglioramento della qualità di vita dell'anziano e dell'assistenza socio-sanitaria a livello territoriale.

RUOLO DELLE EXTRACELLULAR VESICLES PLASMATICHE NELL'INFLAMMAGING, DANNO CARDIOVASCOLARE E DEFICIT COGNITIVO NELLA MALATTIA RENALE CRONICA AVANZATA

**Marengo M.^a; Merlotti G.^b; Quaglia M.^b; Bruno S.^c;
Migliori M.^d; Kublickiene K.^e; Stenvinkel P.^e; Grossini E.^b;
Camussi G.^c e Cantaluppi V.^b**

^a SC Nefrologia e Dialisi, ASL CN1, Cuneo, Italy;

^b Dipartimento di Medicina Traslazionale (DIMET), Università del Piemonte Orientale (UPO), Novara, Italy;

^c Dipartimento di Scienze Mediche, Università di Torino, Torino, Italy;

^d SC Nefrologia e Dialisi, Ospedale Versilia, Camaiore (LU), Italy; eRenal Medicine Division, Karolinska Institutet, Stockholm, Sweden.

Background e scopo del lavoro: I pazienti con malattia renale cronica avanzata (CKD) si caratterizzano per la presenza di senescenza tissutale accelerata con differenza significativa tra età cronologica e biologica. I meccanismi di inflammaging aumentano il rischio di eventi cardiovascolari: diversi mediatori infiammatori, tra cui le extracellular vesicles (EV), possono avere un ruolo in questi eventi biologici. Le EV sono microparticelle coinvolte nella comunicazione intercellulare tramite il transfer di proteine, lipidi e materiale genetico alle cellule target. Scopi del lavoro: 1) Isolamento e caratterizzazione fenotipica delle EV derivate da plasma di pazienti CKD. 2) Correlazione tra la concentrazione e l'espressione di specifiche proteine e microRNAs delle EV con parametri clinici di funzione cardiovascolare e cognitiva. 3) Studi *in vitro* degli effetti delle EV isolate sulla disfunzione e senescenza vascolare.

Metodi: Arruolamento di 50 pazienti con CKD avanzata, isolamento delle EV plasmatiche mediante ultracentrifugazione e analisi per concentrazione/dimensione (Nanosight), espressione delle proteine di superficie (FACS) e di microRNAs (qRT-PCR). I pazienti sono stati sottoposti a: ecocardiografia, misura della pulse wave velocity (PWV), valutazione dello spessore dell'intima carotidea, Mini Mental test (MMT) e Beck Inventory Scale (BDI) per la diagnosi di deficit cognitivo e di depressione. Gli effetti biologici delle EV isolate sono stati valutati *in vitro* su cellule endoteliali e muscolari lisce umane. Inoltre, le EV sono state utilizzate su vasi arteriosi isolati per la valutazione della capacità di vasocostrizione/vasodilatazione e dell'espressione delle proteine delle tight junctions.

Risultati: Le EV plasmatiche isolate hanno una concentrazione significativamente aumentata rispetto a quelle provenienti da una coorte di controllo comparabile per età e sesso. Le EV derivano principalmente da cellule endoteliali, piastrine e monociti ed esprimono sulla loro superficie proteine coinvolte nei meccanismi di infiammazione, apoptosi e senescenza (C5b9, tissue factor, CD40-ligand, ICOS, Fas-ligand). Le EV portano alcuni microRNAs noti per svolgere un ruolo nei meccanismi di disfunzione endoteliale e calcificazione vascolare tra cui miR-223. Le EV di origine endoteliale (CD31+) correlano con la rigidità arteriosa e quella di origine piastrinica (CD62P+) con lo spessore dell'intima carotidea e con il deficit cognitivo. *In vitro*, le EV inducono disfunzione endoteliale con aumentata produzione di ROS, favoriscono la transizione endotelio-mesenchimale e aumentano l'adesione infiammatoria di monociti sull'endotelio. Sulle cellule muscolari lisce le EV aumentano i processi di calcificazione e l'espressione genica di molecole coinvolte nella trasformazione osteoblastica come Runx-2. Sui vasi arteriosi isolati, le EV di pazienti CKD riducono in modo

significativo la capacità di vasodilatazione NO-dipendente e l'espressione delle molecole delle tight junctions (JAM 1 e claudin), suggerendo un ruolo delle EV stesse nell'aumento delle permeabilità endoteliale in distretti specifici quali la barriera ematoencefalica (BEE). Infine, studi preliminari nei topi hanno dimostrato come le EV plasmatiche siano in grado di attraversare la BEE localizzandosi in diverse aree cerebrali con un possibile effetto neurodegenerativo diretto. Infatti, abbiamo anche osservato una correlazione inversa tra la concentrazione plasmatica delle EV e i livelli di Brain-Derived Neurotrophic Factor (BDNF), un fattore di crescita essenziale per la maturazione e la plasticità neuronale.

Conclusioni: Le EV plasmatiche sono dei biomarkers e dei mediatori di accelerata senescenza cardiovascolare e neurologica, fornendo una possibile spiegazione biologica alla senescenza tissutale dei pazienti con CKD avanzata. Studi futuri mirati alla modulazione del fenotipo delle EV circolanti mediante nuovi approcci terapeutici basati su trattamenti dialitici innovativi o sulla dieta potrebbero limitare i meccanismi di inflamming EV correlati.

EFFECT OF DIET AND PHYSICAL EXERCISE ON FUNCTIONAL SCALES AND ON BIOCHEMICAL AGING MARKERS IN INSTITUTIONALIZED ELDERLY: A RANDOMIZED CONTROLLED TRIAL

**Conti A.^a; Concina D.^a; Opizzi A.^a; Rinaldi C.^a;
Zeppegno P.^a; Gramaglia C.M.^a; Grossini E.; Panella M^a**

^a Dipartimento di Medicina Traslazionale, Università del Piemonte Orientale, via Solaroli 17, 28100 Novara, Italia

andrea.conti@uniupo.it

Introduction: the so called “Third Demographic Transition”, namely the worldwide population aging, has been widely acknowledged in the last year, bringing the attention to the strategies for improving the quality of life of elderly. Among them, healthy lifestyles have a pivotal role. In particular, the combination of an appropriate diet with physical exercise has been identified as effective to support healthy ageing. These concepts are valuable especially in the long-term care (LTC) sector, which represent a crucial component of the health systems worldwide. However, despite the growing relevance of LTC, the quality and quantity of provided care -including food and physical exercise aspects- in this setting is often heterogeneous, and rarely based on evidence. In the same vein, the literature assessing the nutritional and physical exercise interventions impact on LTC patients is scarce, in particular regarding experimental studies. This randomized controlled trial aims to assess the effect of a combined food-physical exercise intervention on patients’ functionality and on aging biomarkers.

Methods: this study is a two-arm, parallel group, superiority trial comparing the intervention arm with a care-as-usual control arm. The intervention lasted for three months and consisted in the administration of a combined diet-physical exercise program. Subjects which were institutionalized for at least one year, with a moderate to high care level, and able of discernment were considered eligible. The diet was designed to provide high levels of proteins, leucine, and calcium, and to support the prevention of osteoporosis and sarcopenia. The physical exercise treatment was delivered following a pre-defined workout program in group, two times per week, with a moderate to high effort requested to subjects. At the end of the intervention subjects were evaluated using the Barthel Index, Activities of Daily Living, and Tinetti scales, and aging biomarkers were measured.

Results: a total of 54 participants took part into the study. The daily mean energy and carbohydrates intake were significantly lower in the intervention group. Furthermore, despite the adherence to physical exercise program was lower in the intervention arm, the burned calories were significantly higher than in the control group. The scores of all the scales were significantly increased. Glutathione, thiobarbituric acid reactive substances, superoxide dismutase, 25-OH Vitamin D, and MTT and JC1 assays were significantly higher in the intervention than in the control. In contrast, mitochondrial ROS was significantly decreased. We did not find any significant differences in 8-hydroxyguanosine, 8-isoprostane, thymosin, ROS, and advanced oxidation protein product levels.

Discussion and conclusion: the importance of lifestyle interventions in long-term care has been already pointed out by several studies. However, their investigation throughout experimental studies is still limited. Despite its relative shortness, the proposed intervention was associated with an improvement of functionality, as well as a variation of the measured biomarkers. Even if these results are encouraging, the conduction of larger experimental studies is needed to identify the best strategies for implementing effective combined food-physical interventions in LTC.

INTENTIONAL ROUNDING VERSUS STANDARD OF CARE FOR PATIENTS HOSPITALISED IN INTERNAL MEDICINE WARDS: RESULTS FROM A CLUSTER-RANDOMISED NATION-BASED STUDY

Di Massimo D.S.¹; Catania G.^{2,3}; Crespi A.⁴; Fontanella A.⁵; Manfellotto D.⁶; La Regina M.⁷; De Carli S.⁸; Croso A.¹; Gatta C.¹; Pentella G.⁹; Bordin G.¹⁰; Gussoni G.⁴; Valerio A.⁴; Rasero L.^{11,12}; Campanini M.¹³; Dal Molin A.^{13,14}

- ¹ Health Professions' Direction "Degli Infermi" Hospital, 13875 Ponderano, Italy;
- ² Department of Health Sciences, School of Medical and Pharmaceutical Sciences, University of Genoa 16132 Genoa, Italy;
- ³ Center for Health Outcomes and Policy Research, School of Nursing, University of Pennsylvania, Philadelphia, PA 19104, USA;
- ⁴ Research Department, FADOI Foundation, 20123 Milan, Italy;
- ⁵ Internal Medicine Department, "Buon Consiglio" Fatebenefratelli Hospital, 80123 Naples, Italy;
- ⁶ Internal Medicine Department, "San Giovanni Calibita" Fatebenefratelli Hospital, 00186 Rome, Italy;
- ⁷ Clinical Governance and Risk Management, Healthcare Planning and Management Control, ASL 5 Liguria, 19124 La Spezia, Italy;
- ⁸ Internal Medicine Department, "San Antonio" Hospital, San Daniele del Friuli, 33038 Udine, Italy;
- ⁹ Health Professions' Direction "Buon Consiglio" Fatebenefratelli Hospital, 80123 Naples, Italy;
- ¹⁰ ANiMO Association, 00162 Roma, Italy;
- ¹¹ Department of Health Profession "Careggi" University Hospital, 50134 Florence, Italy;
- ¹² Department of Health Science, University of Florence, 50139 Florence, Italy;
- ¹³ "Maggiore della Carità" University Hospital, 28100 Novara, Italy;
- ¹⁴ Department of Translational Medicine, University of Piemonte Orientale, 28100 Novara, Italy;

dinostefano.dimassimo@aslbi.piemonte.it

Background: Patients hospitalised for acute diseases often require intensive treatment and complex nursing interventions. The needs of the patients can vary and, often, the response to non-urgent requests, which may correspond to fundamental needs, are provided when there is time. The implementation of Intentional Rounding, a proactive care approach, with its regular checks could increase the quality of care and the safety of patients.

Aims: To explore the effects of Intentional Rounding on the occurrence of falls and pressure ulcers during hospital stay.

Methods: In the context of a cluster randomised controlled study, Internal Medicine Units were assigned (1:1) to intervention/Intentional Rounding or control/Standard of Care. The primary outcome was the cumulative incidence of falls and new pressure ulcers. These events were considered separately as secondary endpoints, together with the number of bell calls and the evaluation of patient satisfaction. Primary analyses were carried out on the modified intention-to-treat population (hospitalisation of at least 10 days).

Results: Recruitment occurred between October 2019 and March 2020 at which time the study was prematurely closed due to the COVID-19 pandemic. Overall, 1822 patients were enrolled at 26 sites; 779 patients were included in the modified intention-to-treat analysis. Cumulative falls and pressure ulcers accounted for 28 and 42 events with Intentional Rounding and Standard of Care (adjusted Incidence Rate Ratio 0.50; 95% confidence interval, 0.15-1.67; p=0.26). Four and 19 falls occurred in the Intentional Rounding and Stan-

dard of Care groups, respectively (adjusted Incidence Rate Ratio 0.14; 95% confidence interval, 0.02-0.78; $p=0.03$). New pressure ulcers were 24 for Intentional Rounding and 23 for Standard of Care (adjusted Incidence Rate Ratio 1.00; 95% confidence interval, 0.26-3.60; $p = 0.98$). Mean bell calls for each patient were 15.4 ± 24.1 in the Intentional Rounding and 13.7 ± 20.5 in the Standard of Care group ($p=0.38$). The patient satisfaction questionnaire (the higher the score, the higher patient satisfaction) presented an average score of 13.25 ± 1.72 for Intentional Rounding and 12.1 ± 1.87 for Standard of Care ($p=0.87$).

Conclusion: Our study supports the usefulness of Intentional Rounding in a complex and vulnerable population such as that hospitalised in Internal Medicine Units. The significant effect of reducing falls is in favour of patient safety and the adoption of Intentional Rounding. The results may shed light on the possibility that an alternative to the traditional reactive care approach can improve clinical outcomes and the safety of patients.

THE IMPACT OF HOSPITALIZATION AFTER MAJOR SURGERY ON ELDERLY FRAIL PATIENTS: PRELIMINARY RESULTS FROM A MONOCENTRIC STUDY

**Fracazzini M.^a; Moretto F.^{a,b}; De Vita N.^{a,b}; Scotti L.^a;
Viarengo V.^b; Sola E.^a; Vecchio G.^a; Jubran Y.^a; Gentili S.^c;
Romito R.^d; Volpe A.^e; Leigheb M.^f; Della Corte F.^{a,b};
Vaschetto R.^{a,b}**

- ^a Università del Piemonte Orientale, Dipartimento di Medicina Traslazionale, via Solaroli 17, 28100 Novara, Italia;
- ^b Azienda Ospedaliero Universitaria "Maggiore della Carità", Anestesia e Terapia Intensiva, Corso Giuseppe Mazzini 18, 28100 Novara, Italia;
- ^c Azienda Ospedaliero Universitaria "Maggiore della Carità", Clinica Chirurgica, Corso Giuseppe Mazzini 18, 28100 Novara, Italia;
- ^d Azienda Ospedaliero Universitaria "Maggiore della Carità", Chirurgia Generale 2, Corso Giuseppe Mazzini 18, 28100 Novara, Italia;
- ^e Azienda Ospedaliero Universitaria "Maggiore della Carità", Urologia, Corso Giuseppe Mazzini 18, 28100 Novara, Italia;
- ^f Azienda Ospedaliero Universitaria "Maggiore della Carità", Ortopedia e Traumatologia, Corso Giuseppe Mazzini 18, 28100 Novara, Italia.

martinafracazzini@gmail.com

Background

Surgery and anesthesiologic risk are greater in elderly frail subjects and global performance status worsening after major surgery may occur with a large impact on these patients' and caregivers' life.^{1,2} Nowadays, 30 percent of surgery is conducted on patients \geq 70 years old.³ Primary objective is to describe the impact at three months after hospitalization following major surgery on the performance status of elderly frail patients. Secondary objective is to evaluate the necessity of domiciliary care assistance and re-hospitalization or rehabilitation center admissions.

Materials and methods

This monocentric, prospective, observational study was conducted on patients \geq 70 years old, undergoing a major surgery in general surgery, urology, orthopedics at Maggiore della Carità University Hospital, Novara, Italy, having a General Practitioner listed in the Local Health Authority of Novara. The Barthel index was used to evaluate patient functional status as activities of daily living (ADLs) and mobility⁴ and the mini mental state examination (MMSE) for cognitive status.⁵ The primary endpoint was the variation of the Barthel index and MMSE measured before surgery and three months afterwards (T3). Data from May 2020 to January 2022 were collected and the three-month follow-up was concluded in April 2022.

Results

One-hundred patients undergoing major surgery were included, 60 in general surgery, 37 in urology, three in orthopedics. Patients' median age was 76 (Q1-Q3: 73-81) years and 60% were males. Most of patients were classified according to the American society of anesthesiologists (ASA) criteria as II or III and main comorbidities were hypertension, cardiac and respiratory diseases. Main diagnoses were colorectal and prostate cancer, and the type of surgery was laparoscopic or robotic assisted in 62 cases. Surgery was conducted under balanced general anesthesia in 99 cases, in seven cases associated to a locoregional

technique, and mean duration of anesthesia was 300 (± 130 SD) minutes. Postoperative analgesia was administered to all patients, mainly with elastomeric pump (64 patients, 66%) or through epidural catheter (30 patients, 31%). Twelve patients were admitted to intensive care unit (ICU) after surgery and 33 experienced some postoperative complications. Prior to surgery, the median value of the Barthel index was 100 (Q1-Q3: 100-100) overall, 60 (Q1-Q3: 60-60) for ADLs, 40 (Q1-Q3: 40-40) for mobility, and MMSE was 28 (Q1-Q3: 26-29). Twenty-six (31%) patients out of the 85 interviewed at T3, experienced a five-point worsening of the Barthel index, 21 (25%) in ADLs and 12 (14%) in mobility, while MMSE deterioration occurred in 4 (5%) cases. Domiciliary care assistance was activated for nine patients and 14 were re-admitted to hospital or rehabilitation centers. At univariable regression analysis, postoperative complications occurrence and ICU admission were significantly associated with the five-point worsening of the Barthel index, while ICU admission influenced the same deterioration in the mobility section and need for domiciliary care assistance or re-hospitalization.

Conclusions

Uncomplicated major surgery does not impact on frailty scores in elderly patients with good performance status prior to surgery. Nevertheless, when postoperative complications occur, performance status get significantly worse at three months.

References

1. Le Guen, M. et al. Frailty Related to Anesthesia guided by the Index 'bispectral' (FRAIL) study: study protocol for a randomized controlled trial. *Trials* 18, 127 (2017).
2. Robinson, T. N. et al. Postoperative delirium in the elderly: risk factors and outcomes. *Ann. Surg.* 249, 173–178 (2009).
3. Laurent, V. et al. [Anaesthesia in elderly people]. *Soins. Gerontol.* 29–32 (2011).
4. Castiglia, S. F. et al. The culturally adapted Italian version of the Barthel Index (IcaBI): assessment of structural validity, inter-rater reliability and responsiveness to clinically relevant improvements in patients admitted to inpatient rehabilitation centers. *Funct. Neurol.* 22, 221–228 (2017).
5. Magni, E., Binetti, G., Bianchetti, A., Rozzini, R. & Trabucchi, M. Mini-Mental State Examination: a normative study in Italian elderly population. *Eur. J. Neurol.* 3, 198–202 (1996).

EVALUATION OF COMPREHENSIVE GERIATRIC ASSESSMENT (CGA) INTERVENTION AND CIRCULATING SENESCENT T-CELLS IN ONCOGERIATRIC PATIENTS

Mahmoud A.M.¹; Gobbato S.¹; Martini V.²; Varughese F.²; Vachanaram A.¹; Branni C.²; Gioffi E.²; Tassone A.¹; Stella A.¹; Ciocca M.¹; Alsati R.¹; Ben Ayed R.¹; Biello F.²; Borra G.²; Ferrante D.¹; Bruna R.³; Deambrogi D.³; Patriarca A.³; Gaidano G.³; Gennari A.⁴

¹. Dimet - Università Del Piemonte Orientale, Novara, Italy

². SCU Oncologia - AOU Maggiore della Carità, Novara, Italy

³. SCU Ematologia - Università del Piemonte Orientale, Novara, Italy

⁴. SCU Oncologia – Università del Piemonte Orientale, Scuola di Medicina, Novara, Italy

abdurraouf.mahmoud@uniupo.it

Background

The incidence of frailty often higher in older patients with cancer treatments due to their functional age and co-morbidities. Frailty is a state characterized by the decline in the physiologic reserve, leading to extreme vulnerability to stressors, which can lead to detrimental health outcomes for patients. In this perspective, a frailty assessment entails the management of personalised treatment approach to increase the older patients' independence and quality of life. The aim of the study was to evaluate the impact of four different questionnaires identified frailty, and its association with circulating T-cell senescence on the outcome of elderly oncologic patients, in terms of mortality and progression free survival (PFS).

Methods

Patients aged > 65 years, candidate to target directed agents or to RT + CT treatments are screened for frailty by the G8 test; those patients classified as frail ($G8 \leq 14$) are randomized to receive a Comprehensive Geriatric Assay (CGA), using RFI (Rockwood Frailty Index), at baseline or to conventional care. Quality Of Life (QOL) was assessed by EORTC QLQ-C30C. The CD3+ T cells were isolated from Peripheral Blood Mononuclear Cells (PBMCs) at baseline and at the end of the study (after 12 months or disease progression). The cyclindependent kinase inhibitors (CDKi) p16INK4a was evaluated as senescent T-cell marker by RT-PCR and ddPCR.

Results

Patients were randomly and equally distributed between intervention arm (49.12%) and control arm (50.88%). Median age was 75 years (range 64-92). Most represented diagnosis included lung, breast, skin, and colon cancer. We showed a negative correlation between RFI and both QLQ and p16 expression on T CD3+ cells ($r = -0.63$; $p = 0.002$; $r = -0.74$ and $p = 0.009$ Spearman test, respectively). Moreover, we demonstrated that patient with low RFI presented high level of CD3+ cells senescence ($r = -0.74$; $p = 0.009$ Spearman test), suggesting a protective role of T cell senescence against progression disease.

Conclusions

These results suggest that oncogeriatric frail patients have greater risk of mortality as compared to older fit patients and that the presence of CD3+ senescent cells seems to be a risk factor with death and protective one for progression disease. Associations between questionnaire shows that short G8 cannot replace a complete CGA, which is able to better identify frailty.

A METABOLOGENOMICS APPROACH TO INVESTIGATE GUT MICROBIOME IN A MOUSE MODEL OF ALZHEIMER DISEASE

**Barberis E.^{a,b}; Favero F.^{b,c}; Gagliardi M.^{b,c}; Corà D.^{a,b};
Corazzari M.^{b,c}; Manfredi M.^{a,b}**

^a Department of Translational Medicine, University of Piemonte Orientale, via Solaroli 17, 28100, Novara, Italy;

^b Center for Translational Research on Autoimmune and Allergic Diseases, University of Piemonte Orientale, Corso Trieste 15/A, 28100, Novara, Italy;

^c Department of Health Sciences, University of Piemonte Orientale, via Solaroli 17, 28100, Novara, Italy.

marcello.manfredi@uniupo.it

The role of the gut microbiota in neurodegenerative diseases is an emerging research field. Increasing evidence are also indicating that a gut microbiota dysbiosis in patients affected by Alzheimer could influence the disease progression and development. Characterizing the bacterial populations and the metabolites involved in the dysbiosis, is therefore important as this might be helpful to understanding the complex microbial ecosystem in Alzheimer disease. Metabologenomics can provide an integrated analysis of the gut microbiota and metabolites to evaluate the intestinal environment.

In the present research we used a metabologenomic approach to analyze the gut microbiome in a deterministic mouse model (3xTg) of familiar AD. Stools from wild type (WT) and AD mice were collected at weaning (T0), 2 months (T1) and 6 months (T2). DNA and small molecules from each sample were extracted analyzed. Untargeted metabolomics analysis of fecal samples was performed using a bi-dimensional gas chromatography coupled to mass spectrometry (GCxGC-TOFMS, Pegasus BT 4D, LECO), while short chain fatty acids (SCFAs) analysis was carried out using a mono-dimensional GC-MS.

We found increasing level of SCFAs in AD mice over the time, but a drastic longitudinal decrease of these molecules in AD mice compared to WT. Our analysis also evidenced a significant decreased concentration of a group of amino acids in samples from AD mice at 6 months compared to WT matched controls, some of which have been reported to be potentially linked to gut inflammation. Finally, an integrated analysis of both metagenomic (16S) and metabolomic data allowed the correlation of small molecules abundances with the intestinal ecosystem.

In conclusion, metabologenomics can be used to reveal new insights related to the complex microbial ecosystem in an Alzheimer disease mouse model. Our results not only identified perturbations of the gut microbiome in preclinical stages of the disease, which suggested the potential role of microbiota in modulating the pathogenesis of AD, but it also allowed the discovery of new relationships between bacteria and metabolites¹.

1. A Metabologenomic Approach Reveals Alterations in the Gut Microbiota of a Mouse model of Alzheimer's Disease, Favero F.; Barberis E.; Gagliardi M.; Espinoza S.; Contu L.; Gustincich S.; Boccafoschi F.; Borsotti C.; Lim D.; Rubino V.; Mignone F.; Pasolli E.; Manfredi M.; Zucchelli S.; Corà D.; Corazzari M. A, 2022, Plos One.

