

Le malattie neurodegenerative

Le malattie degenerative rappresentano un onere notevole per la Sanità Pubblica: hanno un decorso strisciante ed inesorabilmente progressivo che viene portato alla luce quando il danno al paziente è già in fase avanzata, precludendo nella quasi totalità dei casi la possibilità di una terapia efficace, che non sia solamente sintomatica. Per risolvere il problema, si tratta di effettuare prevenzione sugli adulti di 50 anni ed oltre, con una diagnosi precoce, per tamponare il processo degenerativo nella sua fase iniziale, quando è ancora controllabile.

Allo stato attuale delle conoscenze, nelle malattie neurodegenerative di tipo sporadico, l'origine prima della patologia è spesso sconosciuta, ma l'analisi della letteratura scientifica pertinente evidenzia uno stretto legame con lo stress ossidativo e nitrosilante, la glicosilazione, i meccanismi infiammatori e le conseguenze del perdurare nel tempo di alti livelli di neurotrasmettitori eccitatori, che vengono visti fra i maggiori fattori di intermediazione al rischio. Le terapie attualmente in uso sono essenzialmente sintomatiche, con efficacia variabile in funzione della patologia e dello stato del singolo paziente.

Nella Sclerosi Laterale Amiotrofica (ALS), ma anche nella maggioranza delle altre malattie degenerative Alzheimer (AD), Parkinson (PD), Huntington (HD), etc., al momento della diagnosi definitiva, la letteratura riporta che il paziente ha già perduto fino al 70% dei motoneuroni o neuroni, minimizzando la possibilità di intervenire in modo efficace sul processo degenerativo già in atto da tempo[1].

Nella letteratura medica degli ultimi anni, diversi autori auspicano maggiore attenzione alla diagnosi precoce ed alla profilassi, quale unica via praticabile nel contrastare le malattie degenerative. Michael Swash [2] definisce "un'esigenza imperativa" la diagnosi precoce nell'ALS. J. Karitzky[3], parlando della sclerosi laterale amiotrofica (ALS) e della corea di Huntington (HD), dichiara che entrambe le patologie in fase pre-clinica, possono essere drammaticamente influenzate dagli interventi terapeutici. Mark Mehler[4] ritiene che la capacità di identificare uno stato di vulnerabilità neuronale in individui pre-sintomatici, quindi prima del danno cellulare irreversibile, possa alimentare lo sviluppo di interventi terapeutici preventivi di varia natura. Andrew Eisen e Charles Krieger[5] nel loro libro Amyotrophic Lateral Sclerosis, dichiarano che sarebbe ideale poter applicare una terapia all'ALS durante il periodo pre-sintomatico, prima che intervenga la morte neuronale.

Per quanto concerne la terapia della malattia di Alzheimer (AD), molto diffusa negli anziani, Catherine Rottkamp[6] sollecita un uso profilattico di sostanze terapeutiche nella popolazione anziana, tenendo conto della natura non-rigenerante del SNC e di una diagnosi che oggi avviene solamente nello stadio finale della patologia.

Michael Swash nello stesso documento citato, dichiara che l'esigenza di una diagnosi precoce nell'ALS rispecchia quella della diagnosi precoce nel cancro. Tanto più è precoce, tanto maggiori saranno i vantaggi in termini di sopravvivenza, qualità della vita, minor peso sociale e assistenziale per la famiglia.

Paulsen JS[7] afferma che la perdita di neuroni precede l'espressione fenotipica dell'Huntington. Tests di tipo neuropsicologico mostrano sintomi di malattia due anni in anticipo rispetto ai segni motori caratteristici.

Innumerevoli esperimenti su animali dimostrano che le stesse molecole che svolgono azione terapeutica, se somministrate all'inizio del processo patologico, sono del tutto inefficaci quando il processo predetto è in una fase più avanzata. Trasponendo il problema sull'uomo, la migliore dimostrazione di quanto finora affermato, è data dal pressoché totale fallimento delle numerose terapie sperimentate per la sclerosi laterale amiotrofica ed

altre malattie degenerative diagnosticate secondo i protocolli attuali: in queste patologie, molecole potenzialmente efficaci, seppure impiegate nella fase immediatamente post-diagnosi, non danno nella pratica clinica alcun vantaggio. Per l'ALS nei quasi 140 anni trascorsi dalla sua scoperta, non vi sono stati sostanziali progressi terapeutici.

