

## FRAGILITÀ COGNITIVA: MARCATORI TRASCRIPTOMICI IN RISPOSTA A OSSIGENO-OZONO TERAPIA

Manzini Valeria (a,b), D'Amelio Chiara (a), Bonvicini Cristian (c), Scassellati Catia (d), Galoforo Antonio (e), Arisi Ivan (a), Brandi Rossella (f), Costa Mario (g), D'Onofrio Mara (a), Cattaneo Antonino (a,h)

(a) *EBRI, Fondazione European Brain Research Institute, Rita Levi-Montalcini, Roma*

(b) *Dipartimento di Neuroscienze, Istituto Superiore di Sanità, Roma*

(c) *Laboratorio Marcatori Molecolari, IRCCS Istituto Centro San Giovanni di Dio Fatebenefratelli, Brescia*

(d) *Unità Psichiatrica Biologica, IRCCS Istituto Centro San Giovanni di Dio Fatebenefratelli, Brescia*

(e) *Società Scientifica Italiana di Ossigeno-Ozono Terapia, Gorle, Bergamo*

(f) *Dipartimento Scientifico, Policlinico Militare, Celio, Roma*

(g) *Consiglio Nazionale delle Ricerche, Istituto di Neuroscienze, Pisa*

(h) *Scuola Normale Superiore, Pisa*

**Introduzione.** La fragilità cognitiva è parte di una sindrome geriatrica multidimensionale caratterizzata da ridotta funzionalità dei sistemi fisiologici e aumentata vulnerabilità ai fattori di stress. La ossigeno-ozono terapia utilizza basse concentrazioni di ozono per indurre un lieve stress ossidativo, stimolando una risposta antiossidante unitamente ad un effetto antinfiammatorio. L'insufflazione rettale di una miscela ossigeno-ozono è una procedura non farmacologica minimamente invasiva, che consente la diffusione sistemica dell'ozono. Questo progetto rappresenta il primo studio pilota randomizzato in doppio cieco, che propone di caratterizzare clinicamente e mediante profili molecolari l'effetto della miscela ossigeno-ozono in una popolazione di soggetti neuropsicologicamente classificati come "fragili cognitivi", oltre a identificare biomarcatori periferici di fragilità cognitiva.

**Metodi.** Hanno partecipato allo studio 74 soggetti, età 65-80 anni, con fragilità cognitiva lieve (24), media (24) o severa (26). I tre gruppi di fragilità sono stati ulteriormente suddivisi in base al trattamento: insufflazione rettale di aria, ossigeno puro o miscela ossigeno-ozono: un disegno sperimentale Fragilità x Trattamento a 3x3 livelli. Il protocollo è in accordo con la "Società Scientifica Italiana Ossigeno-Ozono Terapia: per 5 settimane sono state eseguite 3 insufflazioni/settimana della durata di 5-10 min, con 150cc di miscela ossigeno-ozono (30µg di ozono per cc di ossigeno). L'analisi trascrittomico mediante *microarray* (Agilent Technologies) è stata eseguita su campioni di sangue venoso prelevato in tubi Paxgene prima e 3 mesi dopo il trattamento. Dopo estrazione e purificazione dell'RNA con kit Paxgene Blood RNA (Preanalytics), la quantizzazione e il controllo qualità di ogni campione sono stati effettuati tramite NanoDrop e Agilent Bioanalyzer.

**Risultati.** I profili di espressione genica differenziale risultano modulati, in risposta all'ossigeno-ozono terapia, dal livello di fragilità: il numero di geni differenzialmente espressi è maggiore nel gruppo dei fragili lievi, rispetto ai mediamente fragili e ancor più

rispetto agli individui con fragilità cognitiva severa. I processi deregolati includono: stress ossidativo, alcune vie metaboliche, *pathway* dei fattori di crescita e danno del DNA. Invece, i trattamenti con aria (controllo) o con ossigeno sembrano avere minor impatto sui profili trascrittomici del sangue periferico, 3 mesi dopo lo specifico trattamento.

**Conclusioni.** La ossigeno-ozono terapia risulta modulare l'espressione genica differenziale in modo dipendente dal grado di fragilità cognitiva, con maggiore impatto rispetto agli effetti dei trattamenti con aria o con ossigeno puro. La correlazione di caratteristiche cliniche/neuropsicologiche degli individui "con fragilità cognitiva" e di profili di espressione genica permetterà di validare i biomarcatori periferici di fragilità basale e associati alla terapia ossigeno-ozono.