

## ***IN VIVO MEASUREMENTS OF AXONAL PATHOLOGY IN PATIENTS WITH MULTIPLE SCLEROSIS AND OTHER WHITE MATTER DISORDERS.***

N. De Stefano, A. Federico

*Unità di Malattie Neurometaboliche, Ist. di Scienze Neurologiche, Università degli studi di Siena*

The importance of axonal injury in multiple sclerosis (MS) is being increasingly appreciated and recent *in vivo* imaging and *in situ* pathologic studies have suggested that axonal damage is prevalent in MS. Proton MR spectroscopic imaging allows measurements of N-acetylaspartate (NAA) in brain, providing an *in vivo* index of axonal integrity. We therefore used proton MR spectroscopy imaging to evaluate whether axonal damage can be significant in different stages of this disease and can be a major component of patients' neurological impairment since the very early stage of the disease. Results of our study (88 patients with MS, 55 relapsing remitting and 33 secondary progressive) suggest that cerebral axonal damage begins in the early stages of MS and contributes significantly to the clinical disability from disease onset. In fact, decreases in NAA began even before significant disability was evident clinically. NAA declined more rapidly at lower levels of EDSS than at higher levels of EDSS ( $p<0.001$ ). The correlation of NAA with EDSS was significantly ( $p<0.03$ ) stronger in patients with mild disability (EDSS  $<5$ ,  $r= -0.54$ ,  $p<0.0001$ ) than in patients with higher disability (EDSS  $\geq 5$ ,  $r= -0.1$ ,  $p<0.9$ ).

In a previous study we found a very close correlation between decreases in NAA and central nervous system impairment of patients with several white matter disorders. Similarly, decreases in NAA were relevant to disability in a study performed in 13 patients with CADASIL (a cerebral autosomal dominant arteriopathy with subcortical infarcts and leukoencephalopathy). Also in these patients we were able to demonstrate a close correlation between the neuronal marker NAA and the degree of CNS impairment. The same close relationship was not found between brain MR imaging abnormalities and patients' clinical status.

Our data suggest that axonal damage may be more relevant than demyelination for determining chronic functional impairments in white matter diseases. Serial measurements of brain N-acetylaspartate with proton MR spectroscopy can provide a reliable and clinically-relevant monitor of disease evolution.

**MONITORAGGIO DELLA COMPARSA DI AUTOANTICORPI E DI MALATTIE AUTOIMMUNI DURANTE LA TERAPIA CON INTERFERONE BETA-1a o -1b IN PAZIENTI AFFETTI DA SCLEROSI MULTIPLA** (Studio multicentrico di tollerabilità farmacologica)

B. Ferrero (a), L. Durelli (a), E. Verdun (a), B. Bergamasco (a), A. Oggero (a), G. Aimo (a), G.L. Mancardi (b), E. Nobile-Orazio (c), M. Zaffaroni (d), A. Ghezzi (d), E. Montanari (e), G. Giuliani (f), G. Antonelli (g)

*Divisione di Neurologia dell'Università o dell'Ospedale Civile di (a) Torino, (b) Genova, (c) Milano, (d) Gallarate, (e) Fidenza, (f) Ancona, (g) Pisa.*

IFN-beta è un trattamento efficace per la sclerosi multipla (MS) di tipo relapsing-remitting (RR) MS, ma è ben documentata la comparsa o la recrudescenza di malattie autoimmuni e l'aumento di autoanticorpi (autoAb) quale effetto collaterale di tale terapia, probabilmente dovute agli effetti immunomodulanti dell'IFN. Lo scopo di tale studio è una valutazione prospettica della comparsa di autoAb, malattie autoimmuni e di anticorpi anti-interferone, e la valutazione della correlazione tra comparsa di effetti collaterali, efficacia clinica e livelli serici di alcune citochine e molecole di adesione durante la terapia cronica con IFN beta-1b o IFN beta-1a in pazienti affetti da MS di tipo RR.

Utilizzando la rete di scambio tra centri Italiani che si occupano di MS organizzata dallo studio MSPT (studio finanziato dall'ISS, responsabile Prof. Luca Durelli, Torino), sono stati arruolati pazienti affetti da MS di tipo RR (secondo i criteri di inclusione riportati sulla G.U.) tramite 18 centri Italiani. Tali pazienti, stratificati in base al centro di inclusione e al sesso, sono stati randomizzati in un gruppo trattato con IFN beta-1b (Betaferon) e l'altro gruppo con IFN beta-1a (Avonex). Tutti i pazienti inclusi sono stati periodicamente monitorizzati sia dal punto di vista clinico che laboratoristico, valutando ogni tre mesi l'emocromo e la funzionalità epatica e renale. Nel nostro laboratorio abbiamo poi dosato alcuni autoAb, e precisamente: anticorpi anti nucleo (ANA), anti parete gastrica (APCA) e anti cellula muscolare liscia (ASMA) tramite immunofluorescenza indiretta, e anticorpi anti-tireoglobulina (TGA) e verso antigeni microsomali tiroidei (TMA) tramite metodica immunoradiometrica. La presenza di anticorpi anti-IFN di tipo neutralizzante è stata testata mediante tecnica anti-virale. Il dosaggio serico di interleuchina 4 e 10 e il dosaggio delle molecole di adesione ICAM-1 e VCAM-1 è stato effettuato mediante metodica ELISA standardizzata.

