

8.2

“UNA SCOMMESSA NON AZZARDATA: L’UTILIZZO DELLA TDCS NEL TRATTAMENTO DEL DISTURBO DA GIOCO D’AZZARDO PRESSO IL DIPARTIMENTO DIPENDENZE ASL CITTÀ DI TORINO”

Gabetta F.^[1], Gennari N.^[2]

^[1]Cooperativa P.G. Frassati/SSD Nuove Dipendenze Asl
Città di Torino - Torino - Italy,

^[2]SSD Nuove Dipendenze - Asl Città di Torino - Torino - Italy

Le Addiction rappresentano una delle categorie di disturbi maggiormente onerose per la salute pubblica. Il Dipartimento Dipendenze - ASL Città di Torino, grazie al “Progetto Neurocare”, ha introdotto la tDCS per il trattamento del Gioco d’azzardo Patologico. I risultati ottenuti sono clinicamente promettenti e incoraggianti.

Background

La complessità e la continua evoluzione dell’universo dei consumi non può che impattare sui Dipartimenti Dipendenze richiedendo una costante rimodulazione degli interventi offerti. Considerando al contempo la continua crescita del fenomeno del Gioco d’azzardo patologico ed il progressivo aumento dell’utenza afferente ai Servizi di competenza della Città di Torino, il Dipartimento Dipendenze dell’ASL Città di Torino ha cercato di ampliare la propria offerta di trattamenti rivolti a questa tipologia di utenti attraverso l’implementazione di reti collaborative con il Terzo Settore.

Il Piano Locale delle Dipendenze – PLD - (D.G.R. n.28-5020 del 28.12.2006 e s.m.i.) comprende l’insieme delle azioni programmate e realizzate a livello cittadino che integrano l’attività del Dipartimento delle Dipendenze attraverso la collaborazione con il Privato sociale cittadino. Tale collaborazione permette di assolvere in modo più efficace e diffuso al mandato istituzionale del Servizio, ovvero quello di prevenire e trattare i consumi di sostanze psicotrope e i diversi comportamenti di dipendenza.

La realizzazione del PLD attraverso l’istituto della co-programmazione e della co-progettazione coinvolge operatori del settore pubblico e privato nella lettura complessiva di un fenomeno legato a doppio filo all’andamento e all’evoluzione di una società moderna, che negli anni non ha potuto che modificarsi e diversificarsi, richiedendo risposte adeguate e aggiornate. Dalla collaborazione tra Dipartimento delle Dipendenze dell’ASL Città di Torino e la Cooperativa P.G. Frassati è stato così possibile realizzare il “Progetto Neurocare”, finalizzato a inserire nella prassi clinica Dipartimentale l’utilizzo della Stimolazione Elettrica Transcranica a corrente diretta - tDCS.

La tDCS è una tecnica di neuromodulazione non invasiva e indolore, annoverabile tra le tecniche di non invasive brain stimulation – NIBS. Attraverso l’applicazione di una debole corrente elettrica (1-2 mA), convogliata da 2 o più elettrodi (anodo e catodo), genera un campo elettrico capace di modulare l’attività neuronale in base alla modalità di applicazione. Questa metodica permette di stimolare o inibire l’attività neuronale delle aree stimolate e subito attigue, alterando la conduttanza dei canali del sodio e del calcio, inducendo così modificazioni dell’eccitabilità cerebrale (Nitsche, Paulus, 2000) che durano anche una volta terminato il trattamento e che promuovono processi di plasticità neuronale (Bolognini et al., 2009). Questo favorirebbe la replicazione di nuovi neuroni e la creazione di nuove connessioni sinaptiche fra di essi. Consapevoli della multifattorialità del fenomeno e dalla non riducibilità al paradigma del brain disease, le sempre più approfondite osservazioni nell’ambito delle neuroscienze hanno fornito il razionale clinico per l’impiego di questa metodica di stimolazione cerebrale nel trattamento nel Disturbo da Gioco D’Azzardo (DGA).