Per ottenere una efficace terapia di questa tipologia di malattie, la problematica si sposta dunque sulla messa a punto di una metodica che consenta una diagnosi precoce affidabile, alla quale far seguire, ove necessario, una adeguata terapia farmacologica, tanto più potenzialmente efficace quanto più in fase iniziale è il processo e la sua diagnosi, quando, in altri termini, il meccanismo di distruzione neuronale è ancora all'inizio.

A completamento di quanto detto, si deve notare che il processo degenerativo avviato da una qualsiasi causa al tempo t_0 , si dirama progressivamente in una serie di sotto-processi, molti dei quali auto-sostenenti e divergenti[8], in grado di sostenere la patologia anche in assenza di alcuni dei rami collaterali. Di qui la necessità di poter controllare l'evoluzione di ciascun "ramo" della malattia, mediante markers adeguati a controllarne sia la presenza, sia l'evoluzione.

Fino a quando non sarà stato possibile intervenire sulla causa prima della patologia, sarà necessario contrastare i diversi rami autonomi o semi-autonomi della malattia con adeguati farmaci per rallentarne al massimo l'evoluzione complessiva. Uno strumento in grado di identificare e valutare i principali metabolici e cataboliti del processo, è dunque la soluzione ottimale per poterlo controllare efficacemente.

La diagnosi precoce delle malattie neurodegenerative (Alzheimer, Parkinson, Sclerosi Laterale Amiotrofica, etc.)

Non vi sono attualmente markers diagnostici ricavabili con metodi tradizionali (analisi del sangue, urina, ecc.) per evidenziare in una loro fase molto precoce, le malattie neurodegenerative non legate a modificazioni genetiche conosciute, pertanto la malattia viene identificata da una serie di sintomi, analisi di tipo elettrofisiologico, tests sul liquor cerebro-spinale e indagini con risonanza magnetico-nucleare, solamente quando si manifestano segni clinici che ne facciano sospettare la presenza. E' qui il caso di ricordare che gli organi interessati dalle patologie degenerative cognitive e motorie, dell'area cerebrale e spinale, sono protetti dalla "barriera emato-encefalica" che impedisce alla maggioranza delle sostanze in circolo nel sangue di penetrare nelle aree protette e, nello stesso modo, il percorso inverso. Le analisi eseguite sul sangue dell'area sistemica, non forniscono pertanto dati utili per seguire i processi attivi nell'area cerebro-spinale. Si tratta quindi di utilizzare un processo di esclusione di altre patologie con sintomi similari per poter accertare la reale presenza di una SLA, PD, AD, ecc.. Rimane comunque il problema in sede di diagnosi clinica, di discriminare processi patologici del tutto diversi, ma con manifestazioni cliniche simili, vedi ad esempio, nel campo cognitivo, la discriminazione fra demenze legate a patologia vascolare e quelle dovute ad una degenerazione di tipo Alzheimer.

Come conseguenza di quanto detto è del tutto evidente che fino a quando i sintomi clinici non si manifestino con chiarezza, la malattia non può essere diagnosticata e comunicata al paziente interessato, per iniziare una cura efficace.

Per la SLA i criteri diagnostici attualmente usati sono quelli definiti nel protocollo aggiornato di El Escorial sviluppato dalla World Federation of Neurology, seppure sono stati espressi dubbi circa la riproducibilità della

versione revisionata rispetto a quella originale.[9] Procedure simili sono seguite anche per le altre malattie degenerative cerebrali e spinali, pur con protocolli diversi, specializzati per ciascuna patologia.

Per quanto concerne la tempistica relativa alla diagnosi, i dati relativi a 50 pazienti giapponesi con SLA mostrano un ritardo medio di 5,7 mesi fra l'insorgenza dei primi sintomi e la prima consultazione di un medico, che aumentano a 9,7 per la prima consultazione di un neurologo. Il ritardo fra i primi sintomi e la diagnosi definitiva è stato riscontrato essere 11,6 mesi in media.[10]

Spettrometria di risonanza con protoni

L'unico tentativo in corso per l'effettuazione di una diagnosi precoce della sclerosi laterale amiotrofica, PD ed AD, riguarda l'impiego della spettroscopia con risonanza magnetica (H-MRS), tecnica ancora in sviluppo, ma in grado di dare, almeno potenzialmente, un certo supporto diagnostico pre-sintomatico.[11] L'MRS è una tecnica non invasiva in grado di investigare la presenza di sostanze chimiche in un determinato volume del cervello *in vivo*.