La fase di arruolamento, iniziata nel novembre 1997 e terminata nel settembre 1999 ha permesso di reclutare 188 pazienti (122 donne e 66 uomini), 98 dei quali trattati con Betaferon e 90 con Avonex. All'inclusione l'età media è stata di  $31.2 \pm 7.2$  anni, l'EDSS di  $1.76 \pm 0.72$ , ed il tasso di esacerbazione/anno (negli ultimi 2 anni) di  $1.18 \pm 0.88$  (senza differenze significativa fra i due gruppi di pazienti). Le schede di follow-up a 6 mesi sono state 109, mentre ad 1 anno solo 83. Il tasso di esacerbazione a 6 mesi è risultato di  $0.52 \pm 0.37$  per i pazienti trattati con Betaferon, e di  $0.95 \pm 0.56$  per quelli in Avonex ( $p < 0.05$ ). Al follow-up di 1 anno il tasso di esacerbazione è risultato di  $0.34 \pm 0.28$  nei pazienti sottoposti a terapia con Betaferon, mentre è stato di  $0.53 \pm 0.36$  nei pazienti trattati con Avonex.. Non è stata evidenziata alcuna variazione significativa dell'EDSS al follow-up di 6 mesi e di 1 anno nei due gruppi di pazienti. Dei pazienti dei quali abbiamo il follow-up ad 1 anno, 4 pazienti in terapia con Betaferon e 2 in terapia con Avonex hanno mostrato alterazioni tiroidee (solo 1 paziente trattato con Betaferon è risultato sintomatico per ipertiroidismo) con positività per gliAb anti-tiroide: solo in 1 di tali pazienti la terapia con Betaferon è stata interrotta. Moderate alterazioni degli esami di funzionalità epatica o all'emocromo si sono

riscontrate di più nei pazienti trattati con Betaferon rispetto a quelli trattati con Avonex (38% rispetto a 25%). Nel nostro laboratorio abbiamo effettuato i dosaggi degli autoanticorpi descritti su 523 campioni serici (riferiti a 124 pazienti, 52 dei quali con follow-up di 1 anno). E' stata riscontrata una positività per AutoAb prima dell'inizio della terapia in 5 pazienti trattati con Betaferon e in 6 pazienti trattati con Avonex. Dopo l'inizio della terapia con IFN gli AutoAb si ridussero o scomparvero solamente in 1 dei 5 pazienti trattati con Betaferon e in 4 dei 6 pazienti trattati con Avonex: negli altri pazienti già positivi basalmente il titolo rimase invariato o aumentò. Durante la terapia con Betaferon comparve una positività per autoAb in 5 pazienti mentre solo in 2 dei pazienti trattati con Avonex. Il dosaggio delle citochine e molecole di adesione è stato effettuato su 228 sieri (riferiti a 48 pazienti dei quali 29 in terapia con Betaferon) con un follow-up di 1 anno. I livelli serici di IL-4 e ICAM-1 non hanno mostrato differenze significative nei due gruppi di pazienti. I livelli di IL-10 invece sono aumentati progressivamente solo nei pazienti in Betaferon ( $36.3 \pm 32.4$  pg/mL basalmente,  $64.7 \pm 30.3$  pg/mL al 3° mese di terapia e  $93 \pm 53.3$  pg/mL al 6° mese di terapia). Infine i livelli di VCAM-1 hanno mostrato una tendenza a ridursi sia durante Betaferon (da  $25.4 \pm 11.3$  ng/mL basalmente a  $9.4 \pm 10.2$  ng/mL ad 1 anno di terapia) che durante Avonex (da  $31.0 \pm 18.9$  ng/mL basalmente a  $16.4 \pm 17.6$  ng/mL ad 1 anno di terapia), senza però alcuna differenza significativa.

**MONITORING THE OCCURRENCE OF AUTOANTIBODIES AND AUTOIMMUNE DISEASES DURING INTERFERON BETA-1a or -1b TREATMENT FOR MS. (A multicenter study of drug tolerability)**

B. Ferrero (a), L. Durelli (a), E. Verdun (a), B. Bergamasco (a), A. Oggero (a), G. Aimo (a), G.L. Mancardi (b), E. Nobile-Orazio (c), M. Zaffaroni (d), A. Ghezzi (d), E. Montanari (e), G. Giuliani (f), G. Antonelli (g)

*Divisione di Neurologia dell'Università o dell'Ospedale Civile di (a) Torino, (b) Genova, (c) Milano, (d) Gallarate, (e) Fidenza, (f) Ancona, (g) Pisa.*

IFN beta is an effective treatment for relapsing-remitting (RR) MS, but the occurrence or recurrence of autoimmune diseases and of autoAb is a well documented side effect of this therapy, probably related to its immunoactivating effects. The aim of this study is a prospective evaluation of the occurrence of autoantibodies (autoAb), autoimmune diseases and anti-interferon antibodies, and the correlations between side effects occurrence, clinical response, and serum levels of cytokines and soluble adhesion molecules during chronic treatment recombinant IFN beta-1b or IFN beta-1a in patients affected with RR MS.

Using the MS network, an exchange network established between Italian MS center by the MSPT study (a study granted by ISS, Prof. Luca Durelli, chief investigator), RR MS patients fulfilling clinical requirements for IFN beta therapy were enrolled by 18 Italian MS centers. Patients were stratified by center and sex, and randomly assigned to a subgroup that received IFN beta-1b or to a subgroup that received IFN beta-1a. All MS patients included treated with IFN beta were periodically monitored by clinical examinations. In addition, every peripheral center monitored blood cell counts, liver function and thyroid function. In our laboratory autoantibodies to nuclear antigens (ANA), to parietal cell antigens (APCA) and to smooth muscular antigens (ASMA) by indirect fluorescent antibody technique, and autoantibodies to human thyroglobulin (TGA) and autoantibodies to thyroid microsomal antigen (TMA) by immunoradiometric (IRMA) method, were detected. Neutralizing antibodies to rIFN beta-1a and -1b were detected using an anti-viral assay. Serum IL-4, IL-10, VCAM-1 and ICAM-1 titrations will be performed using commercially available enzyme linked immunosorbent assay.