Il DGA è caratterizzato da un comportamento persistente e ricorrente di gioco maladattativo. Dall’edizione quinta del Manuale diagnostico e statistico dei disturbi mentali (DSM-5) è stato incluso nella categoria dei “Disturbi correlati a sostanze e disturbi da addiction”. Ciò fa seguito alle evidenze scientifiche che suggeriscono che i modelli fisiopatologici per i Disturbi da uso di sostanze (SUD) possono essere rilevanti anche per il DGA. Infatti, alterazioni nella funzione del sistema della ricompensa (reward system) costituiscono un substrato comune che guida la compulsività sia nel DGA che nelle dipendenze da sostanza (Leeman, Potenza, 2012; Pettorruso, Martinotti, et al., 2014). I circuiti cerebrali della ricompensa coinvolgono il sistema dopaminergico, compresa la via mesolimbica, che proietta dall’area tegmentale ventrale (VTA) al nucleo accumbens, e la via

mesocorticale, che proietta dalla VTA alla corteccia prefrontale (PFC) (Koob, Volkow, 2016) area alla quale si deve il complesso sistema delle funzioni esecutive. In particolare la porzione dorsolaterale (DLPFC) della PFC svolge un ruolo critico nel ciclo della dipendenza, che comprende l'apprendimento del rinforzo, il craving, il controllo inibitorio e la coordinazione delle risposte cognito-affettive. Studi di neuroimmagine hanno dimostrato che la perdita del controllo inibitorio, derivante da un danno alla PFC, è cruciale nei comportamenti di dipendenza (Balodis et al., 2012; Moccia et al., 2017), nel ripetersi degli episodi di gioco (Mallorquí-Bagué, 2023) e risulta associata alla gravità generale della diagnosi (Hawker, 2021).

Considerata quindi l'ampia letteratura esistente in materia, l'ipoattività dell'area riscontrata nella popolazione target (Goldstein, Volkow, 2011) e non per ultima l'inesistenza di un trattamento farmacologico validato dalla Food and Drug Administration (Lupi et al., 2014) per questo disturbo, è stato definito un protocollo di stimolazione con tDCS per i pazienti ritenuti candidabili.

Caratteristiche del trattamento:

- Dispositivo utilizzato "Sooma tDCS" (Sooma Oy, Helsinki, Finland);
- Posizionamento del catodo su F3 e dell'anodo su F4 secondo l'international 10/20 EEG system utilizzando due elettrodi circolari (25 cm²) imbevuti con 10 ml di soluzione salina;
- Stimolazione a 2mA per 30 minuti;
- Dieci sedute consecutive (Lunedì-Venerdì).

Il "Progetto Neurocare"

L'inserimento della tDCS nella prassi clinica è stato pensato in integrazione con la presa in carico "complessa" del paziente con diagnosi di DGA. In particolare si è rilevata l'importanza di non interrompere, ma bensì di porre in stretta continuità con le sedute di neuromodulazione gli interventi in corso (farmacologici, psicoterapeutici, psicologici, psicoeducativi).

Destinatari

Criteri di inclusione

Sono stati considerati eligibili pazienti con le seguenti caratteristiche:

- non-respondents al trattamento complessivo o con multiple ricadute;
- con alti livelli di Craving e carenti capacità di gestione dello stesso;
- prossimi a fasi di potenziale fragilità con conseguente interessamento della condizione clinica e degli obiettivi raggiunti.

Criteri di esclusione

Sono stati considerati non eligibili i pazienti con le seguenti caratteristiche:

- pregressi episodi di crisi convulsive e malattia epilettica;
- pazienti portatori di apparecchiature di stimolazione elettrica cardiaca o cerebrale;
- pazienti con patologie post-traumatiche di tipo cerebrale;
- pazienti portatori di impianti cocleari;
- pazienti in gravidanza.