MUSICA, CANTO E INVECCHIAMENTO SANO

**Cristina Meini², Erica Viola^{*1}, Marco Martorana¹,
Federico Pagnoni¹, Chiara Sacchi¹, Riccardo Tucci¹,
Alessandro Coppo³, Giorgio Guiot⁴, Fabrizio Faggiano²**

¹ Dipartimento di medicina Traslazionale (DiMeT), Translational Medicine, Università del Piemonte Orientale, Via Solaroli, 17 - 28100 Novara, Italy.

² Dipartimento per lo Sviluppo Sostenibile e la Transizione Ecologica (DiSSTE), Università del Piemonte Orientale, Piazza Sant'Eusebio 5, Vercelli, 13100, Italy.

³ Asl VC, Vercelli, Cso Abbiate 21, 13100 vercelli

⁴ Associazione Cantabile onlus, v. Campana 7, 10125 Torino

cristina.meini@uniupo

Sin dall'antichità la musica è stata considerata una *techné* capace di influire sul benessere della persona, prevalentemente per il suo rapporto speciale con le emozioni. Questa convinzione, nata nella Grecia antica e mantenuta viva nei secoli, beneficia oggi di un interesse rinnovato dalla convergenza di riflessione teorica e sapere scientifico. Le scienze cognitive, dalla filosofia empiricamente informata alle neuroscienze, hanno infatti corroborato la persuasione che la musica sia in grado di suscitare e modulare le emozioni della persona e del gruppo¹, mentre numerosi modelli di intervento clinico sono stati ispirati dai risultati sperimentali^{2,3,4}.

La prima parte della relazione è dedicata a una rapida rassegna di questi studi e riflessioni. Ma la numerosità dei modelli teorici e dei protocolli di intervento ha reso complesso la valutazione degli effetti sulla salute. Attività di solo ascolto o coinvolgimento in prima persona; musica strumentale o canora; attività solitaria, orchestrale o corale; attività spontanea o guidata da un esperto (musicista o clinico): sono solo alcune delle variabili che distinguono le varie proposte. Nel tentativo di perseguire una maggiore chiarezza sul ruolo della musica nella promozione del benessere, abbiamo condotto una meta-analisi su 6 database (Cochrane, MEDLINE, PubMed, PsycINFO, Web of Science and Scopus), riguardante popolazione dai 40 anni in su⁵. Pur se debolmente significativi, i dati emergenti dalla nostra rassegna suggeriscono che la musica possa produrre effetti benefici sia a livello cognitivo sia a livello psicosociale, con distinzioni tra partecipazione musicale attiva e mero ascolto. Nel loro insieme, i modelli teorici su rapporti tra musica ed emozioni e i risultati sperimentali hanno suggerito di integrare l'attività musicale nel progetto Dedalo, un progetto di promozione dell'invecchiamento sano condotto nella Città di Vercelli. E' stato quindi costituito un gruppo corale di persone dai 40 anni in su con lieve sindrome metabolica. La parte finale della relazione sarà dedicata a una descrizione del modello di intervento che ha ispirato l'attività e alla presentazione di risultati preliminari dello studio volto a monitorare la variazione dei parametri metabolici e degli altri fattori coinvolti nell'invecchiamento sano fra l'inizio e la fine dell'attività corale.

Bibliografia essenziale

1. Juslin, P. N., & Sloboda, J. A. (2013). Music and emotion. In D. Deutsch (Ed.), *The psychology of music* (pp. 583–645). Elsevier Academic Press.
2. Guiot G., Meini C., Sindelar M.T. (2012), *Autismo e musica. Il modello Floortime nei disturbi della comunicazione e della relazione*, Erickson, Trento.
3. Overy K., Molnar-Szakacs I. (2009), "Being together in time: musical experience and the mirror neuron system", *Music Perception*, 26: 489-504.
4. Meini C., Ruggiero G. (2017). *Il pentagramma relazionale. Le forme vitali nella psicoterapia familiare e di coppia*. Milano, FrancoAngeli. ISBN: 9788891753137
5. Viola E. et al, *The role of culture in promoting health and wellbeing: A systematic review and meta-analysis*, in preparazione.

THE G8 SCREENING TOOL AS AN INDEPENDENT PREDICTOR OF SURVIVAL IN ELDERLY CANCER PATIENTS

Mennitto A.^a, Invernizzi F.^b, Biello F.^a, Forti L.G.^a, Siffredi G.^a, Mahmoud A.M.^b, Maggiora P.M.^b, Rua A.^b, Branni C.^a, Gioffi E.^b, Martini V.^a, Gobbato S.^b, Stella A.^b, Tassone A.^b, Ciocca M.^b, Alsati R.^b, Pisani C.^c, Ferrara E.^c, Cappelli M.^d, Catania E.^d, Ferrante D.^b, Bruna R.^e, Deambrogi C.^e, Patriarca A.^e, Gaidano, G.^e, Krenqli, M.^f, Gennari A.^{a,g}

^a SCU Oncologia - AOU Maggiore della Carità, corso Mazzini, 18 - 28100 Novara, Italy;

^b Dimet - Università Del Piemonte Orientale, via Solaroli, 17 - 28100 Novara, Italy;

^c SCU Radioterapia - AOU Maggiore della Carità, corso Mazzini, 18 - 28100 Novara, Italy;

^d SSD Cure Palliative - Hospice - AOU Maggiore della Carità, corso Mazzini, 18 - 28100 Novara, Italy;

^e SCU Ematologia - Università Del Piemonte Orientale, corso Mazzini, 18 - 28100 Novara, Italy;

^f SCU Radioterapia - Università Del Piemonte Orientale, corso Mazzini, 18 - 28100 Novara, Italy;

^g Università Del Piemonte Orientale, via Solaroli, 17 - 28100 Novara, Italy

alessia.mennitto@maggioreosp.novara.it

Background: Parallel to the ever-growing elderly population, cancer incidence increases with age, due to the fact that population aging and the consequent increase of life expectancy give more time for cellular dysfunctions including senescence to appear, indirectly favoring carcinogenesis. Geriatric assessment has been increasingly recognized as a prognostic tool to detect frailty in elderly cancer patients. In particular, the G8 score is a simple and reproducible instrument to identify elderly patients who should undergo full geriatric evaluation. The aim of this study was to evaluate the impact of frailty assessment by the G8 screening tool on the outcome of cancer patients.

Methods: Patients > 65 years, with a confirmed cancer diagnosis, referred to our cancer center, received a G8 assessment at the time of first access. Patients were classified as frail if G8 score <14. The prognostic role of G8 score was assessed by univariable and multivariable analysis including age, type of tumor, stage and treatment. The primary endpoint was overall survival (OS).

Results: This retrospective analysis was performed on patients referred to Maggiore Hospital in Novara, Italy, between 01/2017 and 02/2022. Overall, 411 patients were screened by G8; median age was 76 years (range 64-92) and 298 (72.5%) had a G8 score <14. Most represented diagnosis included lung, breast, skin, and colon cancer and 52.5% of patients had metastatic disease; 65.0% of them received an active cancer therapy. Median overall survival (OS) was 26 months; 23 months in patients with a G8 score <14 vs 30 months in non-frail patients (HR 2.43; 95% CI 1.53- 3.85 p value<0.0001). By multivariable analysis G8 score and male sex were significantly associated with a worse outcome: HR 2.32; CI 95% 1.46-3.68 for G8 <14 and HR 2.24; CI 95% 1.59-3.15 for male sex. In patients with metastatic disease, median OS was 13 months in frail patients vs 29 months in non-frail patients (HR 2.09; 95% CI 1.15-3.82 p=0.016).

Conclusion: Our analysis indicates that elderly cancer patients with a G8 score <14 have a significantly increased risk of death as compared to elderly fit patients, underlying the strong prognostic role of a simple screening tool such as G8.

GENERATION OF iPSCs FROM HEALTHY DONORS AND ALS PATIENTS

**Olgasi C, Sgromo C.¹, Cucci A.¹, Corrado L.¹, Tosi M.¹,
De Marchi F.², D'Alfonso S.¹, Mazzini L.², Follenzi A.¹**

¹ Department of Health Sciences, Università del Piemonte Orientale, Via Solaroli 17, 28100 Novara, Italy

² Department of Neurology, University Hospital Maggiore della Carità, L. go Bellini, 28100 Novara, Italy.

chiara.sgromo@med.uniupo.it

Neurodegenerative diseases (NM) are a set of pathologies that affect the central and peripheral nervous system. The manifestations of brain damage, which change according to the type of pathology, consist in the loss of cognitive functions, dementia, motor alterations and behavioral and psychological disorders. At the basis of the development of neurological disorders there are genetic and environmental factors, in addition, the age of the subject also exposes them to an increased risk of neuronal degeneration, thus, they are also defined as age-related diseases. The molecular mechanisms underlying neurodegenerative diseases are not yet fully understood and some of them share different phases of the pathogenetic process, as well as the symptoms. Amyotrophic lateral sclerosis (ALS) is a neurodegenerative disease that preferentially affects central and peripheral motor neurons, and the mechanisms of onset and progression are still unknown. Induced pluripotent stem cells (iPSCs) can be used as cellular models, derived directly from patients suffering from the disease to investigate the degenerative processes characteristic of the disease.

For this aim, we generated iPSCs from CD34+ cells from peripheral blood of 2 healthy donors and 3 ALS patients, carrying each a different mutation, using SENDAI virus carrying the reprogramming factors Oct4, Sox2, Klf4 and c-Myc. In a range of 10-15 days, iPSCs appeared and single colonies were manually picked. Obtained iPSCs showed a good morphology since they were compact, with defined borders and expressed alkaline phosphatase, an enzyme that reactivates in stem cells. Importantly, iPSCs both from healthy donors and ALS patients expressed stem cell markers both at RNA (Oct4, Sox2, Klf4 and c-Myc) and protein level (Oct4, Sox2, SSEA3 and Tra1-60). Finally, to assess their ability to recapitulate the tree germ layers, embryoid bodies were generated and the expression of markers of ectoderm, mesoderm and endoderm was demonstrated. Moreover, iPSCs from ALS patients were used for the analysis of the possible transcriptomic differences by RNA-seq technology between healthy and ALS patients. Lastly, iPSCs can be considered *bona fide* iPSCs and can be used as a platform for disease modeling after differentiation in the neural cells of interest.

NIEBP: UNO STRUMENTO A SOSTEGNO DELL'INVECCHIAMENTO SANO ATTRAVERSO L'EVIDENCE BASED PREVENTION

Pagnoni F.¹, Brigoni P.¹, De Vito M.¹, Aleni C.¹, Faggiano F.²

¹ Università del Piemonte Orientale, Dipartimento di Medicina Traslazionale

² Università del Piemonte Orientale, Dipartimento per lo Sviluppo Sostenibile e la Transizione Ecologica

federico.pagnoni@uniupo.it

Introduzione

L'invecchiamento sano è una sfida di cruciale importanza nel campo della sanità pubblica. Per raggiungere questo obiettivo, i sistemi sanitari devono mettere in campo strategie di prevenzione, intervenendo su stili di vita e fattori di rischio modificabili che influenzano la salute e determinano l'insorgenza di malattie croniche nell'età avanzata. Solo adottando strategie di prevenzione basate sulle evidenze però si può davvero essere efficaci, sostenibili e ridurre il carico delle malattie non trasmissibili.

In Italia tuttavia la maggior parte degli interventi viene applicata senza solide basi scientifiche col rischio di risultare inefficace o dannosa.

Il Network Italiano dell'Evidence Based Prevention (NIEBP) si pone l'obiettivo di far lavorare insieme i centri che si occupano di promozione di evidenze scientifiche a supporto della prevenzione, al fine di ottimizzare l'uso di risorse per i Piani Locali di Prevenzione e di consegnare le giuste informazioni nelle mani dei policy maker. Il network è frutto del lavoro congiunto dei centri UPO, CPO, DORS e Ars Toscana che collaborano col Ministero della Salute per supportare le Regioni attraverso il Piano Nazionale di Prevenzione.

Materiali e metodi

Il gruppo di lavoro NIEBP diffonde le evidenze internazionali sull'efficacia delle strategie di prevenzione oltre a progettare e valutare programmi che implementino le evidenze.

Il network da un lato esegue una costante revisione della letteratura al fine di identificare, valutare e sintetizzare le evidenze, dall'altro insegna l'evidence based prevention e supporta i professionisti sanitari nell'intraprendere una valutazione globale dei programmi di prevenzione nelle diverse regioni italiane.

Risultati

Ad oggi sono presenti sul sito 103 schede di sintesi di revisioni sistematiche e 15 schede di intervento che si incentrano sulla prevenzione dei principali fattori di rischio identificati dal Piano Nazionale di Prevenzione come responsabili dell'invecchiamento non sano: tabagismo, sedentarietà, uso di alcol, abuso di sostanze, alimentazione scorretta.

È stato infine sviluppato anche un Laboratorio di Prevenzione che, concentrandosi su fumo e sedentarietà, elabora scenari cost-effective di implementazione degli interventi di prevenzione e supporta i decisori nella scelta dell'intervento più appropriato basandosi su una valutazione di efficacia, impatto organizzativo e sostenibilità economica.

Discussione

Il network NIEBP risulta quindi un utile strumento nella sintesi delle evidenze, nello sviluppo di interventi da sottoporre ai policy maker e nella sfida all'invecchiamento sano.

RADIOTHERAPY IN FRAGILE ELDERLY HEAD AND NECK CANCER PATIENTS: A SINGLE CENTER EXPERIENCE.

**C. Pisani^a, I. Luciani^a, V. Destefanis^a, A. Brignoli^a, V. Sigaudi^a,
F. Mastroleo^a, S. Berretta^a, E. Ferrara^a, G. Loi^b, L. Masini^a,
P. Francoa^c, M. Krenglia^c.**

^a University Hospital Maggiore della Carità, Division of Radiation Oncology, Corso Mazzini 18 Novara, Italy

^b University Hospital Maggiore della Carità, Service of Medical Physics, Corso Mazzini 18 Novara, Italy

^c University of "Piemonte Orientale", Department of Translational Medicine, Via Solaroli 17 Novara, Italy

carla.pisani@maggioreosp.novara.it

Purpose/objective: Elderly patients with head and neck cancer presenting with multiple comorbidities - diabetes, cardiac diseases, renal insufficiency, poor nutritional status, immobility, and cognitive decline - represent a challenging clinical dilemma. The purpose of the study was to assess and analyze factors which could influence toxicity, compliance and treatment response.

Material/Methods: We retrospectively selected head and neck cancer patients aged ≥ 75 years, treated with exclusive 3D-CRT (three-dimensional conformal radiotherapy), IMRT (Intensity-modulated radiation therapy) or VMAT (Volumetric modulated arc therapy) from 2004 to 2019. All patients were discussed in multidisciplinary setting and were screened with Geriatric-8 tool (G8) test.

Results: We included 80 patients, 61 males and 19 females, with a mean age of 80 (range: 76-83.5) at diagnosis. 8 had diabetes (10%) and 29 had hypertension (36.3%). 12 had stage I disease (15%), 18 stage II (22.5%), 26 stage III (32.5%) and 24 stage IV (30%). All patients were defined as frail according to G8 score.

Radiotherapy with curative intent was performed in 86.3% of the cases with a mean prescription dose of 66 Gy (range: 60-70) and a mean BED (Biologically Effective Dose) of 79.2 (range: 70-84). Ten patients required preventive PEG (percutaneous endoscopic gastrostomy) to ensure adequate nutrition during treatment. According to RTOG acute toxicity scale, G2 mucositis was the most frequent (43.8%), followed by G1 (42.5%) and G3 (13.7%). We observed a statistically significant correlation between mucositis and hypertension (p-value 0.0122) and CTV (p-value 0.0005). Patients developed mainly G1 skin toxicity (42.50%), followed by G2 (38.75%) and G3 (18.75%). The only variable related to acute skin toxicity was sex (p-value 0.0089), with a worse outcome for male. In curative setting, we found 47.5% of CR (complete response), 22.5% of PD (progression disease), 5% of PR (partial response); 20 patients (25%) were lost to follow-up. Only eight patients faced a temporary treatment interruption (median: 4 days, SD: 3-5). The median follow-up was 300 days (range: 92.25-809.25) with a cumulative incidence function CR/PR of 28% within 12 months and of 50% within 27 months.

Conclusion: Radiotherapy with curative intent can be an appropriate treatment option in elderly patients. As already demonstrated, the chronological age could not be taken into consideration as the only factor capable of excluding an elderly patient from definitive treatment. Our results are promising in terms of efficacy and tolerance, with a good toxicity profile and favorable disease response. We also demonstrated that exclusive radiotherapy treatment enabled a durable response over time.

CARATTERIZZAZIONE DI UN NUOVO MODELLO *IN VITRO* DI SARCOPENIA

Scircoli A.^a; Raiteri T.^a; Zaggia I.^a; Reano S.^a; e Filigheddu N.^a

^a Dipartimento di Medicina Traslazionale, via Solaroli 17, 28100, Novara, Italia

andrea.scircoli@uniupo.it

La sarcopenia è la perdita progressiva di massa e funzionalità muscolare tipica dell'invecchiamento che compromette le abilità motorie e che provoca fragilità. Questo processo patofisiologico è il risultato delle interazioni di diversi meccanismi, come ad esempio l'insorgenza di uno squilibrio tra l'anabolismo e il catabolismo delle proteine che favorisca quest'ultimo o un danno del processo di rigenerazione del muscolo. Nonostante diversi fattori possano causare questo danno, è interessante notare che nei pazienti sarcopenici è stato trovato un elevato numero di cellule staminali del muscolo senescenti, che non possono più differenziare in miociti e, di conseguenza, riparare l'integrità e la funzionalità delle fibre muscolari¹.

Anche se esistono diversi modelli *in vivo* di sarcopenia che, richiedendo l'uso di topi anziani o geneticamente modificati, sono dispendiosi sia dal punto di vista del tempo che di risorse, ad oggi non esiste un modello *in vitro* che riesca a riprodurre in maniera adeguata questo fenomeno così complesso.

In questo lavoro noi proponiamo un nuovo modello *in vitro* di sarcopenia, che potrebbe consentire di comprendere più a fondo i meccanismi coinvolti in questa condizione e di studiare nuove possibili terapie.

A questo scopo abbiamo riprodotto *in vitro* l'invecchiamento accelerato ottenuto nei topi in seguito a trapianto di preadipociti senescenti². Nello specifico, abbiamo indotto un fenotipo sarcopenico nei miotubi C2C12 attraverso l'incubazione con il terreno condizionato di preadipociti indotti a senescenza mediante trattamento con doxorubicina (SCM). Infatti, il trattamento con SCM causa atrofia vista sia come riduzione del diametro che induzione del sistema ubiquitina-proteasoma. Inoltre, i trattamenti con SCM riducono significativamente sia il differenziamento che la fusione dei mioblasti C2C12, in accordo con la ridotta capacità miogenica delle cellule satelliti senescenti.

Abbiamo creato un nuovo sistema *in vitro* che può accelerare e semplificare la ricerca nel campo della sarcopenia, sia permettendo una maggiore comprensione dei meccanismi coinvolti in questa condizione che spianando la strada alla scoperta di target per possibili terapie. Infatti, crediamo che il nostro modello possa essere importante nello screening e nella caratterizzazione dei potenziali effetti che molecole o composti possano avere sul muscolo invecchiato *in vitro*, riducendo il tempo, i costi e il numero di animali richiesti nello studio della sarcopenia.

1 Sousa-Victor P, et al. Geriatric muscle stem cells switch reversible quiescence into senescence. *Nature*. 2014; 506: 316–21.
2 Xu M, et al. Senolytics improve physical function and increase lifespan in old age. *Nature Medicine*. 2018; 24: 1246–56



LA DIETA CHETOGENICA AD LIBITUM NEI TOPI RIPRISTINA GLI EFFETTI PATOLOGICI INDOTTI DA UNA WESTERN DIET NEL FEGATO, MA NON SUL MUSCOLO SCHELETRICO

**Antonoli A.^a; Provera A.^a; Gadipudi L.^a; Reano S.^b; Tini S.^a;
Zaggia I.^b; Raiteri T.^b; Scircoli A.^b; Colasanto A.^c; Raineri D.^a;
Filigheddu N.^b; Sutti S.^a; Prodam F.^a**

^a Dipartimento di Scienza della Salute, Università del Piemonte Orientale, Novara, 28100, Italia;

^b Dipartimento di Medicina Traslazionale, Università del Piemonte Orientale, Novara, 28100, Italia;

^c Dipartimento di Scienze del Farmaco, Università del Piemonte Orientale, Novara, 28100, Italia

alessandro.antonoli@uniupo.it

La dieta occidentale (WD), ricca di zuccheri e grassi saturi, è un fattore critico che contribuisce all'obesità e alle sue comorbidità. Gli effetti sull'insulino-resistenza e sull'infiammazione hanno portato la WD ad essere associata a molte malattie, come il diabete mellito di tipo 2 (T2DM), la steatosi epatica non alcolica (NAFLD), la steatoepatite (NASH) e la sindrome metabolica (MetS) sia in modelli animali sia umani. Diversi studi, su roditori e soggetti umani adulti e anziani, hanno inoltre dimostrato che in età avanzata questa condizione di infiammazione può aumentare il rischio di patologie neurodegenerative e causare numerose complicanze, tra cui problemi locomotori, di apprendimento e di memoria.

Le diete chetogeniche (KD) sono regimi nutrizionali caratterizzati da un apporto molto basso di carboidrati, quantità elevate di grassi e un adeguato contenuto proteico, con o senza restrizione calorica. L'energia è fornita dai corpi chetonici, dall'ossidazione dei lipidi e dal metabolismo delle proteine. Poiché prove crescenti suggeriscono che i corpi chetonici (KB) sono in grado di ridurre l'infiammazione, lo stress ossidativo e migliorare la funzione mitocondriale, abbiamo ipotizzato che potrebbe essere una strategia promettente per trattare le malattie legate all'obesità e all'invecchiamento, tra cui NAFLD e sarcobesità.

Per dimostrare questi effetti, i topi sono stati nutriti per 16 settimane con dieta Standard (SD) o WD, seguite da ulteriori 2 o 4 settimane di dieta SD, "ad libitum" KD senza colesterolo o WD. Nel fegato di topo sia KD sia SD hanno dimostrato, nelle 2 e 4 settimane dopo le prime 16 di WD, di essere in grado di ripristinare gli effetti dannosi indotti da WD, migliorando le caratteristiche patologiche e abbassando le risposte infiammatorie epatiche associate alla NASH. KD ha provocato chetosi e mimato condizioni di digiuno, promuovendo la perdita di peso corporeo e il controllo glicemico. Tuttavia, KD non ha avuto effetti positivi sulla forza muscolare scheletrica, sulla massa e sulla morfologia istologica dopo l'atrofia muscolare indotta da WD.

Nonostante l'effetto positivo sul danno epatico indotto da WD e sull'aumento del peso corporeo, la KD ad libitum non sembra avere effetti protettivi contro la perdita di massa muscolare e funzionalità indotta da WD. Tuttavia, non possiamo escludere che i muscoli possano aver bisogno di un periodo di recupero più lungo rispetto al fegato.

ROLE OF DIACYLGLYCEROL KINASES IN ACUTE MYELOID LEUKEMIA

Baldanzi G.^{a,b}

^a. Department of Translational Medicine, University of Piemonte Orientale, 28100 Novara, Italy.

^b. Center for Translational Research on Allergic and Autoimmune Diseases (CAAD), University of Piemonte Orientale, 28100 Novara, Italy.

gianluca.baldanzi@uniupo.it

Acute myeloid leukemia (AML) is an aggressive hematological disorder mainly affecting people of older age (Zjablovskaja and Florian, 2019). While studying the reasons behind the exponential increase of AML incidence with age, a potential role of diacylglycerol kinases in AML development was observed.

Diacylglycerol kinases (DGK) are a family of regulators of lipid signaling that decrease diacylglycerol signaling while producing phosphatidic acid, a bioactive lipid by itself. DGK activity is known to play a role in cell transformation but also in immunosurveillance against tumors (Baldanzi et al., 2020). DGK's role in tumor cells prompted the biochemistry research group of the Center for translational research on allergic and autoimmune diseases of Eastern Piedmont University to develop novel DGK inhibitors with potential applications to genetic and oncological diseases (Velmati et al., 2019; Velmati et al., 2020).

The potential role of DGKs in AML emerged from an exploration of the TGCA and GTE_x databases with the GEPIA2 tool (Tang et al., 2019) that highlights DGK's overexpression in AML tumor tissue when compared to control tissues. Among the 10 DGK isoforms known, specifically DGKA, DGKD, DGKE, DGKG and DGKZ are significantly overexpressed in AML tumor tissue. When observing overall survival DGKA and DGKE are negative prognostic markers, while high DGKG expression leads to a more favorable prognosis and DGKD or DGKZ do not correlate with survival. Those data suggest an alteration of diacylglycerol signaling in AML and a specific contribution of each DGK isoform to cell transformation.

