

ISSN: 1970-5492

Capsula Eburnea

A multidisciplinary medical journal for young doctors



On behalf of :
“Segretariato Italiano Medici e Specializzandi” (SIMS)
“Italian Association of Young Doctors” (SIGM)

Vol. 3, 2008

Capsula Eburnea
Vol. 3, 2008
Index

1. SEVERE OSTEOPOROSIS AND MULTIPLE FRACTURES: A CASE REPORT

Daniela Martorana, Vito Martorana, Dario Brancato & Emanuele Cannizzaro

2. THE ROLE OF HYPERBARIC OXYGEN THERAPY IN A CASE OF SUSPECTED PUBICOSTEITIS IN PROFESSIONAL ATHLETE

Salvatore Pirri & Fabrizia Terrazzino

3. SPECTRAL DIAGNOSIS OF CUTANEOUS MELANOMA: USE AND ASSESSMENT OF AN EXPERIMENTAL PROTOTYPE

Edoardo Raposio, Walter Paternich, Giacomo Robello, Edoardo Raposio, Walter Paternich, Giacomo Robello, Claudia Porzio, Ilaria Baldelli, Maria Beatrice Gatteschi, Mauro Truini, Claudio Bozzo, Ugo Tedeschi & Pierluigi Santi.

4. KAWASAKI DISEASE: AN IMPORTANT CAUSE OF CARDIOVASCULAR MORBIDITY AND MORTALITY IN PEDIATRICS

Miriam Distefano & Valentina Giacchi

5. PROTEIN KINASES AND PHOSPHATASES AS DRUG TARGETS TO CURE HUMAN MALIGNANCIES

Manlio Vinciguerra

6. MILK INTOLERANCE: A BIG TROUBLE FOR LITTLE PATIENTS

Salvatore Accomando, Francesca Serraino, Roberta Antona & Giovanni Corsello

7. MINIVOLLEY AND MOTOR SKILLS: AN EXPERIMENTAL STUDY

Rosario Barone, Salvina Zingales, Antonio Taormina, Giuseppe Battaglia, Filippo Macaluso, Daniele Palumbo & Vincenza Leonardi

8. EFFECTS OF WATER TEMPERATURE ON SWIMMERS

Filippo Macaluso, Daniele Palumbo, Rosario Barone, Giuseppe Battaglia, Felicia Farina & Valentina Di Felice

9. HEAT SHOCK PROTEIN 70 AND EXERCISE: MORPHOFUNCTIONAL RELATIONSHIPS

Daniele Palumbo, Filippo Macaluso, Giuseppe Battaglia & Rosario Barone

10. BIOLOGICAL AND METHODOLOGICAL BASES OF MUSCULAR STRETCHING

Giuseppe Battaglia, Rosario Barone, Daniele Palumbo & Filippo Macaluso

11. BRONCHIAL INFLAMMATION IN CHRONIC OBSTRUCTIVE PULMONARY DISEASE: RELATIONSHIP WITH EMPHYSEMA AND SMALL AIRWAYS DISEASE

Silvestro Ennio D'Anna, Giuseppe Galardi, Francesca Rubino & Antonino Di Stefano

12. ADULT ORBITAL TUMORS: A RETROSPECTIVE PILOT STUDY OF OUR EXPERIENCE

Alessandro De Stefano & Daniela Lattanzi

13. DELAYED FACIAL NERVE PALSY FOLLOWING OTOLOGIC SURGERY: WHEN TO SUSPECT A HERPES VIRUS INFECTION?

Alessandro De Stefano, Giampiero Neri, Francesco Dispenza & Daniela Lattanzi

(continued on the next page)

(continued from the previous page)

14. SOME LINGUISTIC OBSERVATIONS ON PATIENTS' BLOGS

Marianna Lya Zummo

15. ROLE OF SMADS IN RESPIRATORY DISEASE PATHOGENESIS

Francesca Magno, Simona Corrao, Tiziana Loria & Melania Lo Iacono

16. UPPER EXTREMITY EXAMINATION PROTOCOLS OF GERIATRIC PATIENTS UNDERGOING DIALYSIS

Ario Federici, Anna M. P. Mastropasqua, Sergio Baldini, Silva Casadei, Manuela Valentini, Cesare Bartolucci & Ivano Testa

17. TELOMERASE ACTIVITY AND TELOMERIC STATES IN CELL PROLIFERATIVE AND DIFFERENTIATIVE MECHANISMS

Tiziana Loria, Simona Corrao, Francesca Magno, Melania Lo Iacono, Rita Anzalone & Giampiero La Rocca

18. MR IMAGING IN ACUTE MARCHIAFAVA-BIGNAMI DISEASE: A CASE REPORT

Giovan Battista Lo Piparo, Alessandro Schiavello, Dario Altieri, Domenico Grisafi & Corrado Reina

19. THE FROZEN SHOULDER: UNKNOWN AND KNOWN KNOWNS

Felicia Soviero, Simona Gucciardi & Alessandro Geraci

Cover image from:

3. SPECTRAL DIAGNOSIS OF CUTANEOUS MELANOMA: USE AND ASSESSMENT OF AN EXPERIMENTAL PROTOTYPE

Edoardo Raposio, Walter Paternich, Giacomo Robello, Edoardo Raposio, Walter Paternich, Giacomo Robello, Claudia Porzio, Ilaria Baldelli, Maria Beatrice Gatteschi, Mauro Truini, Claudio Bozzo, Ugo Tedeschi & Pierluigi Santi.

We are grateful to the Reviewers of this Volume:

Salvatore Accomando, Gianluca Albanese, Rita Anzalone, Fabio Bucchieri, Emanuele Cannizzaro, Marina Caserta, Anna M. Czarnecka, Silvestro Ennio D'Anna, Sabrina David, Francesco Dispenza, Valentina Di Felice, Antonino Di Stefano, Alessandro Geraci, Pierluigi Ingrassia, Giampiero La Rocca, Giovanni Li Volti, Anna Martorana & Manlio Vinciguerra,

SEVERE OSTEOPOROSIS AND MULTIPLE FRACTURES: A CASE REPORT

OSTEOPOROSI SEVERA E FRATTURE MULTIPLE: UN CASO CLINICO

Daniela Martorana¹, Vito Martorana², Dario Brancato³, Emanuele Cannizzaro¹

CAPSULA EBURNEA, 3(1):1-4, 2008.