The enrollment phase ended at the September 1999. In this period 188 RR MG patients (122 females and 66 males) were enrolled: 98 patients were treated with Betaferon and 90 with Avonex. At the inclusion time demographic characteristics of MS patients were: mean age  $31.2 \pm 7.2$  years, EDSS  $1.76 \pm 0.72$ , exacerbation rate/year (in the last 2 years)  $1.18 \pm 0.88$ . There was no statistical difference of the demographic characteristics at the inclusion time between the MS patients treated with Betaferon and patients treated with Avonex. 109 out of 188 MS patients ended 6 month follow-up, and only 83 out of 188 MS patients ended one year follow-up. At 6 month follow-up the exacerbation rate/year was  $0.52 \pm 0.37$  for Betaferon treated MS patients and  $0.95 \pm 0.56$  for Avonex treated patients ( $p < 0.05$ ). At one year follow-up the exacerbation rate/year was  $0.34 \pm 0.28$  for Betaferon treated MS patients and  $0.53 \pm 0.36$  for Avonex treated patients, without statistical differences. No statistical change of 6th month and 1st year EDSS was showed from baseline EDSS value by the two group of treated MS patients. Four Betaferon and two Avonex treated MS patients showed disturbed thyroid function (only one patients was clinically symptomatic for hyperthyroidism) during the first year of therapy, always related to a significant increase of anti-thyroid Ab: in one case the Betaferon therapy was stopped. Mild laboratory abnormalities were more evident in Betaferon treated patients (38%) than in Avonex treated patients (25%). In our laboratory we have assayed 523 sample sera (referred to 124 MS patients, 52 of whom with one

year follow-up) for autoantibodies. Baseline serum autoAb were positive in 5 Betaferon treated and 6 Avonex treated MS patients. During IFN therapy auto-Ab reduced or disappeared in only 1 out of 5 Betaferon treated and in 4 out of 6 Avonex treated patients, remaining unchanged or increasing in the other patients. During IFN therapy, autoAb occurred in 5 Betaferon treated and in 2 Avonex treated MS patients. Cytokines and adhesion molecule were assayed in 228 sera referred to 48 patients (29 Betaferon and 19 Avonex treated MS) with 1 year of follow-up. Serum IL-4 and ICAM-1 level show no significant difference during the first year of follow-up both in Betaferon treated and Avonex treated patients. IL-10 level increases in the Betaferon treated patients at 3rd ( $64.7 \pm 30.3$  pg/mL) and at 6th month ( $93 \pm 53.3$  pg/mL) of therapy compared to baseline value ( $36.3 \pm 32.4$ ). In the Avonex treated patients there was no significant difference during treatment. VCAM-1 levels shows a trend to decrease during IFN treatment, without reaching a significant value, both for Betaferon treated patients (from  $25.4 \pm 11.3$  ng/mL at baseline to  $9.4 \pm 10.2$  ng/mL at 1 year of therapy) and for Avonex treated patients (from  $31.0 \pm 18.9$  ng/mL at baseline to  $16.4 \pm 17.6$  ng/mL at 1 year of therapy).

## **CONFRONTO TRA SEQUENZE PESATE IN T2, FAST-FLAIR E PESATE IN T1 DOPO SOMMINISTRAZIONE DI GADOLINIO NEL RICONOSCERE LESIONI ATTIVE DELLA SCLEROSI MULTIPLA: UNO STUDIO LONGITUDINALE**

**M. Filippi** (a), M. Rovaris (a), S. Bastianello (b), C. Gasperini (c), C. Pozzilli (c), G. Comi (d)  
 (a) *Neuroimaging Research Unit; (d) Unit of Clinical Trials, Dipartimento di Neuroscienze, I.R.C.S. Osp. S. Raffaele, Università degli studi di Milano*  
 (b) *Dipartimento di Neuroradiologia, (c) Dipartimento Neurologia Università degli studi "La Sapienza", Roma*

Scopo di questo progetto è determinare il valore di sequenze fast fluid-attenuated inversion recovery (fast-FLAIR) nella valutazione dell'evoluzione a breve e lungo termine della sclerosi multipla (SM). Riassumiamo qui gli obiettivi specifici del progetto ed i principali risultati ottenuti.

**Obiettivo 1:** valutare la sensibilità di sequenze fast-FLAIR nell'individuare la comparsa di lesioni attive di SM e confrontarla con la sensibilità di altre tecniche di RM. Studio 1: le sequenze fast-FLAIR rilevavano il 31% in più di lesioni attive rispetto a quelle spin-eco convenzionale (SEC). Sequenze fast-FLAIR unite ad immagini dopo contrasto rilevavano 144 nuove lesioni, mentre la combinazione di sequenze SEC ed immagini dopo contrasto individuava 133 nuove lesioni. Articolo pubblicato su Journal of Neurology (J Neurol). Studio 2: le sequenze FSE individuavano un numero di nuove lesioni intermedio tra le sequenze SEC e fast-FLAIR. Articolo pubblicato su Magnetic Resonance Imaging. Studio 3: La combinazione di sequenze fast-FLAIR e tripla dose di contrasto individuava circa il doppio di lesioni attive per paziente per mese rispetto alla combinazione SEC e dose singola di contrasto ( $p=0.004$ ). Articolo pubblicato su The Journal of the Neurological Sciences. **Obiettivo 2:** valutare e confrontare il consenso tra osservatori nell'individuare lesioni attive di SM su sequenze fast-FLAIR ed altre tecniche di RM. Il consenso tra osservatori nell'individuare lesioni attive su immagini fast-FLAIR non era significativamente differente da quello ottenuto per immagini con contrasto. Articolo pubblicato su J Neurol. **Obiettivo 3:** valutare la sensibilità e riproducibilità dei volumi lesionali misurati su immagini fast-FLAIR e confrontarle con quelle di altre tecniche di RM. Studio 1: il volume lesionale medio rilevato su immagini fast-FLAIR era significativamente maggiore di quello misurato su immagini FSE e GRASE, con riproducibilità intra-osservatore simili. Articolo pubblicato su Magnetic Resonance Imaging. Studio 2: rispetto alla strategia convenzionale (SEC con fette di 5 mm), la variabilità intra- ed inter-osservatore nella quantificazione delle lesioni era significativamente inferiore per sequenze fast-FLAIR, mentre non si ottenevano vantaggi significativi nel ridurre lo spessore delle fette da 5 a 3 mm. Articolo pubblicato su American Journal of Neuroradiology (AJNR). Studio 3: l'uso di differenti apparecchiature RM introduceva nelle misurazioni dei volumi lesionali su sequenze fast-FLAIR una variabilità maggiore di quella intra-osservatore. Articolo pubblicato su AJNR. **Obiettivo 4:** determinare il ruolo delle sequenze fast-FLAIR nel misurare il volume delle lesioni ipointense. Pazienti con SM secondariamente progressiva avevano un volume di lesioni ipointense significativamente maggiore di quello dei pazienti con SM a ricadute e remissioni, e questo era in stretta correlazione con la disabilità clinica. Articolo pubblicato su AJNR. **Obiettivo 5:** ottimizzare sensibilità e tempi di acquisizione di sequenze fast-FLAIR. Studio 1: l'aggiunta di un impulso MT a sequenze fast-FLAIR non migliorava l'individuazione delle lesioni. Articolo pubblicato su Magnetic Resonance Imaging. Studio 2: Sequenze FLAIR ultra-rapide individuano lo stesso numero di lesioni delle sequenze fast-FLAIR, e pertanto possono essere utili per una diagnosi di SM in pazienti claustrofobici o scarsamente cooperanti. Articolo pubblicato su AJNR.