Il principio di funzionamento è basato sul comportamento dei nuclei di Idrogeno (H) o Carbonio (C), che agiscono come minuscoli e deboli magneti, assumono uno *spin* (rotazione) intorno al loro asse se immersi in un forte campo magnetico. La sensibilità del sistema è bassa: il valore minimo rilevabile è di circa 0,5-1 milli Moli. Il campo statico esterno, elevatissimo, è ottenibile solamente con l'uso di magneti superconduttori operanti alla temperatura dell'elio liquido. Come è facile intuire, la complessità della macchina è notevole, l'ingombro ed il peso elevati, l'elaborazione dei dati difficile. I tempi per l'effettuazione di un test al paziente sono lunghi ed i costi sono altissimi.

La scarsa sensibilità del metodo ed il non elevato potere risolutivo, limita il numero di sostanze verificabili nel volume di interesse sul campione ad una dozzina, purché presenti in elevate quantità nell'area interessata.

Nel settore delle malattie degenerative, la spettrometria H-MRS viene già oggi utilizzata, seppure in modo sperimentale, per la conferma delle diagnosi attuate con metodo classico o per studi di diagnosi precoce miranti a determinare essenzialmente l'eventuale diminuzione del numero dei neuroni in un determinato volume cerebrale o spinale, confrontando il valore dell'NAA (N-acetyl aspartate) nei pazienti rispetto ai controlli, nonché i rapporti colina/creatina e myo-inositolo/creatina. Studi sperimentali sono stati effettuati con pazienti Alzheimer, Huntington, Parkinson e Sclerosi Laterale Amiotrofica.

E' bene notare che le molecole studiate, in particolare l'NAA, consentono di verificare il decremento dei neuroni nel volume considerato (cervello o area spinale), ma non di rivelare i processi che stanno portando alla distruzione dei predetti neuroni Per concludere, la diagnosi con H-MRS è in grado potenzialmente di anticipare i tempi attuali basati sui segni clinici, ma fornisce risposte positive solamente quando la perdita neuronale è comunque già in atto ed i meccanismi patologici attivi da tempo. La complessità dell'indagine ed il relativo costo fa escludere l'H-MRS quale tecnica di screening di massa per la diagnosi precoce di malattie degenerative, ma la rende utile quale strumento di verifica per pazienti diagnosticati con altra metodica più rapida ed economica.

PET

Il nome PET deriva da Tomografia ad Emissione di Positroni. La PET è una nuova tecnica di scansione utile nella ricerca medica[12]. A differenza della radiografia con raggi X, che rappresenta una situazione statica, la PET ci dà una visione dell'attività cerebrale, misurando i positroni (elettroni con carica positiva) emessi da un

radionuclide in grado di legarsi a determinate sostanze. Nel settore neurologico, la PET è generalmente usata per controllare il metabolismo del glucosio, il flusso sanguigno ed il metabolismo dell'ossigeno in specifiche aree cerebrali, ma può essere usata anche per la determinazione di alcune molecole di interesse^[13], quali, ad esempio il neurotrasmettitore dopamina, legato a varie patologie neuronali (Parkinson, distonia, schizofrenia). Nel Parkinson è stata dimostrata una presenza di dopamina ridotta nello striato rispetto ai controlli.

La sensibilità della metodica è molto elevata, ma legata all'uso di radionuclidi da iniettare al paziente, quindi invasiva, ed inoltre di elevato costo di impianto e complessità di esercizio. I radionuclidi impiegati, con tempo di dimezzamento molto breve, richiedono l'uso di un ciclotrone in loco per la loro produzione, macchina costosa (da 1 a 2 milioni di €) e di impiego riservato a specialisti del settore nucleare.

La scarsissima diffusione delle macchine PET a causa del loro elevato costo e complessità d'uso ed il limitato numero di molecole studiabili, ne rendono impossibile l'uso per attività di screening di massa per la diagnosi precoce di malattie neurodegenerative.

Requisiti di un sistema efficace per la diagnosi precoce di malattie degenerative

Per giungere ad una diagnosi precoce di malattie degenerative che sia in grado di anticipare i segni clinici di circa 3÷7 anni o anche più, aprendo così la porta ad una terapia altrettanto precoce e potenzialmente efficace, si tratta di affrontare la problematica in termini di profilassi: uno screening di massa sui soggetti che abbiano superato i 50 anni, per individuare la presenza di cataboliti con funzione di marker di patologia, presenti nell'area cerebrale e spinale. Nelle famiglie con presenza storica di malattie degenerative con trasmissione genetica, l'età dovrebbe essere abbassata ai 20 ÷ 25 anni o anche meno, in funzione del tipo di patologia sospettato, fatto salvo il controllo genetico.