¹ Dipartimento di Scienze Farmacologiche, Università degli Studi di Palermo, Italy.

² U.O.C Ortopedia e Traumatologia, Ospedale Civico Partinico AUSL 6 Palermo, Italy.

³ U.O.C Ortopedia e Traumatologia, Ospedale Civico Partinico AUSL 6 Palermo, Italy

Correspondence:

Dr. Emanuele Cannizzaro:
manuc0@tin.it

Received: January 5th, 2008
Revised: January 15th, 2008
Accepted: January 16th, 2008.

No conflicts of interest were declared.

Category of paper:
CASE REPORT

Language of the Article: Italian.

Abstract.

The authors present a clinical case of severe osteoporosis with periprosthetic femoral fracture and numerous vertebral fractures in a 87 years old patient. Treatment had consist in reposition of prosthesis, fracture reduction with internal fixation plate. Teriparatide drug was administer as usual protocol. Clinical and X-rays controls after 3, 6 and 12 months showed a good result of therapy, with a healing fracture, a orthostatism and normal deambulation, with improvement of densimetry values and a less dorsolombar pain, as well as a significant improvement of patient's quality of life.

KEYWORDS: osteoporosis, teriparatide, osteosynthesis

Riassunto.

Gli autori riportano un caso clinico di osteoporosi severa con frattura periprotetica di femore e crolli vertebrali multipli in una paziente di 87 anni, trattata successivamente con il riposizionamento dello stelo protesico e osteosintesi della frattura femorale mediante fissatore interno a placca; si è inoltre eseguito il contemporaneo trattamento farmacologico con teriparatide secondo normale protocollo. I controlli clinici e radiografici che si sono susseguiti nel tempo hanno mostrato un soddisfacente esito del trattamento, evidenziato dalla guarigione della frattura, dalla ripresa della stazione eretta, della deambulazione, dal miglioramento dei valori densitometrici, dalla diminuzione della rachialgia dorsolombare e, soprattutto, dal miglioramento della qualità della vita della paziente stessa.

PAROLE CHIAVE: osteoporosi, teriparatide, osteosintesi

Introduzione

L'osteoporosi è definita dall'Organizzazione Mondiale della Sanità come una malattia sistemica ad eziopatogenesi multifattoriale, causata da una patologica riduzione della massa ossea e da alterazioni microarchitetturali del tessuto osseo. Si tratta quindi di una alterazione essenzialmente di tipo quantitativo, nella quale la composizione minerale del tessuto osseo rimane inalterata (1).

Questa patologia deve essere diagnosticata il più precocemente possibile mediante una valu-

tazione clinica (anamnesi, esame obiettivo etc), una valutazione strumentale (RX, metodiche densitometriche DEXA o a ultrasuoni) e da indagini ematologiche (2). Il trattamento, principalmente farmacologico, ha lo scopo di prevenire sia le prime fratture sia le recidive; pazienti con precedenti fratture del collo femorale hanno un rischio raddoppiato di frattura del femore controlaterale (3,4).

La frattura è quindi il vero momento di esteriorizzazione della malattia e, pur potendo interessare tutte le ossa dello scheletro, le fratture o-

steoporotiche sono più frequenti nelle sedi soggette a maggiori sollecitazioni meccaniche (5), quali le vertebre, il collo femorale, il polso e con frequenza minore, l'epifisi prossimale dell'omero.

Caso clinico

Paziente di sesso femminile di 86 anni, in trattamento farmacologico per ipertensione arteriosa, diabete mellito non insulino-dipendente e ipercolesterolemia. Nel 2001 in seguito a frattura mediale dell'anca sinistra è stata trattata con impianto di endoprotesi biarticolare cementata. La paziente è giunta alla nostra osservazione nel Dicembre 2006 per frattura periprotetica femorale sinistra (fig. 1) e crolli vertebrali dorso-lombari multipli (fig. 2), causati da una caduta accidentale.

Al momento del ricovero è stata eseguita radiografia del rachide dorso-lombare e una densitometria ossea DEXA, l'esame rx ha evidenziato pregressa frattura vertebrale dorsale (D11) e l'esame densitometrico T-score lombare L2-L4 = 4,3 e T-score femorale = 3,41. Gli esami ematochimici hanno inoltre messo in evidenza una lieve ipocalcemia e iperglicemia; il trattamento chirurgico per la riduzione della frattura periprotetica è stato eseguito con l'applicazione di un fissatore interno a placca O'Nil della Zimmer con viti e cerchiaggi metallici.

All'esame rx post-operatorio si è evidenziato il buon posizionamento dello stelo protesico e una soddisfacente sintesi della frattura (fig. 3). La paziente in seguito ad un decorso post-operatorio regolare e iniziale fisiokinesiterapia a letto extracarico, dopo una settimana dall'intervento, è stata dimessa con prescrizione di continuare la fisioterapia presso il proprio domicilio e praticare il trattamento farmacologico intrapreso con il teriparatide (alla dose di 20 mg una volta al giorno per sottocute), calcio, vitamina D e eparina a basso peso molecolare, secondo i protocolli normalmente adottati. Successivi controlli clinici e radiografici ambulatoriali hanno successivamente confermato un progressivo miglioramento delle condizioni cliniche della paziente. Il carico è stato quindi concesso, con ausilio di girello deambulatore, dopo due mesi dall'intervento.

Dopo otto mesi dall'intervento (fig. 4a, b) è stata infine eseguita una nuova densitometria DEXA che ha mostrato il miglioramento dei precedenti valori attraverso un significativo aumento della BMD (Body Mineral Density), come di seguito riportato: T-score lombare L2-L4 = -3,79; T-score femore = -2,63.

Al controllo clinico dopo un anno (Dicembre 2007) la paziente è tornata alla nostra osservazione deambulando senza appoggio, riferendo un netto miglioramento della rachialgia.



Fig. 1: Frattura periprotetica femorale sinistra, all'atto dell'ammissione della paziente in reparto.



Fig. 2: Fratture vertebrali multiple, all'atto dell'ammissione della paziente in reparto.



Fig. 3: Quadro radiografico post-operatorio.

Discussione

Il 90% di tutte le deformità vertebrali sono di natura osteoporotica, sono tipiche dell'età post-menopausale, non sempre sono conseguenti a cadute, ma possono essere causate da carichi di compressione o anche solo banali cambi di posizione. Lo schiacciamento di più vertebre comporta il progressivo cambiamento del fisiologico aspetto del tronco, con la comparsa di una ipercifosi (gobba) sempre più evidente; le

fratture vertebrali possono accompagnarsi a sintomatologia algica o essere del tutto asintomatiche (6,7).

