

Studio Epidemiologico Regionale

**Progetto di ricerca “Associazione tra Insufficienza Venosa Cronica
Cerebrospinale e Sclerosi Multipla”**

Maria Pia Amato

**Dipartimento Scienze Neurologiche e Psichiatriche
Università degli Studi di Firenze**

1. Introduzione

La sclerosi multipla (SM) è la più importante malattia demielinizzante del sistema nervoso centrale (SNC). Il decorso è cronico nell'arco di alcune decadi -- la riduzione dell'aspettativa di vita rispetto alla popolazione generale è intorno al 25%-- e comporta generalmente gradi significativi di invalidità con impatto negativo sulla qualità di vita dei pazienti.

L'eziologia della malattia rimane ad oggi sconosciuta, mentre la patogenesi, di tipo multifattoriale, si ritiene basata su una reazione autoimmunitaria diretta contro antigeni della guaina mielinica. [6]. L'ipotesi patogenetica autoimmunitaria, basata su un ampio numero di evidenze sperimentali sostanzialmente omogenee tra loro, ha portato nell'arco delle ultime due decadi allo sviluppo di terapie testate in ampie sperimentazioni cliniche di fase terza e quindi introdotte sul mercato. Le nuove terapie ad azione immunomodulante (interferoni beta, glatiramer acetato, natalizumab) ed immunosoppressiva (mitoxantrone) forniscono attualmente la possibilità di controllare l'evoluzione della malattia, riducendo la frequenza delle ricadute, l'accumulo di lesioni alla risonanza magnetica (RM) e la progressione della disabilità [9-14].

2. I dati sulla sindrome di insufficienza venosa cronica cerebrospinale

Recentemente, alcuni dati hanno suggerito la possibilità di un nuovo meccanismo patogenetico alla base dello sviluppo della SM, non in linea con la maggioranza dei dati sperimentali sulla eziopatogenesi della malattia.

Zamboni e collaboratori hanno identificato una nuova entità nosologica coinvolgente il sistema di vasi venosi deputati al drenaggio sanguigno del SNC, l'insufficienza venosa cerebrospinale cronica (IVCSC) [15-18]. La IVCSC è stata trovata da questo gruppo di ricercatori in associazione molto frequente con la presenza di SM ed è stata proposta come meccanismo patogenetico responsabile della malattia. Secondo questi Autori, il circolo venoso extracranico dei pazienti presenterebbe stenosi a vari livelli, su base congenita e malformativa, che porterebbero a una stasi venosa cerebrale. La stasi determinerebbe a sua volta una graduale deposizione patologica di ioni ferrosi nel tessuto nervoso, che innescerebbe una risposta infiammatoria e la degenerazione del tessuto stesso. La stasi spiegherebbe anche la localizzazione perivenulare degli infiltrati infiammatori.

- Valutazione delle attuali evidenze sulla IVCSC

Il dato di associazione tra la IVCSC e la SM al momento è l'unico presente nella letteratura scientifica internazionale ed è pertanto necessaria una verifica da parte di altri gruppi di ricercatori indipendenti.

Mancano peraltro ad oggi evidenze scientifiche adeguate e sufficienti a proporre l'intervento come strategia terapeutica per la SM, al di fuori di studi clinici controllati.

3. Obiettivi

L'obiettivo primario dello studio è rappresentato dalla verifica della correlazione tra IVCSC e sclerosi multipla, che costituisce la premessa indispensabile per eventuali studi di valutazione dell'efficacia terapeutica dell'intervento di disostruzione venosa.

Obiettivi secondari sono:

-la valutazione dell'eventuale relazione temporale tra la IVCSC e la malattia, mediante lo studio di pazienti con SM in fasi diverse di malattia, includenti forme SCI (sindromi clinicamente isolate, cioè soggetti al primo episodio clinico), forme recidivanti-remittenti (RR), forme secondariamente progressive (SP) e primariamente progressive (PP) con diversa durata di malattia

-la valutazione della eventuale relazione tra la IVCSC e le principali variabili demografiche e cliniche (età, sesso, fenotipo clinico, durata di malattia, livello di disabilità, frequenza delle ricadute, comorbidità di rilievo) e di RM (sviluppo di nuove lesioni in T2 e lesioni attive gadolinio-positivo).