Per attuare concretamente quanto sopra riportato, si tratta di identificare un metodo diagnostico che risponda ai requisiti di seguito elencati:

- non essere invasivo;
- in grado di accedere alle aree cerebro-spinali;
- essere il più possibile affidabile;
- di semplice attuazione;
- di rapida esecuzione;
- con possibilità di gestione dati on-line;
- di costo di investimento basso;
- di costo per test molto basso.

Il soddisfacimento dei punti elencati porterebbe alla progressiva creazione di Studi o Centri Specializzati diagnostici o di diagnosi e cura dislocati sul territorio, in grado di attuare capillarmente lo screening minimizzando lo spostamento dei pazienti ed i costi globali dei controlli. Le persone riscontrate positive potrebbero eventualmente poi essere inviate presso strutture dotate di diagnosi per immagini, elettromiografia, PET, ed altro, per una valutazione quantitativa della perdita di neuroni in atto e quindi ad un reparto neurologico specializzato.

La maggiore difficoltà che si incontra nella realizzazione di una simile metodica, deriva dall'ostacolo interposto dalla barriera emato-encefalica, che impedisce l'accesso alle aree interessate ed il prelievo di campioni biologici, senza l'uso di metodiche di tipo invasivo, nonché dal costo e dai limiti operativi delle possibili tecnologie oggi disponibili per effettuare i tests.

Un'altra considerazione riguarda il numero di parametri da acquisire, che deve essere elevato, per permettere la chiara identificazione della patologia in formazione, onde consentire una corretta diagnosi ed un intervento farmacologico adeguato.

La soluzione studiata dai ricercatori della Biophysics Research di Roma, descritta nel Cap. II, impiegando meccanismi interattivi basati sull'interferometria magnetica, supera brillantemente l'ostacolo della barriera emato-encefalica ed è in grado di soddisfare tutte le esigenze sopra elencate, consentendo di impiegare come markers le specifiche molecole caratteristiche di ciascuna patologia, rilevate in ambito cellulare in dodici aree cerebro-spinali, anche se presenti a livelli minimi di quantità (nM o pM).

Markers precoci rispetto ai segni clinici

La identificazione di markers della singola patologia, specie se individuabili con precocità, incide su un duplice aspetto: la possibilità di effettuare una diagnosi anticipata rispetto ai segni clinici, aprendo le porte ad una terapia efficace negli stadi iniziali, ma anche alla possibilità di controllare l'efficacia di ciascuna molecola terapeutica sui singoli sottoprocessi che si sviluppano nell'iter patologico.

La letteratura scientifica dimostra come nelle patologie neurodegenerative, da un unico processo iniziale si diparta, nel tempo, una serie di sottoprocessi più o meno autonomi, autosostenenti e divergenti, ognuno dei quali contribuisce alla distruzione dei neuroni/motoneuroni interessati.

La possibilità di seguire nel tempo con un rapido controllo, i markers di ciascun sottoprocesso (ossidativo, nitrosilante, glicosilante, infiammatorio, eccitatorio, proteico, tossico, etc.), ci fornisce immediatamente il quadro della situazione: le aree cerebro-spinali nelle quali i singoli sottoprocessi sono attivi, la loro intensità, il rapporto reciproco, ecc.. Appare evidente come una simile metodica possa consentire di ottimizzare la terapia in tempi brevi, selezionando le singole molecole ed il loro dosaggio, gli intervalli di somministrazione, nonché la loro eventuale interazione o sinergia.

Larga parte della letteratura scientifica pertinente, ipotizza la formazione di metaboliti e cataboliti nei processi ossidativi e nitrosilanti con anticipo rispetto ai primi segni clinici, in tutte le malattie degenerative.[14][15] Un importante contributo alla valutazione dell'anticipo è stato dato da Hitoshi Marita *et al.* nel 2001[16] dimostrando come la formazione del marker di ossidazione del DNA, 8-hydroxy-2-deoxy-guanosine (8-OHdG), si formi nei topi con largo anticipo (oltre il 10% della vita, nell'uomo cinquantenne dunque più di cinque anni), rispetto ai primi segni clinicamente riscontrabili. L'ossidazione del DNA e quindi la formazione di 8-OHdG, è universalmente riconosciuto come uno dei primi segni di degenerazione in atto nella SLA, AD, PD ed HD.