Il trattamento può essere: i) conservativo, con riposo a letto, busto ortopedico, terapia farmacologica e terapia fisico-riabilitativa; ii) chirurgico, con due metodiche principali: vertebroplastica e cifoplastica.

Entrambe queste metodiche prevedono l'applicazione di cemento acrilico nel corpo vertebrale, che nel caso della cifoplastica viene iniettato in un palloncino precedentemente introdotto nel corpo vertebrale. Le indicazioni al trattamento chirurgico sono date da un dolore notevolmente intenso, da deformità del corpo vertebrale con diminuzione dell'altezza maggiore del 30%, dall'età dei pazienti maggiore di 65 anni e da fratture vertebrali osteoporotiche relativamente recenti (due-tre mesi).

Le fratture del collo del femore hanno un considerevole impatto sugli anziani in termini di salute, produttività e qualità di vita (8,9). Le fratture di femore sono caratterizzate da una elevata mortalità, che raggiunge quasi il 50% nei soggetti di sesso maschile di età maggiore di 85 anni. Dopo dimissione per frattura di femore, il recupero funzionale è spesso solo parziale. Il trattamento, sempre chirurgico, prevede nelle fratture mediali composte e nei soggetti più giovani o l'osteosintesi con viti (di solito tre), o nella maggior parte delle dei casi e soprattutto nelle fratture mediali scomposte, l'impianto di endoprotesi o artroprotesi (10).

Il trattamento chirurgico delle fratture laterali del collo femorale nell'anziano prevede normalmente l'osteosintesi con placca e viti o quella con chiodo endomidollare.

I principali farmaci antiosteoporotici (2) con evi-

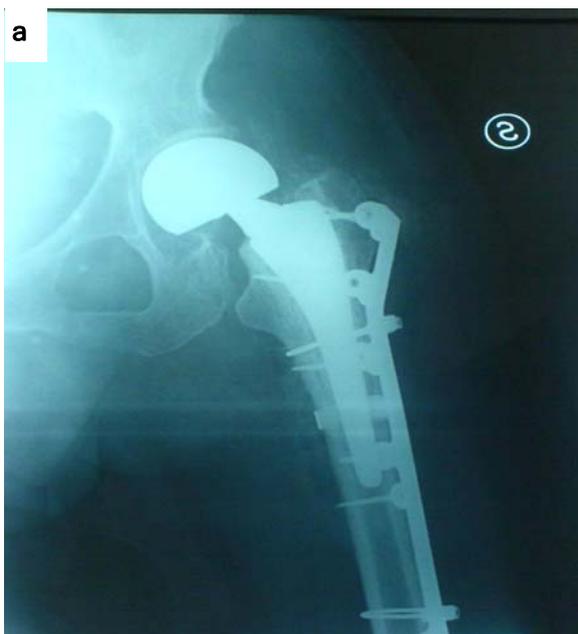


Fig. 4: a) e b) Controllo radiografico dopo otto mesi

denza clinica di efficacia sulle prevenzioni delle fratture sono:

- **estrogeni** (tipicamente, terapia ormonale sostitutiva dopo la menopausa);
- **bisfosfonati** (tra cui i più usati sono l'alendronato, il risedronato, il clodronato, il pamidronato, il neridronato);
- **SERM** (prodotti "simili" agli estrogeni: il primo SERM attivo solo sull'osso è il raloxifene);
- **calcitonina** (un ormone prodotto dalla tiroide);
- **derivati della vitamina D** (calcifediolo, calcitriolo, alfa-calcidolo);
- **ranelato di stronzio** (agisce sull'osso sia rallentando il riassorbimento, sia stimolando la neoformazione);
- **teriparatide** (derivato sintetico del paratormone, capace di stimolare anche la formazione di tessuto osseo).

Il teriparatide è costituito dal frammento biologicamente attivo 1-34 del paratormone umano (PTH) (11,12). Il meccanismo d'azione del Teriparatide si basa sulla dimostrazione scientifica che, mentre l'esposizione continua a PTH aumenta il riassorbimento osseo e riduce il volume trabecolare, la sua somministrazione parenterale a dosaggi intermittenti è in grado di aumentare la neo apposizione ossea. Il teriparatide agisce quindi con un meccanismo tipicamente anabolico, stimolando primariamente l'attività osteoblastica e successivamente la deposizione di nuovo tessuto osseo. E' un principio attivo in grado non solo di rallentare od arrestare il processo osteoporotico, ma di favorire il ripristino della massa ossea perduta.

La clinica conforta i dati sopra riportati, confermando come tale molecola sia in grado di ridurre sia il rischio di nuove fratture vertebrali moderate o severe, indipendentemente dal numero e dalla gravità delle fratture pregresse, nonché il rischio di nuove fratture vertebrali multiple (13,14).

Dall'esame dei dati clinico strumentali estrapolati dal caso clinico in esame, appare evidente come il recupero funzionale ottenuto dalla nostra paziente sia da attribuire al trattamento chirurgico scelto ed alla contemporanea terapia farmacologica praticata.

La modalità con cui si è provveduto al riposizionamento dello stelo protesico, assicurandone la tenuta con placca, viti e cerchiaggi metallici, ha permesso una sintesi della frattura molto soddisfacente; tutto ciò, supportato dal trattamento farmacologico con il teriparatide, ha permesso una guarigione pressoché completa della medesima frattura. Il trattamento farmacologico, riteniamo inoltre, sia stato responsabile della diminuzione della rachialgia causata dalle fratture vertebrali multiple e quindi, della successiva ripresa della corretta stazione eretta.

La progressiva ripresa del carico e della deam-

bulazione hanno infine permesso alla nostra paziente di ottenere un notevole miglioramento della qualità della vita, difficilmente ottenibile in soggetti anziani affetti contemporaneamente da diverse patologie debilitanti e complesse, che concorrono a rendere difficoltoso l'ottenimento di un recupero funzionale così soddisfacente.