Ogni candidato al trattamento viene sottoposto ad una visita medica di screening volta ad escludere tali controindicazioni.

Tabella 1 - Screening sanitario

	SI	NO
1	È affetto/a da epilessia o ha mai avuto crisi convulsive?	
2	Qualcuno nella sua famiglia (padre, madre, fratelli) ha avuto crisi epilettiche?	
3	Ha mai avuto episodi di svenimento o sincope?	
4	Ha mai subito un trauma cranico diagnosticato come tale o associato a perdita di coscienza?	
5	Soffre di emicrania?	
6	È affetto/a da problemi cerebrovascolari (es. ictus) o di cerebropatie in generale?	
7	È portatore/portatrice di impianti cocleari o biostimulatori in genere?	
8	È in gravidanza o sussistono possibilità che lo sia?	
9	Ha inserti metallici a livello cerebrale o della teca cranica o in altre parti del corpo (es. <i>schegge, frammenti, clip</i> – escluse <i>protesi dentali o titanio</i>)? Se sì, specifichi il tipo di metallo _____	
10	È portatore/portatrice di un neurostimolatore impiantato a livello cerebrale o della colonna vertebrale (es. DBS, epidurale/subdurale, VNS)?	
11	È portatore/portatrice di pace maker cardiaco o linee intracardiache?	
12	È portatore/portatrice di dispositivi per la microinfusione di farmaci?	
13	Attualmente sta assumendo farmaci? Se sì, indichi quali _____	
14	È mai stato/a sottoposto/a a tDCS in passato? Se sì, ha riscontrato problemi? Indichi quali _____	

Il protocollo applicato

La definizione del protocollo di stimolazione, indipendente dalla popolazione clinica, non può esimersi dal prendere in considerazione le linee guida internazionali in materia di sicurezza e corretto utilizzo dello strumento (Bikson et al. 2016; Antal et al. 2017).

Secondariamente, la letteratura in materia di posizionamento degli elettrodi suggerisce di interessare la Corteccia prefrontale dorso-laterale (DLPC), per le ragioni sopra argomentate (Stanković, 2023).

Il trattamento viene somministrato da personale formato in materia (psicologi e medici).

Valutazione e monitoraggio

I pazienti selezionati per il trattamento completano un percorso diagnostico finalizzato a:

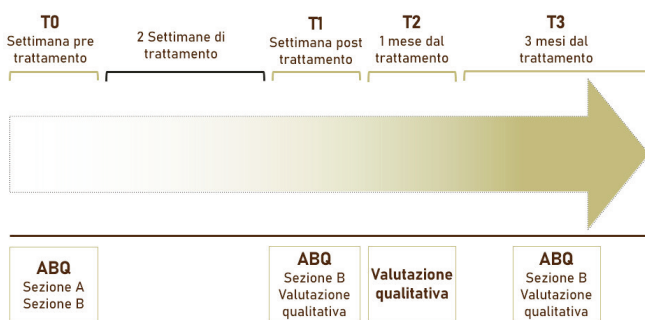
- Raccogliere dati socio-demografici;
- Storia di trattamenti ricevuti e loro esiti;

- Frequenza del fenomeno del gioco;
- Valutazione della gravità della patologia secondo DSM-V (ABQ-Severity Index-Sezione A);
- Valutazione della sintomatologia da Craving (ABQ-Severity Index-Sezione B);
- Valutazione della motivazione al trattamento (Scala Likert a 10 punti).

Tutti i pazienti trattati vengono monitorati per i successivi 3 mesi al trattamento.

Il monitoraggio consiste nella ri-somministrazione del Test ABQ a 7 e a 90 giorni dalla conclusione del trattamento. Al monitoraggio attraverso la testistica è stata associata la rilevazione della frequenza dell'eventuale condotta di gioco e il complessivo quadro clinico del paziente.