Questo contributo sperimentale ha costituito una pietra miliare di fondamentale importanza in questo progetto.

Altri cataboliti che possono essere individuati in modo precoce in diverse patologie degenerative sono: la 3-nitrotirosina (3-NT), indicatrice della presenza di perossinitrito, formata per nitrificazione dei residui di tiroxina. Il perossinitrito porta a perossidazione dei lipidi di membrana con formazione di 4-hydroxy-2-nonenal (4-HNE), un'aldeide con elevate capacità distruttrici, capace di inibire la glicolisi e la sintesi di acidi nucleici e

proteine,[17] ma anche malondialdeide ed altre aldeidi di non minore importanza. La carenza degli enzimi catalasi (CAT) e glutatione perossidasi (GSH-Px) porta, in diversi casi, ad accumulo di perossido di idrogeno (H_2O_2)[18]. Un marker astrogliale, il glutamine synthetase, è alto nella SLA e nell'AD[19].

L'ossidazione delle proteine porta a formazione di carbonili di proteine, così come si riscontra la presenza di carbonili di zuccheri. Un marker precoce della componente glicosilativa è costituito dall'1-hexitol-lisina (1-HL), che si forma molto precocemente nel processo di glicosilazione che porta alla formazione di AGE.[20] Nell'Alzheimer si ha la formazione precoce di Amiloid β -peptide ($A \beta$),[21] ma anche della proteina protettiva myo-Inositolo. Nell'ALS si forma la β -amyloid precursor protein (β -APP) come la Transglutaminase (TGase) nella parte anteriore del cordone spinale, solamente nel periodo iniziale della malattia. [22]

Nel Parkinson è significativa la presenza di citochine infiammatorie nella substantia nigra, in particolare TNF- α , IL-1 β ed IFN- γ . [23] . Di grande rilievo la situazione dei neurotrasmettitori presenti nelle aree cerebro-spinali: serotonina nell'AD, dopamina e noradrenalina nell'ALS, cortisolo nello stress, etc.

Un capitolo a parte è costituito dai metalli, siano essi liberi o aggregati ai relativi transporters (metallothioneins o altro): sono presi in esame il rame (Cu), lo zinco (Zn), il ferro: (Fe), il manganese (Mn), il cadmio (Cd), l'alluminio (Al), il piombo (Pb), il mercurio (Hg) ed altri metalli di transizione o pesanti di volta in volta ritenuti significativi nell'effettuazione della diagnosi.

Il metodo BIO-Explorer basato sulla Quantum Electro Dynamics in Medicine

Per la rivelazione delle molecole markers nelle varie aree dell'organismo interessate ai processi neurodegenerativi, in particolare aree cerebrale e spinale, si è utilizzata un'applicazione della Quantum Electro Dynamics in medicina (QED)[24], che prevede la misurazione delle emissioni di corrente elettrica in determinati punti sensibili dell'organismo umano che si comportano come "finestre" aperte sulle strutture biologiche da controllare, quando dette strutture sono stimulate dai campi magnetici eccitatori emessi da molecole campioni esterne. I meccanismi di base della QED sono illustrati nell'Allegato 1.

E' ben noto che ogni sostanza è caratterizzata da un suo proprio spettro elettromagnetico, composto dall'insieme delle singole oscillazioni che lo costituiscono.[25] Lo spettro di diverse sostanze, nonché enzimi, membrane cellulari, acidi nucleici, ecc., creano patterns complessi di segnali elettromagnetici che avvolgono l'essere vivente, costituendo una rete informativa di primaria importanza atta a controllare il metabolismo delle singole cellule e degli organi.

Il livello di trasferimento delle informazioni entro le cellule o fra cellule dipende dalla "coerenza" del segnale e dal grado di "risonanza" con le cellule.

Ogni livello della gerarchia organizzativa dell'organismo possiede uno spettro caratteristico di emissioni elettromagnetiche endogene. Interazioni per risonanza di livello o inter-livello, sono ovviamente necessarie per mantenere un regime omeostatico, correlando fra loro i vari processi. Una perturbazione generata a qualsiasi livello, provocherà quindi una ripercussione in tutti gli altri livelli a causa delle interazioni fra gli spettri emessi e ricevuti.