Bibliografia

- 1) Cooper C, Melton LJ 3d. Epidemiology of osteoporosis. Trends Endocrinol Metab 1992;3:224-9.
- 2) Consensus development conference: diagnosis, prophylaxis, and treatment of osteoporosis. Am J Med 1993;94:646-50.
- 3) Albright F. Smith P.H., Richardson A.M. "Postmenopausal osteoporosis" (1941) JAMA 116 :2465-2474.
- 4) Osteoporosis: ethiology, diagnosis and management. (1988) Riggs B.L. (ed), Raven Press, New York.
- 5) Cummings SR, Nevitt MC, Browner WS, Stone K, Fox KM, Ensrud KE, et al. Risk factors for hip fracture in white women. Study of Osteoporotic Fractures Research Group. N Engl J Med 1995;332:767-73.
- 6) Lindsay R, Scheele WH, Neer R, Pohl G, Adams S, Mautalen C et al. Sustained vertebral fracture risk reduction after withdrawal of teriparatide in postmenopausal women with osteoporosis. Arch Intern Med 2004;164:2024-30.
- 7) Jiang Y, et al. J Bone Min Res 2002;17 (Suppl.):S135
- 8) Cauley JA, Thompson DE, Ensrud KC, Scott JC, Black D. Risk of mortality following clinical fractures. Osteoporos Int 2000;11:556-61.
- 9) U.S. Congress Office of Technology Assessment, (1994) Hip Fracture Outcomes in People Aged 50 and Over-background Paper, Ota-Bp-M-Washington, D.C.
- 10) Seeman E. Bone quality. Adv Osteoporotic Fracture Management 2002;2:2-8.
- 11) Dobnig H, Turner RT. The effects of programmed administration of human parathyroid hormone fragment (1-34) on bone histomorphometry and serum chemistry in rats. Endocrinology 1997;138:4607-12.
- 12) Ettinger B, San Martin J, Crans G, Pavo I. Differential effects of teriparatide on BMD after treatment with raloxifene or alendronate. J Bone Miner Res 2004;19:745-51.
- 13) Chrischilles EA, Butler CD, Davis CS, Wallace RB. A model of lifetime osteoporosis impact. Arch Intern Med 1991;151:2026-32.
- 14) Riggs BL, Melton LJ The worldwide problem of osteoporosis: insights afforded by epidemiology Bone 1995;17: 505S-511S.

THE ROLE OF HYPERBARIC OXYGEN THERAPY IN A CASE OF SUSPECTED PUBIC OSTEITIS IN PROFESSIONAL ATHLETE.

IL RUOLO DELLA OSSIGENOTERAPIA IPERBARICA IN UN CASO DI SOSPETTA OSTEITE PUBICA IN ATLETA PROFESSIONISTA.

Salvatore Pirri¹, Fabrizia Terrazzino²

CAPSULA EBURNEA, 3(2):1-3, 2008.

¹ Dipartimento di Scienze Anestesiologiche, Rianimatorie e delle Emergenze - AOUP "P. Giaccone" Palermo, Italy.

² DIBIMEL - Sezione di Scienze Radiologiche - AOUP "P. Giaccone" Palermo, Italy

Correspondence:

Dr. Salvatore Pirri:
salvo.pirri@libero.it

Received: January 5th, 2008
Revised: January 19th, 2008
Accepted: January 23th, 2008.

No conflicts of interest were declared.

Category of paper:
CASE REPORT

Language of the Article: English.

This work has been presented as Poster during the "60° Congresso Nazionale SIAARTI - 10-13 Ottobre 2006, Bastia Umbra (PG)".

Abstract.

"Pubalgia" is known to be an invalidating condition for athletes, until to force the athlete to long absences from the training or competitions, cause of wrong diagnosis or inadequate therapy. Here we describe the clinical case of a patient, male, 29, professional soccer player, admitted to our ambulatory for right inguinal and pubic district pain, irradiated to perineum until sacrum-coccygeum joint. A pelvic muscle-skeletal segment MRI examination showed a 1 centimeter diameter endomedullar area, to be considered as a bone medullar oedema at anterior extremity of the right pubic branch. After careful clinical examination and verified the patient recruiting, HBOT treatment was started with this protocol: 2.8 ATA, inspiring O₂ 100% mixture, 1-hour a day. On 28th treatment meeting patient felt a significant reduction of pain symptomatology. Following MRI examination was performed on 48th meeting treatment and showed evident reduction of oedematous area.

KEYWORDS: Hyperbaric Oxygenation, Osteitis Pubic, Pubalgia

Riassunto.

La "pubalgia" è riconosciuta come condizione molto invalidante per lo sportivo, tanto da costringere l'atleta a lunghe assenze dagli allenamenti e dalle competizioni per diagnosi imprecisa o terapia inadeguata. Descriviamo il caso di un paziente di sesso maschile, 29 anni, calciatore professionista, giunto al nostro ambulatorio con sintomatologia dolorosa in regione inguino-pubica di destra, irradiantesi in regione perineale sino all'articolazione sacro-coccigea. Un esame RM muscolo-scheletrico della regione pelvica evidenziava, in corrispondenza dell'estremo anteriore della branca pubica di destra, una piccola area endomidollare, estesa per circa 1 cm, riferibile ad edema della midollare ossea. Dopo attento esame clinico e verificata la reclusibilità del paziente, veniva intrapreso trattamento HBOT, con il seguente protocollo: 2.8 ATA in miscela di O₂ al 100%/1 ora/die. Alla 28a seduta di trattamento il paziente notava un apprezzabile miglioramento della sintomatologia dolorosa. Il successivo esame RM, eseguito in 48a seduta di trattamento, evidenziava la notevole riduzione dell'area edematosa.

PAROLE CHIAVE: Ossigenoterapia Iperbarica, Osteite Pubica, Pubalgia

Introduction

The term "pubalgia" describes a pain syndrome of the abdominal, pubic and crural district, but with different anatomic and clinical scenes.

Osteitis pubis is characterized by diffuse pain, inflammation, and bony changes in the pubic symphysis. "Pubalgia" is known to be an invalidating condition for athletes, until to force the athlete to long absences from the training or competitions, cause of wrong diagnosis or inadequate therapy (1).

Professional athletes, and anyone practices sport activity at professional level dislike long-term treatment based on FANS or cortisone, cause of frequent gastric side-effects and a possible risk of anti-doping tests interference.

Case report

Here we describe the clinical case of a patient, male, 29, professional soccer player, admitted to our ambulatory for right inguinal and pubic district pain irradiated to perineum until sacrum-coccygeum joint. The symptomatology started 8 months before and grew up during the time, in occasion of sport activity until patients became unable to sport performance.