**Conclusioni.** Con questa serie di studi abbiamo dimostrato che le sequenze fast-FLAIR hanno un ruolo importante nella valutazione di pazienti con SM e forniscono misure sensibili e riproducibili per monitorare l'evoluzione della SM sia a breve a lungo termine.

**COMPARISON OF T2-WEIGHTED, FAST-FLAIR AND POST-CONTRAST T1-WEIGHTED BRAIN MRI SCANS IN DETECTING ACTIVE LESIONS IN MULTIPLE SCLEROSIS: A LONGITUDINAL STUDY**

M. Filippi (a), M. Rovaris (a), S. Bastianello (b), C. Gasperini (c), C. Pozzilli (c), G. Comi (d)

(a) *Neuroimaging Research Unit, Dipartimento di Neuroscienze, I.R.R.C.S. Osp. S. Raffaele, Università degli studi di Milano*

(b) *Dipartimento di Neuroradiologia, Università degli studi di Roma "La Sapienza"*

(c) *Dipartimento Neurologia, Università degli studi di Roma "La Sapienza"*

(d) *Unit of Clinical Trials, Dipartimento di Neuroscienze, I.R.R.C.S. Osp. S. Raffaele, Università degli studi di Milano*

The present project was designed to assess the value of fast fluid-attenuated inversion recovery (fast-FLAIR) imaging in the assessment of short- and long-term evolution of multiple sclerosis (MS). Here we summarize the specific aims of the project and the main results obtained.

Aim 1: to evaluate the sensitivity of fast-FLAIR for detecting the appearance of active lesions in MS and to compare it with the sensitivities of other enhanced and unenhanced MRI techniques. Study 1: fast-FLAIR detected 31% more active lesions than conventional spin-echo (CSE). The combination of fast-FLAIR and post-contrast scans detected 144 new lesions whilst the usual combination of CSE and post-contrast scans detected 133 new lesions. Paper published in *Journal of Neurology (J Neurol)*. Study 2: FSE scans detected a number of new lesions intermediate between CSE and fast-FLAIR. Paper published in *Magnetic Resonance Imaging*. Study 3: The combination of fast-FLAIR and triple dose enhanced MRI detected about as twice as active lesions/patient/month than the standard combination of CSE and standard dose enhanced MRI ( $p=0.004$ ). Paper published in the *Journal of the Neurological Sciences*.

Aim 2: to evaluate and compare the inter-observer agreement in reporting active MS lesions using fast-FLAIR and other enhanced and unenhanced MRI techniques. Inter-observer agreement in reporting active lesions on fast-FLAIR scans was not significantly different from that obtained for enhanced MRI. Paper published in *J Neurol*.

Aim 3: to evaluate the sensitivity and reproducibility of lesion volume measurements using fast-FLAIR and to compare them with those of other unenhanced MRI techniques. Study 1: the mean lesion volume detected on fast-FLAIR scans was significantly higher than those measured on FSE and GRASE, with similar intra-rater reproducibilities. Paper published in *Magnetic Resonance Imaging*. Study 2: compared to the standard approach (CSE images with 5 mm thick slices), intra- and inter-observer variabilities in quantifying MS lesions was reduced significantly when using fast-FLAIR sequences, while no significant improvement was gained by reducing the section thickness of from 5 to 3 mm. Paper published in the *American Journal of Neuroradiology (AJNR)*.

Study 3: the use of different scanners introduced a variability in lesion load measurements on fast-FLAIR images that was higher than the intra-observer variability. Paper published in *AJNR*.

Aim 4: to assess the role of fast-FLAIR imaging for measuring hypointense lesion volumes in MS. Patients with secondary progressive MS had significantly higher hypointense fast-FLAIR lesion load than those with relapsing-remitting MS and a strong correlation with clinical disability was found. Paper published in *AJNR*.

Aim 5: to optimize fast-FLAIR imaging in terms of sensitivity and time needed for acquisition. Study 1: adding a magnetization transfer pulse to a fast-FLAIR sequence did not result in any improvement in lesion detection. Paper published in *Magnetic Resonance Imaging*. Study 2: Ultra fast-FLAIR sequences detect as many large MS lesions as fast-FLAIR with overall similar diagnostic performances. Ultra fast-FLAIR may be useful for making a rapid diagnosis of MS in patients who are claustrophobic or unable to cooperate. Paper published in *AJNR*.

Conclusions. This series of studies shows that fast-FLAIR imaging has a relevant role in the assessment of patients with MS. We proved that fast-FLAIR imaging provides sensitive and reliable measures to monitor both the short- (counting active lesions) and the long- (measuring lesion load) term evolution of MS.