Nel caso specifico della nostra metodica, l'irradiazione elettromagnetica del marcatore esterno, potenziata con tecniche di diluizione[26] e dinamizzazione[27] che ne esaltano la capacità informativa accostato al corpo del

paziente, creerà una perturbazione che sarà avvertita in tutti i livelli dell'organismo ed evidenziata nelle "finestre" di osservazione" presso le quali le modificazioni energetiche sono convertite in una esaltazione o riduzione della corrente continua emessa.

Volendo approfondire, seppure di poco, secondo la teoria della biologia molecolare classica il meccanismo interattivo fra sostanza eccitatrice e recettore di membrana avviene per reazione diretta fra la molecola eccitatrice ed il recettore. Studi recenti di diversi autori, fra i quali di spicco J. Benveniste,[28] Smith C.W.[29] hanno dimostrato che i recettori sono sensibili anche a campi elettromagnetici, in particolare alla componente magnetica del campo, per cui l'eccitazione può essere trasmessa a distanza, senza alcuna reazione diretta. E' altresì possibile che ci possa essere uno stadio intermedio nell'interazione, nel quale lo spettro emesso dalla molecola eccitatrice porterebbe in coerenza il dominio dell'acqua circostante il recettore che verrebbe poi eccitato da quest'ultima[30].

Perché il meccanismo di risonanza si manifesti, è peraltro necessario che gli spettri del segnale emesso e del recettore siano identici. Questa prerogativa consente la discriminazione di un numero elevatissimo di sostanze, purché sia disponibile un campione eccitatore debitamente trattato quale emettitore di stimolo. A parità di intensità del campo emesso dal campione esterno, la variazione di corrente sul punto di controllo sarà proporzionata al prodotto del processo di risonanza, legato alla quantità della sostanza endogena presente. Se il campione esterno emette su uno spettro diverso da quello presente nel dominio dell'area da controllare, non vi sarà alcuna reazione.

Considerando che la corrente emessa dai punti di agopuntura impiegati quali finestra di osservazione in soggetti sani con condizioni omeostatiche nominali, è di norma circa 350 nA, se lo spettro emesso dal campione esterno interagisce con un dominio di coerenza avente lo stesso spettro, la sinergia creata dalla risonanza provocherà una variazione delle regolazioni omeostatiche con conseguente variazione proporzionata della corrente. In casi estremi si possono raggiungere variazioni anche superiori a 3000 nA.

In altri termini, se la sostanza eccitatrice esterna è presente nell'area controllata dalla "finestra" alla quale facciamo riferimento con le misure, otterremo una variazione di corrente proporzionata alla quantità di sostanza endogena espressa; se la sostanza endogena è assente, potremo avere una reazione di tipo negativo (diminuzione di corrente), dovuto all'effetto tossico del reattivo esterno, se l'equilibrio omeostatico è appena stabile (debolezza del paziente), come di norma in un paziente con stato generale compromesso.

Per il controllo delle aree del corpo interessate, nel caso specifico cerebro-spinali, si fa riferimento al metodo di misura di correnti originariamente studiato dal Dott. H. W. Schimmel e dall'Ing. E. Rasche, alla metodica diagnostica ed ai punti di misura studiati dalla Biophysics Research di Roma.

Lo strumento BIO-Explorer col quale si effettuano le misure realizza un particolare nano-amperometro per corrente continua dotato di pinza di massa e puntale di misura impieganti materiali atti a minimizzare la creazione di forze elettro motrici al contatto con la pelle. Le misure sono accettate solamente quando lo scostamento dei valori misurati in rapida successione scende al di sotto di una soglia prestabilita, permettendo in tal modo una buona ripetitività delle misure stesse, anche se protratte per tempi relativamente lunghi. Il controllo della pressione esercitata sul punto di misura è effettuato mediante un sensore di pressione in grado di risolvere un grammo. Se la pressione del probe esce dalla fascia di tolleranza, la misura viene abortita, ma all'interno di detta fascia il valore di corrente misurato è corretto matematicamente in funzione della pressione

esercitata. La ripetitività della misura è molto alta e resa scabra dalle due maggiori fonti di errore: i potenziali di contatto e la pressione del probe.