The patient treated the symptomatology with FANS, kinesitherapy, lasertherapy, agopuncture without any result. He described his pain as 6, concerning visual analogic scale (VAS) from 0 to 10, were 0 means no pain and 10 the maximum pain. A pelvic muscle-skeletal segment MRI examination showed a 1 centimeter diameter endomedullar area, to be considered as a bone medullar oedema at anterior extremity of the right pubic branch, at the back of pubic symphysis (Fig. 1). No pelvic-perineum muscle-tendon lesions have been showed.



Fig. 1: MRI image obtained by STIR sequences. Hyper intensity of right ilio-pubic branch bone tissue such as probable intraspongious oedema. Minimal bone-related fluid shedding associated (Red arrow).

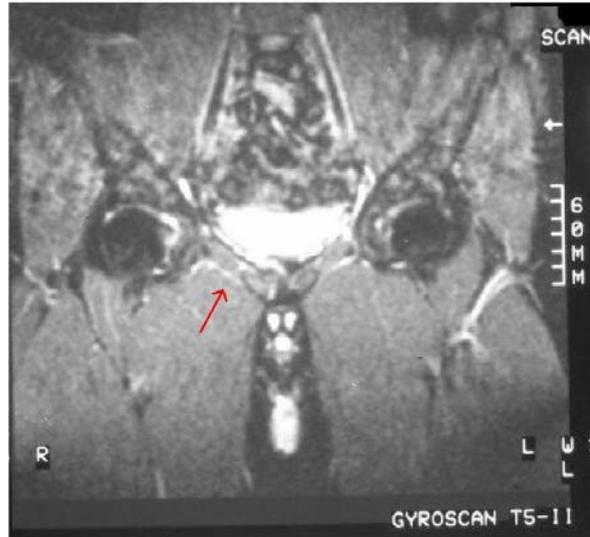


Fig. 2: MRI image obtained by STIR sequences. Reduction in hyper intensity and intraspongious oedema previously pointed out (Red arrow).

Moreover, ultrasounds scanning examination of right inguinal region pointed out alteration on insertion intensity of great abductor muscle, with irregularity of the below cortical outline as an insertion inflammation.

After careful clinical examination and verified the patient recruiting, HBOT treatment was started with this protocol: 2.8 atmospheres absolute pressure (ATA), inspiring O₂ 100% mixture, 1-hour a day. Pain measurement was performed by VAS: the purpose of our treatment was to obtain a VAS score less than 3.

On 28th treatment meeting patient felt a significant reduction of pain symptomatology, describing a VAS of 4. Following MRI examination was performed on 48th meeting treatment and showed evident reduction of oedematous area (Fig. 2). Patient reported a VAS less than 3, so we decided for patient discharge, recommending physical rehabilitation by physiokinesitherapy.

Conclusions

On the scene of "algo-dystrophies", as osteitis pubis, one of the basic moment on functional damage genesis is represented by microcirculation alteration with consequent oedema generation and compression-distraction symptoms: that causes metabolic alterations, bone matrix rarefying, pain and functional limitation (2,3).

The patient responded completely to HBOT. During beginning phase (meeting treatment 1-20), patient complained of an increasing of pain to ascribe, probably, to beginning of oedema re-absorption. Afterwards, a constant regression of pain was achieved.

Hyperbaric oxygen osteo-genesis activity is

time well-known, so HBOT, in a multidisciplinary therapeutic approach, cause of his beneficial properties on microcirculation (4-6), holds a primary role, making a break in the vicious circle "oedema-compression-microcirculation alteration-oedema".

HBOT treatment is indicated, in all diseases related to tissue oxygen tension reduction, exploiting the increasing of plasmatic oxygen percentage, according to Henry principle. HBOT carry out his anti-oedema action through a direct vasoconstrictive action on arterial and venous component of microcirculation (6). In particular, arteriolar vasoconstriction could make a reduction in arterial flow for more than 30%, with consequent lesser venous stasis, lesser compression on lymphatic vessels and better drainage (4,6). Venous vasoconstriction, instead, determines a direct anti-oedema action because it works like a "*vis a tergo*", increasing venous drainage, reducing oedema.

References

1. Benazzo F, Mosconi M, Zanon G, Bertani B: Groin pain. J. Sports Traumatol. 1999;21 (1):30-40.
2. Karlsson J et al: Chronic groin injuries in athletes. Recommendations for treatment and rehabilitation. Sports Med 1994;17:141-148.
3. Morelli V, Smith V: Groin injuries in athletes. American Family Physician 2001;Vol.64N°8; October 15,
4. Oriani G, Marroni A, Wattel F: Handbook of hyperbaric medicine. Eds. Springer 1995:542-568.
5. Wang C, Schwaitzberg S, Berliner E, Zarin DA, Lau J. Hyperbaric oxygen for treating wounds: a systematic review of the literature. Arch Surg. 2003 Mar;138 (3):272-9; discussion 280. Review
6. Broussard CL. Hyperbaric oxygenation and wound healing. Journal of Wound Ostomy and Continence Nurse July 2003 Vol.30 Number 4:210-6.

SPECTRAL DIAGNOSIS OF CUTANEOUS MELANOMA: USE AND ASSESSMENT OF AN EXPERIMENTAL PROTOTYPE

DIAGNOSI SPETTRALE DI MELANOMA CUTANEO: UTILIZZO E VALUTAZIONE DI UN PROTOTIPO SPERIMENTALE

Edoardo Raposio, Walter Paternich, Giacomo Robello, Claudia Porzio, Ilaria Baldelli, Maria Beatrice Gatteschi, Mauro Truini, Claudio Bozzo*, Ugo Tedeschi*, Pierluigi Santi.

CAPSULA EBURNEA, 3(3):1-6, 2008.

U.O. Chirurgia Plastica e Ricostruttiva, Istituto Nazionale per la Ricerca sul Cancro, Genova

* Istituto D'Appolonia S.p.A., Via S. Nazaro 19, 16145 Genova, Italy

Correspondence:

Dr. Walter Paternich:
patewa@virgilio.it

Received: December 28th, 2007
Accepted: January 15th, 2008.

No conflicts of interest were declared.

Category of paper:
ORIGINAL PAPER

Language of the Article: Italian.

Note: the abstract in Italian is at the end of the paper.