**VALUTAZIONE DEI MODELLI ASSISTENZIALI E DELLE LORO IMPLICAZIONI  
NELLA ASSISTENZA AI PAZIENTI CON SCLEROSI MULTIPLA**

R. Grilli

*Istituto di Ricerche Farmacologiche "Mario Negri", Milano*

**ASSESSMENT OF THE STRUCTURAL CHARACTERISTICS OF CENTRES DEALING  
WITH PATIENTS WITH MULTIPLE SCLEROSIS, AND THEIR IMPACT ON  
QUALITY AND OUTCOMES OF CARE**

R. Grilli

*Istituto di Ricerche Farmacologiche "Mario Negri", Milano*

## PARAMETRI CLINICI E DI RISONANZA MAGNETICA NELLA DECISIONE TERAPEUTICA PER IL TRATTAMENTO PREVENTIVO DELLA SCLEROSI MULTIPLA

**G.L. Lenzi, S. Dilegge, F. Bagnato, C. Pozzilli, R. Cerbo, F. Caramia, P. Pantano, L. Bozzao**  
*Dipartimento Scienze Neurologiche, Università degli studi "La Sapienza", Roma*

Durante il secondo anno di attività, è iniziato il reclutamento di pazienti affetti da probabile Sclerosi Multipla (SM) (1° episodio clinico e alterazioni della sostanza bianca alla RM suggestive di SM) secondo i criteri di inclusione già delineati nel protocollo di ricerca del maggio 1998.

Da una serie consecutiva di pazienti con probabile diagnosi di SM afferenti presso i maggiori Centri SM di Roma e provincia sono stati reclutati, a partire dal mese di Agosto 1998, 37 pazienti.

Tutti i pazienti sono stati sottoposti con cadenza mensile ( $\pm$  7 giorni) ad RM cerebrale e a valutazione clinica comprendente esame neurologico standard, valutazione della invalidità mediante Expanded Disability Status Scale (EDSS), scale di valutazione per l'ansia (State-Trait Anxiety Inventory, STAI) e per la depressione (Rome Depression Inventory, RDI). Inoltre sono stati effettuati prelievi ematici seriati conservati come banca dati e disponibili a scopo di ricerca. Per tutti i pazienti è previsto un ulteriore controllo clinico e di RM a 12 mesi dall'inclusione.

Dei 37 pazienti inclusi, 4 sono usciti dallo studio per scarsa compliance al primo (3) e al terzo (1) mese. Per tale motivo i dati riportati fanno riferimento ai 33 pazienti rimasti in studio. La popolazione è composta da 19 femmine (F) e 14 maschi (M), età: mediana (range) 29 anni (20-41), tempo intercorso tra il 1° episodio clinico e l'inizio del follow-up: 4 mesi (2-24), EDSS al primo controllo: 1.5 (1-3.5). I più comuni sintomi all'esordio sono stati: visivi (27%; n=9), motori (18%; n=6), sensitivi (12%; n=4) e troncoencefalici (15%; n=5). Un esordio polisintomatico è stato osservato nel 27% (n=9) dei pazienti.

Dei 33 pazienti, 20 hanno concluso il follow-up a 6 mesi e, tra questi, 2 hanno presentato un'ulteriore ricaduta clinica e hanno pertanto iniziato una terapia preventiva, mentre gli altri 18 non hanno mostrato nuove ricadute cliniche. Inoltre dei 20 pazienti che hanno concluso il seriatò a 6 mesi, in 8 è stato già ottenuto un ulteriore controllo clinico e di RM a 12 mesi. I rimanenti 13 pazienti si trovano in fasi intermedie di studio.

Nei 20 pazienti completi di follow-up, abbiamo osservato alla RM di base un totale di 370 lesioni iperintense in T2 con mediana (range) di 15 (1-63) e 133 lesioni ipointense in T1 (black holes) con mediana (range) di 6 (0-23). Dodici pazienti (60%) hanno presentato almeno una lesione enhancing alla RM di base (T=0) con una mediana pari a 1 lesione (range 1-4). In questi pazienti, durante i 6 mesi successivi di follow-up si è osservata la comparsa di nuove lesioni enhancing nell' 83% (10/12) dei pazienti, con mediana pari a 3 (range 0-15). Degli 8 pazienti con RM di base non attiva, si è osservata la presenza di nuove lesioni enhancing nel 50% (4/8) pazienti con mediana pari a 0.5 (range 0-7).

In conclusione, i risultati preliminari del nostro studio evidenziano che soltanto il 10% (2/20) dei pazienti inclusi ha presentato un secondo episodio durante i 6 mesi di osservazione. Contrariamente a questo dato, la RM evidenzia la presenza di attività subclinica di malattia (almeno 1 lesione enhancing nei 6 mesi) nel 70% (14/20) dei pazienti.

I dati finora esposti rivestono un ruolo di primaria importanza nella valutazione della storia naturale della SM in quanto studi con follow-up seriatò in pazienti al primo episodio clinico non sono riportati in letteratura.

## **CLINICAL AND/OR MAGNETIC RESONANCE IMAGING PARAMETERS AS DETERMINANTS FOR THE BEGINNING PREVENTIVE TREATMENT IN MULTIPLE SCLEROSIS**

**G.L. Lenzi, S. Dilegge, F. Bagnato, C. Pozzilli, R. Cerbo, F. Caramia, P. Pantano, L. Bozzao**  
*Dipartimento Scienze Neurologiche, Università degli studi "La Sapienza", Roma*

From August 1998 we started the recruitment of patients affected by probable Multiple Sclerosis (MS) (patients with clinically isolated syndromes suggestive of demyelination and T2-weighted brain MRI revealing multifocal asymptomatic lesions) following the inclusion criteria outlined in the protocol of May 1998. Thirty-seven patients were recruited from a consecutive series of probable MS patients referring to the major MS centres of Rome and province.