To experimentally validate those results we explored the sensitivity of the HL-60 cellular model to the available DGK inhibitors and compared it to other lymphoma models (Jurkat cells) or primary peripheral blood derived mononucleated cells (PBMC). We observed a selective sensitivity of HL-60 to DGK inhibitors in line with a specific function of those enzyme in AML biology.

Those preliminary data suggest the opportunity to further explore the biological role of DGK in AML and their potential utility as therapeutic targets.

Baldanzi, G., Ragnoli, B., and Malerba, M. (2020). Potential role of diacylglycerol kinases in immune-mediated diseases. *Clin Sci (Lond)* 134, 1637-1658.

Tang, Z., Kang, B., Li, C., Chen, T., and Zhang, Z. (2019). GEPIA2: an enhanced web server for large-scale expression profiling and interactive analysis. *Nucleic Acids Res* 47, W556-W560.

Velmati, S., Massarotti, A., Antona, A., Talmon, M., Fresu, L.G., Galetto, A.S., Capello, D., Bertoni, A., Mercalli, V., Graziani, A., et al. (2020). Structure activity relationship studies on Amb639752: toward the identification of a common pharmacophoric structure for DGK α inhibitors. *J Enzyme Inhib Med Chem* 35, 96-108.

Velmati, S., Ruffo, E., Massarotti, A., Talmon, M., Varma, K.S.S., Gesu, A., Fresu, L.G., Snow, A.L., Bertoni, A., Capello, D., et al. (2019). Identification of a novel DGK α inhibitor for XLP-1 therapy by virtual screening. *Eur J Med Chem* 164, 378-390.

Zjablovskaja, P., and Florian, M.C. (2019). Acute Myeloid Leukemia: Aging and Epigenetics. *Cancers (Basel)* 12.

BEYOND GENOME WIDE ASSOCIATION STUDIES (GWAS) IN MULTIPLE SCLEROSIS (MS): FINE MAPPING AND FUNCTIONAL ANALYSIS IN MS SUSCEPTIBILITY REGIONS TO IDENTIFY NOVEL DRUG TARGET GENES

Endri Visha^a, Alessandro Pizzino^a, Ferdinando Clarelli^b, Lucia Corrado^a, Fjorilda Caushi^a, Beatrice Piola^a, Erica Melone^a, Diego Cotella^a, Laura Follia^a, Martina Tosi^a, Domizia Vecchio^a, Eleonora di Virgilio^c, Roberto Cantello^c, Massimo Filippi^{d,e,f,g}, Martinelli Boneschi, Filippo Giovanni^{h,i}, Federica Esposito^{b,d}, Maurizio Leone^j, Nadia Barizzone^a, Sandra D'Alfonso^a

^a University of Eastern Piedmont, Department of Health Sciences, Novara, Italy,

^b IRCCS San Raffaele Scientific Institute, Laboratory of Human Genetics of Neurological Disorders, Division of Neuroscience, Milan, Italy,

^c Department of Neurology, University Hospital Maggiore della Carità, L. go Bellini, 28100, Novara, Italy,

^d IRCCS San Raffaele Scientific Institute, Neurology Unit and Neurorehabilitation Unit, Milan, Italy,

^e Vita-Salute San Raffaele University, Milan, Italy,

^f IRCCS San Raffaele Scientific Institute, Neuroimaging Research Unit, Division of Neuroscience, Milan, Italy,

^g IRCCS San Raffaele Scientific Institute, Neurophysiology Service, Milan, Italy,

^h University of Milan, Department of Pathophysiology and Transplantation (DEPT), Dino Ferrari Centre, Neuroscience Section, Milan, Italy,

ⁱ Foundation IRCCS Ca' Granda Ospedale Maggiore Policlinico, Neurology Unit, MS Centre, Milan, Italy,

^j Fondazione IRCCS Casa Sollievo Della Sofferenza, Neurology Unit, San Giovanni Rotondo, Italy

Multiple Sclerosis (MS) is an autoimmune multifactorial disease affecting central nervous system which leads to a chronic inflammatory condition causing demyelination and neuronal damage.

From the genetic point of view, through Genome Wide Association Studies (GWAS), 200 risk loci in the autosomal non-MHC genome were demonstrated to be associated with MS susceptibility.

Due to the limitations of GWAS studies in pinpointing the real causative variant among the large number of associated SNPs represented by linkage disequilibrium (LD), fine-mapping studies are required. We aim to analyse MS susceptibility loci to identify the functional mechanism by which they influence the disease pathogenesis. To enhance the translational potential, among MS regions we focused on those containing genes which are targets of already existing drugs (drug target genes). To this aim, we performed an analysis of co-occurrence of drug target genes with MS susceptibility regions using three databases (Drug Bank, Therapeutic Target Database (TTD), ChEMBL) and identified an overlap of 156 genes (93 regions).

Among these, we focused on 11 regions (containing 23 drug target genes) because they are significantly associated on our large Italian cohort consisting of 4530 MS patients and 3482 Healthy Controls with GWAS data.

For these 11 regions we integrated GWAS results with data from in silico resources, like eQTL data (Phenoscaner) and differential expression data between MS patients and healthy controls obtained through two array expression data sets collected in GEO (Gene

Expression Omnibus) and thus selected for further investigation 5 regions where the lead SNP is a putative eQTL SNP for a drug target gene.

To experimentally verify this hypothesis and to functionally analyse the lead SNP and all the variants in strong LD with it, we used Massively Parallel Reporter Assay (MPRA), a high-throughput screening method able to test thousands of sequences for their putative transcription regulation role, to identify variants that modulate gene expression.

A total of 86 SNPs within the five selected regions, including the 5 lead SNPs and variants in strong LD ($r^2 \geq 0.77$), were selected to create a chip for MPRA analysis, constructing a plasmid containing a library composed of 5000 probes. We could assess the enhancer function of each variant by comparing RNA/DNA tag count ratio obtained through NGS and analysed by the MpraLM tool.

For each of the 5 selected regions, preliminary data identified at least one SNP influencing gene expression of a drug target gene, with a statistically significant effect. These promising results need further validation with *in silico* and *in vitro* approaches, and have potential implication on the knowledge of disease mechanisms and novel drug target. This approach can be applied to other diseases. Indeed, literature studies demonstrated that pipeline drug targets with genetic evidence of disease association are twice as likely to lead to be approved.

THE IMPACT OF LONG COVID HAS BEEN LOWER IN THE THIRD WAVE OF PANDEMIC COMPARED TO THE FIRST ONE IN AN ITALIAN COHORT OF 324 PATIENTS

**Bertetto R.^{a,b}; Masera G.^{a,b}; Apostolo D.^a; Albè A.^{a,b};
Crevola M.^{a, b}; Errica N.^{a,b}; Ratano G.^{a,b}; Tonello S.^a;
Minisini R.^a; D'Onghia D.^a; Patrucco F.^{a,b}; Zeppegno P.^{a,b};
Gramaglia C.^{a,b}; Balbo P.E.^b; Baricich A.^{a,b}; Cappellano G.^a;
Casella S.^a; Chiocchetti A.^a; Clivati E.^b; Giordano M.^{a,b};
Manfredi M.^a; Pinato D. J.^{a,c}; Puricelli C.^{a,b}; Colangelo D.^d;
Raineri D.^a; Rolla R.^a; Sainaghi P.P.^{a,b}; Bellan M.^{a,b}; Pirisi M.^a;
band the No-More COVID study group**

^a. Università del Piemonte Orientale UPO, via P. Solaroli 17, 28100 Novara, Italy.

^b. "AOU Maggiore della Carità", corso G. Mazzini 18, 28100 Novara, Italy.

^c. Department of Surgery & cancer, Imperial College London, Hammersmith Hospital, London UK.

^d. Dipartimento di Scienze della Salute, via P. Solaroli 17, 28100 Novara, Italy

20042348@studenti.uniupo.it

Introduction. Long COVID (Corona Virus Disease 2019) includes a range of symptoms and signs that persist for weeks or months after the SARS-CoV-2 (Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2) infection. There can be the persistence of one or more symptoms of acute COVID, or appearance of new ones ¹. In this paper we aim to analyze the differential risk of developing long COVID in patients admitted during the 1st and 3rd wave of COVID-19 pandemic in Italy.

Methods. This study included patients admitted to the Maggiore della Carità University Hospital of Novara with a confirmed diagnosis of COVID-19. These subjects underwent a multidisciplinary evaluation one year after hospital discharge, which included a clinical examination with questions to assess the persistence of clinical symptoms (i.e. dyspnea, cough, fever, arthralgia, fatigue), mental health assessment (anxiety and depressive symptoms), tests for lung function evaluation (spirometry, DLCO).

Results. N=324 patients were evaluated, 66% of subjects (N=215) admitted to the hospital during the first Italian wave, 34% (N=109) admitted during the third Italian wave. Data analysis showed that the risk of developing persistent symptoms was similar between patients of the first and those of the third wave, but the median severity of the disease during the acute phase and the CIRS (cumulative illness rating scale) were higher in the patients admitted to the hospital during the third wave. Then, we performed a logistic regression model to correct the analysis for comorbidities and disease severity that showed that being admitted to the hospital during the third wave was protective against the development of persistent symptoms (p=0.01, OR 0.69, 95%CI 0.51-0.93).

Conclusion. Our study points out that the impact of long COVID has been lower in the third wave of the pandemic compared to the first one. This is probably due to the coexistence of many factors: a better understanding of the disease and consequently a better treatment, the impact of vaccinations, although even in the third wave most patients had only received the first dose or hadn't been vaccinated yet, and perhaps different characteristics of the virus itself due to genetic mutations.

Bibliography

1. Sykes, D. L. et al. Post-COVID-19 Symptom Burden: What is Long-COVID and How Should We Manage It? Lung 199, (2021).

IL MODELLO DI CURA DEGLI INFERMIERI DI FAMIGLIA E COMUNITA' DELLA CASA DELLA SALUTE DI VERCELLI – PROTOCOLLO DI UNO STUDIO ETNOGRAFICO

Barisone M.^{a,b}, Busca E.^{a,c}, De Luca E.^d, Profenna E.^e, Bassi E.^{a,c}, Dal Molin A.^{a,c}, Gruppo di lavoro*

^a Dipartimento di Medicina Traslazionale, Università del Piemonte Orientale, Via Solaroli 17, 28100 Novara

^b S.C. Centro Controllo Direzionale-Azienda Socio Sanitaria Ligure-ASL2, P.zza Pertini 10, 17100 Savona

^c Azienda Ospedaliera Universitaria Maggiore della Carità, Corso Giuseppe Mazzini 18, 28100 Novara

^d Faculty of Health and Life Sciences, Department of Nursing, Exeter University, UK

^e Azienda Unità Sanitaria Locale-AUSL, Strada del Quartiere 2/A, 43125 Parma

* Carnevale L., Suardi B., Zani C., Sacchi M., Sicurezza M.R.

erica.busca@uniupo.it

Background: Il progressivo invecchiamento della popolazione e conseguente incidenza delle persone con almeno una patologia cronica, determina uno scenario assistenziale che non può non considerare la vulnerabilità sociale in cui si muove la domanda di salute e delle risorse di sostegno, che includono la ridefinizione dell'istituzione "Famiglia". Si rende pertanto necessario ripensare ai modelli assistenziali territoriali e alla misurazione della loro efficacia. La Delibera del Consiglio dei Ministri (DM 71/2022) prima e il DM 77/2022 poi, mettono in evidenza il ruolo cardine dell'Infermiere di Famiglia e Comunità (IFeC) nell'assicurare assistenza infermieristica, a diversi livelli di complessità, in collaborazione con tutti i professionisti presenti nel distretto in cui opera. Lo studio si pone come obiettivo quello di descrivere il modello culturale degli IFeC nel contesto ambientale dove essi operano, ovvero la Casa della Salute di Santhià (CdS) (ASL VC), osservando le variabili indagate con una duplice prospettiva, professionista e utente.

Materiali e metodi: Lo studio qualitativo descrittivo utilizza un approccio etnografico focalizzato, il quale partendo dall'osservazione del contesto ambientale ed organizzativo in cui operano gli IFeC, si coniuga con le esperienze descritte dal gruppo di infermieri e degli utenti fruitori dei servizi. La ricerca si svolge presso la CdS di Santhià e al domicilio delle persone, per raccogliere informazioni ed elementi utili ai beneficiari del servizio. Lo studio prevede l'arruolamento degli IFeC e degli utenti/caregiver che hanno espresso parere favorevole alla partecipazione e firmato il relativo consenso. Un campionamento di convenienza di circa 10-15 utenti è stato individuato per lo studio. La raccolta dei dati consiste nella consultazione di documenti, osservazioni partecipante e interviste semi-strutturate audio-registrate agli informatori chiave (Tabella 1), note di campo e l'osservazione del contesto. L'approccio etnografico utilizzato prevede un'analisi tematica concomitante alla raccolta di dati (Strauss e Corbin, 1990) secondo un processo ricorsivo e ripetuto sino alla definizione dei principali pattern comportamentali e organizzativi. Il protocollo è stato approvato dal Comitato Etico Interaziendale con sede ad Alessandria (Prot. n° AsIVC.DIPSA.22.02 del 24/02/2022).

Conclusioni: La comprensione del modello culturale di assistenza erogata dall'IFC consente di identificare i processi decisionali attuati dagli IFeC, le idee e pratiche socialmente condivise che influenzano la creazione di relazioni e impattano sugli esiti di salute delle persone prese in carico.

N°	Domanda
1	Che tipo di relazione si instaura tra l'infermiere di Famiglia e Comunità e il cittadino/ paziente/famiglia?
2	Quali interventi infermieristici vengono adottati e risultano efficaci o inefficaci nella gestione delle cronicità nella popolazione residente?
3	Quali sono, se esistenti, le facilitazioni e/o barriere nello svolgimento della vostra attività?

Tabella 1: esempio di domande utilizzate nell'intervista agli IFeC

POSTER

L'IMPATTO DEL PRIMARY NURSING IN AREA CARDIOLOGICA: UNO STUDIO PRE-POST

**Busca E.^{a,b}, Caristia S.^a, Petrillova M.^b, Sanna F.^b, Tofan M.^c,
Vairo C.^b, Zumbo P.^b, Dal Molin A.^{a,b}**

^a Dipartimento di Medicina Traslazionale, Università del Piemonte Orientale, Via Solaroli 17, 28100 Novara

^b Azienda Ospedaliera Universitaria Maggiore della Carità, Corso Giuseppe Mazzini 18, 28100 Novara

^c Affidea-CDC, Via Giovanni Gnifetti 22, 28100 Novara

erica.busca@uniupo.it

Background: il Primary Nursing (PN) è un modello di erogazione dell'assistenza infermieristica che si è sviluppato a partire dagli anni settanta come alternativa all'organizzazione del lavoro per equipe o funzionale (per compiti) per migliorare la qualità dell'assistenza e il livello professionale degli infermieri. Recentemente è stato adottato in Italia. L'impatto dell'implementazione del PN è stato studiato prevalentemente sugli esiti riferiti dal personale in termini di soddisfazione professionale e stress lavorativo. L'obiettivo dello studio è valutare l'effetto dell'implementazione del PN nell'area cardiologica dell'AOU Ospedale "Maggiore della Carità" di Novara.

Materiali e metodi: è stato condotto uno studio sperimentale pre-post da novembre 2019 a giugno 2022. Ad una prima fase di raccolta dati è seguita la formazione del personale, l'introduzione operativa del PN ed una seconda fase di raccolta dati. Sono stati arruolati tutti gli utenti afferenti all'area cardiologica in grado di esprimere il consenso allo studio e con un ricovero superiore alle 48h. L'outcome primario è la comparsa di infezioni ospedaliere correlate all'assistenza (ICA), gli outcome secondari analizzati sono stati: le lesioni da pressione, lo stato funzionale (indice di Barthel), la durata della degenza e la soddisfazione dell'utenza (Caring Behaviors Inventory). I dati sono stati raccolti tramite compilazione di una scheda da parte del personale infermieristico al momento del ricovero e delle dimissioni dei pazienti, sia nella fase pre che nella fase post. Le analisi sono state realizzate con confronti pre-post, stimando l'incidenza delle infezioni, delle lesioni da pressione e il cambiamento medio dell'indice di Barthel pre e post intervento.

Risultati: lo studio ha coinvolto 192 pazienti nella fase pre e 190 pazienti nella fase post implementazione PN. Non ci sono differenze statisticamente significative tra i due gruppi in studio rispetto al sesso, età e altre caratteristiche socio-demografiche ($p > 0,25$). L'implementazione del PN risulta protettiva nello sviluppo di ICA con una riduzione del 66,7% nel numero di infezioni pre-post (OR=0,35 IC95% [0,069-1,817]), nella comparsa di lesioni da pressione con una riduzione dell'1,1% (OR=0,69 IC95% [0,08-5,97]) pur non essendo statisticamente significativi. Non sono state rilevate cadute durante lo studio. Inoltre, è stato riscontrato un miglioramento dell'indice di Barthel (differenza tra pt dimissione / accettazione) in entrambi i gruppi di utenti, con un incremento maggiore nel gruppo post PN (+3,91% vs +6,24%) ($p=0,442$) ed una durata della degenza maggiore nel post ($p=0,116$). Riguardo alla soddisfazione dell'utenza su tre sotto-scale di quattro, si registra una differenza media pre-post statisticamente significativa a favore dell'implementazione del PN.

Conclusioni: i risultati di questa analisi, che si inserisce in uno studio più ampio multicentrico, riportano effetti non statisticamente significativi a favore dell'implementazione del PN per gli outcome osservati, eccetto per la soddisfazione da parte dell'utenza sull'assistenza ricevuta che risulta essere statisticamente significativa. Trattandosi di un intervento complesso in sanità, una valutazione aggiuntiva nel lungo periodo potrebbe rendere maggiormente evidente la bontà dell'intervento. Nonostante lo studio si sia sviluppato in epoca COVID-19, i risultati ci restituiscono una valutazione positiva in termini di fattibilità nell'implementazione del modello.

ACUTE KIDNEY INJURY IS ASSOCIATED WITH INCREASED IN-HOSPITAL MORTALITY AND WITH IMPAIRMENT OF KIDNEY, LUNG AND MOTOR FUNCTION AFTER DISCHARGE FOR COVID-19

**Morosini U.M.^a; Marengo M.^b; Prena S.^a; Quaglia M.^a;
Baricich A.^a; Balbo P.E.^a; Patti G.^a; Sainaghi P.P.^a; Pirisi M.^a;
Capponi A.^a; Bettio V.^a; Capello D.^a; Bellan M.^a e Cantaluppi V.^a**

^a Department of Translational Medicine (DIMET), University of Piemonte Orientale (UPO), AOU Maggiore della Carità, Novara, Italy;

^b Nephrology and Dialysis Unit, ASL CN1, Cuneo, Italy.

Background and aims: Acute Kidney Injury (AKI) is the most frequent complication after respiratory failure in COVID-19. AKI increases mortality risk, length of hospital stay and healthcare costs with possible progression toward Chronic Kidney Disease (CKD) with an acceleration of renal aging mechanisms. Moreover, AKI leads to acute and chronic dysfunction of distant organs (heart, brain, etc.) with the development of severe comorbidities. Study aims: 1) evaluation of AKI incidence in 1020 COVID-19 hospitalized patients; 2) comparison of AKI incidence in COVID-19 vs. pre-pandemic period; 3) establishment of out-patient follow-up for monitoring kidney, lung and motor function; 4) creation of a biobank for biomarker discovery studies.

Methods: AKI incidence was calculated matching laboratory and administrative data of 26214 hospitalized patients in 2018-2019 and in 1020 COVID-19 patients in 2020-2021: KDIGO algorithms were applied for AKI grading. After 12 months from discharge, 232 COVID AKI patients and relative controls matched for age and gender were evaluated for kidney (eGFR, biomarkers of tubular damage NGAL, CCI-14, DKK-3), lung (DLCO, CT scan) and neuro-motor (SPPB, 2-min walking test) function.

Results: Before pandemic, in-hospital AKI incidence was 18% (10% KDIGO 1, 5% KDIGO 2, 3% KDIGO 3): median age of AKI patients was 69. In-hospital mortality was 3.5 % in non-AKI group vs. 15% in AKI group in accordance with KDIGO stages. In COVID patients, AKI incidence increased to 37% (20% KDIGO 1, 11% KDIGO 2, 6% KDIGO 3): median age of patients was 54. In-hospital mortality was 31 % in AKI group. After 12 months from hospital discharge, COVID AKI patients showed a persistent reduction of respiratory function (severe DLCO impairment <60%) related to the extent of CT scan abnormalities. AKI patients also presented motor function impairment. GFR reduction was 1.8 ml/min in non-AKI vs. 9.7 ml/min in AKI COVID patients not related to age. Urinary DKK-3 and CCL-14 were also higher in the AKI group.

Conclusion: AKI incidence was significantly increased during COVID-19 in respect to pre-pandemic period with an association with higher mortality in class 2-3 KDIGO. In the post-COVID follow-up, AKI was associated with lung and neuro-motor function impairment and with a sudden GFR decline concomitant to the persistence of tubular injury biomarkers. These results suggest the importance of a nephrological and multidisciplinary follow-up of these frail patients. Moreover, AKI is an accelerator of renal and distant organ aging that should be carefully avoided during hospitalization for COVID-19.

POLYMETHYLMETHACRYLATE MEMBRANE REDUCES SERUM LEVELS OF SOLUBLE CD40-LIGAND, AN INDEPENDENT PREDICTOR OF CARDIOVASCULAR EVENTS IN HEMODIALYSIS PATIENTS

**Migliori M.^a; Marengo M.^b; Merlotti G.^c; Quercia A.D.^c;
Medica D.^c; Medana C.^d; Grossini E.^c; Quaglia M.^c;
Panichi V.^a; Cantaluppi V.^c**

^a Nephrology and Dialysis Unit, Versilia Hospital, Camaiore (LU), Italy;

^b Nephrology and Dialysis Unit, ASL CN1, Cuneo, Italy;

^c Department of Translational Medicine (DIMET), University of Piemonte Orientale (UPO), Novara, Italy;

^d Department of Chemistry, University of Torino, Italy.

Background and Aim: Inflammation and oxidative stress are key factors for the incidence of premature vascular aging and for an increased rate of cardiovascular events in hemodialysis (HD) patients. The RISCAVID study has previously demonstrated that the soluble form of the costimulatory molecule CD40Ligand (sCD40L) is involved in inflammaging and cardiovascular events of HD patients. The aims of the present study were: 1) to confirm the role of sCD40L as an independent predictor of cardiovascular events about 10 years after RISCAVID; 2) to evaluate the effect of polymethylmethacrylate (PMMA) membrane on sCD40L serum levels and on CD40-CD40L pathway-related Endothelial Cell (EC) dysfunction and Vascular Smooth Muscle Cell (VSMC) calcification.

Methods: 201 patients treated with high-flux bicarbonate HD were evaluated for sCD40L (ELISA), Indoxyl sulfate (IS) and p-Cresyl sulfate (pCS) (HPLC-MS) serum levels and followed for at least 24 months to evaluate the incidence of Major Adverse Cardiovascular Events (MACE). Moreover, 54/201 patients with sCD40L serum levels higher than the median value were randomized for 9 months as follows: Group 1 (n=27): T0-T3 months PMMA; T3-T6 polysulfone (PS); T6-T9 PMMA; Group 2 (n=27): T0-T3 months PS; T3-T6 PMMA; T6-T9 PS. In both groups, sCD40L levels were correlated with standard clinical and laboratory parameters. In a subgroup of patients, the mass removal of sCD40L was investigated in two different dialysis sessions (PMMA vs PS). *In vitro*, the biological effects of sera drawn from HD patients enrolled in the study on EC dysfunction and VSMC calcification were also studied.

Results: By univariate and multivariate analyses, we found that a serum level of sCD40L higher than 8.4 ng/ml was an independent predictor of MACE in a follow-up of at least 24 months. In addition, IS and pCS serum levels correlated with sCD40L and the *in vitro* stimulation of platelets with IS and pCS enhanced sCD40L release. In HD patients, the shift to PMMA membrane resulted in a significant reduction of sCD40L levels in both groups, whereas hepcidin levels were significantly reduced only in Group 1 at 9 months. Moreover, mass removal of sCD40L with PMMA was significantly higher than that observed with PS in 2 different HD sessions in 2 consecutive weeks. *In vitro*, incubation of EC and VSMC with sera collected from patients after switching from PS to PMMA showed a significant reduction of EC dysfunction and VSMC calcification through a decreased activation of the CD40-CD40L pathway. In particular, PMMA induced a significant decrease of EC injury (ROS production, endothelial-to-mesenchymal transition, monocyte adhesion, inhibition of angiogenesis) and VSMC calcification (red alizarin staining and Runx-2 mRNA/protein expression).