Abstract.

As early diagnosis is the gold standard in the treatment of melanoma; the Plastic and Reconstructive Surgery Unit at The National Institute for Cancer Research in Genoa, Italy is carrying on a new project based on spectrophotometric study of the pigmented skin lesions in collaboration with DV S.r.l. (Padova, Italy). The purpose is to develop, test and validate a prototype system (Spectramed) for the analysis of skin lesions, providing acquisition and visualization of the affliction in visible and near-infrared light bands. The non-invasive system is based on fast spectral imaging to extract high level features for melanoma detecting and diagnosis. The spectrographic system is based on the PGP (Prism-Grating-Prism) technology, which analyses the light spectrum (from infrared to ultraviolet) independently of light polarization. The spectrometer, obtained by the combination of the spectrograph with the matrix optical sensor, allows the colour measurement along a line on a large number of points, with high spatial and spectral resolution. By now we have found 13 melanomas out of 400 lesions examined. Clinical impact is validated by a program coordinating the activities of the medical units involved. After gathering an informed consent, lesions at risk are thus excised and tested with Spectramed. At the moment, the data collection is allowing the creation of a database for diagnostic correlations between test data and histologic features.

KEYWORDS: Cutaneous melanoma, early diagnosis, spectrophotometry

Introduzione

Il melanoma cutaneo è una lesione neoplastica maligna che origina dai melanociti della cute e delle mucose, dai melanociti che costituiscono i nevi (i cosiddetti nevociti) e, molto più raramente, da melanociti posti in sedi extracutanee (occhio, orecchio interno, meningi ecc.) (1-6). Considerato in passato un tumore raro (tasso di incidenza 1-2 casi/anno/100 000 abitanti) è oggi in continua espansione. Infatti il melanoma cutaneo rappresenta circa il 3-4 % di tutte le neoplasie maligne. La sua incidenza sta progressivamente aumentando in tutto il mondo, soprattutto nella popolazione caucasica, con un incremento annuo di circa il 5-8 %. In Italia

l'incidenza attuale è compresa tra 7-8 nuovi casi per 100.000/anno, con valori più elevati nelle regioni del Nord (7-9).

Numerosi studi condotti sono concordi nel sostenere che lo spessore del tumore secondo l'indice di Breslow ed il livello di Clark rappresentano il principale fattore di rischio nella diffusione metastatica e nella sopravvivenza. Si calcola che l'incidenza annua di recidiva sia del 5% per i pazienti con melanoma primitivo con spessore inferiore ad 1,5 mm e più del 30% per quelli con uno spessore superiore ai 4 mm. Il trattamento delle forme metastatiche presenta percentuali di successo molto basse (10-20%) ed è pertanto cruciale la diagnosi precoce (per

spessori < 1 mm² la sopravvivenza a 5 anni è del 97-98%) (10-11).

Appurato il fatto che la diagnosi precoce rappresenti il "gold standard" nella lotta al melanoma, l'U.O. di Chirurgia Plastica dell'Università degli Studi di Genova ha sviluppato un progetto denominato AISPEM basato sullo studio spettrofotometrico delle lesioni cutanee pigmentate. Il nostro progetto di ricerca iniziato nel Dicembre 2004 e si pone l'obiettivo di sviluppare, testare e validare un sistema prototipale in grado di fornire al medico un valido supporto analitico per quello che concerne le lesioni cutanee pigmentate, consentendo l'acquisizione e la visualizzazione delle medesime con un intervallo spettrale compreso tra il visibile (blu - violetto) equivalente a 1000 nm e l'infrarosso vicino (NIR - near infrared) equivalente a 400 nm a step di 5 nm.

Il sistema adotterà un metodica non invasiva basata sull'imaging iperspettrale consentendo pertanto un utilizzo innovativo di questa tecnologia nell'estrazione delle caratteristiche di alto livello per l'individuazione del melanoma cutaneo.

Materiali e metodi

Il sistema analitico si basa su tre distinti moduli:
 ✓ Hardware di acquisizione costituito dall'integrazione di uno spettrofotometro con il sensore della matrice ottica (Fig. 1).

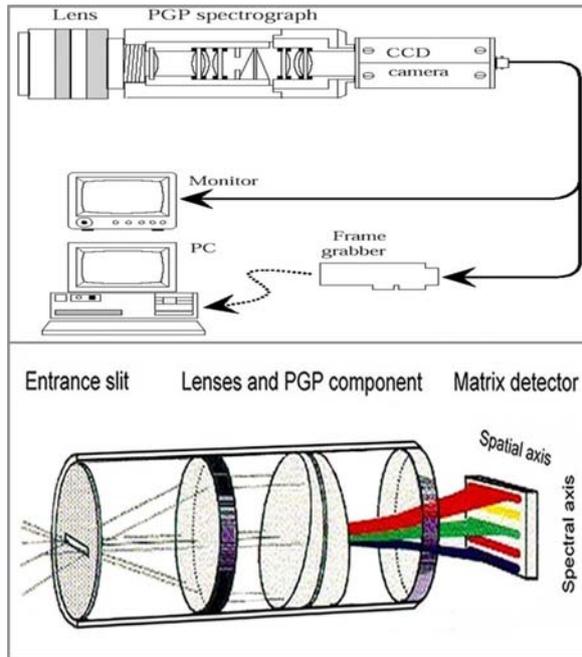


Fig. 1: Rappresentazione schematica relativa al modulo di acquisizione hardware. Dispositivo costituito dall'integrazione di uno spettrofotometro dotato di tecnologia PGP, con il sensore della matrice ottica, interfacciato al corrispettivo software analitico; taluna metodica consente una valutazione cromatica con elevatissima risoluzione spaziale e iperspettrale.