Grafico 1 – Fasi di monitoraggio



Caratteristiche dei pazienti trattati

È stato possibile concludere il monitoraggio complessivo di 8 pazienti. Il campione, principalmente di sesso maschile, si caratterizzava per una diagnosi di DGA che da un punto di vista categoriale (DSM-V) risultava essere da Medio a Grave (Severity Index-Sezione B).

Non si riscontrava la presenza di altra patologia psichiatrica né di comorbidità con altre dipendenze patologiche. I pazienti, come già esplicitato, risultavano essere seguiti in un percorso di trattamento articolato:

- La totalità seguiva un percorso Psicoterapeutico;
- La metà frequentava un gruppo terapeutico a cadenza settimanale;
- 3 pazienti beneficiavano anche di interventi di tipo socio-educativo;
- 1 paziente era in trattamento farmacologico con SSRI.

Nessuno dei trattati aveva effettuato altri trattamenti di Neurostimolazione non invasiva (tDCS/TMS) in passato, né trattamenti residenziali per la patologia in oggetto. Il campione si caratterizza inoltre per storie di gioco protratte nel tempo (media: 13,3 anni), con stili differenti: sia on-line (scommesse sportive, poker) che in presenza (casinò, slot-machine, Gioco del Lotto, Gratta e vinci).

La frequenza di gioco a T0 era eterogena e si distribuiva in questo modo: 3 pazienti risultavano “non attivi”, 2 dei quali però con livelli di Craving abbondantemente sopra la soglia di attenzione clinica, i restanti erano caratterizzati da una frequenza da settimanale fino a giornaliera.

Tabella 2 – Caratteristiche del campione

Grandezza Campione	N: 8
Età media	51 (15,3)
Sesso	7 M 1 F
Anni Di Scolarità	10,7 (2,8)
Mano Dominante	Destra
Farmacoterapia	1 in trattamento con SSRI, 7 No
Psicoterapia	8 Si
Interventi Socio/Educativi	3 Si 5 No
Interventi Gruppali	4 Si 4 No
Età Media Prima Esperienza Di Gioco	37,6 (14,9)
Lunghezza Media Storia Di Gioco	20,7 (13,2)
Motivazione al trattamento	8,3 (0,8)

Risultati

In merito al trattamento, non sono stati rilevati effetti collaterali, confermandone la sicurezza quando rispettate le linee guida presenti in letteratura. I risultati sono riportati nella Tabella 3.

Tabella 3 - Valutazione livelli di craving mediante somministrazione ABQ-Severity Index-Sezione B 7 giorni prima del trattamento, 7 e 90 giorni dopo

	T0 7 Giorni prima	T1 7 giorni dopo	T3 90 giorni dopo	DELTA Δ% (T3-T0)/T0
PZ1	11 (29)	0 (1)	0 (1)	-100
PZ2	28 (80)	11 (29)	8 (35)	-71
PZ3	16 (49)	6 (5)	12 (33)	-25
PZ4	28 (79)	5 (4)	2 (1)	-93
PZ5	26 (74)	10 (23)	13 (38)	-50
PZ6	26 (74)	9 (17)	3 (1)	-88
PZ7	30 (83)	0 (1)	0 (1)	-100
PZ8	21 (64)	2 (0)	6 (4)	-71

I dati mostrano una riduzione del Craving sia tra T0-T1 (pre-post 7 giorni dal trattamento con tDCS) che tra T0-T3 (pre-post 90 giorni dal trattamento). È interessante notare che la riduzione del Craving tra T0-T1 ha riguardato tutti i pazienti coinvolti, indipendentemente dai valori baseline, attestandosi al di sotto di valori di attenzione clinica (ovvero al di sotto del 58° percentile). Di altrettanta importanza è l'ulteriore diminuzione dei livelli di Craving a T3, stabili sotto l'attenzione clinica (Grafico 2).