Conclusions: We herein observed that sCD40L is an independent predictor of MACE in HD patients. Moreover, the protein-bound uremic toxins IS and pCS increased sCD40L serum levels by enhancing its release from platelets. PMMA membrane significantly and stably reduced sCD40L serum levels under the high-risk cut-off of 8.4 ng/ml. *In vitro* studies confirmed that the switch to PMMA decreased EC dysfunction and VSMC calcification concomitant to sCD40L reduction. PMMA membrane should be considered as a novel therapeutic strategy to limit early vascular aging of HD patients.

EXTRACELLULAR VESICLES DERIVED FROM ENDOTHELIAL PROGENITOR CELLS PROTECT GLOMERULAR ENDOTHELIAL CELLS AND PODOCYTES FROM COMPLEMENT- AND CYTOKINE-MEDIATED INJURY

**Medica D.^a; Franzin R.^b; Stasi A.^b; Castellano G.^c;
Migliori M.^d; Camussi G.^e, Cantaluppi V.^a**

^a Department of Translational Medicine (DIMET), University of Piemonte Orientale (UPO), Novara, Italy;

^b Nephrology Lab, University of Bari, Italy;

^c Nephrology, Dialysis and Kidney Transplantation Unit, University of Milano, Italy;

^d Nephrology and Dialysis Unit, Versilia Hospital, Camaiore (LU), Italy; ^eDepartment of Medical Sciences, University of Torino, Italy

Background and aim: Glomerulonephritis (GN) are still responsible for 5-10% of Acute Kidney Injury (AKI) cases during hospitalization. Glomerular endothelial cells (GEC) and podocytes (Podo) are the main targets of inflammatory reaction potentially leading to the progression toward chronic kidney disease (CKD) due to accelerated glomerular cell senescence. Activation of the complement cascade (Compl) and pro-inflammatory cytokines (CK) such as Tumor Necrosis Factor- α (TNF- α) and Interleukin-6 (IL-6) can alter GEC and Podo function during GN. Endothelial Progenitor Cells (EPC) are bone-marrow-derived hematopoietic stem cells able to repair injured endothelium by releasing paracrine mediators such as Extracellular Vesicles (EV), microparticles involved in intercellular communication by transferring proteins and RNAs to target cells. Study aim: to evaluate in vitro the protective effect of EPC-derived EV on GEC and Podo cultured in detrimental conditions with inflammatory CK (TNF- α /IL-6) and the pro-senescent Compl protein C5a.

Methods: GEC and Podo were isolated from human glomeruli and cultured in detrimental conditions (C5a and CK) mimicking GN in different experimental procedures. EPC were isolated from peripheral blood of healthy volunteers and characterized for endothelial and stem cell markers. EVs were isolated from EPC supernatants by ultracentrifugation and characterized for size/concentration (Nanosight), protein (FACS) and RNA (microarray) expression.

Results: EVs were internalized in GECs and Podo through a L-selectin-dependent mechanism. In GEC, EV enhanced the formation of capillary-like structures and cell migration by modulating gene expression and inducing the release of growth factors (VEGF-A and HGF). In the presence of CK and C5a, EPC-derived EVs protected GEC from apoptosis by decreasing oxidative stress and prevented leukocyte adhesion by inhibiting the expression of adhesion molecules (ICAM-1, VCAM-1, E-selectin). On Podo, EV inhibited apoptosis and prevented nephrin shedding induced by CK and C5a. In a co-culture model of GEC/Podo that mimicked glomerular filtration barrier, EPC-derived EV preserved cell function and permeability from inflammatory-mediated damage. Of note, RNase pre-treatment of EV abrogated their protective effects, suggesting the crucial role of RNA transfer from EV to damaged glomerular cells.

Conclusion: EPC-derived EV preserved GEC and Podo function from complement- and cytokine-induced damage, suggesting their potential role as therapeutic agents for drug-resistant glomerulonephritis. Moreover, EPC-derived EVs can limit glomerular senescence and fibrosis induced by complement activation and chronic inflammation.

LONG TERM SURVIVAL OF PARTICIPANTS IN THE MESENCHYMAL STROMAL STEM CELLS TRANSPLANTATION IN AMYOTROPHIC LATERAL SCLEROSIS

**F. De Marchi¹, K. Mareschi², I. Ferrero², R. Cantello¹,
F. Fagioli², L. Mazzini¹**

¹ ALS Center, Neurology Unit, Department of Translational Medicine, University East Piedmont, 28100 Novara, Italy

² Paediatric Onco-haematology Division and Cellular Therapy Unit, Department of Public Health and Pediatrics, University of Turin, Italy

Background aim: Amyotrophic Lateral Sclerosis (ALS) is a fatal neurodegenerative disorder with very limited available treatments. The Mesenchymal Stem Cells (MSCs) can represent a promising tool for stem cell-based clinical trials in ALS patients. We conducted two phase I/II clinical trials to evaluate this treatments' safety and feasibility in the past years. Herein we report the results of the long-term survival analysis of participants in these trials.

Methods: The trials aimed to evaluate safety and feasibility of autologous MSC isolated from bone marrow and implanted into the dorsal spinal cord with a surgical procedure (19 ALS patients). All the included patients were regularly monitored after transplantation with clinical, psychological, and neuroradiologic assessments at the tertiary ALS center in Novara (Italy) until death. For this analysis, we considered patients with a disease history > of 10 years from transplantation as long-survivors.

Results: we enrolled 11 males and 8 females. No patients manifested severe adverse effects or increased disease progression because of the treatment also in the long term. There were no relevant radiological lesions over the disease course. Of 19 patients, 9 (47%) were considered long-survivors. The mean age of this group at transplantation was 35 years, and all patients had spinal onset. Five patients (26%) are alive, two without tracheotomy (20 years after diagnosis and 17 after transplantation) and without any bulbar sign, and three with tracheotomy but without any cranial involvement. Other four patients died after a long disease course, and they had a mean survival time of 14 years from transplantation (three of these four without tracheotomy).

Discussion: No immediate clear clinical benefits were detected in these patients after the stem cells transplant, but the high percentage of patients with extended survival and no bulbar involvement can suggest that MSC can be administered safely and that a targeted patient's recruitment could be translated in a higher probability of clinical outcome achievement.

CLINICAL OUTCOMES IN PATIENTS AGED 80 YEARS AND OLDER RECEIVING NONINVASIVE RESPIRATORY SUPPORT FOR COVID-19 PNEUMONIA

**De Vita N. MD^a; Vianello A. MD^b; Scotti L. PhD^a;
Confalonieri M. MD^c; Bonato V. MD^d; Maestroni C. MD^e;
Airoldi G. MD^f; Olivieri C. MD^g; Sainaghi P. MD, PhD^a;
Della Corte F. MD^a; Navalesi P. MD, FERS^h;
Vaschetto R. MD, PhD^a**

- ^a Università del Piemonte Orientale, Dipartimento di Medicina Traslazionale, Via Solaroli, 17 - 28100 Novara, Italy.
- ^b Department of Cardiac Thoracic Vascular Sciences and Public Health, University of Padova, Via Gallucci, 13 - 35121 Padova, Italy.
- ^c Department of Cardiac Thoracic Vascular Sciences and Public Health, University of Padova, Via Gallucci, 13 - 35121 Padova, Italy.
- ^d Azienda Ospedaliera SS. Antonio e Biagio e Cesare Arrigo, Department of Anesthesia and Intensive Care, Via Venezia, 16 - 15121 Alessandria, Italy, EU.
- ^e Presidio Ospedaliero Domodossola e Verbania, Anestesia Rianimazione ASL VCO, Direzione dipartimento chirurgico, Largo Caduti Lager Nazisti, 1 - 28845 Domodossola, Verbania, Italy.
- ^f Ospedale Ss. Trinità, Medicina Interna, Viale Zoppis, 10 - 28021 Borgomanero, Italy.
- ^g Azienda Ospedaliera Sant'Andrea, Department of Anesthesia and Critical Care, Corso M. Abbiate, 21 - 13100 Vercelli, Italy.
- ^h Istituto di Anestesia e Rianimazione, Azienda Ospedale-Università di Padova, Dipartimento di Medicina - DIMED - Università di Padova, Via Gallucci, 13 - 35121 Padova.

nello.devita@uniupo.it

Introduction: In octogenarian patients hospitalized for COVID-19 clinical outcomes are very poor. Purpose of this study was to describe the characteristics and clinical outcomes of patients aged 80 year or older hospitalized for acute respiratory failure (ARF) consequent to COVID-19 receiving non-invasive respiratory support (NIRS) in respiratory intermediate care unit (RICU).

Method: Multicentre, retrospective, observational study conducted in seven hospitals in Northern Italy. All patients aged ≥ 80 years with COVID-19 ARF who underwent NIRS between February 24th, 2020, and March 31st, 2021, were included. Demographic, clinical, and respiratory data, RICU and hospital length of stay, and in-hospital and 90-day mortality after hospital admission were analysed.

Results: During the study period, 252 patients were admitted to RICUs for ARF and were treated with NIRS. 228 (90%) only received NIRS (NIRS group), while 24 (10%) also received Invasive Mechanical Ventilation (IMV) via endotracheal intubation (ETI) after NIRS failure (NIRS + IMV group). Patient in the NIRS group showed older age (median [IQR], 84 [82–87] vs. 82 [81–84] years), slightly higher PaCO₂ (34 [31–38] vs. 32 [28–37] mmHg), and lower serum CRP (11 [6–15] vs. 15 [10–25] mg/dL) and SOFA score (3 [3–4] vs. 5 [3–6]). In NIRS and NIRS+IMV group in-hospital mortality did not significantly differ (61%, vs. 70%, $p = 0.507$). Survival probability at 90 days was significantly higher for NIRS compared to NIRS+IMV patients (0.379 vs. 0.147; $p = 0.0025$). Increasing age, C-reactive protein, SOFA score and level of dependence were significantly associated with higher risk of death at 90 days.

Conclusion: The outcome of patients aged 80 years and older who receive NIRS for COVID-19 ARF is very poor. Given the extremely poor prognosis of intubated patients failing NIRS, caution should be used when considering transition from NIRS to IMV.

INTRACEREBROVENTRICULAR TRANSPLANTATION OF NEURAL STEM CELLS IN AN EXPERIMENTAL MODEL OF AMYOTROPHIC LATERAL SCLEROSIS

**Lombardi I.^a; de la Morena S.^b; Pastor Campos D.^c;
Carletti R. M.^d; Gelati M.^e; Profico D.C.^e; Grespi, V.^f; Muzi G.^f;
Rasà D. M.^{b,g}; Rosati J.^h; Perciballi E.^a; Mazzini, L.ⁱ; De Marchi F.ⁱ;
Vercelli A.^{b,g}; Martinez Perez S.^j; Vescovi A.L.^{a,d};
Boido M.^{b,g}; Ferrari D.^a**

- ^a Department of Biotechnology and Biosciences, University of Milano-Bicocca, Piazza della Scienza, 2, 20126 Milano, Italy;
- ^b Neuroscience Institute Cavalieri Ottolenghi, University of Turin, Regione Gonzole, 10, 10043 Sanatorio San Luigi, Turin, Italy;
- ^c Department of Sport Science, Miguel Hernández University, Avinguda de la Universitat d'Elx, 03202, Elche, Alicante, Spain;
- ^d Fondazione IRCCS, Casa Sollievo della Sofferenza, Viale Cappuccini, 71013, San Giovanni Rotondo (FG), Italy;
- ^e Fondazione IRCCS Casa Sollievo della Sofferenza, Production Unit of Advanced Therapies (UPTA), Institute for Stem-Cell Biology, Regenerative Medicine and Innovative Therapies (ISBReMIT), Viale Padre Pio, 7, 71013 San Giovanni Rotondo (FG), Italy;
- ^f Cell Factory and Biobank Santa Maria Hospital, Viale Tristano di Joannuccio, 05100, Terni, Italy;
- ^g Department of Neuroscience "Rita Levi Montalcini", University of Turin, Via Cherasco, 15, 10126, Turin, Italy;
- ^h Cellular Reprogramming Unit, Fondazione IRCCS Casa Sollievo della Sofferenza, Viale Cappuccini, 71013, San Giovanni Rotondo (FG), Italy;
- ⁱ Centro Regionale Esperto SLA Azienda Ospedaliero-Universitaria "Maggiore della Carità", Corso Mazzini, 18, 28100, Novara, Italy;
- ^j Instituto de Neurociencias de Alicante, Avenida Santiago Ramon y Cajal, 03550, Sant Joan d'Alacant, Alicante, Spain

ivan.lombardi@unimib.it

Human Neural Stem Cells (hNSCs) treatment for neurodegenerative and neuroinflammatory diseases might exert antagonizing effects on inflammation and neurodegeneration ¹. We showed that hNSCs transplantation in the spinal cord of SOD1^{G93A} rat can delay disease progression, motor functions deterioration and significantly extends animals' survival ². These clinical improvements were associated with a reduction of ALS histopathological markers (SOD1 deposits, reactive astro/microgliosis) and motor neurons preservation in the transplanted areas. By the Phase I Clinical Trial NCT01640067, we demonstrated that the procedure is feasible in ALS patients ³.

The patient cohort was too small to draw final conclusions, however we observed a significant transitory decline of the ALS-Functional Rating Scale score progression within the first month after transplantation that continued for up to 4 months, in accordance with another comparable trial (NCT01348451).

To improve the hNSCs efficacy and extend the duration of the putative beneficial outcomes, a conceivable hypothesis is to increase cell dosage. This objective has been tackled by increasing the number of spinal cord injections (NCT01730716), however, this approach is limited due to the backbone destabilization consequent to the surgery.

In this study, we are evaluating the implementation of intracerebroventricular delivery of

hNSCs, as an effective strategy to increase cell dosage, favor a broader spread of transplanted cells and of their secreted healing factors throughout the motor neuraxis by exploiting the liquor circulation. Our results show that hNSCs (300,000 cells/mice) transplanted into the lateral ventricle of immunodeficient mice are well tolerated and not tumorigenic after 6 months, can extensively migrate and adhere to the ventricle wall occasionally migrating into the parenchyma.

The same dosage was injected into the brain of SOD1^{G93A} mice using a transient immunosuppression protocol. hNSCs survived for at least 2 months and our preliminary data suggest that the treatment improved mice motor performances. However, cell survival was not optimal, thus, at this stage, the reduced sample size prohibits any conclusions on survival.

We are currently evaluating the safety and efficacy of increased dosage of hNSCs (up to 1x10⁶ cells) in nude and SOD1^{G93A} mice.

1 Willis CM, Nicaise AM, Peruzzotti-Jametti L, Pluchino S. The neural stem cell secretome and its role in brain repair. *Brain Res.* 2020 Feb 15;1729:1466-15. doi: 10.1016/j.brainres.2019.146615.

2 Zalfa, C., Rota Nodari, L., Vacchi, E. et al. Transplantation of clinical-grade human neural stem cells reduces neuroinflammation, prolongs survival and delays disease progression in the SOD1 rats. *Cell Death Dis* 10, 345 (2019). <https://doi.org/10.1038/s41419-019-1582-5>

3 Mazzini L, Gelati M, Profico DC, Sorarù G, Ferrari D, Copetti M, Muzi G, Ricciolini C, Carletti S, Giorgi C, Spera C, Frondizi D, Masiero S, Stecco A, Cisari C, Bersano E, De Marchi F, Sarnelli MF, Querin G, Cantello R, Petruzzelli F, Maglione A, Zalfa C, Binda E, Visioli A, Trombetta D, Torres B, Bernardini L, Gaiani A, Massara M, Paolucci S, Boulis NM, Vescovi AL; ALS-NSCs Trial Study Group. Results from Phase I Clinical Trial with Intraspinal Injection of Neural Stem Cells in Amyotrophic Lateral Sclerosis: A Long-Term Outcome. *Stem Cells Transl Med.* 2019 Sep;8(9):887-897. doi: 10.1002/sctm.18-0154.

OLTRE L'EMERGENZA: NUOVE FORME DI PEDAGOGIA MEDICA BASATE SULLA SIMULAZIONE E LA TELEMEDICINA NEL PROGETTO BEEMTEL COORDINATO DAL DIMET

Loria E.^a; Barisone M.^a

^a Università del Piemonte Orientale - Dipartimento di Medicina Traslazionale, Via Solaroli 17 - 28100 Novara

emiliano.loria@uniupo.it; michela.barisone@uniupo.it

L'Università del Piemonte Orientale, attraverso il Dipartimento di Medicina Traslazionale (DIMET), è capofila del progetto Erasmus di alta formazione denominato BeEmTel (Beyond the Emergency. Telecare for Non-Communicable Diseases through Simulation Techniques), che vede il coinvolgimento di 7 Partner di 5 Paesi europei (Italia, Germania, Grecia, Croazia e Romania). L'agenzia nazionale Indire e la Commissione europea hanno riconosciuto l'aspetto innovativo del progetto di alta formazione e la qualità della Partnership - che vede, con il coordinamento di UPO, la collaborazione di istituti universitari europei e di due enti pubblici (il Centro nazionale per la telemedicina e le nuove tecnologie assistenziali-ISS e il Dipartimento di Emergenza di Bucarest del Ministero degli Interni). Il forte elemento di innovazione riguarda l'approccio formativo multidisciplinare, con l'integrazione di nuove metodologie educative a distanza, che la Partnership sta adottando nella costruzione di un corso on line completamente gratuito di 160 ore (80 da remoto e 80 in presenza), rivolto ai futuri professionisti dell'assistenza socio sanitaria, che avrà inizio nella primavera 2023. La fase del Corso in presenza fa perno sulle attività laboratoriali che gli studenti svolgeranno presso Simnova, il Centro di Simulazione di UPO e presso l'Human Simulation Centre di Monaco, due dei centri di simulazione medica più innovativi nel panorama europeo.

Particolare attenzione nel corso di BeEmTel avranno le malattie croniche, che a livello europeo, rappresentano circa l'80% delle cause di mortalità nelle persone oltre i 65 anni. Entro il 2050, in Europa, si prevede che la proporzione di adulti anziani raddoppierà dall'11% al 22% della popolazione totale. La maggior parte di tali patologie sono profondamente legate all'invecchiamento, tra queste il diabete di tipo 2, l'obesità, le malattie respiratorie, cardiache, e la demenza, solo per citarne alcune. Il progetto BeEmTel - avviato ufficialmente nel dicembre 2021 - è mosso dalla consapevolezza, emersa drammaticamente durante il primo anno di pandemia Covid-19, della debolezza del sistema sanitario (italiano ed europeo) in relazione alla cura dei pazienti fragili, e del sistema di formazione professionale, che rimane incapace di affrontare l'urgente sfida di riformare le modalità di trattamento e monitoraggio dei pazienti cronici. Gli sforzi per contenere la pandemia di Covid-19 hanno sollevato la necessità di migliorare la qualità delle cure per tali pazienti e mitigare l'impatto negativo che le cronicità comportano non solo sui malati ma anche sulle loro famiglie e sulla società in genere. In questo scenario si prevede che il nuovo profilo di un professionista dell'assistenza sanitaria e sociale debba includere ulteriori competenze avanzate. A medici, infermieri, psicologi e psichiatri è richiesta una formazione multidisciplinare che includa competenze digitali, pratiche e cliniche più specifiche. L'adozione della simulazione medica in presenza (cioè la simulazione dal vivo di scenari di osservazione clinica) e della simulazione a distanza (telesimulazione) rende possibile una formazione multidisciplinare inclusiva e di alta qualità. Uno degli scopi di BeEmTel è quello di diffondere, attraverso l'ausilio di simulazioni ad alta fedeltà, le conoscenze teoriche e applicate per prepararsi al meglio alle nuove forme di cura e assistenza a distanza. Il talk si prefigge di illustrare contesto e finalità del percorso formativo offerto da BeEmTel, insistendo sulla necessità da parte delle università europee di nuove figure professionali, in grado di interpretare al meglio e agire adeguatamente nei nuovi scenari di prossimità col paziente che la Telemedicina e il Telenursing stanno già mettendo a disposizione.

A NUTRIMETABOLOMICS APPROACH TO UNDERSTAND PROTECTION FROM SARS-COV-2 INFECTION

**Manfredi M.^{a,b}; Barberis E.^{a,b}; Amede E.^{a,b}; Stelvio T.^{a,b};
Chiocchetti A.^{b,c}; Sainaghi P.P.^{a,b};**

^a Department of Translational Medicine, University of Piemonte Orientale, via Solaroli 17, 28100, Novara, Italy;

^b Center for Translational Research on Autoimmune and Allergic Diseases, University of Piemonte Orientale, Corso Trieste 15/A, 28100, Novara, Italy;

^c Department of Health Sciences, University of Piemonte Orientale, via Solaroli 17, 28100, Novara, Italy.

marcello.manfredi@uniupo.it

Although the mass vaccination campaign has opened a new chapter in the battle against SARS-CoV-2, COVID-19 pandemic is still raging in most countries. The application of metabolomics in the nutrition sciences has been used not only to discover new food intake biomarkers but also to assess dietary compliance or dietary patterns. Foods and food ingredients play an important role in achieving or maintaining a state of wellbeing. The potential contributions of foods and bioactive substances to prevent COVID-19 have not been explored yet.

In the current study, we used nutrimetabolomics to identify chemicals and variables associated with a high risk of developing COVID-19 infection¹.

Untargeted metabolomics analysis was performed on a first cohort of 50 serum samples collected from healthy healthcare professionals at the onset of the COVID-19 pandemic in Italy and who were later exposed to the same risk for contracting COVID-19. Of these subjects, half developed COVID-19 within three weeks of the blood collection. Small molecules were extracted from serum, derivatized and then analyzed using bi-dimensional gas chromatography/mass spectrometer (GCxGC-MS). The metabolomics profiling between the two groups were then compared.

We identified the presence of a metabolic phenotype associated with protection from SARS-CoV-2 infection and predisposition to COVID-19. Among molecules correlated to protection we identified several fatty acids and amino acids that could be used as dietary supplements. In particular, we identified an important role of monolaurin, which has well-known antiviral and antibacterial properties. The molecule was higher in protected subjects, suggesting a potential defensive role against SARS-CoV-2 infection; thus, dietary supplements could boost the immune system against this infection. A recent trial showed that virgin coconut oil, which is mainly composed of monolaurin, was able to reduce inflammation in COVID-19 patients.

We then quantified monolaurin and lauric acid on a larger cohort of subjects healthy subjects. We then correlated the levels of these molecules with the time to infection with SARS-CoV-2. The validation phase confirmed the potential protective role of monolaurin.

This study shows that metabolomics can be of great help for developing personalized medicine and for supporting public healthcare strategies.

1. Barberis, E., Amede, E., Tavecchia, M. et al. Understanding protection from SARS-CoV-2 using metabolomics. *Sci Rep* 11, 13796 (2021).

TOLERABILITY OF FIRST LINE SYSTEMIC THERAPY IN ELDERLY PATIENTS WITH HEPATOCELLULAR CARCINOMA

Manfredi G.F.^{1,2}, Giacomini G.^{1,2}, Acquaviva A.^{1,2}, Burlone M.², Pirisi M.^{1,2}

¹ Department of Translational Medicine, Università del Piemonte Orientale UPO, Via Solaroli 17, Novara, Italy

² Department of Internal Medicine, "AOU Maggiore della Carità", Corso Mazzini 18, Novara, Italy

20001718@studenti.uniupo.it

Liver cancer is the fourth leading cause of cancer death globally¹, with hepatocellular carcinoma (HCC) representing 90% of primary cancer². The average age of HCC development is 70 with aging being a known risk factor³. Population in Italy is older than in other countries with expected increasing incidence of HCC⁴. Most studies support the concept that, in general, all available treatments for primary cancer can also be recommended for elderly patients, keeping comorbidities into account in choosing process⁵.

Given these principles we studied patients' overall survival (OS), time to progression (TTP) represented as therapy duration and adverse events (AE) secondary to two different first line systemic therapy agents, namely sorafenib and lenvatinib.