All patients underwent monthly ( $\pm$  7 days) brain MRI and clinical evaluation including standard neurologic examination, neurological impairment as measured by the Expanded Disability Status Scale (EDSS), anxiety and depression measured by the State-Trait Anxiety Inventory (STAII) and the Rome Depression Inventory (RDI) scales, respectively. The patients were followed-up for the first 6 consecutive months after the inclusion and then examined both clinically and by MRI at month 12. Serial blood samples were also obtained at each visit.

Out of 37 included patients, there were 4 dropouts at the first ( $n=3$ ) and third ( $n=1$ ) month respectively, due to lack of compliance. Therefore, data presented here are related to 33 patients which are currently under evaluation.

They are 19 females (F) and 14 males (M) with a median age of 29 years (range: 20-41), median time from the first attack suggestive of a demyelinating disease of 4 months (range 2-24) and a median EDSS of 1.5 (range 1-3.5). The most common isolated symptoms at presentation were: visual (27%;  $n=9$ ), motor (18%;  $n=6$ ), sensory (12%;  $n=4$ ) and brainstem (15%;  $n=5$ ). Plurisymptomatic onset suggesting multifocal CNS involvement was observed in 27% ( $n=9$ ) of the patients.

Up to now, 20 patients have completed the 6-month follow-up. Among these, two patients showed a clinical relapse, while the other 18 patients did not. In 8 patients we also obtained a clinical and MRI evaluation at 12 months after inclusion. In the other 13 patients the study is in progress.

In the 20 patients who completed the follow-up, we observed at baseline MRI ( $T=0$ ) a total number of 370 hyperintense T2 lesions and 133 hypointense T1 lesions (black holes) with median number (range) of 15 (1-63) and 6 (0-23), respectively. Twelve patients (60%) showed at least 1 enhancing lesion at baseline with a median value of 1 lesion (range 1-4). During the follow-up, we observed the occurrence of new enhancing lesions in 83% (10/12) of these patients, with a median value of 3 (range 0-15). Among the 8 patients with baseline MRI scan without signs of activity, we observed new enhancing lesions in 50% (4/8) of the subjects with a median value of 0.5 (range 0-7).

In conclusion, our preliminary results show that only 10% (2/20) of patients had a second relapse during the 6 months follow-up. On the contrary, MRI can detect the occurrence of radiological signs of subclinical activity (at least 1 enhancing lesion during the 6 months) in 70% (14/20) of patients.

We did not find in literature reports of follow-up studies performed in early onset MS patients. We think that our data will give an important contribution in the comprehension of the natural history of MS in the early stages of the disease and in the decision of starting a preventive treatment.

**META-ANALISI DI TRIALS CLINICI CON STEROIDI, CICLOFOSFAMIDE,  
CICLOSPORINA A, INTERFERONE BETA E COPOLIMERO 1 NEI PAZIENTI  
AFFETTI DA SCLEROSI MULTIPLA**

**C. Milanese, L. La Mantia**

*Istituto Nazionale Neurologico "C. Besta", Milano*

META-ANALYS OF CLINICAL TRIALS WITH STEROIDS,  
INTERFERON,COPOLYMER 1, CYCLOPHOSPHAMIDE, CYCLOSPORINE A IN  
MULTIPLE SCLEROSIS PATIENTS

C. Milanese, L. La Mantia  
*Istituto Nazionale Neurologico "C. Besta", Milano*

## CONFRONTO TRA GESTIONE DOMICILIARE E OSPEDALIERA DEL PAZIENTE CON SM: PROGETTO PILOTA NELLA CITTÀ DI ROMA

C. Pozzilli

*Centro Sclerosi Multipla Dipartimento di Scienze Neurologiche, Università degli studi "La Sapienza", Roma*

Il progetto si è concluso quest'anno e i dati preliminari sono stati presentati nel Convegno svoltosi a Bari nell'aprile '99 dal titolo: "Traditional care vs hospital at home care in Multiple Sclerosis".

Sono stati randomizzati 201 pazienti (133 seguiti domiciliamente e 68 in modo tradizionale nei centri di riferimento). I due gruppi presentavano all'ingresso in studio le stesse caratteristiche demografiche e cliniche. Le forme progressive della malattia erano le più rappresentate costituendo l'80% del totale ed il punteggio dell'EDSS medio era di 6. Non si sono osservate differenze significative fra i due gruppi nella variazione annuale delle scale cliniche, psicologiche e di qualità della vita fatta eccezione per quella della depressione, con un significativo miglioramento del tono dell'umore nei pazienti trattati domiciliarmente rispetto al gruppo di controllo. Alla fine del periodo di osservazione abbiamo osservato solo nel gruppo domiciliare un significativo miglioramento nel punteggio delle scale di qualità di vita nonostante un peggioramento della disabilità. Sono state registrate più di 1000 richieste di intervento da parte del team domiciliare, di cui solo il 6% avevano il carattere di urgenza. Il 52% delle richieste poteva essere posticipato ed il 42% risolto telefonicamente. La distribuzione degli interventi ha indicato che tutte le figure professionali coinvolte nello studio a hanno avuto un ruolo importante . L'analisi economica si è basata sull'ipotesi che il consumo di risorse da parte dei due regimi fosse equivalente. Sono state considerate come risorse i costi diretti che includevano i ricoveri e le spese sanitarie nonché il costo organizzativo legato al programma di trattamento domiciliare. Non sono stati inclusi i costi indiretti. I pazienti del gruppo domiciliare hanno registrato meno giorni di degenza soprattutto in day-hospital, mentre come d'altronde c'era da aspettarsi, le richieste riguardanti problemi medici, di supporto infermieristico e psicologico erano aumentate. Nonostante ciò, i risultati preliminari dell'analisi economica hanno mostrato un consumo equivalente di risorse da parte delle due differenti strategie di intervento sanitario. Ai pazienti del gruppo domiciliare è stato recapitato alla fine dello studio un questionario atto a conoscere il livello di gradimento dell'intero programma d'intervento. I risultati hanno evidenziato che più dei 2/3 dei pazienti ha utilizzato il servizio offerto. Meno del 20% riteneva che in un programma di assistenza domiciliare ideale gli interventi dovessero essere espletati su richiesta mentre la maggior parte dei pazienti preferiva interventi a scadenze regolari. Infine, il 96% dei pazienti si augurava che il programma di assistenza domiciliare divenisse permanente. In conclusione, i risultati del trial hanno dimostrato che l'assistenza domiciliare possa rappresentare una valida alternativa nei pazienti SM con invalidità moderata o severa.