L'utilizzo dell'ABQ per la valutazione e il monitoraggio del Craving ha permesso inoltre di farne emergere da un punto di vista dimensionale gli aspetti compulsivi che caratterizzano questo campione (Tabella 4) e più ampiamente pazienti con DGA.

Con questi pazienti è infatti possibile riconoscere una particolare tendenza a riproporre pattern di “rincorsa delle proprie perdite” che inducono al gioco nel tentativo di riparare (Craparo, Gori et al. 2015), disconoscendo le ulteriori possibili conseguenze negative. In conti-

nuità con le teorizzazioni di Martinotti (2006) e Hollander (1996), si riconosce in questa popolazione un crescente senso di tensione o allarme prima di mettere in atto il comportamento ed un vissuto di piacere, gratificazione o sollievo nel momento stesso in cui viene compiuto. La conseguente dilatazione del tempo che si verifica una volta messo in atto il comportamento di gioco permette quindi il ritiro difensivo in uno stato mentale dissociato dalla coscienza ordinaria, che allontana dalla consapevolezza emozioni e stati del Sé, ma al contempo indebolisce ulteriormente la capacità di regolazione affettiva.

È altrettanto importante fare riferimento al fenomeno del “near miss effect” (Dores et al., 2024; Habib, Dixon, 2010) e al possibile ruolo incentivante all’interno del circolo compulsivo. Soggetti con DAP a fronte di situazioni di quasi vincita mostrerebbero livelli di attivazione cerebrale molto simili a quelli in caso di vincita. Questo fenomeno nel caso di giochi di probabilità (per esempio slot-machine e Gratta e Vinci) porterebbe la persona a percepire di avere un qualche grado di controllo sul gioco, oppure a pensare che una vincita sia dietro l’angolo, entrambe considerazioni figlie di bias cognitivi. Anche in questo caso, concluso il trattamento, si assiste a una diminuzione significativa della componente compulsiva, che persiste nel tempo e che viene verbalizzata dai pazienti come una maggiore tendenza a “controllare il pensiero del gioco”.

Tabella 4 - Valutazione Ossessività Impulsività Compulsività

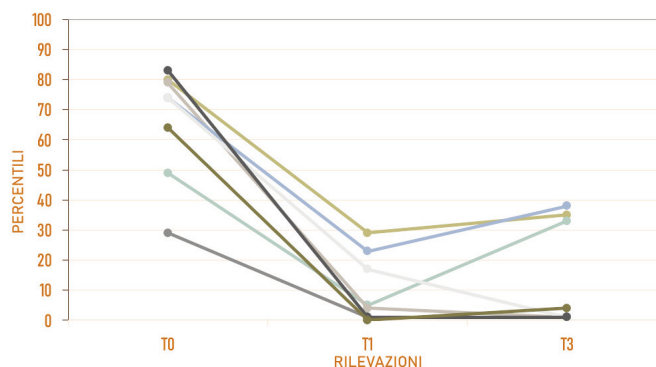
	T0			T1			T3		
	Ossessività	Impulsività	Compulsività	Ossess.	Impuls.	Compuls.	Ossess.	Impuls.	Compuls.
PZ 1	2	3	6	0	0	0	0	0	0
PZ 2	12	3	11	7	4	0	6	2	0
PZ 3	3	6	8	3	1	2	4	3	5
PZ 4	7	8	13	1	2	3	1	1	0
PZ 5	10	9	7	6	4	0	3	7	3
PZ 6	7	6	13	7	2	0	3	0	0
PZ 7	10	5	15	0	0	0	0	0	0
PZ 8	4	4	9	2	2	0	4	0	1

Dal punto di vista dei consumi, la ridotta dimensione del campione unita all’eterogeneità delle situazioni a T0 ha reso impossibile la valutazione puntiforme della ricaduta del trattamento sulle condotte di gioco. Quanto è importante sottolineare è che tra T0-T1 soltanto 1 paziente, già attivo con frequenza quotidiana, ha giocato.