Our population was composed by 103 patients affected by HCC, afferent to the hepatological clinic of A.O.U. Maggiore della Carità (Novara). Median age at diagnosis of HCC was 72 [27-88] with a median age at systemic therapy start equal to 73 [27-88]. Patients older than 65 years represented the 79.2% of our population, over 70 were the 59.4%, while patients older than 80 years were 19.6% of the total. Patients were predominantly men (79.6% male vs 20.4% female) and the majority of them suffered from cirrhosis (85.4%). The most common etiology was viral (55.7%). Alpha-fetoprotein (AFP) values had a median of 50,9 [1-61962] before starting therapy. There was no statistically significant difference ($p=0,08$) in number of patients treated with the two systemic therapies: 21 patients were treated with lenvatinib, with a median age of 76 years at the start of therapy, while 82 patients were treated with sorafenib with median age of 72,5 years. Median systemic therapy duration was 4,7 months in sorafenib-patients (SP) and 10 months in lenvatinib-patients (LP) ($p=0,003$). OS was 15,8 months in SP and 26,4 months in LP ($p=0,04$). No difference in systemic therapy duration was observed considering age ≥ 80 years ($p=0,63$). Patients older than 80 years showed reduced OS as might be expected for age. Most reported AE were fatigue, anorexia and diarrhea with no statistically significant difference in terms of prevalence between patients older than 80 and younger ones. Regarding diarrhea and anorexia, no patients over 80 had a Common Terminology Criteria for Adverse Events (CTCAE) grade greater than 1. Patients over 80 did not require dose reduction any more than younger patients.

Our study demonstrates how elderly patients could be treated safely with the same intensity as younger patients. Adverse events didn't represent a crucial factor for discontinuing therapy in elderly patients. It is essential to know how to manage adverse events in a timely and precise way, educating the patient to recognize them as such and to report them to the attending physician. Knowing that the epidemiology of HCC will increasingly affect elderly patients, the choice of treatment based on the characteristics of the subject will be decisive, but age alone should not represent a limitation at the beginning of systemic therapy.

1. Asia, S., Asia, S. & Hdi, H. International agency for research on cancer: World Health Organization, Lyon, France. *Cancer Genet. Cytogenet.* 10, 217 (1983).

2. Llovet, J. M. et al. Hepatocellular carcinoma. *Nat. Rev. Dis. Prim.* 2, (2016).

3. Macias, R. I. R. et al. Impact of aging on primary liver cancer: epidemiology, pathogenesis and therapeutics. *Aging (Albany, NY)*. 13, 23416–23434 (2021).

4. Garuti, F. et al. The changing scenario of hepatocellular carcinoma in Italy: an update. *Liver Int.* 41, 585–597 (2021).

5. Borzio, M., Dionigi, E., Parisi, G., Raguzzi, I. & Sacco, R. Management of hepatocellular carcinoma in the elderly. *World J. Hepatol.* 7, 1521–1529 (2015).

A SIGNIFICANT PROPORTION OF COVID-19 SURVIVORS REPORTED PERSISTENCE OF ALOPECIA AFTER ONE YEAR FROM HOSPITAL DISCHARGE

**Masera G.^{a, b}; Bertetto R.^{a, b}; Apostolo D.^a; Albè A.^{a, b};
Crevola M.^{a, b}; Errica N.^{a, b}; Ratano G.^{a, b}; Tonello S.^a; Minisini R.^a;
D'Onghia D.^a; Patrucco F.^{a, b}; Zeppegno P.^{a, b}; Gramaglia C.^{a, b};
Balbo P.E.^b; Baricich A.^{a, b}; Cappellano G.^a; Casella S.^a;
Chiocchetti A.^a; Clivati E.^b; Giordano M.^{a, b}; Manfredi M.^a;
Pinato D.J.^{a, c}; Puricelli C.^{a, b}; Colangelo D.^d; Raineri D.^a;
Rolla R.^a; Sainaghi P.P.^{a, b}; Bellan M.^{a, b}; Pirisi M.^a;
band the No-More COVID study group**

^a. Università del Piemonte Orientale UPO, via P. Solaroli 17, 28100 Novara, Italy

^b. "AOU Maggiore della Carità", corso G. Mazzini 18, 28100 Novara, Italy

^c. Department of Surgery & cancer, Imperial College London, Hammersmith Hospital, London UK

^d. Dipartimento di Scienze della Salute, via P. Solaroli 17, 28100 Novara, Italy

20042430@studenti.uniupo.it

Introduction and aim: Persistence of symptoms and long-term sequelae after the acute phase of Sars-CoV-2 infection is a relevant health issue worldwide¹. In the present study we focused on analyzing whether proinflammatory cytokines levels may play a role in the development of alopecia.

Methods: 247 post-COVID-19 patients discharged from Maggiore della Carità University Hospital in Novara were enrolled in a prospective cohort study. Patients underwent a multidisciplinary approach after 12-month from the acute phase of COVID-19. This evaluation consisted of a clinical examination, a lung function assessment and a mental health assessment. Moreover, cytokines levels (IL-1 β , TNF- α , IFN- γ , IL-2, IL-12, IL-17, IL-6) after one year from hospital discharge were analyzed using the Bio-Plex Pro™ Human Cytokine Assays. The aim was to seek an association between plasma cytokines levels and the development of alopecia. For a subgroup of 73 patients, a blood sample collected during the acute phase of the disease was available for cytokines measurement.

Results: Female sex ($p < 0.0001$), anxiety ($p = 0.005$) and depressive symptoms ($p = 0.02$) were independently associated with the development of alopecia. In the subgroup of 73 patients with a baseline blood sample, cytokines concentration did not predict alopecia; in contrast, the concentration of IL-12 ($p = 0.007$), IL-1 β ($p = 0.005$), IL-2 ($p = 0.005$), IL-17 ($p = 0.0008$), IFN- γ ($p = 0.002$) and TNF- α ($p = 0.0007$) at one year was significantly increased in patients complaining alopecia with respect to those who did not. At logistic regression analysis, female sex and IL-17 plasma concentrations were independently associated with the onset of alopecia.

Conclusion: Alopecia is unexpectedly reported in a high proportion of COVID-19 survivors. Th1 and Th17 cytokines are increased in patients complaining hair loss; among them, IL-17 seems to be particularly relevant.

Bibliography

1. Sykes, D. L. et al. Post-COVID-19 Symptom Burden: What is Long-COVID and How Should We Manage It? *Lung* 199, (2021).

VESCICOLE EXTRACELLULARI DA PLASMA: IMPATTO DEL TIPO DI ANTICOAGULANTE E DELLA TECNICA DI ISOLAMENTO

**Mazzucco, E.^{a,b}; Bettio, V.^{a,b}; Cracas, S.^a; Bruno, S.^c;
Venegoni, C.^d; Vasile, A.^a; Chiocchetti, A.^d; Antona, A.^a;
Quaglia, M.^{a,f}; Camussi, G.^c; Cantaluppi, V.^{a,f}; Panella, M.^a;
Rolla, R.^{a,e}; Manfredi, M.^a e Capello, D.^{a,b}**

^a Dipartimento di Medicina Traslazionale, Università del Piemonte Orientale, Via Solaroli 17, 28100, Novara, Italy

^b UPO Biobank, Università del Piemonte Orientale, Corso Trieste 15/A, 28100, Novara, Italy

^c Molecular Biotechnology Center, Università di Torino, Corso Dogliotti 14, 10126, Torino, Italy

^d Dipartimento di Scienze della Salute, Università del Piemonte Orientale, Via Solaroli 17, 28100, Novara, Italy

^e Laboratorio di Biochimica Clinica, Azienda Ospedaliera-Universitaria "Maggiore della Carità", Università del Piemonte Orientale, Largo Bellini 18, 28100, Novara, Italy

^f Nefrologia - Centro Trapianti Rene, Azienda Ospedaliera-Universitaria "Maggiore della Carità", Università del Piemonte Orientale, Largo Bellini 18, 28100, Novara, Italy

eleonora.mazzucco@uniupo.it

Le vescicole extracellulari (EVs) rappresentano mediatori chiave della comunicazione intercellulare, grazie alla loro capacità di veicolare e trasferire molecole biologiche tra cellule diverse, nonché di influenzare il microambiente extracellulare¹, giocando un ruolo fondamentale in processi fisiologici, come la riparazione delle ferite² e la modulazione della risposta immunitaria³, e patologici, come i processi infiammatori⁴ e le malattie degenerative⁵. Negli ultimi anni le EVs stanno emergendo come veicoli di biomarcatori con promettenti prospettive in ambito diagnostico e terapeutico¹. Al contempo, non sono ancora disponibili linee guida univoche inerenti l'isolamento, la manipolazione e la conservazione del materiale biologico e delle EVs che assicurino risultati robusti e riproducibili, nonché l'utilizzo in ambito diagnostico¹. La resa, la purezza e la stabilità delle EVs è infatti influenzata da molteplici fattori, tra cui le variabili pre-analitiche. Tra queste, nel caso di EVs isolate da plasma la scelta dell'anticoagulante migliore è ancora in fase di analisi⁶⁻⁸.

Nell'ambito della messa a punto delle procedure operative standard di UPO Biobank finalizzate al trattamento di campioni biologici destinati alla identificazione di biomarcatori associati all'invecchiamento, in questo studio abbiamo valutato l'impatto dell'anticoagulante, in particolare sodio-citrato ed EDTA, sulla resa e sulla qualità delle EVs isolate da plasma, confrontando due metodiche di estrazione: ultracentrifugazione (UC), metodo di elezione per la purificazione delle EVs, e un kit di affinità (AS), che permette di isolare EVs partendo da volumi contenuti di materiale e con tempistiche ridotte. Le EVs sono state isolate da pool di plasma di soggetti maschi sani, di età compresa tra 25 e 46 anni, forniti da UPO Biobank. I campioni di EVs ottenuti sono stati caratterizzati per: *i*) la concentrazione e le dimensioni, tramite Nanoparticle Tracking Analysis, *ii*) il contenuto di marcatori di EVs e di contaminazioni derivanti da proteine plasmatiche, tramite Western Blot, *iii*) l'espressione di marker tipici di determinati compartimenti cellulari, via analisi citofluorimetrica, e *iv*) il profilo lipidico, grazie ad analisi lipidomica.

I dati ottenuti suggeriscono che l'anticoagulante non influenza la qualità delle EVs ottenute in termini di quantità e di qualità, intesa come purezza e contenuto in specifici marcatori e lipidi. Al contempo, i nostri dati confermano che il metodo di purificazione è di rilevanza cruciale e influisce in modo significativo sui parametri analizzati. In particolare, l'utilizzo di

un metodo AS non migliora in modo significativo la resa e la purezza della preparazione di EVs, ma porta alla selezione di specifiche sottopopolazioni, restringendo il campo di analisi e di valutazione a determinati sottogruppi di EVs.

1. Yáñez-Mó M, Siljander PR, Andreu Z, et al. *J Extracell Vesicles*. 2015;4:27066. Published 2015 May 14. doi:10.3402/jev.v4.27066
2. Oh EJ, Gangadaran P, Rajendran RL, et al. *Stem Cells*. 2021;39(3):266-279. doi:10.1002/stem.3310
3. Zhou X, Xie F, Wang L, et al. *Cell Mol Immunol*. 2020;17(4):323-334. doi:10.1038/s41423-020-0391-1
4. Burbano C, Rojas M, Muñoz-Vahos C, et al. *Sci Rep*. 2018;8(1):17917. Published 2018 Dec 17. doi:10.1038/s41598-018-36335-x
5. Gagliardi D, Bresolin N, Comi GP, Corti S. *Cell Mol Life Sci*. 2021;78(2):561-572. doi:10.1007/s00018-020-03619-3
6. Jamaly S, Ramberg C, Olsen R, et al. *Sci Rep*. 2018;8(1):17216. Published 2018 Nov 21. doi:10.1038/s41598-018-35401-8
7. Bæk R, Søndergaard EK, Varming K, Jørgensen MM. *J Immunol Methods*. 2016;438:11-20. doi:10.1016/j.jim.2016.08.007
8. Wisgrill L, Lamm C, Hartmann J, et al. *Cytometry A*. 2016;89(7):663-672. doi:10.1002/cyto.a.22892

ASSOCIATION OF SLEEP DISTURBANCES WITH THE DEVELOPMENT OF COGNITIVE IMPAIRMENT. A SYSTEMATIC REVIEW

Minozzi S.^a, Negroni D.^b, Gonzalez Lorenzo M.^c, Stecco A.^b

^a Department of Epidemiology, Lazio Regional Health Service, Rome, Italy

^b University of Eastern Piedmont; Vercelli, Italy

^c Institute of Pharmacological Research "Mario Negri" IRCCS; Milan, Italy

The brain has been regarded as an organ without a lymphatic system. However, studies by Louveau et al. in 2015 challenged this concept, proposing the existence of a "Glymphatic" system¹. With advancing years this system may slow its activity, promoting the development of dementia. One important factor is sleep, during which the activity of the Glymphatic system increases by about 90%^{2,3}.

In patients with Obstructive Sleep Apnoea (OSA), sleep is pathologically impaired, and they may have reduced activity of the Glymphatic system⁴. A systematic review of the literature identified an association between sleep disturbances and sleep disordered breathing with the development of cognitive impairment or dementia. Of 1794 studies identified by the literature search, 39 were considered suitable for systematic review (14 longitudinal studies and 25 cross-sectional studies). The review demonstrated a strong association between these two factors with an increased risk of up to 4.7 times. Particular attention should be paid to the precocity of cognitive impairment, found at a follow-up of 5-10 years after the diagnosis of OSA. The evidence of an association between sleep disturbance or sleep apnoea and the subsequent development of cognitive impairment or dementia from longitudinal studies can be considered robust as 63% of the studies were of high quality and the remaining were of medium quality; all the studies recruited large samples truly representatives of the population of interest followed up for a median of four years and all adjusted the analyses for the most relevant confounders. Moreover, nearly all the studies found consistent results.

References:

1. Louveau A, Smirnov I, Keyes TJ, Eccles JD, Rouhani SJ, Peske JD, Derecki NC, Castle D, Mandell JW, Lee KS, Harris TH, Kipnis J. Structural and functional features of central nervous system lymphatic vessels. *Nature*. 2015 Jul 16;523(7560):337-41. doi: 10.1038/nature14432. Epub 2015 Jun 1. Erratum in: *Nature*. 2016 May 12;533(7602):278. PMID: 26030524; PMCID: PMC4506234.
2. Jessen NA, Munk AS, Lundgaard I, Nedergaard M. The Glymphatic System: A Beginner's Guide. *Neurochem Res*. 2015 Dec;40(12):2583-99. doi: 10.1007/s11064-015-1581-6. Epub 2015 May 7. PMID: 25947369; PMCID: PMC4636982.
3. Iliff JJ, Wang M, Liao Y, Plogg BA, Peng W, Gundersen GA, Benveniste H, Vates GE, Deane R, Goldman SA, Nagelhus EA, Nedergaard M. A paravascular pathway facilitates CSF flow through the brain parenchyma and the clearance of interstitial solutes, including amyloid β . *Sci Transl Med*. 2012 Aug 15;4(147):147ra111. doi: 10.1126/scitranslmed.3003748. PMID: 22896675; PMCID: PMC3551275.
4. Ju YE, Finn MB, Sutphen CL, Herries EM, Jerome GM, Ladenson JH, Crimmins DL, Fagan AM, Holtzman DM. Obstructive sleep apnea decreases central nervous system-derived proteins in the cerebrospinal fluid. *Ann Neurol*. 2016 Jul;80(1):154-9. doi: 10.1002/ana.24672. Epub 2016 Jun 1. PMID: 27129429; PMCID: PMC5120585.

IMPACT OF MYELOID-DERIVED SUPPRESSOR CELLS (MDSC) AND CLINICAL CORRELATES IN ELDERLY PATIENTS AFFECTED BY MYELOPROLIFERATIVE NEOPLASMS (MPNs)

**Maura Nicolosi^a; Veronica Martini^{b,c};
Abdurraouf Mokhtar Mahmoud^{b,c}; Marughese Feba^{b,c};
Paola Maggiora^{b,c}; Andrea Tassone^{b,c}; Simone Gobbato^{b,c};
Arianna Stella^{b,c}; Ajay Ram Vachanaram^{b,c};
Gianluca Gaidano MD^a; Alessandra Gennari MD^b**

^a Division of Hematology, Department of Translational Medicine, University of Piemonte Orientale, Italy;

^b Department of Translational Medicine, University of Piemonte Orientale, Italy;

^c CAAD - Center for Translational Research on Autoimmune & Allergic Diseases.

maura.nicolosi@uniupo.it

Myeloproliferative Neoplasms (MPNs) includes polycythemia vera (PV), essential thrombocytopenia (ET), primary myelofibrosis (PMF) and are relatively rare diseases ¹. Median age at diagnosis is around 63–64 years and the incidence increase with age. Given population growth, the effect of aging, and the substantial prolongation of patient survival, the prevalence of diseases is expected to rise, and a large proportion of patients will be elderly. Unfortunately, a large part of patients evolved in acute myeloid leukemia (AML), with very short survival. Cytogenetic and molecular status has a prognostic impact. MPNs, especially myelofibrosis (MF), are recognized to be associated with autoimmune phenomena, immune derangements in MPN have been much less studied ². Myeloid-derived suppressor cells (MDSC) are one type of important immune modulator cell ³.

Based on these assumptions the main objective of this project is to identify and validate the clinical, molecular and cytogenetic features able to impact the survival of elderly myeloproliferative patients, candidates for complex therapies; secondary objective is to study a role of MDSCs in this setting of patients. According to the International System for Human Cytogenetic Nomenclature (ISCN) criteria, and mutational analysis on DNA from peripheral blood or bone marrow cells. Janus-kinase (JAK2V)617F and myeloproliferative leukemia virus (MPL) W515 mutation will be detected by real time-PCR or high-resolution melting analysis. Calreticulin (CALR) mutations will be identified by capillary electrophoresis and bidirectional sequencing and classified as type 1- or type 2-like. Next generation sequencing has been used to detect mutation in selected myeloid genes, including EZH2, ASXL1, IDH1/IDH2 and SRSF2, previously showed to be prognostically informative in MPNs. In our prospective monocentre study we enrolled 55 patients including 12 PMF, 10 PV, and 23 ET, 5 with unclassifiable MPN and 5 lymphoproliferative diseases that subsequent we excluded from cytogenetic and molecular analyses. All patients have been enrolled at the moment of diagnosis (from June 2020 to March 2022). Median age was 73 years old; 35 cases presented JAK2 positive, 3 MPL, and 9 CALR mutation. Cytogenetic risk classification showed a favourable risk in 35, unfavourable in 6, very high risk in 5 patients and in 4 patients we didn't get mitoses.

No information about overall survival has been requested, due to the status of new diagnosis. In all 55 patients were identified the MDSCs using flow cytometry: no differences in MDSC levels among different MPN categories. The results showed that MDSCs were significantly elevated in MPNs compared with controls. MDSC levels were not correlated with JAK2 status, white blood cells, Hb levels, platelet counts, splenomegaly, degree of

bone marrow fibrosis, cytogenetic or molecular information. More patients are needed to better clarify this issue. In the next future we will correlate the presence of MSCD with p16 as marker of senescence and aging, and we would like to detect the expression of PDL-1 to early identified patients that may be candidate to an early target therapy.

References:

1. The 2016 revision to the World Health Organization classification of myeloid neoplasms and acute leukemia. Daniel A. Arber, Attilio Orazi, Robert Hasserjian, et al. *Blood* (2016) 127 (20): 2391–2405.
2. Revised cytogenetic risk stratification in myelofibrosis: analysis based on 1002 informative patients. Tefferi A, Nicolosi M, Mudireddy M, Lasho T et al. *Leukemia*, 2018 May;32(5):1189-1199.
3. Myeloid-derived suppressor cells in patients with myeloproliferative neoplasm. Chin Wang; Ajay Kundra; Mirela Andrei et al. *Leukemia Research*, 43, April 2016, Pages 39-43.

STIMARE LA PREVALENZA DI SOGGETTI AFFETTI DA PATOLOGIE CRONICHE. RISULTATI DI UNO STUDIO SU BASI DATI AMMINISTRATIVI

Pagnoni F.¹, Airoidi C.¹, Cena T.², Ceriotti D.¹, De Ambrosi D.¹, De Vito M.¹, Faggiano F.³

¹ Università del Piemonte Orientale, Dipartimento di Medicina Traslationale

² Osservatorio epidemiologico, ASL Vercelli

³ Università del Piemonte Orientale, Dipartimento per lo Sviluppo Sostenibile e la Transizione Ecologica

federico.pagnoni@uniupo.it

Introduzione

L'aumento dell'aspettativa di vita ha determinato negli anni un incremento notevole della popolazione anziana. Ad un aumento della sopravvivenza dei soggetti malati (dovuto all'efficacia dei sistemi di cura) non si è osservato un proporzionale spostamento in avanti dell'inizio della malattia e ciò ha determinato un aumento delle patologie croniche. In questo contesto risulta quindi di rilevante importanza identificare la prevalenza delle malattie non trasmissibili in una popolazione in modo da quantificare il carico di malattia ed intercettare attivamente i bisogni di salute. In questo contesto il progetto SELECT ha quindi avuto l'obiettivo di ideare e validare un modello standardizzato basato su dati amministrativi e capace di stimare la prevalenza di malattie croniche di una popolazione.

Materiali e metodi

Sono stati utilizzati gli archivi del Sistema Sanitario Nazionale contenenti informazioni demografiche ed amministrative insieme agli archivi di esenzione per patologie, SDO e prescrizioni di farmaci. La popolazione in studio è stata quella residente nell'Asl di Vercelli e viva al Dicembre 2019. La prevalenza dei soggetti con almeno una patologia cronica è stata identificata sulla concordanza di almeno due dei database. Successivamente è stata fatta anche una stratificazione della popolazione sulla base delle comorbidità. Le patologie considerate sono state: cardiopatia ischemica cronica, insufficienza cardiaca congestizia, aritmie cardiache, ipertensione, ictus, neoplasie, asma, broncopneumopatia cronica ostruttiva, diabete, disturbi della tiroide, osteoporosi, artrite reumatoide, malattia renale cronica, demenza, disturbo dello spettro autistico, depressione, schizofrenia, epatite, virus dell'immunodeficienza umana, disturbi da abuso di sostanze.

Risultati

La nostra popolazione target ammontava a circa 164.500 soggetti. Abbiamo stimato una prevalenza complessiva di soggetti con almeno una condizione cronica pari al 20,69% di cui 18.411 donne (prevalenza grezza del 21,64%) e 15.591 uomini (prevalenza grezza del 19,67%). La prevalenza complessiva aumenta con l'età fino a 85 anni, poi si osserva una diminuzione. Su 34.002 soggetti identificati come cronici, il 16,17% presentava una sola patologia, il 3,93% due malattie e lo 0,59% presentava un quadro clinico più complesso (3+ condizioni croniche).

Discussione

Nonostante la difficoltà ad avere una definizione univoca di malattia cronica, la prevalenza ottenuta è stata coerente con le stime riportate da altri sistemi di sorveglianza nazionali come Passi e Passi d'Argento. Sono state osservate sottostime quando sono stati effettuati confronti internazionali, tuttavia quando abbiamo utilizzato definizioni meno rigorose di malattia cronica sono stati ottenuti risultati simili.

HINDER ADVANCED GLYCATION END-PRODUCTS (AGE) FORMATION BY NATURAL COMPOUNDS TO PREVENT OSTEOSARCOPENIA

**Paiella M.^{1,2,§}; Salvadori L.^{1,2,§}; Bellomo G.³; Manenti T.⁴;
Ercolani C.⁴; Cornioli L.⁴; Chiappalupi S.^{2,3}; Gentili G.^{2,3};
Sorci G.^{2,3,†}; Filigheddu N.^{1,2,†}; Riuzzi F.^{2,3,†}**

¹ Affiliation: Department Translational Medicine, University of Piemonte Orientale, Novara 28100, Italy;

² Affiliation: Interuniversity Institute of Myology (IIM), Perugia 06132, Italy;

³ Affiliation: Department Medicine and Surgery, University of Perugia, Perugia 06132, Italy;

⁴ Affiliation: Laboratori Biokyma srl, Anghiari 52031, Italy;

[§] Contributed equally;

[†] Shared senior authorship

martina.paiella@uniupo.it

Osteosarcopenia is an age-related condition in which bone and skeletal muscle wasting coexist¹. Common factors, such as low-grade chronic inflammation, elevated oxidative stress, and lifestyle factors (i.e., diet, smoking, alcohol) are responsible for bone and muscle loss predisposing to risk of fractures, loss of independence, declined quality of life, morbidity and mortality¹. Considering the increased human longevity in Western countries, osteosarcopenia is an urgent and unresolved social and financial problem. Recent studies suggested a potential role for advanced glycation end-products (AGEs) in sustaining osteosarcopenia^{2,3}. AGEs are a heterogeneous group of non-enzymatic adducts, especially glycosylated proteins, usually resulting in fluorescent derivatives or protein cross-linking. Endogenous AGE formation naturally occurs during aging, mostly in hyperglycemia and oxidative stress conditions, whereas exogenous AGEs derive from Western diet and smoking. AGE accumulation in human tissues leads to generation of reactive oxygen species, amplification of inflammation, and tissue injury, principally by cross-linking components of extracellular matrix or by interacting with the multiligand receptor for advanced glycation end-products (RAGE). AGE accumulation has been associated with loss of muscle and bone mass and strength in the elderly^{2,3}. The use of natural compounds in a range of diseases is in continuous expansion due to the beneficial properties of their active metabolites⁴. Thirty standardized dry extracts (from officinal plants, mushrooms or synthesized) and a food supplement (KYMASIN UP) were selected based on their proven activity as antioxidants and anti-inflammatory agents and their ethnobotanical use. The extracts and the food supplement were tested for their ability in counteracting glyceraldehyde-derived fluorescent AGE formation by using a well-characterized commercial kit, i.e. albumin glycation assay kit, in comparison with aminoguanidine solution used as an anti-AGEs control. We found that seven herbal extracts (*Withania somnifera*, *Equisetum arvense*, *Vaccinium macrocarpon*, *Euterpe oleracea*, *Camellia sinensis*, *Rhodiola rosea*, *Lepidium meyenii*), a mushroom (*Cordyceps sinensis*), three active compounds (lycopene, alpha lipoic acid, chlorophyll), and KYMASIN UP were able to inhibit AGE formation (fluorescence intensity) at 100 µg/ml in 24h. Then, we evaluated the kinetics of AGE formation in the presence of three different doses (100, 500 and 1000 µg/ml) of the efficacious extracts by measuring the fluorescence intensity every hour for 48h. *V. macrocarpon*, *C. sinensis* and chlorophyll showed a surprising ability in counteracting AGE formation in a dose-dependent manner starting from 3h. In particular, *C. sinensis* 500 µg/ml completely abolished AGE-derived fluorescence starting from 6h. Our results might lead to the development of a low-cost, non-toxic phytotherapy product that can prevent AGE formation/accumulation reducing the AGE-dependent detrimental effects in muscle and bone tissues occurring in the elderly.