4. Pazienti e metodi

Criteri di inclusione ed esclusione

Saranno inclusi nello studio pazienti consecutivamente afferenti alle strutture di ambulatorio, Day Hospital e Degenza dei centri identificati dalla Regione Toscana, che corrispondano ai seguenti requisiti:

- età ≥ 18 anni,
- diagnosi di SM o SCI secondo i criteri di Mc Donald- Polman [20-22] [23, 24]
- Qualunque tipo di decorso (SCI, RR, SP, PP)
- Qualunque livello di disabilità valutato sulla Expanded Disability Status Scale (EDSS)
- in grado di fornire un valido consenso informato per la partecipazione alle valutazioni cliniche e paracliniche previste dal protocollo

L'eventuale trattamento con farmaci immunomodulanti, immunosoppressori e sintomatici sarà proseguito regolarmente nel corso dello studio.

Come gruppo di controllo saranno inclusi a) volontari sani comparabili ai pazienti per le principali caratteristiche demografiche, b) pazienti con altre patologie neurologiche (non-SM) in grado di fornire un consenso informato.

I criteri di esclusione sono.

- soggetti di età ≤ 18 anni
- diagnosi di SCI o SM non confermata in base ai criteri di Mc Donald- Polman [20-22] [23, 24]
- soggetti non in grado di fornire un valido consenso informato
- soggetti con malformazioni vascolari cerebrali e malformazioni vascolari congenite e pazienti con finestra acustica temporale inadeguata (17).

La valutazione clinica e paraclinica dei pazienti sarà effettuata ad almeno 30 giorni da ricadute cliniche o cicli di corticosteroidi ad alto dosaggio.

Il protocollo sarà sottoposto all'approvazione del Comitato Etico dei centri partecipanti e tutti i soggetti inclusi dovranno firmare un modulo di informazione e consenso informato.

-Valutazione clinica

Per tutti i pazienti inclusi nello studio saranno valutati:

- dati demografici (sesso, data di nascita, scolarità, stato civile, attività professionale)
- data di esordio della malattia
- sintomi d'esordio
- dati paraclinici alla diagnosi (presenza di bande oligoclonali e/o aumento dell'igG Index all'es. del liquor cerebrospinale, alterazione dei potenziali evocati visivi, criteri di disseminazione spaziale e temporale alla RM) [20, 21]
- Punteggio sui Sistemi Funzionali (SF) e sulla Expanded Disability Status Scale (EDSS)[25] al momento della valutazione ECD, TCCS;
- Punteggio sulla Fatigue Severity Scale (FSS) [26];
- Decorso della SM al momento della valutazione ECD, TCCS, classificato come:
 - o SCI
 - o Recidivante remittente (RR)
 - o Secondaria progressiva (SP) con o senza ricadute
 - o Primaria progressiva (PP)
- Numero di ricadute nell'anno precedente la valutazione ECD, TCCS (non applicabile nelle SCI);
- Comorbidità di rilievo

- Terapie in corso e nell'anno precedente la valutazione ECD, TCCS, includenti le terapie non assunte specificamente per la patologia neurologica (es. contraccettivi orali, antiaggreganti etc.)
- sarà facoltativa la valutazione delle funzioni cognitive attraverso la Breve Batteria di Rao [27] e della depressione attraverso la scala Beck Depression Inventory, da eseguirsi entro un mese dalla valutazione ECD, TCCS

- Studio del drenaggio venoso cerebrospinale mediante valutazione Neurosonologica

Lo studio sonografico sarà eseguito presso i Laboratori identificati dalla Regione Toscana.

Lo studio sarà preceduto da uno specifico training degli operatori coinvolti, in cui si stabiliranno le procedure di esame e di scoring e si effettueranno valutazioni di accordo intra e inter-operatore, basate sull'esame preliminare di almeno 3 soggetti al fine di stabilire un adeguato livello di riproducibilità.

L'esame deve essere e in cieco rispetto al gruppo di appartenenza dei soggetti. I soggetti partecipanti saranno opportunamente istruiti a tal fine, in modo da non rivelare all'operatore il loro gruppo di appartenenza (pazienti con SM, con altre malattie neurologiche o controlli sani). Inoltre, l'operatore che eseguirà l'esame sarà distinto dall'operatore che fornirà la lettura definitiva dei risultati dell'esame, in modo da garantire la cecità dell'interpretazione.

Materiali:

- ECOCOLOR DOPPLER Vascolare con sonda lineare 7,5-10 MHz e sonda Phaced Array 2- 4 MHz con programma dedicato per lo studio del profilo del flusso su ampio numero di volumi campioni contemporanei, al fine di acquisire dati su almeno 2 cm di profondità. Tale strumento dovrà inoltre offrire la possibilità di registrazione in continuo dell'esame.
- Poltrona reclinabile 90°- 0°.