La restante parte dei pazienti trattati in questo frangente temporale è risultata “non attiva”. Dalla valutazione a un mese e a 3 mesi dal trattamento (vedi Grafico 1) si conferma il medesimo scenario con un persistere dell’astensione per 6 pazienti su 8. Complessivamente quindi solo due dei coinvolti hanno messo in atto il comporta-

mento nel periodo di monitoraggio.

Grafico 2 – Andamento percentile del craving



Conclusioni

L’introduzione di una tecnica innovativa come la tDCS nelle routine di trattamento di un Servizio pubblico per le dipendenze ha richiesto uno sforzo organizzativo non di poco conto, sforzo che è stato possibile affrontare anche grazie alla collaborazione con un ente del Terzo Settore.

Tra le varie difficoltà riscontrate il monitoraggio post-trattamento è una delle maggiormente rilevanti. Tale monitoraggio infatti deve essere effettuato secondo le tempistiche indicate e non può essere posposto (il campione di trattati era composto da 15 pazienti, ma 7 di questi sono stati esclusi dal presente lavoro a causa del monitoraggio non effettuato correttamente).

Nonostante questi aspetti i risultati della sperimentazione sono assolutamente incoraggianti e suggeriscono che la stimolazione della DLPFC mediante tDCS è un’opzione di trattamento promettente per il DGA.

Il trattamento si è dimostrato sicuro e ben tollerato dai pazienti, la compliance è stata buona, non si sono riscontrati drop-out.

I pazienti hanno accolto questa proposta con molto favore anche perché si è cercato di aumentarne la compliance sottolineando come si tratti di una possibilità limitata a pochi e selezionati utenti. Questo aspetto è molto rilevante ed è confermato anche dalle altre tipologie di trattati (abbiamo infatti implementato l’offerta di trattamento anche per alcolisti, cocainomani e consumatori di crack).

Fondamentali per avere una compliance adeguata ed uno scarso numero di drop-out si sono rivelati la corretta selezione dei pazienti e la prosecuzione in parallelo degli altri trattamenti in corso.

Nell’attesa che eventuali studi futuri possano definire il target di stimolazione, il montaggio, la frequenza e l’intensità ottimali per questa popolazione clinica proseguiamo nell’utilizzo della tecnica anche su nuove tipologie

di pazienti come i tabagisti basandoci sulla letteratura ad oggi disponibile.

In conclusione possiamo affermare come la collaborazione con gli Enti del Terzo Settore all'interno del Piano Locale delle Dipendenze rappresenti un punto di forza ormai consolidato ed imprescindibile per poter rispondere nel modo più adeguato possibile alle esigenze della popolazione che si rivolge ai nostri servizi.