References

1Kirk B et al., Aging Med (Milton). 2019; 2Perrone A et al., Oxid Med Cell Longev. 2020; 3Suzuki A, et al., Methods. 2020; 4Qu Z et al., J Nutr Biochem. 2021.

IMPATTO AMBIENTALE DELLA DIETA TRA I RESIDENTI DELLE CASE DI CURA: UN'ESPERIENZA NEL NORD ITALIA

**Cortese L.^a; Binala, J.G.^a; Opizzi A.^{b,c}; Gigante D.^a;
Barone Adesi, F.^c, Panella M.^c**

a Scuola di Specializzazione in Igiene e Medicina Preventiva, Università degli studi del Piemonte Orientale, Via Solaroli 17, 28100 Novara, Italy

b Cooperativa Sociale Anteo, Via Piacenza 11, 13900 Biella, Italy

c Department of Translational Medicine, Università degli studi del Piemonte Orientale, Via Solaroli 17, 28100 Novara, Italy

20042441@studenti.uniupo.it

Con l'aumento dell'aspettativa di vita media e, di conseguenza, della popolazione anziana, si è reso necessario promuovere un invecchiamento sano, anche dal punto di vista dell'alimentazione. L'alimentazione diventa uno degli aspetti principali che aiuta non solo a invecchiare meglio, ma ha anche un importante impatto sull'ambiente. Pertanto, gli interventi sul sistema alimentare sono necessari per sostenere la transizione ecologica e aumentare la sostenibilità ambientale e garantire un migliore invecchiamento della popolazione.

Abbiamo valutato l'impatto ambientale dei menù proposti ai residenti della Casa di Cura "Belletti Bona" (Biella). Abbiamo inoltre valutato se il modello alimentare adottato fosse in linea con la dieta di riferimento della Commissione EAT-Lancet. Le emissioni di gas serra per le diverse tipologie di alimenti sono state ricavate dalla letteratura scientifica e analizzate con la metodologia del Life Cycle Assessment. Per ogni pasto è stato ricavato il Carbon Footprint (CF) dei singoli ingredienti di ogni piatto. Per valutare l'aderenza alla dieta planetaria, abbiamo assegnato ogni ingrediente del menu settimanale alle 12 categorie di macronutrienti corrispondenti considerate nella dieta planetaria e poi abbiamo valutato se i limiti raccomandati erano superati. In tutte le analisi abbiamo considerato solo i menu dei pazienti che non hanno restrizioni dietetiche particolari.

Il CF medio giornaliero di un menù è stato rispettivamente di 2,47 KgCO₂eq in primavera/estate e di 2,26 KgCO₂eq in autunno/inverno. Abbiamo rilevato una sostanziale variabilità nel CF tra i diversi menu disponibili (rapporto Max/Min pari a 3,13 e 3,39 in primavera/estate e autunno/inverno).

Per quanto riguarda l'aderenza alla dieta planetaria della Commissione EAT-Lancet, i limiti raccomandati per le categorie "carne rossa" e "zuccheri aggiunti" sono stati regolarmente superati durante tutto l'anno.

Questi risultati preliminari suggeriscono che c'è spazio per migliorare la sostenibilità ambientale del cibo fornito ai residenti delle case di cura. Le prossime tappe del progetto prevedono l'estensione dello studio a un numero maggiore di case di riposo e lo sviluppo di uno strumento per valutare se una dieta è sostenibile dal punto di vista ambientale e conforme alle raccomandazioni delle linee guida mediche per garantire un invecchiamento il più sano possibile.

IL PROGETTO OPS (OLDER PEOPLE POLYPHARMACY SERVICE)

Pavan C.^a; Cecchini G.^b; Grezzana M.^a

^a Ulss 9 Scaligera - UOC Geriatria Distretto 4 - Via Ospedale Marcello Magalini 2, 37069 Villafranca di Verona;

^b Azienda Ospedaliera Universitaria Integrata - UOC Geriatria A - P.le A. Stefani 1, 37126 - Verona

chiara.pavan@aulss9.veneto.it

La polifarmacoterapia, generalmente definita come l'utilizzo cronico di 5 o più principi attivi, è frequente nella popolazione anziana. Il recente Rapporto Nazionale sull'uso dei farmaci nella popolazione anziana riporta come a livello nazionale il 29% degli uomini e il 30.3% delle donne di età ≥ 65 anni utilizzano 10 o più sostanze contemporaneamente.¹ La polifarmacoterapia aumenta il rischio di reazioni avverse a farmaci con conseguenze negative sia sul paziente che sul sistema sanitario nazionale². Per contrastare la polifarmacoterapia inappropriata la terapia cronica dei pazienti anziani dovrebbe essere periodicamente sottoposta ad un processo definito come deprescribing o deprescrizione: si tratta di un approccio sistematico che porta all'identificazione ed alla sospensione dei farmaci con un rapporto rischio/beneficio sfavorevole. Il deprescribing consta di diverse fasi³ (ricognizione sistematica della terapia, valutazione della corretta indicazione per ogni principio attivo,

condivisione degli obiettivi terapeutici con il paziente/caregiver, sospensione graduale della terapia inappropriata, rivalutazione periodica del paziente). *Figura 1*

Il progetto OPS (Older People Polypharmacy Service) prevede l'avvio di un percorso di deprescrizione per soggetti di età ≥ 65 anni che assumano cronicamente almeno 5 principi attivi. I pazienti saranno valutati sia ambulatorialmente su segnalazione dei Medici di Medicina che c/o i Centri di Servizi della Ulss 9



Scaligera con la collaborazione della UOC Cure Primarie. Le singole Residenze Sanitarie Assistenziali segnaleranno gli ospiti da valutare in base al numero di farmaci assunti.

I medici geriatri si avvarranno durante la valutazione clinica dell'applicazione informatica (INTERCheck[®]) sviluppata nel 2013 dai ricercatori dell'Istituto di Ricerche Farmacologiche "Mario Negri"⁴. Tale applicativo fornisce informazioni in merito ai farmaci potenzialmente inappropriati, al carico anticolinergico, alle interazioni tra farmaci (suddivise in classi di gravità), alle modificazioni posologiche in caso di insufficienza renale, al rischio di sviluppare reazioni avverse a farmaci (GerontoNet ADR Risk Score). INTERCheck[®] è in grado di fornire valutazioni seriate nel tempo del medesimo soggetto e fornisce una versione stampabile delle rilevazioni effettuate. Il team dedicato al progetto si occuperà anche di attività di divulgazione sia presso i Medici di Medicina Generale che presso la cittadinanza tutta: sono in fase di implementazione incontri aperti al pubblico, invio di specifico materiale informativo, realizzazione di un video esplicativo da diffondere tramite i canali di comunicazione della Ulss 9 Scaligera.

Bibliografia

1. Osservatorio Nazionale sull'impiego dei Medicinali. L'uso dei farmaci nella popolazione anziana in Italia. Rapporto Nazionale 2019. Roma: Agenzia Italiana del Farmaco, 2021
2. <http://sydney.edu.au/medicine/cdpc/resources/quality-use-of-medicines.pdf>
3. Scott IA, Hilmer SN, Reeve E, Potter K, Le Couteur D, Rigby D, Gnjidic D, Del Mar CB, Roughead EE, Page A, Jansen J, Martin JH. Reducing inappropriate polypharmacy: the process of deprescribing. *JAMA Intern Med.* 2015 May;175(5):827-34. doi: 10.1001/jamainternmed.2015.0324. PMID: 25798731.
4. Ghibelli S, Marengoni A, Djade CD, Nobili A, Tettamanti M, Franchi C, Caccia S, Giovarruscio F, Remuzzi A, Pasina L. Prevention of inappropriate prescribing in hospitalized older patients using a computerized prescription support system (INTERcheck[®]). *Drugs Aging.* 2013 Oct;30(10):821-8. doi: 10.1007/s40266-013-0109-5. PMID: 23943248

NUTRACEUTICAL APPROACH TO INCREASE HEALTHY AGING USING *Caenorhabditis elegans* AS A MODEL ORGANISM

Pensotti R.¹; Sciandrone B.¹; Maiocchi J.¹; Regonesi M.E.¹

¹ Department of Biotechnology and Biosciences, University of Milano Bicocca, Piazza della Scienza 2, 20126 Milan (Italy)

r.pensotti1@campus.unimib.it

Humans are gradually moving towards an aging society. Aging is a process of gradual physiological decline and a risk factor for several pathologies¹. Understanding the mechanisms underlying aging is fundamental to promote healthy aging, even if it is complicated by its multifactorial nature, in which environmental factors (e.g. nutrients) play an important role^{2,3}.

In this project, the main aging phenotypes (healthspan parameters) will be correlated with the major known nutrient-sensitive signalling pathways in *Caenorhabditis elegans*, a validated model for aging research. The first results showed a progressive decline of movement during *C. elegans* lifespan since the early adulthood. Otherwise, the heat stress resistance decreases only in old age; suggesting that the two parameters do not seem to be related. In future, the other physiological phenotypes, i.e. reactive oxygen species accumulation, pumping rate and lipofuscin accumulation, will be assessed. Given the important impact of diet on healthy aging, the effect of the cinnamon bud extract on *C. elegans* lifespan and healthspan will be evaluated. The effective dose to assess cinnamon bud anti-aging properties was defined by heat stress test, pre-treating adult worms with a single dose for 48 hours. The next step will be the study of all the aging parameters in the presence of the extract.

References

1. Huang, C., Xiong, C., & Kornfeld, K. (2004). Proceedings of the National Academy of Sciences, 101(21), 8084-8089.
2. Sun, X., Chen, W. D., & Wang, Y. D. (2017). Frontiers in pharmacology, 8, 548.
3. Okoro, N. O., Odiba, A. S., Osadebe, P. O., Omeje, E. O., Liao, G., Fang, W., ... & Wang, B. (2021). Molecules, 26(23), 7323.

CHARACTERIZATION OF THE P.L145F AND P.S135N MUTATIONS IN SOD1: IMPACT ON THE METABOLISM OF FIBROBLASTS DERIVED FROM AMYOTROPHIC LATERAL SCLEROSIS PATIENTS

**Perciballi E.^a; Bovio F.^a; Rosati J.^b; Arrigoni F.^a; D'Anzi A.^b;
Lattante S.^{c,d}; Gelati M.^e; De Marchi F.^f; Lombardi I.^a;
Ruotolo G.^b; Forcella M.^a; Mazzini L.^f; D'Alfonso S.^g;
Corrado L.^g; Sabatelli M.^{h,i}; Conte A.^{h,i}; De Gioia L.^a; Martino S.^j;
Vescovi A.L.V.^{a,k}; Fusi P.^a; Ferrari D.^a**

- ^a Department of Biotechnology and Biosciences, University of Milano-Bicocca, P.zza della Scienza, 2, 20126 Milan, Italy;
- ^b Cellular Reprogramming Unit, Fondazione IRCCS Casa Sollievo della Sofferenza, Viale dei Cappuccini 1;
- ^c Section of Genomic Medicine, Department of Life Sciences and Public Health, Università Cattolica del Sacro Cuore, Largo Francesco Vito, 1, 00168 Rome, Italy;
- ^d Unit of Medical Genetics, Department of Laboratory and Infectious Disease Sciences, Fondazione Policlinico Universitario A. Gemelli IRCCS, Largo A. Gemelli 8, 00168 Rome, Italy;
- ^e UPTA Unit, Fondazione IRCCS Casa Sollievo della Sofferenza, Viale dei Cappuccini 1, 71013 San Giovanni Rotondo, Italy;
- ^f ALS centre Maggiore della Carità Hospital and Università del Piemonte Orientale, 28100 Novara, Italy;
- ^g Department of Health Sciences, Center on Autoimmune and Allergic Diseases (CAAD), UPO, University of Eastern Piedmont, 28100 Novara, Italy;
- ^h Adult NEMO Clinical Center, Unit of Neurology, Department of Aging, Neurological, Orthopedic and Head-Neck Sciences, Fondazione Policlinico Universitario A. Gemelli IRCCS, Largo A. Gemelli 8, 00168 Rome, Italy;
- ⁱ Section of Neurology, Department of Neuroscience, Faculty of Medicine and Surgery, Università Cattolica del Sacro Cuore, Largo Francesco Vito, 1, 00168 Rome, Italy;
- ^j Department of Chemistry, Biology and Biotechnology, University of Perugia, Via del Giochetto, 06123, Perugia, Italy;
- ^k Fondazione IRCCS Casa Sollievo della Sofferenza, Viale dei Cappuccini 1, 71013 San Giovanni Rotondo, Italy.

Amyotrophic lateral sclerosis (ALS) is a fatal neurodegenerative disease (ND) characterized by the loss of the upper and lower motor neurons (MNs)¹. About 10% of patients have a family history (familial, fALS); however, most patients seem to develop the sporadic form of the disease (sALS).

With aging, the nervous system gradually undergoes degeneration. Increased oxidative stress, mitochondrial dysfunction, and protein aggregation are common pathophysiological mechanisms of various neurodegenerative diseases. As age is strongly linked to NDs, these diseases are one of the leading medical and societal challenges faced by the rapidly aging western societies. The causes and mechanisms behind most NDs are still vague. A common hallmark of several NDs is the accumulation and aggregation of proteins.

SOD1 (Cu/Zn superoxide dismutase-1) is the first studied gene among the ones related to ALS. Mutant SOD1 can adopt multiple misfolded conformation, lose the correct coordination of metal binding, decrease structural stability, and form aggregates². For all these reasons, it is complicated to characterize the conformational alterations of the ALS-associated mutant SOD1, and how they relate to toxicity. In this work, we performed a multilayered study on fibroblasts derived from two ALS patients, namely SOD1^{L145F} and SOD1^{S135N}, carrying the p.L145F and the p.S135N missense variants, respectively.

The patients showed diverse symptoms and disease progression in accordance with our bioinformatic analysis, which predicted the different effects of the two mutations in terms of protein structure.

Evidence suggests that mitochondria play an important role in aging, a process which is a crucial risk factor in amyotrophic lateral sclerosis (ALS)³.

Interestingly, both mutations influenced the fibroblasts energy metabolisms. However, while the SOD1^{L145F} fibroblasts still relied more on oxidative phosphorylation, the SOD1^{S135N} fibroblasts showed a metabolic shift toward glycolysis. Our study suggests that SOD1 mutations might lead to alterations in the energy metabolism [Figure 1].

1. Rowland, L.P.; et al. Amyotrophic lateral sclerosis. N. Engl. J. Med. 2001, 344, 1688–1700.
2. Huai, J.; Zhang, Z. Structural properties and interaction partners of familial ALS-associated SOD1 mutants. Front. Neurol. 2019, 10, 527
3. Allen, S.P.; et al. Altered age-related changes in bioenergetic properties and mitochondrial morphology in fibroblasts from sporadic amyotrophic lateral sclerosis patients. Neurobiology of Aging. 2015, 36, 2893-2903

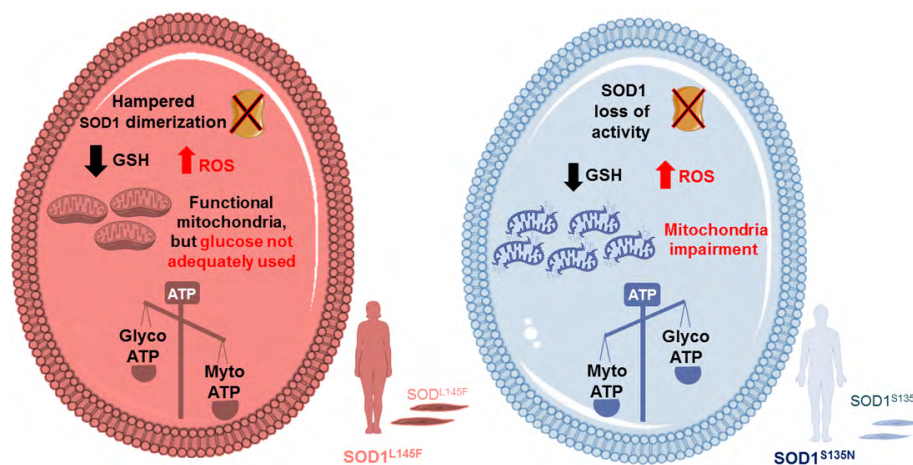


Figure 1: In both the mutated cell lines analyzed, metabolic rearrangements were detected. But each mutation affects the protein structure differently, matching its impact on the morphological, functional, and energetic properties of patients-derived fibroblasts.

DECIPHERING THE ROLE OF NON-CODING VARIANTS IN THE ETIOLOGY OF NEURODEGENERATIVE DISEASES BY MASSIVELY PARALLEL REPORTER ASSAY

**Corrado L.^a; Caushi F.^a; Piola, B.^a; Visha E.^a; Melone E.^a;
Cotella D.^a; Follia L.^a; Tosi M.^a; De Marchi F.^b; Magistrelli L.^c;
Mazzini L.^b; Brusco A.^d; D'Alfonso S.^a**

a University of Eastern Piedmont, Dept. of Health Sciences, Novara, 28100, Italy,

b University of Eastern Piedmont, Maggiore Della Carità Hospital, Novara, 28100, Italy,

c University of Eastern Piedmont, Maggiore Della Carità Hospital, Department of Neurology and ALS Centre, Novara, 28100 Italy,

d University of Torino, Department of Medical Sciences, Torino, 10043, Italy

beatrice.piola@uniupo.it

Neurodegenerative disorders (NDDs) are characterized by a progressive neurological impairment, encompassing a wide range of symptoms affecting mobility, coordination, strength, and cognition whose incidence increases with aging. Although most of the cases are sporadic, suggesting a multifactorial etiology, a small subset of patients showed a disease family history indicating that genetic factors play a crucial role in disease etiology. Next generation sequencing (NGS) has increased the rate of genetic detection, however, for 40% of the familial cases the genetic cause is unknown and a missing heritability was reported. This missing heritability could be explained by variants located in the non-coding regions of the genome. Besides affecting splicing mechanism, these variants could operate deregulating gene expression.

As the number of disease-causing non-coding variants is very high and the analysis of all of them is still an issue, the aim of this study was to perform a high throughput analysis. Accordingly, Massively Parallel Reporter Assay (MPRA) was the method of choice since it allows to analyze hundreds of thousands of regulatory variants simultaneously and to predict their pathogenic impact. Starting from 870 rare non-coding variants identified through Whole Genome Sequencing (WGS) of 140 patients affected by NDDs, 41 rare variants located in putative regulatory regions were selected using UCSC-GRCh38/hg38 ENCODE-regulation tracks. A MPRA library was designed including a total of 60 probes for each variant in both forward and reverse strands, further divided equally into reference, alternative and scrambles and identified by a unique barcode of 10bp at the 3' of each probe (TAG region), essential to discriminate each of them.

A total of 2460 probes were cloned in pMPRA vectors upstream of an ORF sequence and transfected into HEK293T cells and SHSY5Y cells. After RNA isolation, mRNA was obtained and then sequenced through NGS, together with the input DNA used in the transfection, to obtain the respective TAG counts. By calculating the log ratio of mRNA counts to DNA counts, the measurement of the transcriptional activity of each barcode's corresponding DNA sequence was obtained. Bioinformatics analysis of NGS data was performed using R version 4.2.0, mpra package and mpralm function. We succeed to fine tune the MPRA assay, demonstrating that this powerful technique can be applied simultaneously to a wide number of non-coding variants whose pathogenetic role needs to be evaluated. According to a preliminary analysis, among the 41 variants located in putative regulatory regions, 26 of them seem to deregulate gene expression, with a statistically significant P value, lower than 0,01. Missing heritability in neurodegenerative diseases is still an issue, due to unexplored non-coding variants with a possible pathogenic role in gene expression. For this reason, new tools to study these variants are necessary, such as MPRA, which allows to determine the transcriptional activity of hundreds rare non-coding variants found in neurodegenerative disorders in a single experiment.

Preliminary results show that some of the pre-selected variants, actually seem to modify gene expression, thus needing to be further analyzed with other functional assays, to assess their possible etiological role in the disease.

A GENOME WIDE APPROACH TO EXPLORE ETIOLOGY OF CLINICAL FEATURES IN PATIENTS WITH MULTIPLE SCLEROSIS

**Pizzino A.¹; Thavamani M.¹; Ciampana V.¹; Tosi, M.¹;
PROGEMUS²; Vecchio D.³; Virgilio E.³; Cantello R.³;
Leone M.²; Barizzone N.¹; D'Alfonso S.¹**

¹ Department of Health Sciences, University of Eastern Piedmont, Novara, and CAAD (Research Center of Autoimmune and Allergic Diseases); via Solaroli, 17, 28100 Novara (NO), Italy

² SC Neurologia, IRCCS Casa Sollievo della Sofferenza, San Giovanni Rotondo; Viale Cappuccini, 1, 71013 San Giovanni Rotondo (FG), Italy

³ MS Centre, SCDU Neurology, AOU Maggiore della Carità; L.go Bellini, 28100 Novara (NO), Italy

alessandro.pizzino@uniupo.it

Multiple Sclerosis (MS) is a complex autoimmune demyelinating disease of the central nervous system. Over 230 independent loci have been associated with MS susceptibility. Conversely, the influence of genetic variants in modifying the various clinical features has not been explored deeply. To fill this gap, we studied the association of genetic variants with two clinical features which are predictors of a severe disease course, namely relapse rate and the presence of sequelae after the first attack, in 220 Relapsing-Remitting MS (RRMS) patients with genome-wide genotyping data. To study the relapse rate, we examined 10 SNPs recently reported (Vandebergh 2021) as significantly associated with a shorter time to relapse, and replicated one of these SNPs ($p=0.034$, Wilcoxon test), mapping in the intron of DMXL2 gene, encoding a protein involved in the regulation of NOTCH signaling pathway. Moreover, the survival analysis showed that 80% of carriers of the rare allele show a shorter time to second relapse compared to those who are not carriers ($p=0.003$ log rank test).

No literature data are reported regarding the association of genetic variants with the presence of sequelae, therefore we performed the first GWAS: four SNPs presented suggestive association ($p < 1 \times 10^{-5}$) with the sequela event. Interestingly, two of these SNPs (in high linkage disequilibrium, $r^2 > 0.92$) map in the intron of SORCS2 gene, encoding a receptor for the precursor forms of nerve growth factor (NGF) and brain-derived neurotrophic factor (BDNF). Considering that the sequelae can be the consequence of an impaired regenerative process of myelin damaging during the relapse, our variant seems to fall into an interesting biological path for sequelae events.

The replication of these results is ongoing on 850 MS patients genotyped with the Infinium™ Global Screening Array-24 v3.0 BeadChip (700 000 SNPs). In conclusion the results of this study, if replicated, could have an important translational consequence toward a precision medicine approach: indeed, clinicians could tailor a specific and more efficient pharmacological therapy taking into account also genetic markers.