Metodi:

L'Ecocolordoppler dovrà essere settato con una PRF (Pulse Repetition Frequency) diversa da quella convenzionalmente impiegata per gli esami standard di valutazione della circolazione arteriosa.

In particolare il segnale venoso intracranico non è rilevabile in condizioni di esame standard, per i valori ridotti della velocità del flusso venoso, rispetto a quello arterioso.

Pertanto la PRF di lavoro dovrà essere abbassata a livelli (1.7) che consentano il rilievo dei parametri emodinamici venosi.

La valutazione del circolo venoso cerebroefferente e intracranico verrà effettuata nel paziente disteso (0°), durante apnea successiva a fase di inspirazione e ripetuto con le stesse modalità nel paziente seduto (90°).

L'esame sarà effettuato in stanza protetta da stimolazioni esterne.

Parametri valutati:

1) Valutazione delle fisiologiche variazioni della direzione del flusso venoso delle Giugulari e delle Vertebrali in V2 durante un periodo di apnea di 10 secondi, successivo a una normale fase di inspirazione.

Tale valutazione viene effettuata prima nel Pz supino e successivamente ripetuta nel paziente posizionato a 90°.

Si considera nella norma un reflusso < 0.88 sec (19)

- 2) Valutazione della presenza di echi patologici endoluminali a livello della Vene Giugulari Interne
- 3) Valutazione della pervietà delle Vene Giugulari e Vertebrali.

Tale valutazione viene effettuata durante ripetuti cicli respiratori, prima nel Pz supino e, successivamente, nel paziente posto a 90°.

- 4) Valutazione delle fisiologiche variazioni della direzione del flusso venoso nelle Vene Cerebrali profonde (Vene di Galeno, Basale di Rosenthal e Cerebrale Interna) attraverso la Finestra acustica Transtemporale durante una normale fase di inspirazione.

Tale valutazione viene effettuata durante ripetuti cicli respiratori, prima nel paziente supino e, successivamente, nel paziente posto a 90°.

Si considera nella norma un reflusso < 0.5 sec (9)

- 5) valutazione del controllo posturale delle maggiori vie di deflusso venoso cerebrale.

5. Analisi statistica

Il confronto dei dati ottenuti nei diversi gruppi verrà effettuato con l'utilizzo del test t di Student, del test di Mann-Whitney, e del test chi-quadrato quando opportuno. Il confronto della proporzione di IVCSC (definita come la presenza di almeno 2 dei 5 criteri per IVCSC) nei pazienti e nei controlli verrà effettuata attraverso il test per due proporzioni con correzione di continuità.

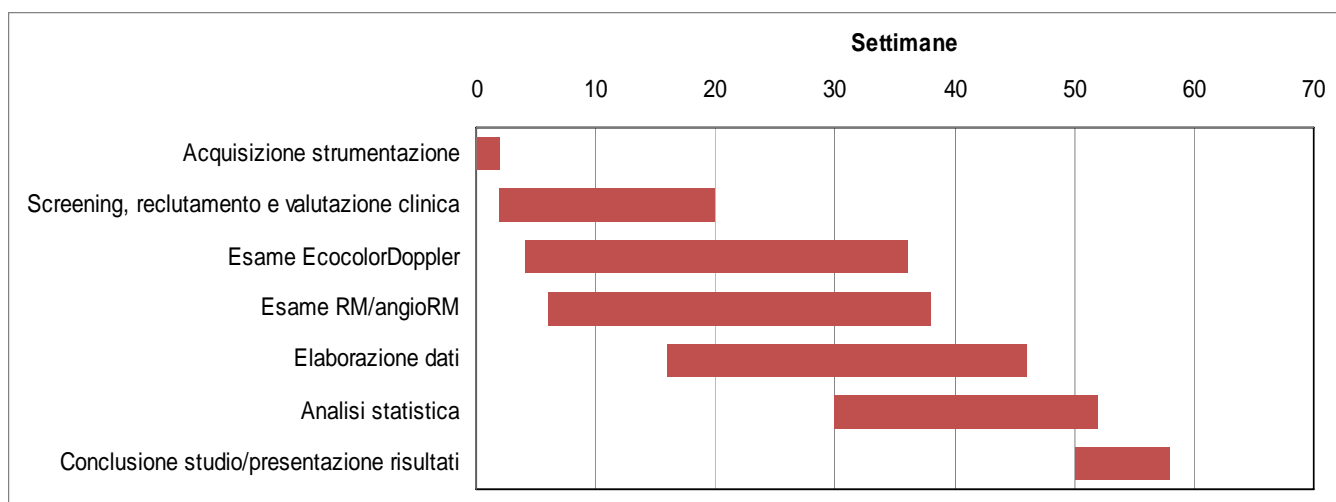
Verrà inoltre indagata l'associazione tra la presenza di almeno 2 dei 5 criteri per IVCSC e variabili demografiche e cliniche e con i parametri RM encefalo attraverso analisi di regressione logistica univariata e multivariata. In tali analisi, la presenza di almeno 2 dei 5 criteri per IVCSC verrà inclusa come variabile dipendente, il gruppo di appartenenza (casi versus controlli, anche scorporando i casi secondo i diversi decorsi di malattia) e possibili confonditori (variabili demografiche e cliniche, disabilità, terapie, comorbidità di rilievo, lesioni nuove in T2 e lesioni gadolinio-positive alla RM encefalo) verranno inclusi come variabili indipendenti.