Prestazioni e potenzialità della metodica diagnostica proposta

La metodica diagnostica proposta è in grado di individuare la presenza di migliaia di molecole diverse fra loro, in accordo con quanto specificato nel paragrafo precedente, nelle aree cerebrali e spinali correlate con i punti di misura. I punti attualmente identificati consentono l'esplorazione di dieci aree cerebrali e due spinali. Della moltitudine di molecole potenzialmente presenti nel nostro organismo, alcune sono individuabili solo in conseguenza di un determinato processo biochimico in atto. Se il processo riveste caratteristiche di anormalità, i suoi cataboliti potranno fungere da marker del processo stesso. Per quanto concerne la correlazione fra molecola identificata col meccanismo di risonanza e la sua collocazione fisica, essa è definita dal potere risolutivo del punto di indagine impiegato: la molecola identificata in un volume (voxel) che sarà più o meno ampio, in funzione delle caratteristiche tipiche della finestra stessa in accordo col percorso dello specifico meridiano, già descritti in larga parte dai cinesi e validati con tecniche moderne (radioisotopi, scansioni SQUID).[\[31\]](#)[\[32\]](#)

In realtà vengono rilevate solamente le molecole libere, quindi non legate a substrati, scavengers, transporters, etc. Questa prerogativa ci consente di discriminare automaticamente tutte le sostanze presenti in via naturale e non patologica all'interno dell'equilibrio omeostatico, evitando così di presentare una enorme quantità di dati privi di significato diagnostico.

Le molecole markers potranno essere dunque identificate, valutate per ampiezza e correlate con la posizione fisica nel corpo, nei limiti di risoluzione spaziale della "finestra" di indagine utilizzata. In altre parole, dal percorso del meridiano passante per l'area fisica da osservare identificato dalla Biophysiscs Research, facente capo al punto terminale di misura.

Controllando in rapida sequenza i marcatori di ciascuna molecola che si vuole ricercare sul terminatore corrispondente all'area del corpo interessata, si potrà valutare con immediatezza l'eventuale presenza e consistenza nella predetta area di una o più delle molecole testate.

L'istogramma delle ampiezze relative di ciascuna molecola controllata, per ciascuna area di interesse (tronco encefalico, corticale frontale, sub-corticale, corticale motorio, temporale, corticale occipitale, midollo spinale rispettivamente emilato sinistro e destro), fornirà il quadro della situazione presente che potrà essere ricondotto con facilità ad una patologia nota, esaminando la tipologia dei cataboliti presenti e la loro dislocazione fisica, compresa un'eventuale lateralità.

Nelle immagini allegate è riportato un esempio di rappresentazioni molecolari relative ad un paziente con Sclerosi Laterale Amiotrofica (SLA), malattia dei motoneuroni I e II. Si noti il livello di dopamina nella corteccia motoria, il marker di ossidazione del DNA (8-OHdG), la formazione di perossinitrito (3-NT) che perossidando i lipidi di membrana forma aldeidi (MDA, GTR) le quali a loro volta modificano diverse proteine fra cui i transporters del glucosio e del glutammato (GLU), portando a necrosi il neurone per l'accumulo di GLU extracellulare. Quanto detto in perfetto accordo con la letteratura esistente sul tema. [\[33\]](#)

BIBLIOGRAFIA

- [1] Kedar N. Prasad – Multiple antioxidants in the prevention and treatment of neurodegenerative disease – *Current Opinion in Neurology* 1999, 12: 761-70
- [2] Michael Swash - Early diagnosis of ALS/MND - *Journal of the Neurological Sciences* 1998 160 S1: S33-36
- [3] J. Karitzky et al – Imaging and neurochemical markers for diagnosis and disease progression in ALS - *Journal of the Neurological Sciences* 2001 191: 35-41
- [4] Mark Mehler et al - Developmental mechanisms in the pathogenesis of neurodegenerative diseases - *Progress in Neurobiology* 2001 63: 337-63
- [5] Andrew Eisen, Charles Krieger *Amyotrophic Lateral Sclerosis* Cambridge University Press 1998
- [6] Catherine Rottkamp et al - Will antioxidant fulfill their expectations for the treatment of Alzheimer disease? – *Mechanism of Aging and Development* 2000 116: 169-79
- [7] Paulsen JS, Zhao H, Stout JC, Guttman M, Shoulson I – Clinical markers of early disease in person near onset of Huntington’s disease – *Neurology* 2001 57: 658-62
- [8] Jonathan Fallon: MPP+ produces progressive neuronal degeneration which is mediated by oxidative stress - *Exp Neurol* 1997 144: 193-198
- [9] Forbes RB et al : Are the El Escorial and Revised El Escorial criteria for ALS reproducible? A study of inter-observer agreement. *Neuron Disorder* 2001 Sep; 2(3): 135-38
- [10] Iwasaki Y et al The diagnostic pathway in amyotrophic lateral sclerosis – *Neuron Disord* 2001 Sep; 2(3): 123-26
- [11] Walter G. Bradley et al H-magnetic resonance spectroscopy in amyotrophic lateral sclerosis – *Journal of the Neurological Sciences* 169 (1999) 84-86
- [12] Robert T. Malison et al Positron and single photon emission tomography - *Neuropsychopharmacology: The fourth generation of progress*
- [13] Michael E. Phelps: Positron emission tomography provides molecular imaging of biological processes – *PNAS* 2000, 97: 9226-33
- [14] Catherine Rottkamp et al - Will antioxidant fulfill their expectations for the treatment of Alzheimer disease? – *Mechanism of Aging and Development* 2000 116: 169-79
- [15] Paulsen JS, Zhao H, Stout JC, Guttman M, Shoulson I – Clinical markers of early disease in person near onset of Huntington’s disease – *Neurology* 2001 57: 658-62
- [16] Hitoshi Marita, Takeshi Hayashi, Tetsuro Marakami, Yasuhiro Manabe, Loji Abe Oxidative damage to mitochondrial DNA in spinal motoneurons of transgenic ALS mice - *Molecular Brain Research* 2001 89: 147-52