I TRATTAMENTI PSICO-EDUCAZIONALI, COGNITIVI E PSICOSOCIALI NELLA TERAPIA DELLA DEMENZA - D.G.R. N. 19 - 5417

Secreto P.^a; Ponzetto M.^a; Bisio E.^a; Cecchettani M.^a

^a Presidio Ospedaliero "Beata Vergine della Consolata" Fatebenefratelli, via Fatebenefratelli 80, San Maurizio Canavese (Torino), Italia

mponzetto@fatebenefratelli.eu

La D.G.R. n. 19 -5417 del 22 luglio 2022 della Regione Piemonte, ha approvato il "Piano triennale per l'utilizzo del Fondo per l'Alzheimer e le demenze anni 2021- 2023" ai sensi del D.M. 23/12/2021. La regione Piemonte ha individuato come area progettuale, quella rivolta alla "sperimentazione, valutazione e diffusione dei trattamenti psico-educazionali, cognitivi e psicosociali nella demenza". Sono state individuate 19 unità operative coinvolte nella realizzazione del Piano, che comprendono le 18 Aziende Sanitarie Regionali e il Presidio Ospedaliero Beata Vergine della Consolata di San Maurizio Canavese (TO).

All'interno delle unità operative coinvolte nel progetto, saranno i Centri per i Disturbi Cognitivi e Demenze (CDCD), a partecipare alla sperimentazione. I CDCD, istituiti con D.G.R. n. 28-6423 del 26 gennaio 2018, hanno il compito di effettuare la presa in carico delle persone con disturbi cognitivi e/o demenza, di formulare la diagnosi, di definire il piano di interventi farmacologici, riabilitativi e psico-sociali ed di ottemperare alle implicazioni sulla prescrizione dei farmaci previste dall'Agenzia Italiana del Farmaco.

Le persone con demenza lieve/moderata di tutti i tipi devono avere l'opportunità di partecipare a gruppi di stimolazione cognitiva strutturata svolti da operatori con formazione adeguata, indipendentemente da qualsiasi tipo di trattamento farmacologico (NICE-SCIE guida al management delle demenze 2018) ^[1]. Le terapie psicosociali sono strumenti di cura ed hanno come obiettivo il mantenimento della funzionalità con rallentamento dell'impatto della malattia. Nelle persone con demenza le terapie psicosociali vengono utilizzate per il miglioramento dei disturbi cognitivi, del tono dell'umore e dello stato funzionale, del benessere fisico e psicologico, e per il controllo dei disturbi comportamentali ^[2]. La forte influenza della rete sociale nel benessere del paziente e dei caregiver, fa sì che interventi di inclusione sociale possano determinare ritardo di istituzionalizzazione, miglioramento dell'ansia e della depressione del paziente, del benessere psicologico e della qualità di vita del caregiver. Le maggiori evidenze scientifiche relative a questi interventi riguardano essenzialmente la stimolazione cognitiva (CST) e la terapia occupazionale (TO). Gli effetti migliori si hanno con interventi di tipo multimodale che associano vari tipi di interventi come l'attività fisica moderata, la terapia occupazionale con la stimolazione cognitiva in contesti di socializzazione.

Le evidenze scientifiche raccomandano: la stimolazione cognitiva di gruppo; la riabilitazione cognitiva, per fare leva sui punti di forza del paziente e trovare il modo di compensare i deficit e sostenere l'indipendenza; la partecipazione del paziente a programmi di training cognitivo, ovvero esercitazioni guidate su una serie di compiti standard progettati per rispecchiare particolari funzioni cognitive. Alcuni interventi psicosociali possono avere uno sviluppo domiciliare attraverso la teleriabilitazione ^{[2][3]}.

BIBLIOGRAFIA

1. NICE guidelines: <https://www.nice.org.uk/>
2. Abraha I., et al. Systematic review of systematics reviews of non-pharmacological interventions to treat behavioural disturbances in older patients with dementia. The SENATOR-OnTop series; *BMJ Open* 2017;7:e012759.doi:10.1136.
3. Chirico I, et al. The Integration of Psychosocial Care into National Dementia Strategies across Europe: Evidence from the Skills in Dementia Care (SiDECAR) Project. *Int J Environ Res Public Health*. 2021 Mar 25;18(7):3422. doi: 10.3390/ijerph18073422. PMID: 33806158; PMCID: PMC8036745.

A HYPOTHESIS ON THE LACK OF EFFICACY OF VITAMIN D SUPPLEMENTATION TO TREAT CANCER-ASSOCIATED MUSCLE WASTING

**Raiteri T.^a; Reano S.^a; Zaggia I.^a; Scircoli A.^a;
Prodam F.^b; Filigheddu N.^a**

^a Dept of Translational Medicine;

^b Dept of Health Sciences, University of Piemonte Orientale, Via Solaroli 17, 28100 Novara, Italy

tommaso.raiteri@uniupo.it

Skeletal muscle wasting represents one of the main overlapping features between the physiological age-related sarcopenia and cachexia, which often associates with an underlying disease, such as cancer. Hormonal network dysregulation co-occurs in both sarcopenia and cachexia and could participate in skeletal muscle decline. In humans, vitamin D (VD) is one of these hormones often reduced, and, given the relationship between VD levels and muscle mass and functionality, its supplementation has been proposed as a therapeutic strategy to prevent or treat muscle wasting in both sarcopenia and cachexia. However, while in elderly subjects, VD supplementation restores muscle strength and prevents muscle mass loss¹, VD administration is ineffective to counteract cancer cachexia-associated muscle wasting both in patients and in animal models^{2,3}. Our *in vitro* investigations on the direct effects of VD metabolites on skeletal muscle-derived cells have revealed an unexpected scenario: calcidiol (25VD) and its precursor cholecalciferol (VD3) protect from atrophy induced by pro-cachectic cytokines, calcitriol (1,25VD) is atrophic per se. In addition, 24,25-dihydroxy VD could have divergent effects, either atrophic or hypertrophic, depending on its concentration^{4,5}. We compared key regulators of VD metabolism in cachectic and old animals, hypothesizing that a dysregulated VD metabolism in cachexia may lead to different production of protective versus pro-atrophic metabolites, which, in turn, could explain the lack of effectiveness of VD supplementation in cachexia. Our data reveal a differential expression of some VD hydroxylases in several tissues from old sarcopenic mice compared to tissues from mice with cancer cachexia. In detail, we found that in the kidney, the main organ responsible for the conversion of 25VD in 1,25VD, the expression on 1 α -hydroxylase is dramatically higher in tumor-bearing animals than in control and sarcopenic mice. Furthermore, the expression of 24-hydroxylase is deregulated as well, resulting in significantly lower levels in cachectic mice compared to controls. In Tibialis Anterior muscle, 1 α -hydroxylase expression pattern perfectly mirrors what has been observed in the kidney, indicating that different pathophysiological conditions might be characterized by a different status of VD hydroxylases.

Overall, our findings suggest that VD3 supplementation *in vivo* (where it is physiologically converted in 25VD and 1,25VD) can result in a combination of effects due to the simultaneous action of different vitamin D metabolites, each of which with its own pro- or anti-atrophic activity, providing a putative explanation for the contrasting outcomes of VD3 supplementation in different conditions. In conclusion, our findings suggest the need for a for patient-tailored VD supplementation by assessing, beforehand, the levels of as many as possible vitamin D metabolites as a readout of the activity of different hydroxylases, thus avoiding the increase of the pro-atrophic metabolites and ensuring the appropriate balance towards anti-atrophic VD metabolites.

This work was funded by the Italian Ministry of University and Research program "Departments of Excellence 2018-2022", AGING Project – Department of Translational Medicine, Università del Piemonte Orientale.

1. Iolascon et al., *Adv Ther.* 2017; 34:744-752;
2. Scher HI et al., *J Clin Oncol.* 2011; 29:2191-2198;
3. Camperi A et al., *Oncotarget.* 2017; 8:21778-21793.
4. Sustova H et al., *Acta Physiol.* 2019; 226: 1–10.
5. Teixeira M et al., *Aging.* 2021; 13(4):4895-4910

KYMASIN UP PHYTOTHERAPY PRODUCT MAINTAINS THE CORRECT BONE REMODELLING IN EXPERIMENTAL MODELS MIMICKING AGE-RELATED OSTEOPOROSIS

**Salvadori L.^{a,b,§}; Belladonna M.L.^{c,§}; Castiglioni B.^d;
Paiella M.^a; Panfili E.^c; Manenti T.^e; Ercolani C.^e; Cornioli L.^e;
Chiappalupi S.^{b,c}; Gentili G.^{b,c}; Leigheb M.^{f,g}; Sorci G.^{b,c};
Bosetti M.^d; Filigheddu N.^{a,b,†}; Riuzzi F.^{b,c,†}**

^a Department Translational Medicine, University of Piemonte Orientale, Novara 28100, Italy;

^b Interuniversity Institute of Myology (IIM), Perugia 06132, Italy;

^c Department Medicine and Surgery, University of Perugia, Perugia 06132, Italy;

^d Department Pharmaceutical Sciences, University of Piemonte Orientale, Novara 28100, Italy;

^e Laboratori Biokyma srl, Anghiari 52031, Italy; ^fAffiliation: Department of Health Sciences, University of Piemonte Orientale, Novara 28100, Italy;

^g Department of Orthopaedics and Traumatology, "Maggiore della Carità" Hospital, Novara 28100, Italy;

[§] Contributed equally;

[†] Shared senior authorship

laura.salvadori@uniupo.it

Osteoporosis is the loss of bone mass and the micro-architectural deterioration of bone tissue occurring during aging characterized by an imbalance between osteoblast (OB)-dependent bone formation and osteoclast (OC)-dependent bone resorption^{1,2}. The excessive activity of OCs underlying osteoporosis leads to increased risk of fractures, chronic pain and disability, culminating in loss of independence. Due to the growing life expectancy, osteoporosis is a primary social and financial problem for Western countries generating enormous health care costs³. The phytotherapy formulation, KYMASIN UP, containing *Withania somnifera*, *Silybum marianum* and *Trigonella foenum-graecum* extracts, has been demonstrated able to prevent muscle atrophy also related to aging⁴. Here we report the effects of different doses of KYMASIN UP in two in vitro experimental models mimicking osteoclastogenesis and OB differentiation, i.e. RAW 264.7 macrophages treated with RANKL (receptor activator of nuclear factor kappa-B ligand) and C2C12 myoblasts treated with BMP2 (bone morphogenetic protein 2), respectively. KYMASIN UP hinders OC differentiation and activity as demonstrated by the reduction of the number of TRAP (tartrate-resistant acid phosphatase)-positive cells (i.e., OCs) and TRAP activity, and by the down-regulation of osteoclastogenic genes. *W. somnifera* extract appears as the main responsible for the anti-osteoclastogenic effect of KYMASIN UP. In addition, the dietary formulation maintains the physiological release of the soluble decoy receptor for RANKL, OPG (osteoprotegerin), thus lowering the RANKL/OPG ratio which is an index of excessive bone resorption. KYMASIN UP increases calcium mineralization in BMP2-derived OBs and induces differentiation in human primary OB-like cells derived from osteoporotic subjects. The effects of KYMASIN UP in OCs and OBs are mediated by Src (non-receptor tyrosine kinase) and p38 MAPK (mitogen-activated protein kinase) pathways. Based on our *in vitro* results, KYMASIN UP appears able to maintain the correct balance between OBs and OCs, and it might represent a useful dietary product to counteract bone mineral loss in elderly.

Acknowledgements

The authors were supported by Fondazione Cassa di Risparmio di Perugia (Project 2019.0321.026) to G.S. L.S. was recipient of a fellowship by the Research program "Departments of Excellence 2018-2022", AGING Project DIMET.

References

1. Corrado A. et al. Molecular basis of bone aging. *Int J Mol Sci.* 2020, 21, 3679.
2. Song S. et al. Advances in pathogenesis and therapeutic strategies for osteoporosis. *Pharmacol Ther.* 2022, 237, 108168.
3. Choi M.H. et al. Prevalence and diagnosis experience of osteoporosis in postmenopausal women over 50: Focusing on socioeconomic factors. *PLoS one* 2021, 16, e0248020.
4. Salvadori L. et al. Identification of *Withania somnifera*-*Silybum marianum*-*Trigonella foenum-graecum* formulation as a nutritional supplement to contrast muscle atrophy and sarcopenia. *Nutrients* 2020, 13, 49.

ESTRATTO DALLA TESI DI MASTER DI 1° LIVELLO IN LIFESTYLE MEDICINE
PROMOZIONE DELLA SALUTE NELLA PRATICA CLINICA DEL FISIOTERAPISTA: MANUALE PER UN CORSO DI FORMAZIONE

Sanguedolce A.^a, Tedesco G.^b

^a Azienda USL Valle d'Aosta, asanguedolce@ausl.vda.it

^b Libero professionista, beppe.fkt@gmail.com

Nell'ultimo rapporto del sistema di sorveglianza sull'attività fisica del ministero della salute **PASSI**, emerge la **scarsa attenzione** degli operatori sanitari al problema dell'attività fisica e della sedentarietà, anche nei confronti di persone in eccesso ponderale o con patologie croniche. **Meno del 30% degli intervistati riferiscono di aver ricevuto il consiglio** da un professionista sanitario di fare regolare **attività fisica**. Fra le persone in sovrappeso questa quota di poco superiore raggiunge il 36%, mentre tra le persone con patologie croniche arriva al 41%. Secondo la definizione basata sui correnti standard OMS, nel biennio 2020-2021 tra gli adulti residenti in Italia i **"fisicamente attivi"** sono il **45%** della popolazione, i **"parzialmente attivi"** il 24% e i **"sedentari"** il 31%, con evidenti **ripercussioni sulla salute**¹.

I dati sono preoccupanti, poichè le **principali cause di morte** sono gli eventi **cardiovascolari** ed i **tumori e l'inattività fisica** rappresenta uno dei più importanti **fattori di rischio**². In questi ambiti, la promozione della salute e l'attività fisica giocano un ruolo fondamentale, come descritto dalle recenti **linee guida OMS** sull'attività fisica e la sedentarietà del 2020³, ma anche dalle **"Linee di indirizzo sull'attività fisica per le differenti fasce d'età e con riferimento a situazioni fisiologiche e fisiopatologiche e a sottogruppi specifici di popolazione"**⁴ pubblicato nel marzo del 2019 dal Ministero della Salute, dal quale sono nati i successivi progetti di formazione dell'Istituto Superiore di Sanità.

L'OMS nel **Global action plan on physical activity 2018-2030**⁵ raccomanda che, in ogni occasione, gli operatori sanitari debbano essere promotori della salute, specialmente dell'attività fisica, come pure raccomandano il **Piano Nazionale della Prevenzione 2022-2025**⁶ ed il **Piano della Cronicità** del 2016⁷.

Questi piani hanno in comune la **lotta ai non-communicable disease** attraverso strategie di prevenzione a più livelli.

Nell'ambito sanitario è noto che le malattie **neurologiche e muscolo-scheletriche** croniche predispongono a problemi cardiovascolari e metabolici e viceversa. Inoltre, i **fattori di rischio** per tutte le **malattie croniche non trasmissibili** (cardiovascolari, tumorali, neurodegenerative, metaboliche, ecc) sono presenti nei pazienti con problemi neuro-muscolo-scheletrici come comorbidità o comunque in **tutti i pazienti con ridotta mobilità**⁸.

Anche durante la recente **pandemia da coronavirus**, la letteratura primaria, tramite studi osservazionali con centinaia di migliaia di casi, ha dimostrato l'**importanza** di avere un **buono stato di salute** per la prevenzione degli esiti più gravi. L'aspetto più importante sembra essere proprio l'**attività fisica**, in relazione alle raccomandazioni OMS, che in alcuni studi sembra essere proprio un **determinante di salute** tra i più rilevanti⁹.

Detto questo, in linea con i documenti già citati, si sottolinea l'importanza di formare tutti i professionisti sanitari alla promozione della salute ed in particolare alla promozione dell'attività fisica, sia in ambito comunicativo (competenze di base del counselling), sia in ambito tecnico (principi di base dell'attività fisica). La formazione potrebbe essere inclusa già nel percorso di studi universitario e post universitario, ma anche nei corsi di formazione interni alle aziende sanitarie.

1) <https://www.epicentro.iss.it/passi-argento/>

2) <https://www.who.int/nmh/publications/ncd-profiles-2018/en/>

3) <https://www.who.int/publications-detail-redirect/9789240015128>

4) https://www.salute.gov.it/portale/documentazione/p6_2_2_1.jsp?id=2828&lingua=italiano

5) <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/272722/9789241514187-eng.pdf>

6) https://www.salute.gov.it/imgs/C_17_notizie_5029_0_file.pdf

7) https://www.salute.gov.it/portale/documentazione/p6_2_2_1.jsp?lingua=italiano&id=2584

8) Åsberg AN, Heuch I, Hagen K. The Mortality Associated With Chronic Widespread Musculoskeletal Complaints: A Systematic Review of the Literature. *Musculoskeletal Care*. 2017;15(2):104-113. doi:10.1002/msc.1156

9) <https://bjsm.bmj.com/content/56/12/653>

VITAMIN D AND COGNITIVE IMPAIRMENT IN ALS PATIENTS: PRELIMINARY DATA

**Saraceno M.^{*2}; De Marchi F.¹; Sarnelli M.F.¹;
Cantello R.²; Mazzini L.¹**

¹ Department of Neurology and ALS Centre, Traslatonal Medicine, University of Piemonte Orientale, Maggiore della Carità Hospital, Novara, Italy,

² Department of Neurology, Traslatonal Medicine, University of Piemonte Orientale, Maggiore della Carità Hospital, Novara, Italy,

20031957@studenti.uniupo.it

Introduction: Cognitive impairment is common in Amyotrophic Lateral Sclerosis (ALS): at the diagnosis, 50% of patients demonstrate mild to moderate cognitive and/or behavioral impairment. A keystone is identifying factors that could potentially modify the course of cognitive decline. Vitamin D is a potential modificatory factor in many neurological diseases. This study aims to highlight if vitamin D deficiency correlates with cognitive impairment and clinical features in a cohort of ALS patients.

Material and methods: We recruited patients referred to the Tertiary ALS Center in Novara, Italy, from January 2011 to January 2022 if had a neuropsychological evaluation and a plasma vitamin D dosage within four months of the diagnosis. Paired t-test and a non-parametric correlation were used for statistical analysis (the statistical threshold was set at p-value <0.05).

Results: We included 60 ALS patients (37 men and 23 women): among them, 35 (58,3%) suffered from a vitamin insufficiency (<20 ng/ml) and 14 (23,3%) had a deficiency (20-30 ng/ml). In the spinal onset ALS group we found a higher prevalence of low vitamin D in patients with cognitive impairment (p-value:0,02). Additionally, in the female spinal group, we observed a linear correlation between vitamin D plasma levels and Raven's Matrices Tests score (p-value:0.04, r: 0.55, figure¹) and an inverse correlation between vitamin D level and bizarreness score (p 0.02, r: -0,69, figure²). No correlation was observed between overall disease severity (ALFRS-R score) at diagnosis and vitamin D plasma values.

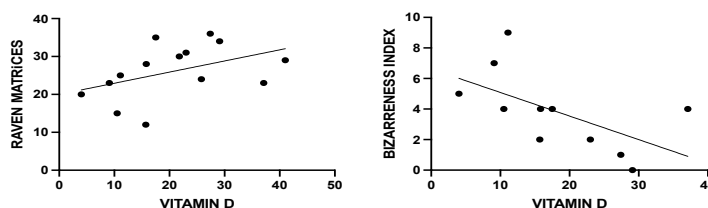


Figure 1 (on the left): vitamin D plasma levels and raven's matrices in female ALS spinal group.

Figure 2 (on the right): vitamin D plasma levels and bizarreness scores in female ALS spinal group

Conclusion: Vitamin D is related to cognitive involvement at diagnosis in the ALS patients with spinal onset more evident in female. A future study will clarify whether integration into a deficient cohort could improve cognitive status.

Key Points

- Vitamin D is a fundamental micronutrient;
- Vitamin D levels are statistically lower in the patients with cognitive impairment;
- In the female spinal group vitamin D plasma levels are correlated with performances in neuropsychological tasks;
- A study on the effects of integration in the deficient subset should be evaluated.

A MULTI-OMICS STUDY OF A MONOZYGOTIC TWIN PAIR DISCORDANT FOR AMYOTROPHIC LATERAL SCLEROSIS TO INVESTIGATE GENETIC AND EPIGENETIC FACTORS IMPLICATED IN THE DISEASE

**Tosi M.¹; Zuccalà M.¹; Favero F.¹; Corrado L.¹; Croce R.¹;
Basagni C.¹; Barizzone N.¹; Follia L.¹; De Marchi F.²;
Chinni E.³; Cantello R.⁴; Mazzini L.²; Corà D.¹;
Leone M.⁵; D'Alfonso S.¹**

¹ Department of Health Sciences, University of Eastern Piedmont UPO, Via Solaroli 17, 28100 Novara, Italy

² ALS Center AOU Maggiore della Carità, Corso Mazzini 18, 28100 Novara, Italy

³ Thrombosis and Haemostasis Unit, Fondazione I.R.C.C.S. "Casa Sollievo della Sofferenza", Viale Cappuccini, S. Giovanni Rotondo, 71013 Foggia, Italy

⁴ Department of Translational Medicine, University of Eastern Piedmont UPO, Via Solaroli 17, 28100 Novara, Italy

⁵ SC Neurologia, Dipartimento di Scienze Mediche, IRCCS Casa Sollievo della Sofferenza, San Giovanni Rotondo, 71013 Foggia, Italy

martina.tosi@uniupo.it

Amyotrophic lateral sclerosis (ALS) is a fatal neurodegenerative disease, characterised by progressive death of upper and lower motor neurons, whose aetiology is still partially understood. The majority of ALS cases are sporadic, while 10% are familial. To investigate genetic and epigenetic factors underlying ALS, we studied a monozygotic twin pair discordant for ALS with a multi-omics approach, combining whole exome sequencing with genome-wide methylome- and transcriptome data from whole blood and PBMCs. For methylation, we used the Illumina EPICArray and ChaAMP software for the analyses, while for gene expression study, Illumina TruSeq Stranded mRNA sequencing was performed. Results of the three omics were considered independently and in combination. We identified 59 differentially expressed genes (DEGs, $p_{\text{adj}} < 0.1$; $|\log_2\text{FC}| > 1$) and confirmed the up or downregulation for 6 of them by ddPCR. Functional analyses on DEGs performed by GSEA, IPA and G-Profiler revealed the involvement of adaptive and innate immune system pathways. We found 2 differentially methylated probes (DMPs, $p_{\text{adj}} \leq 0.1$) in CACNA1G and VAX1 genes; while filtering by delta beta ($\Delta\beta$) values, we identified 2 probes with $\Delta\beta \leq -0.25$ (in an intergenic region and RUSC1-AS1) and 2 probes with $\Delta\beta \geq 0.25$ (in AARS and KPNA4). None of them fell into the 59 DEGs. These results were compared with different larger literature datasets that included sALS and fALS patients, non-symptomatic FUS and C9ORF72 mutation carriers and healthy controls, without finding any correspondence at DMP and pathway levels. For exome analyses, ExomeDepth and ClassifyCNV identified 3 deletions and 1 duplication of uncertain significance in the ALS twin. Analyses of SNV, after filtering for frequency ($\leq 0,00005$) and QC (PASS), identified 25 variants classified as VUS ($n=18$) or likely benign ($n=7$) in the ALS twin. In conclusion, the integration of different omics and bioinformatic tools underlined a possible role of the immune system in the disease. Further understanding of these immunological results and the validation of DMPs by methylation-specific droplet digital PCR (ddMSP) are ongoing to elucidate possible somatic genetic and epigenetic factors that could underlie susceptibility to sporadic ALS.