Numerosità campionaria

Ponendo $\alpha=0.05$, $\beta=0.90$, ipotizzando una frequenza di IVCSC nei pazienti del 60% e definendo la differenza minima clinicamente rilevante rispetto ai controlli sani pari al 15%, la numerosità campionaria dovrebbe essere di almeno 250 pazienti e 250 controlli (in totale 500 soggetti).

6. Tempi dello studio

I tempi previsti per il completamento dello studio sono indicati nel seguente diagramma di Gantt.



Quadro finanziario

La previsione di spesa può essere articolata in due fasi:

FASE 1 (Implementazione)

Erogazione della somma necessaria per sostenere le spese di avvio dello studio:

€70.000,00 per ciascuna delle tre Aziende, per un totale di €210.000,00

FASE 2 (effettuazione esami e conclusione della ricerca)

Erogazione del finanziamento sulla base degli esami effettuati, previa presentazione da parte di ogni Azienda ospedaliero-universitaria coinvolta di apposita Relazione, con una stima di:

250 soggetti per AUO Careggi

150 soggetti per AOU Senese

100 soggetti per AOU Pisana

Per un importo complessivo pari ad €290.000,00.

Bibliografia essenziale

1. Noseworthy JH, Lucchinetti C, Rodriguez M, Weinshenker BG. Multiple sclerosis. *N Engl J Med*. 2000 Sep 28;**343**(13):938-52.
2. Bergamaschi R, Quaglini S, Trojano M, Amato MP, Tavazzi E, Paolicelli D, *et al*. Early prediction of the long term evolution of multiple sclerosis: the Bayesian Risk Estimate for Multiple Sclerosis (BREMS) score. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2007 Jul;**78**(7):757-9.
3. Amato MP, Zipoli V, Goretti B, Portaccio E, De Caro MF, Ricchiuti L, *et al*. Benign multiple sclerosis: cognitive, psychological and social aspects in a clinical cohort. *J Neurol*. 2006 Aug;**253**(8):1054-9.
4. Amato MP, Portaccio E, Goretti B, Zipoli V, Ricchiuti L, De Caro MF, *et al*. The Rao's Brief Repeatable Battery and Stroop Test: normative values with age, education and gender corrections in an Italian population. *Mult Scler*. 2006 Dec;**12**(6):787-93.
5. De Stefano N, Battaglini M, Stromillo ML, Zipoli V, Bartolozzi ML, Guidi L, *et al*. Brain damage as detected by magnetization transfer imaging is less pronounced in benign than in early relapsing multiple sclerosis. *Brain*. 2006 Aug;**129**(Pt 8):2008-16.
6. Salvetti M, Giovannoni G, Aloisi F. Epstein-Barr virus and multiple sclerosis. *Curr Opin Neurol*. 2009 Jun;**22**(3):201-6.
7. Compston A, Coles A. Multiple sclerosis. *Lancet*. 2008 Oct 25;**372**(9648):1502-17.
8. Lucchinetti C, Bruck W, Parisi J, Scheithauer B, Rodriguez M, Lassmann H. Heterogeneity of multiple sclerosis lesions: implications for the pathogenesis of demyelination. *Ann Neurol*. 2000 Jun;**47**(6):707-17.
9. Tedeschi G, Amato MP, D'Alessandro R, Drago F, Milanese C, Popoli P, *et al*. The pharmacovigilance program on natalizumab in Italy: 2 years of experience. *Neurol Sci*. 2009 Oct;**30** Suppl 2:S163-5.
10. Mancardi GL, Amato MP, D'Alessandro R, Drago F, Milanese C, Popoli P, *et al*. Natalizumab: a country-based surveillance program. *Neurol Sci*. 2008 Sep;**29** Suppl 2:S235-7.
11. Portaccio E, Zipoli V, Siracusa G, Piacentini S, Sorbi S, Amato MP. Safety and tolerability of cyclophosphamide 'pulses' in multiple sclerosis: a prospective study in a clinical cohort. *Mult Scler*. 2003 Oct;**9**(5):446-50.