- [17] A Law, S. Gauthier, R. Quirion – Say NO to Alzheimer's disease: the putative link between NO and dementia of the AD type – Brain Research Reviews 2001 35: 73-96
- [18] Tabner BJ, Turnbull S, El-Agnaf OM, Allsop D – Formation of hydrogen peroxide and hydroxyl radicals from A β and α -synuclein as a possible mechanism of cell death in AD and PD – Free Rad Biol Med 2002 32: 1076-83.
- [19] J Karitzky, AC Ludolph – Imaging and neurochemical markers for diagnosis and disease progression in ALS – J. Neurological Sciences 2001 191: 35-41
- [20] Seiji Kikuchi, Akihiko Ogata, Kazuyoshi Shimpo et al – Detection of an Amadori product, 1-hexitol-lysine, in the anterior horn of the ALS and SBMA spinal cord: evidence for an early involvement of glycation in motoneuron disease – Acta Neuropathol 2000 99: 63-66
- [21] Soledad Miranda, Carlos Opazo, Luis F. Larrondo, Ribaldo C. In estrosa – The role of oxidative stress in the toxicity induced by amyloid β -peptide in Alzheimer's disease – Progress in Neurobiology 2000 62: 633-48
- [22] Shoichi Sasaki, – Immunoreactivity of β -amyloid precursor protein in ALS – Acta Neuropathol 1999 97: 463-68
- [23] Stefane Hunot, Andreas Hartmann, Etienne C. Hirsch – The inflammatory response in the Parkinson's brain – Clinical Neuroscience Research 2001 1: 434-43
- [24] Giuliano Preparata, Getullio Talpo, Emilio Del Giudice, Baldassarre Messina et al – The role of QED (Quantum Electro Dynamics) in medicine – Proceedings meeting 14.12.1999 Un. Roma la Sapienza
- [25] Paolo Bellavite – Biodinamica – Tecniche Nuove
- [26] Shashadhar Samal et al., Unaspected solute aggregation in water on dilution – Chem Comm 2001, 2224-25
- [27] Paolo Bellavite Biodinamica – Tecniche Nuove 1998
- [28] Y. Thomas, M. Schiff, L. Belkadi, P. Jurgens and J. Benveniste – Activation of human neutrophils by electronically transmitted phorbol-myristate avetate – Medical Hypoteses 2000 54: 33-39
- [29] Smith C.W. Coherent electromagnetic fields and bio-communication 1989 – Urban and Swarzenberg, Munchen Smith C.W. Electromagnetic and magnetic vector potential bio-information and water–1994 Kluwer Acad. Publ. Dordrecht
- [30] Popp F.A., Li KH, Gu Q. Recent Advances in biophotons research – 1992 World Scientific, Singapore
- [31] Smith C.W. Electromagnetic effects in humans in: Biological coherence and response to external stimuli – Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg 205-232
- [32] Nuclear medicine and acupuncture message transmission. J Nucl Med. 1992 Mar;33(3):409-12.

[33] Davide Trotti, Niels C. Danbolt A. Volterra Glutamate transporters are oxidant-vulnerable: a molecular link between oxidative and excitotoxic neurodegeneration? – *TiPS* 1998 19: 328-334

Copyright © 2008 Biophysics Research