**A COMPARATIVE STUDY BETWEEN HOME CARE AND HOSPITAL CARE  
DELIVERY SYSTEM IN MULTIPLE SCLEROSIS PATIENTS. PILOT PROJECT IN  
ROME**

**C. Pozzilli**

*Centro Sclerosi Multipla Dipartimento di Scienze Neurologiche, Università degli studi "La Sapienza", Roma*

The home-care project in Rome was completed this year and preliminary results have been presented in Bari on April 9-10,1999, at the Workshop entitled "Traditional care vs hospital at home care in Multiple Sclerosis". A total of 201 consecutive patients were randomized (133 to the hospital-at-home scheme and 68 to routine hospital care). The two groups were similar for all baseline sociodemographic and clinical characteristic. As expected approximately 80% of the patients included suffered from a primary or secondary progressive MS with a mean EDSS score of 6. There were no significant difference in outcome measures (mean change from baseline values) between hospital at home care and routine hospital care except for a significant improvement of depressive state in the hospital at home group when compared with the other group. At the end of the follow-up, only hospital at home patients reported a significantly improvement from baseline in mental health related quality of life measures, in spite of a significant worsening in physical functions. More than 1000 requests of interventions from hospital-at-home patients were recorded. Only 6% of these were defined as "urgent" requiring attention within few hours of the call. Fifty-two per cent of the visits could be delayed, and "over-the phone" intervention by the team specialist solved 42% of the calls. The distribution of interventions showed that all the specialists included in the trial played an important role. The hypothesis that traditional medical care and home care need an equivalent consumption of resources was tested by using a cost-minimisation analysis. The resources considered were the direct cost of inpatient, outpatient and community care and the organisational cost of the home care co-ordination programme. Indirect costs were not included. Patients included in the hospital-at-home scheme spent fewer days in hospital, particularly for hospital-day care. As expected, the needs of patients receiving home health care increased substantially for problems requiring medical and nursing care as well as social and psychological support. Nevertheless, the preliminary results tested with a sensitivity analysis substantially confirm our initial hypothesis of an equivalent consumption of resources between the two different strategies. A satisfaction questionnaire was mailed to the patients discharged from hospital at home scheme. The survey showed that more than 2/3 of patients actively used the hospital-at -home care service. Less than 20% of patients believed that professionals should visit the patients on call only, whereas the majority of them would prefer receiving home care visit on an established, regular basis. Finally, the need for a permanent program of home care was reported by 96% of patients. In conclusion, the results of this trial on patients suggest that hospital at home may represent a valid alternative to routine hospital care in MS patients with moderate or severe disability.