Bibliografia

- Antal, Alekseichuk, Bikson et al. Low intensity transcranial electric stimulation: Safety, ethical, legal regulatory and application guidelines. *Clin Neurophysiol*. 2017.
- Balodis, Kober, Worhunsky, Stevens, Pearlson, Potenza. (2012). Diminished frontostriatal activity during processing of monetary rewards and losses in pathological gambling. *Biological Psychiatry*, 71(8), 749–757.
- Bikson, Grossman, Thomas et al. Safety of Transcranial Direct Current Stimulation: Evidence Based Update 2016. *Brain Stimul*. 2016 Sep-Oct;9(5):641-661.
- Bolognini, Pascual-Leone, Fregni. Using non-invasive brain stimulation to augment motor training-induced plasticity. *J Neuroeng Rehabil*. 2009.
- Dores, A.R., Peixoto, M., Fernandes, C. et al. Neurophysiological Correlates of Near-Wins in Gambling: A Systematic Literature Review. *J Gambl Stud* (2024).
- Fregni et al. Neuromodulation Center Working Group. Evidence-Based Guidelines and Secondary Meta-Analysis for the Use of Transcranial Direct Current Stimulation in Neurological and Psychiatric Disorders. *Int J Neuropsychopharmacol*. 2021.
- Goldstein RZ, Volkow ND. Dysfunction of the prefrontal cortex in addiction: neuroimaging findings and clinical implications. *Nat Rev Neurosci*. 2011 Oct 20;12(11):652-69.
- Habib R, Dixon MR. Neurobehavioral evidence for the "Near-Miss" effect in pathological gamblers. *J Exp Anal Behav*. 2010 May;93(3):313-28.
- Hawker, C.; Merkouris, S.; Youssef, G.; Dowling, N. Exploring the associations between gambling cravings, self-efficacy, and gambling episodes: An Ecological Momentary Assessment study. *Addict. Behav*. 2021, 112, 106574.
- Hollander, E., Kwon, J. H., Stein, D. J., & Broatch, J. (1996). Obsessive-compulsive and spectrum disorders: Overview and quality of life issues. *The Journal of Clinical Psychiatry*, 57(Suppl 8), 3–6.
- Koob GF, Volkow ND. Neurobiology of addiction: a neurocircuitry analysis. *Lancet Psychiatry*. 2016 Aug;3(8):760-773. doi: 10.1016/S2215-0366(16)00104-8.
- Leeman RF, Potenza MN. Similarities and differences between pathological gambling and substance use disorders: a focus on impulsivity and compulsivity. *Psychopharmacology (Berl)*. 2012 Jan;219(2):469-90.
- Lefaucheur, Antal, A., Ayache, S. S., Benninger, D. H., Brunelin, J., Cogiamanian, F., Cotelli, M., De Ridder, D., Ferrucci, R., Langguth, B., & Marangolo, P. (2017). Evidence-based guidelines on the therapeutic use of transcranial direct current stimulation (tDCS). *Clinical Neurophysiology*, 128(1), 56–92.
- Lupi, M, Martinotti, G., Acciavatti, T., Pettorruso, M., Brunetti, M., Santacroce, R., Cinosi, E., Di Lorio, G., Di Nicola, M., & Di Giannantonio, M. (2014). Pharmacological treatments in gambling disorder: A qualitative review. *Biomed Research International*, 2014, 1–7.
- Mallorquí-Bagué, N.; Mestre-Bach, G.; Testa, G. Craving in gambling disorder: A systematic review. *J. Behav. Addict*. 2023, 12, 53–79.
- Martinotti G, Andreoli S, Giametta E, Poli V, Bria P, Janiri L. The dimensional assessment of personality in pathologic and social gamblers: the role of novelty seeking and self-transcendence. *Compr Psychiatry* 2006; 47: 350-6.
- Martinotti, G., Chillemi, E., Lupi, M., De Risio, L., Pettorruso, M., & Di Giannantonio, M. (2018). Gambling disorder and bilateral transcranial direct current stimulation: A case report. *Journal of Behavioral Addictions*, 7(3), 834–837.
- Moccia, Pettorruso, M., De Crescenzo, F., De Risio, L., di Nuzzo, L., Martinotti, G., Bifone, A., Janiri, L., & Di Nicola, M. (2017). Neural correlates of cognitive control in gambling disorder: A systematic review of fMRI studies. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 78, 104–116.
- Nitsche, Paulus. Excitability changes induced in the human motor cortex by weak transcranial direct current stimulation. *J Physiol (London)*. 2000.
- Pettorruso M, De Risio L, Martinotti G, Di Nicola M, Ruggeri F, Conte G, Di Giannantonio M, Janiri L. Targeting the glutamatergic system to treat pathological gambling: current evidence and future perspectives. *Biomed Res Int*. 2014; 2014:109786.
- Stanković, Marija, Jovana Bjekić, and Saća R. Filipović. 2023. "Effects of Transcranial Electrical Stimulation on Gambling and Gaming: A Systematic Review of Studies on Healthy Controls, Participants with Gambling/Gaming Disorder, and Substance Use Disorder" *Journal of Clinical Medicine* 12, no. 10: 3407.