12. Portaccio E, Zipoli V, Siracusa G, Sorbi S, Amato MP. Response to interferon-beta therapy in relapsing-remitting multiple sclerosis: a comparison of different clinical criteria. *Mult Scler*. 2006 Jun;**12**(3):281-6.
13. Trojano M, Pellegrini F, Fuiani A, Paolicelli D, Zipoli V, Zimatore GB, *et al*. New natural history of interferon-beta-treated relapsing multiple sclerosis. *Ann Neurol*. 2007 Apr;**61**(4):300-6.
14. Zipoli V, Portaccio E, Hakiki B, Siracusa G, Sorbi S, Amato MP. Intravenous mitoxantrone and cyclophosphamide as second-line therapy in multiple sclerosis: an open-label comparative study of efficacy and safety. *J Neurol Sci*. 2008 Mar 15;**266**(1-2):25-30.
15. Zamboni P. The big idea: iron-dependent inflammation in venous disease and proposed parallels in multiple sclerosis. *J R Soc Med*. 2006 Nov;**99**(11):589-93.
16. Zamboni P, Galeotti R, Menegatti E, Malagoni AM, Tacconi G, Dall'Ara S, *et al*. Chronic cerebrospinal venous insufficiency in patients with multiple sclerosis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2009 Apr;**80**(4):392-9.
17. Zamboni P, Menegatti E, Galeotti R, Malagoni AM, Tacconi G, Dall'Ara S, *et al*. The value of cerebral Doppler venous haemodynamics in the assessment of multiple sclerosis. *J Neurol Sci*. 2009 Jul 15;**282**(1-2):21-7.
18. Zamboni P, Menegatti E, Weinstock-Guttman B, Schirda C, Cox JL, Malagoni AM, *et al*. The severity of chronic cerebrospinal venous insufficiency in patients with multiple sclerosis is related to altered cerebrospinal fluid dynamics. *Funct Neurol*. 2009 Jul-Sep;**24**(3):133-8.
19. Singh AV, Zamboni P. Anomalous venous blood flow and iron deposition in multiple sclerosis. *J Cereb Blood Flow Metab*. 2009 Dec;**29**(12):1867-78.

20. **McDonald WI, Compston A, Edan G, Goodkin D, Hartung HP, Lublin FD, et al.** Recommended diagnostic criteria for multiple sclerosis: guidelines from the International Panel on the diagnosis of multiple sclerosis. *Ann Neurol*. 2001 Jul;**50**(1):121-7.
21. **Polman CH, Reingold SC, Edan G, Filippi M, Hartung HP, Kappos L, et al.** Diagnostic criteria for multiple sclerosis: 2005 revisions to the "McDonald Criteria". *Ann Neurol*. 2005 Dec;**58**(6):840-6.
22. **Miller D, Barkhof F, Montalban X, Thompson A, Filippi M.** Clinically isolated syndromes suggestive of multiple sclerosis, part I: natural history, pathogenesis, diagnosis, and prognosis. *Lancet Neurol*. 2005 May;**4**(5):281-8.
23. **Moore F, Okuda DT.** Incidental MRI anomalies suggestive of multiple sclerosis: the radiologically isolated syndrome. *Neurology*. 2009 Nov 17;**73**(20):1714.
24. **Okuda DT, Mowry EM, Beheshtian A, Waubant E, Baranzini SE, Goodin DS, et al.** Incidental MRI anomalies suggestive of multiple sclerosis: the radiologically isolated syndrome. *Neurology*. 2009 Mar 3;**72**(9):800-5.
25. **Kurtzke JF.** Rating neurologic impairment in multiple sclerosis: an expanded disability status scale (EDSS). *Neurology*. 1983 Nov;**33**(11):1444-52.
26. **Krupp LB, LaRocca NG, Muir-Nash J, Steinberg AD.** The fatigue severity scale. Application to patients with multiple sclerosis and systemic lupus erythematosus. *Arch Neurol*. 1989 Oct;**46**(10):1121-3.
27. Rao SM. *A manual for the Brief Repeatable Battery of Neuropsychological Tests in Multiple Sclerosis*. Milwaukee, WI; 1990.