## EPIDEMIOLOGIA GENETICA DELLA SCLEROSI MULTIPLA IN SARDEGNA. ANALISI DI AGGREGATI SPAZIALI.

S. Sotgiu (a), M. Pugliatti (a), M.G. Marrosu (b), G. Rosati (a)

(a) Istituto di Clinica Neurologica, Università degli studi di Sassari

(b) Istituto di Neuropsichiatria Infantile, Università degli studi di Cagliari

Il recente aggiornamento dei dati di epidemiologia sulla sclerosi multipla (SM) ha confermato che la Sardegna presenta un elevato rischio per la malattia. Studi di analisi sulle frequenze genetiche nei Sardi hanno ripetutamente mostrato ed in maniera significativa una eterogeneità a livello microgeografico ed una correlazione con aspetti storico-linguistici. Secondo una suddivisione dell'isola in 23 aree geografiche contigue di domini linguistici, il dominio Gallurese è, da un punto di vista genetico, chiaramente distinguibile da quello Sassarese e dal Logudoro. Nonostante le comuni origini archeologiche, il dominio Gallurese è stato, in tempi più recenti, sottoposto a consistenti colonizzazioni, importanti sotto l'aspetto genetico, rappresentate da persone provenienti dalla Toscana e dalla Corsica. Difatti, il dialetto Gallurese, che non viene considerato propriamente sardo "arcaico", contiene numerosi termini presi in prestito dal Corso. Abbiamo pertanto intrapreso un'indagine epidemiologica del "micro-isolato" etnico Gallurese a priori considerato come area a possibile diverso rischio per SM. A tal fine, è stata calcolata la frequenza della malattia per ciascun comune della provincia di Sassari utilizzando il numero di casi prevalenti come numeratore e la popolazione a rischio (tra i 15 ed i 70 anni) relativa al censimento del 1991 come denominatore. L'approccio bayesiano gerarchico è stato utilizzato per l'analisi di possibili aggregati spaziali di casi prevalenti. La mappa dei tassi crudi di prevalenza al 28 Febbraio 1998, come comunicato al precedente Progress Report dell'Istituto Superiore di Sanità, mostrava un elevato rischio per malattia a carico della maggiorparte dei comuni Galluresi. Tuttavia, il mappaggio della stima Bayesiana condotto nell'ultimo anno con il contributo dell'Istituto di Epidemiologia e Scienze Ambientali dell'Università di Sassari non confermava le precedenti osservazioni. Si procedeva pertanto ad una ulteriore analisi della distribuzione spaziale di SM nella provincia di Sassari. Considerando l'area geografica di residenza dei pazienti durante il presunto periodo di acquisizione della malattia (fino a 15 anni) e per ridurre il bias legato alla migrazione di pazienti in età adulta da zone ad alto rischio per SM verso zone a basso rischio, i tassi di prevalenza venivano calcolati utilizzando il numero dei casi prevalenti con luogo di residenza fino ai 15 anni in un determinato comune come numeratore, sulla popolazione di età compresa tra 0 e 15 anni dello stesso comune come denominatore. Veniva così evidenziato un cluster di comuni ad alto rischio nel Logudoro Meridionale, mentre il dominio Gallurese si presentava come zona arelativo basso rischio di malattia. Contemporaneamente veniva condotto uno studio genetico su 27 famiglie di pazienti Galluresi affetti da SM (2 multiplex) che escludeva in maniera significativa, attraverso il transmission disequilibrium test (TDT) la trasmisione degli alleli HLA-DRB1-DQB1 sia nei figli/e affetti/e che non affetti/e. Questi dati confermano un possibile diverso substrato genetico della popolazione Gallurese nei confronti della malattia rispetto al resto della popolazione della provincia, e suggeriscono inoltre che la presenza di polimorfismi non correlati al sistema HLA contribuiscano al diverso rischio per SM nei distinti isolati etnici. Studi recenti hanno confermato l'associazione tra SM ed i caratteristici aplotipi sardi DRB1\*0405(*DR4*) e DRB1\*0301(*DR3*), senza che tuttavia sia stato identificato alcun locus individuale che possa contribuire da solo alla predisposizione alla SM. Pertanto, nell'ultimo anno abbiamo esteso la nostra ricerca su altri geni del sistema MHC ed osservato che la suscettibilità genetica di pazienti HLA-DR4<sup>+</sup> affetti da SM potrebbe essere legata ad una anomala tendenza a produrre elevati livelli di TNF-alfa da parte di cellule linfoidi attivate. Abbiamo infatti determinato la frequenza dei polimorfismi della regione promoter TNF-308 (TNF1 e TNF2) senza osservare alcuna relazione tra i polimorfismi TNF-308 e la produzione *in vitro* di TNF-alfa in pazienti e controlli portatori dei diversi alleli HLA-DR. Si può così ipotizzare un effetto di codificazione dell'aplotipo piuttosto che quello diretto dell'allele per il TNF nel predisporre i pazienti sardi HLA-DR4<sup>+</sup> ad un eccesso di produzione di TNF-alfa.

## GENETIC EPIDEMIOLOGY OF MULTIPLE SCLEROSIS IN SARDINIA. SPATIAL CLUSTER ANALYSIS.

S. Sotgiu (a), M. Pugliatti (a), M.G. Marrosu (b), G. Rosati (a)

(a) Istituto di Clinica Neurologica, Università degli studi di Sassari

(b) Istituto di Neuropsichiatria Infantile, Università degli studi di Cagliari

A recent reappraisal of multiple sclerosis (MS) risk confirmed that Sardinia is a high-risk area for MS. The gene frequency analysis among Sardinians has confirmingly shown significant heterogeneity at a micro-geographic level and correlation with historical and linguistic aspects. According to the subdivision of the island into 23 contiguous geographical areas of linguistic domains, the Gallurese domain is genetically clearly distinguishable from Sassarese and Logudoro. Though common archeological roots are evident, other major settlements in the Gallurese domain are more recent, genetically important and constituted by people arrived from Tuscany, and Corsica. Consequently, the dialect of Gallura, which is not considered the "archaic" Sardinian, has many borrowings in particular from the Corsican language. Therefore, we have performed an epidemiological survey in the ethnic micro-isolate of Gallura which was *a priori* taken as an area of possible different MS-risk. To this purpose, MS frequency was assessed for each commune of the province of Sassari using the number of prevalent cases as numerator and the 1991 census *at-risk* population (between 15 and 70 years) as denominator. A hierachic Bayesian approach was used for the analysis of possible spatial clusters of prevalent cases. The map of crude total prevalence rates on February 28th, 1998, as communicated at the previous ISS Progress Report in 1998, showed most communes of Gallura to be at relatively high risk for MS. However, the mapping of the Bayesian estimation performed in the last year with the contribution of the Institute of Epidemiology and Environmental Science of the University of Sassari, did not confirm the previous observation. Therefore we have further analyzed the spatial distribution of MS in all communes of the province of Sassari. As to consider the geographical area of residence during the putative MS acquisition period (until 15 years) and to reduce biases due to migration of adult patients from high to low MS risk areas, prevalence rates were calculated based on the prevalent case's place of residence until 15 years of age as numerator, out of the same commune population between 0 and 15 years as denominator. Confirmingly, we found a cluster of communes in southern Logudoro to be at very high risk for MS, being instead the Gallurese domain a relatively lower risk area for MS. Concomitantly, we have conducted a genetic study on 27 (2 multiplex) MS families of the Gallurese domain, which showed a non significant transmission disequilibrium of HLA-DRB1-DQB1 alleles for either affected or non affected offspring. This finding confirms a possible different genetic background toward the disease in Gallura with respect to the rest of the province, and also suggests that non-HLA linked polymorphisms contribute to the different risk for MS in such ethnically distinct isolate.

Recently, MS association with both the Sardinian-specific DRB1\*0405(*DR4*) and DRB1\*0301(*DR3*) haplotypes was confirmed, but no individual locus that could itself explain MS predisposition was identified. Therefore, in the last year we have extended our study to other MHC genes and found that genetic susceptibility in HLA-DR4<sup>+</sup> MS patients might be linked to the abnormal tendency of producing higher level of TNF-alpha by activated lymphoid cells. We therefore determined the frequency of the TNF-308 promoter region polymorphisms (TNF1 and TNF2) and found no relationship between TNF-308 polymorphisms and the *in vitro* TNF-alpha production in MS patients and healthy controls carrying different HLA-DR alleles. This may suggests an haplotype-encoded rather than a direct TNF allele effect in predisposing Sardinian HLA-DR4<sup>+</sup> patients to TNF-alpha overproduction.