RIPROGRAMMAZIONE METABOLICA DELLE CELLULE STAMINALI MESENCHIMALI DEL TESSUTO ADIPOSO DA PARTE DELLE CELLULE TUMORALI DI CARCINOMA DEL COLON-RETTO

**Varalda M.¹, Cracas S.¹, Volpe I.¹, Antona A.¹,
Venetucci J.¹, Nikaj H.³, Leo G.¹, Valente G.^{1,4},
Marzullo P.¹, Gentili S.^{1,3,5}, Capello D.^{1,2}**

¹ Dipartimento di medicina traslazionale, Centro di eccellenza in Aging, Università del Piemonte Orientale, Novara 28100, Italia;

² UPO Biobank, Università del Piemonte Orientale, Novara 28100, Italia;

³ Reparto di chirurgia generale, Università di Piemonte Orientale, AOU Maggiore della Carità, Novara 28100, Italia,

⁴ Unità di patologia, Ospedale Sant'Andrea, Vercelli 13100, Italia,

⁵ Dipartimento di scienza della salute, Università del Piemonte Orientale, Novara 28100, Italia

marco.varalda@uniupo.it

L'obesità rappresenta uno dei maggiori fattori di rischio per diverse patologie quali disturbi cardiovascolari, diabete e tumori, come il carcinoma del colon-retto^{1,2}. Recenti studi hanno dimostrato che il tessuto adiposo ha un ruolo importante nello sviluppo di tali malattie. Sia gli adipociti maturi, sia le cellule staminali mesenchimali (MSC) del tessuto adiposo costituiscono una componente fondamentale del microambiente tumorale³⁻⁶. Ad oggi, il ruolo delle MSC nella tumorigenesi è ancora oggetto di dibattito; infatti, alcuni studi suggeriscono che le MSC possono avere un'azione anti-tumorigenica⁷, mentre altre evidenze indicano che le MSC possono differenziare sia in adipociti associati al cancro (CAA) sia in fibroblasti (CAF), in grado di sostenere la crescita tumorale attraverso la secrezione di citochine⁸. Inoltre, è stato dimostrato che i tumori possono indurre alterazioni metaboliche inducendo l'effetto Warburg nelle MSC⁹. Per chiarire i meccanismi molecolari posti alla base di queste alterazioni metaboliche abbiamo voluto investigare il rapporto tra cellule tumorali di cancro del colon-retto e cellule staminali derivate da tessuto adiposo bianco viscerale (ADSC). I nostri risultati mostrano che il terreno condizionato di ADSC "naive" è in grado di ridurre in maniera significativa la vitalità di cellule tumorali, mentre la crescita delle cellule tumorali aumenta quando queste vengono mantenute in co-coltura per due settimane con le ADSC. Le ADSC mantenute in co-coltura con le cellule tumorali mostrano un significativo cambiamento della morfologia e del metabolismo, caratterizzato dall'accumulo di lipidi neutri, espressione di markers di differenziamento fibroblastoide e drastica riduzione del potenziale di membrana mitocondriale. L'aumentata co-localizzazione di LC3B in prossimità dei mitocondri, la riduzione della fosforilazione T172 di AMPK e dell'espressione di PGC1 α suggeriscono l'attivazione del processo mitofagico e l'inibizione di biogenesi mitocondriale. La progressiva depolarizzazione dei mitocondri e la degradazione del network mitocondriale è stata osservata anche in ADSC trattate con il solo terreno condizionato derivato dalle cellule tumorali, a sostegno dell'ipotesi che questo processo possa essere mediato da una segnalazione paracrina da parte di fattori rilasciati dalle cellule tumorali indipendentemente dalla presenza di ADSC. In conclusione, i nostri dati mostrano un significativo effetto delle cellule tumorali sulle ADSC, volto a riprogrammare le ADSC al fine di sostenere la crescita tumorale. La comprensione dei meccanismi che stanno alla base della interazione fra microambiente e cellule tumorali potrà contribuire alla comprensione dei processi che portano allo sviluppo della neoplasia e all'ideazione di nuove terapie antitumorali.

1. World Health Organization. Obesity: Preventing and Managing the Global Epidemic. World Health Organization Accessed February 24, 2021. https://www.who.int/nutrition/publications/obesity/WHO_TRS_894/en/

2. Ma, Y., Yang, Y., Wang, F., Zhang, P., Shi, C., Zou, Y. et al. (2013) Obesity and risk of colorectal cancer: a systematic review of prospective studies. *PLoS One* 8, e53916

3. Grundy SM. Adipose tissue and metabolic syndrome: too much, too little or neither. *Eur J Clin Invest* 2015 Nov;45(11):1209-17. doi: 10.1111/eci.12519. Epub 2015 Sep 13. PMID: 26291691; PMCID: PMC5049481.

4. Baptista LS. Adipose stromal/stem cells in regenerative medicine: Potentials and limitations. *World J Stem Cells*. 2020 Jan 26;12(1):1-7. doi: 10.4252/wjsc.v12.i1.1. PMID: 32110271; PMCID: PMC7031762.

5. Spees, J. L. et al. Mechanisms of mesenchymal stem/stromal cell function. *Stem Cell Res. Ther.* 7, 125 (2016).

6. Cozzo, A., Fuller, A. M. & Makowski, L. Contribution of adipose tissue to development of cancer. *Compr. Physiol.* 8, 237-282 (2017).

7. Klopp AH, Gupta A, Spaeth E, Andreef M, Marini F. Concise review: dissecting a discrepancy in the literature: do mesenchymal stem cells support or suppress tumor growth? *Stem Cells*. 2011;29(1):11-9.

8. Pascual, G. et al. Targeting metastasis-initiating cells through the fatty acid receptor CD36. *Nature* 541, 41-45 (2017).

9. Yang E, Wang X, Gong Z, Yu M, Wu H, Zhang D. Exosome-mediated metabolic reprogramming: the emerging role in tumor microenvironment remodeling and its influence on cancer progression. *Signal Transduct Target Ther.* 2020 Oct 19;5(1):242. doi: 10.1038/s41392-020-00359-5.

PERIPHERAL T-LYMPHOCYTES SENESCENCE AND RESPONSE TO NEOADJUVANT THERAPY (NAT) IN OPERABLE BREAST CANCER (BC)

**Varughese F.M.^a, Martini V.^b, Rua A.^a, Gioffi E.^a, Branni C.^b,
Maggiore P.M.^a, Tassone A.^a, Stella A.^a, Gobbato S.^a,
Ciocca M.^a, Vachanaram A.R.^a, Aye R.B.^a, Alsati R.^a,
D'Avanzo F.^b, Rossi V.^b, Saggia C.^b, Platini F.^b, Borra G.^b,
Angelillo C.^a, Barcellini A.^a, Boldorini R.L.^c, Dodaro I.^d,
Ferrante D.^a, Gennari A.^e**

^a Dimet - Università Del Piemonte Orientale, Novara, Italy

^b SCU Oncologia - AOU Maggiore della Carità, Novara, Italy

^c SCU Anatomia Patologica - Università del Piemonte Orientale, Novara, Italy

^d SSD Unità di Senologia - AOU Maggiore della Carità, Novara, Italy

^e SCU Oncologia - Università del Piemonte Orientale, Scuola di Medicina, Novara, Italy.

feba.varughese@uniupo.it

Background: Increasing evidence suggests a link between T-cell senescence and tumour prognosis. In particular, high levels of circulating senescent T-lymphocytes have been correlated with a worse response to treatment (1,2). In this perspective, a therapeutic approach aimed at T-cell senescence clearance is regarded as an innovative strategy and is currently under investigation in pre-clinical and clinical models. The purpose of the present study is to characterize the impact of circulating T-cell senescence as a predictive factor of response in patients with operable Breast Cancer (BC) treated with Neoadjuvant Therapy (NAT), according to the different biological subtypes.

Methods: Seventy-four women with histologically proven early stage BC and eligible for preoperative therapy were enrolled so far. The CD3+ T cells were isolated from peripheral blood (PB) by Ficoll stratification at baseline and after NAT (before surgery). The relative expression of cyclin-dependent kinase inhibitor (CDKi) p16INK4a was used to characterize T-cell senescence, by RT-PCR. The RPLP-0 gene was used as housekeeping gene and healthy controls were used for data normalization ($2^{-\Delta\Delta Ct}$). The Mann-Whitney test (Wilcoxon rank sum test) was used to highlight a possible association between p16 expression and response to NAT.

Results: From April 2020 to July 2022, fifty-two patients have been tested for T-cell senescence at baseline and after NAT. Of these, 20 (39%) were Triple Negative (TN), 21 (40%) HER2-positive and 11 (21%) Luminal B. Among 52 patients, 28 (54%) achieved pathological complete response (pCR). There was no significant difference in relative expression of p16 at baseline and after NAT in patients who achieved a pCR (4.50 ± 1.26 vs 4.26 ± 0.75 ; $p=0.08$). However, patients with residual disease (RD) had a statistically higher significance in p16 expression after NAT (1.64 ± 0.43 vs 6.01 ± 0.84 ; $p < 0.0001$).

Conclusions: These preliminary results suggest that the increase of circulating senescent T-cells after NAT is correlated with a worse response to treatment and p16INK4a represents as a predictor of toxicity in patients treated with NAT. Analyses will be presented according to different biological BC subtypes.

Reference

1. Campisi J. Aging, cellular senescence, and cancer. *Annu Rev Physiol.* 2013; 75:685–705.

2. Demaria, M et al. Cellular senescence promotes adverse effects of chemotherapy and cancer relapse. *Cancer Discov.* 2017 February; 7(2): 165–176.

CARATTERIZZAZIONE DI UN MODELLO DI SENESCENZA IN VITRO DI CELLULE STAMINALI MESENCHIMALI DERIVATE DA TESSUTO ADIPOSO VISCERALE (VAD-MSC)

Venetucci J.¹; Shaar A.¹; Varalda M.¹; Antona A.¹; Garro G.¹; Nikaj H.³; Valente G.^{1,4}; Gentili S.^{1,3,5}; Capello D.^{1,2}

¹ Dipartimento di Medicina Traslazionale, Centro di Eccellenza in Aging, Università del Piemonte Orientale, Novara (28100), Italia;

² UPO Biobank, Università del Piemonte Orientale, Novara (28100), Italia;

³ Divisione di Chirurgia Generale, Università del Piemonte Orientale, Novara (28100), Italia;

⁴ Unità di Patologia, Ospedale Sant'Andrea, Vercelli (13100), Italia;

⁵ Dipartimento di Scienze della Salute, Università del Piemonte Orientale, Novara (28100), Italia

jacopo.venetucci@uniupo.it

Negli ultimi decenni stiamo assistendo, a livello mondiale, ad un netto incremento dell'aspettativa di vita. L'aumento progressivo della popolazione anziana è però associata ad un aumento della prevalenza di soggetti fragili e sta modificando la struttura sociale della popolazione^{1,2}. La ricerca oggi deve pertanto porsi come finalità quella di dare salute agli anni, non più solo di dare anni alla vita, promuovendo un invecchiamento sano. A tale proposito, particolarmente rilevante è lo studio dei cosiddetti "hallmarks of aging", meccanismi molecolari che caratterizzano l'invecchiamento.

Tra questi, particolare attenzione è stata rivolta al processo di senescenza cellulare, una condizione caratterizzata dall'alterazione di diverse funzioni cellulari tra le quali il blocco irreversibile del ciclo cellulare e la modificazione del secretoma che assume caratteristiche infiammatorie (*Senescence-Associated Secretory Phenotype, SASP*)³. Le vAD-MSC sono cellule staminali multipotenti rilevanti nel campo della medicina rigenerativa, per via delle loro capacità immunomodulatorie e differenziative⁴. Tuttavia, durante la senescenza, queste cellule perdono le loro proprietà rigenerative, mentre possono contribuire alla formazione di un microambiente "tossico", che può favorire lo sviluppo e la progressione di diverse malattie croniche tipicamente associate all'invecchiamento, quali i disordini metabolici e le neoplasie⁵.

Obiettivo della ricerca è quindi quello di comprendere i meccanismi della senescenza al fine di contrastarne gli effetti negativi. La disponibilità di modelli in vitro di senescenza replicativa, in particolare per le vAD-MSC, è limitata però dal lungo periodo di tempo richiesto per la loro stabilizzazione e dalla suscettibilità alle caratteristiche del donatore. Per questo motivo, abbiamo deciso di studiare l'induzione di senescenza indotta da stress ossidativo, un tipo di senescenza riportato anche *in vivo* e ottenibile in modo riproducibile e in tempi rapidi *in vitro* attraverso la somministrazione di H₂O₂⁶. In primo luogo, la concentrazione ottimale di H₂O₂ da utilizzare per l'induzione della senescenza è stata determinata valutando la citotossicità di dosi scalari di H₂O₂. Le vAD-MSC trattate con 100-200µM H₂O₂ hanno mostrato un significativo aumento del numero di cellule positive alla β-galattosidasi, un tipico marcatore di senescenza, una riduzione nella proliferazione ed una minore capacità di differenziare in adipociti. L'analisi morfologica ha evidenziato un aumento della dimensione delle cellule e del loro nucleo, un fenotipo caratteristico delle cellule senescenti. L'H₂O₂ induce stress ossidativo (ROS), che porta a danni a livello di proteine, lipidi e DNA.

La risposta del danno al DNA (DDR) è stata valutata tramite la misurazione del numero di foci di pH2AX e 53BP1, marcatori, rispettivamente, di danno e riparazione del DNA. È stata anche valutata l'espressione di diverse proteine a valle del DDR e che sono responsabili dell'induzione della senescenza, quali p53, p21 e p16^{INK4A}. Per valutare il fenotipo pro-tumorigenico delle vAD-MSC, è stato raccolto del terreno condizionato, con cui sono state poi coltivate diverse linee tumorali, sia di carcinoma del colon (HCT166 e SW480)

che mammario (MCF7 e MDA-MB). In tutte le linee cellulari testate è stato osservata una maggiore proliferazione delle cellule coltivate nel mezzo di coltura senescente, rispetto al loro controllo. I risultati ottenuti dimostrano che le vAD-MSC nelle quali è stata indotta senescenza da stress ossidativo rappresentano un buon modello in vitro per studiare il ruolo della senescenza nella fisiopatologia del tessuto adiposo e delle alterazioni metaboliche, nonché nello sviluppo di neoplasie note essere associate ad obesità.

La comprensione dei meccanismi molecolari associati alla senescenza nelle vAD-MSC potrà contribuire ad individuare dei target molecolari utili a fini predittivi, diagnostici e terapeutici nell'ambito delle malattie associate all'invecchiamento e della medicina rigenerativa.

1. WHO (2022)
2. Rechel B, Jagger C, McKee M. Living longer, but in better or worse health? European Observatory on Health Systems and Policies; 2020. PMID: 32716619
3. Machado-Oliveira G, Ramos C, Marques ARA, Vieira OV. Cell Senescence, Multiple Organelle Dysfunction and Atherosclerosis. *Cells*. 2020;9(10):2146.
4. Binato R, de Souza Fernandez T, et al. Stability of human mesenchymal stem cells during in vitro culture: considerations for cell therapy. *Cell Prolif*.
5. Lecot P, Alimirah F, Desprez PY, Campisi J, Wiley C. Context-dependent effects of cellular senescence in cancer development. *Br J Cancer*. doi:10.1038/bjc.2016.
6. Dimeozi, A., et al. "Oxidative stress inhibits the proliferation, induces premature senescence and promotes a catabolic phenotype in human nucleus pulposus intervertebral disc cells." *Eur Cell Mater* 30.89 (2015): 102.

EFFECTS OF EXERCISE AND NUTRITIONAL INTERVENTION IN ELDERS ADMITTED TO A LONG-TERM CARE (LTC) UNIT

**Venkatesan S.^a; Colombo A.^a; Anastasio M.^a; Leone E.^a;
Concina D.^b; Panella M.^b; Grossini E.^a**

^a Laboratory of Physiology, Department of Translational Medicine, University of East Piedmont, via Solaroli 17, 28100 Novara, Italy

^b Public Health, Department of Translational Medicine, University of East Piedmont, via Solaroli 17, 28100 Novara, Italy

sakthipriyan.venkatesan@uniupo.it

Introduction: Aging is the progressive loss of organ and tissue function over time. One of main mechanism of aging is the imbalance in the levels of oxidants and antioxidants, which is called redox imbalance. The final result is the increased level of reactive oxygen species (ROS) in the body, which causes the damages of cells and tissues. Among various factors counteracting aging the proper diet and exercise training could play a fundamental role. Both of them may exert prominent anti-inflammatory actions and suppress major oxidants generation.^{1,2}

Aim: The aim of this study was to analyze the plasma redox state of the elders admitted to a long-term care (LTC) unit and the effects of plasma on human vascular endothelial cells (HUVEC), in terms of cell viability, mitochondrial ROS (mitoROS) and ROS release and mitochondrial membrane potential. Those variables were analyzed before (T0) and after a period of health life style program (HLP), which included exercise and a balanced diet (T1).

Materials and methods: Blood samples were taken from each subject in the morning in fasting conditions at T0 and T1 (which means after three months of HLP) and they were used to obtain plasma for the quantification of markers of redox state (antioxidants and oxidants) that was performed by means of ELISA and calorimetric assays. Moreover, plasma was used for the *in vitro* experiments on HUVEC. In particular, we examined cell viability (MTT), mitochondrial membrane potential (JC-1) and the oxidants (ROS and mitoROS) release.

Results: In the plasma of the elders, high levels of thiobarbituric acid-reactive substances (TBARS), which are markers of lipid peroxidation, were observed at T0. That finding was however accompanied by quite preserved level of glutathione (GSH). The findings obtained in HUVEC evidenced the presence of a quite balanced redox state in the elders at T0. At T1, it is noteworthy that the levels of GSH and of superoxide dismutase (SOD) were increased in the elders who have performed the HLP. In HUVEC stimulated with the plasma of the elders who have performed HLP, cell viability and mitochondrial membrane potential were higher than those observed in HUVEC treated with plasma of non HLP elders. Also, there was a significant reduction in ROS and mitoROS.

Conclusions: The result of this study shows that exercise and diet can play an important role in aging since they can maintain redox balance, by reducing oxidants and increasing the antioxidants. In particular, we have found that in the elders, the release of mitoROS from HUVEC was modulated by the HLP. Understanding the molecular mechanism of aging is very much essential in order to expand the healthy lifespan. Finding and eliminating the negative markers and promoting the positive markers of the aging process will help us to elongate the lifespan and health.

REFERENCE:

1. Singh A, Kukreti R, Saso L, Kukreti S. (2019 Apr 22). Oxidative Stress: A Key Modulator in Neurodegenerative Diseases. *Molecules.*, 1583.
2. Bratic A, Larsson NG. (2013). The role of mitochondria in aging. *J Clin Invest*, 951-957.

PERIPHERAL MARKERS OF INFLAMMATION IN INDIVIDUALS WITH MILD COGNITIVE IMPAIRMENT

**Vignaroli F.¹; Aprile D.¹; Sarasso B.^{1,2}; Serra P.^{1,2};
Borasio G.^{1,2}; Tondo G.^{1,2}; Comi C.^{1,2}**

¹ Neurology Unit, S. Andrea Hospital, University of Piemonte Orientale, Corso Abbiate 21, 13100 Vercelli, Italy ;

² Centre for Dementia and Cognitive Disorders (CDCD), S. Andrea Hospital, Vercelli, Italy

francescavignaroli@outlook.it

Background and aim. Neuroinflammation plays a crucial role in the pathogenesis of Alzheimer's disease (AD), but the role of peripheral inflammation is debated. Counts of platelets, leukocytes, and related ratios, including the neutrophil-lymphocyte ratio (NLR) and the platelet-to-lymphocyte ratio (PLR), represent inexpensive and easily addressed peripheral markers that can be abnormal in AD. Specifically, the NLR was described higher in elderly and AD subjects. This study aimed to explore the peripheral markers of inflammation in mild cognitive impairment (MCI), a transitional condition between normal aging and dementia, often associated with the future development of AD.

Methods. We included 95 MCI from the Centre for Dementia and Cognitive Disorders in Vercelli, Piedmont, Italy, with a follow-up from two to five years. Global cognitive status was annually assessed by the mini-mental state examination (MMSE) score. Baseline peripheral markers of inflammation, including global count of leukocytes, lymphocytes, monocytes, neutrophils, platelets, the NLR, and the PLR, were derived and correlated with cognitive measures. Included subjects were retrospectively classified into *CONVERTERS* (patients converting to AD dementia over the disease course) and *NON-CONVERTERS* (subjects showing stability at the last follow-up).

Results. *CONVERTERS* and *NON-CONVERTERS* showed no difference regarding age at baseline, sex, and educational level. *CONVERTERS* showed lower baseline MMSE scores ($p=0.01$) than *NON-CONVERTERS*, together with a higher NLR ($p=0.02$) and a higher PLR ($p=0.03$). The baseline Clock Drawing Task score, the total lymphocytes count, and the NLR score significantly correlated with the loss of MMSE points per year. Among all considered variables, only the baseline MMSE score and the NLR predicted conversion to dementia in the linear regression analysis. The ROC analysis revealed that an NLR value of 2.35 had moderate sensitivity (0.65) and specificity (0.67) in predicting the conversion from MCI to dementia.

Discussion. *CONVERTERS* MCI had significantly higher NLR and PLR than *NON-CONVERTERS* MCI, and a worse baseline global cognitive status. Only the NLR predicted conversion to dementia among peripheral inflammation markers, directly correlating with the degree of cognitive decline. A dysregulation of peripheral inflammation, involving both lymphocytes and neutrophils, may play a role in the pathogenesis of AD, even at the early stages of neurodegeneration. Integrating cognitive, neuropsychological and peripheral inflammation markers may aid clinical classification and prognostic stratification in MCI subjects.

CIRCULATING GLAST+ EXTRACELLULAR VESICLES (EVs) ARE NEW BIOMARKER FOR AMYOTROPHIC LATERAL SCLEROSIS (ALS)

**Vilardo B.^{1,2}, Raineri D.^{1,2}, De Marchi F.³, Mazzini L.³,
Cappellano G.^{1,2}, Chiocchetti A.^{1,2}**

¹ Dipartimento di Scienze della Salute, Interdisciplinary Research Center of Autoimmune Diseases-IRCAD, Università del Piemonte Orientale, Novara, Italy;

² Center for Translational Research on Autoimmune and Allergic Diseases, University of Piemonte Orientale, Novara, Italy;

³ ALS Centre Department of Neurology, "Maggiore della Carità" University Hospital Novara, Novara Italy

beatrice.vilardo@uniupo.it

Aging is associated to an increase in the prevalence of age-associated neurodegenerative diseases, including amyotrophic lateral sclerosis (ALS), a relentlessly progressive and universally fatal whose triggering factors are still poorly understood. ALS is a "silent" disease compared to other neurodegenerative disorders, manifesting earlier cognitive defects or postural instability. No reliable biomarker is available either for ALS diagnosis, for the monitoring of disease progression or assessment of response to therapy. Literature showed that astrocytes derived-extracellular vesicles (EVs) carrying on the surface astrocytic glutamate transporters glutamate-aspartate transporter (GLAST) were increased in ALS pre-clinical model but not data were available in the humans¹. Nowadays, EVs are recognized as biomarker of several human diseases due to their biological relevance as mediators of the crosstalk among cells. In this regard, great achievement has been carried out in the research field with the purpose of comprehending their role in neurological diseases, especially ALS.

GLAST is the transporter of glutamate, the main and primary excitatory neurotransmitter in the central nervous system. An excessive accumulation of glutamate is responsible for neuronal death. The lack of specific biomarkers makes the early diagnosis difficult and the identification of an optimal therapeutic strategy. In fact, few studies have been performed in ALS patients, however, no tissue specific EVs has been identified so far.

Tertiary ALS Centre at the Hospital "Maggiore della Carità" in Novara enrolled 61 ALS patients and 31 healthy age-matched controls. The most abundant EVs present in the peripheral blood (leukocytes-, endothelial-, platelets- derived EVs) were identified in whole blood by flow cytometry using an innovative and fast method, recently validated by our laboratory. While GLAST+EVs were quantified in plasma using the same method described above. Blood plasma EVs were isolated by ultracentrifugation (UC) and the enriched EVs pellet was analyzed using nano tracking analysis (NTA) in order to detect EVs size and concentration in HC (n=10) and ALS patients (n=12).

GLAST+ EVs count were significantly higher in ALS patients compared to HC. Unfortunately, by stratifying ALS patients with clinical parameters, we didn't find any statistical significance correlations. Results of immunophenotyping of the most abundant circulating EVs in whole blood in ALS patients (n=55) and HC (n=27) shows no differences in regard to leukocytes-, endothelial-, and platelets- derived EVs count between the two groups. Size of plasma EVs in HC and ALS patients were identified by NTA. The former showed an average EVs size of 127 nm while the latter had a dimension of 129 nm. Plasma derived EVs showed the same concentration in HC and ALS patients with an average of 3.30×10^9 EVs/ml and 3.84×10^9 EVs/ml, respectively.

In conclusion, we identified, for the first time, a neuronal tissue specific EV in ALS patients through a method which can be easily transferred to the hospitals, thus entering the diagnostic process.

¹ Silverman JM., et al., CNS-derived extracellular vesicles from superoxide dismutase 1 (SOD1)^{G93A} ALS mice originate from astrocytes and neurons and carry misfolded SOD1. J Biol Chem, 2019.

This project is funded by Italian Ministry of Education, University and Research program "Departments of Excellence 2018-2022"



Segreteria Organizzativa
New Aurameeting
newaurameeting.it

Segreteria Scientifica
Aging Project
agingproject.uniupo.it