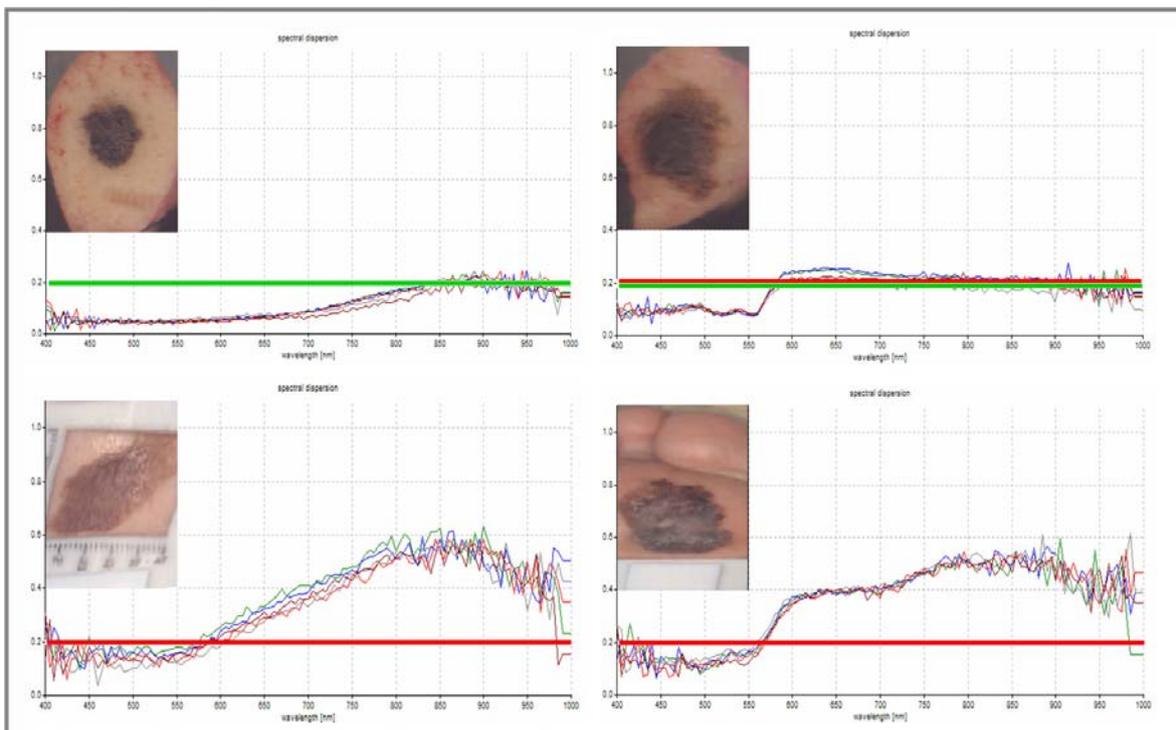


Fig. 2: Esempi relativi agli spettri di riflettanza definenti il grado di benignità, borderline o malignità, forniti direttamente dallo strumento nel corso del processo analitico, in base al grado di assorbanza registrato dallo stesso e stabilito corrispondere ad un valore approssimativo di 0,2.

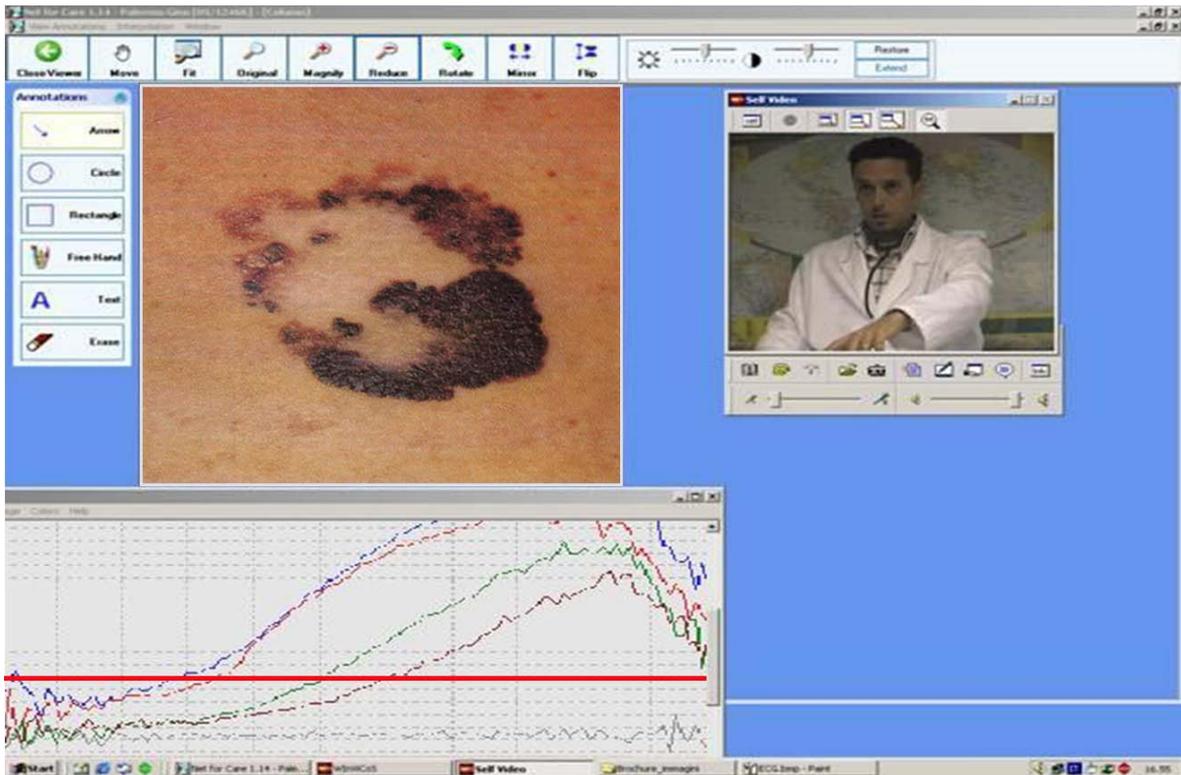


Fig. 3: Esempio di telemedicina. Sistema composto da due postazioni remote (es. un centro specialistico e uno studio di medicina di base) collegate tramite la rete internet opportunamente protetta e avviate da una connessione audio/video che utilizza opportune webcam ad alta definizione (tipo Canon Osprey).

✓ Modulo di supporto analitico utilizzato durante la fase di diagnostica: visualizzazione delle immagini, analisi ed estrazione delle bande spettrali visibili e infrarosse, archiviazione dati acquisiti per il follow-up dei pazienti. (Fig. 2).

✓ Modulo per la telemedicina nell'ottica di creare un network consultivo territoriale con l'obiettivo di coinvolgere anche gli ambulatori di

medicina generale (Fig. 3).

La tecnica spettrofotometrica prevede due distinte modalità acquisitive:

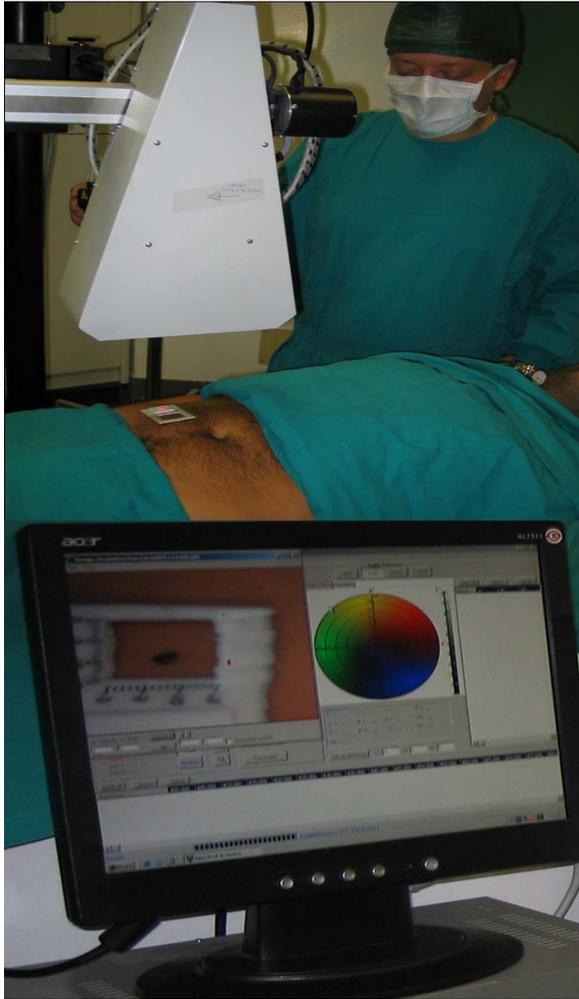
- Ambulatoriale mediante il prototipo On-line (Fig. 4).
- Intraoperatoria mediante il prototipo Off-line (Fig. 5).

La metodologia spettrofotometrica da noi operata prevede una prima analisi della lesione pigmentata mediante lo strumento dedicato ambulatoriale, successivamente si procede all'escissione chirurgica della medesima lesione la quale verrà infine analizzata con il prototipo intraoperatorio al fine di aumentarne i parametri di confronto.

Il processo d'analisi sviluppato segue un approccio che vuole sfruttare l'alta risoluzione



Fig. 4: Prototipo Off Line. Processo di acquisizione ex vivo dopo exeresi chirurgica. In alto a sinistra: setup dello strumento; In alto a destra: posizionamento del pezzo operatorio su apposito vetrino; In basso a sinistra: alloggiamento del preparato sul supporto mobile; In basso a destra: avvio del processo di acquisizione, visualizzazione ed analisi della lesione.



spettrale che caratterizza la tecnologia d'acquisizione utilizzata nei prototipi descritti. L'intento è quello di analizzare l'insieme dei dati estratti dai casi negativi e positivi, e da questo insieme ricavare un modello dello spettro della lesione con cui confrontare i nuovi casi e stimarne di conseguenza la probabilità che siano benigni o maligni.

Le immagini spettrali così ottenute verranno analizzate mediante tecnica PCA (Principal Component Analysis) (12,13) (Fig. 6). La tecnica si basa sull'assunzione che la parte più significativa del contenuto informativo può essere resa anche con un numero inferiore di variabili rispetto a quelle dei dati da analizzare. Questo significa che si possono esprimere i dati con un ristretto numero di dimensioni in forma approssimata, e che quello a cui si rinuncia è di scarso valore informativo. Siamo in grado di analizzare oltre 120 immagini spettrali relative ad ogni singola lesione pigmentata con la possibilità di ridurle a due componenti principali. I risultati ottenuti dall'indagine spettrofotometrica, vengono successivamente comparati con gli quelli dell'indagine istologica e citologica (Fig. 7).

Fig. 5: Prototipo On Line. Processo di acquisizione in vivo direttamente sulla superficie cutanea del paziente. In alto: setup dello strumento ed acquisizione dell'immagine. In basso: processo di visualizzazione ed analisi della lesione.

Risultati

Le acquisizioni con il prototipo Off-Line sono iniziate nel Dicembre 2004 mentre il prototipo On-line è divenuto operativo alla fine di Febbraio 2006. Attualmente sono ancora in corso le acquisizioni delle lesioni cutanee melanocitarie in-vivo ed ex-vivo, tuttavia il numero di immagini relative a casi positivi individuati fino a oggi è pari a 13, a fronte di oltre 400 immagini di casi sospetti.

Il numero ridotto dei casi positivi che si sono potuti acquisire nello studio permette solo in parte di stimare con sufficiente confidenza statistica la probabilità di malignità o benignità dei casi.

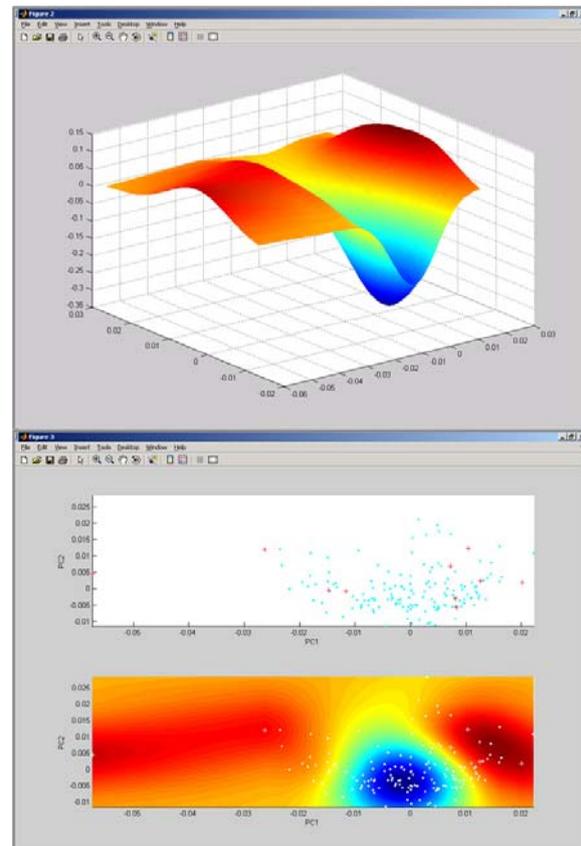
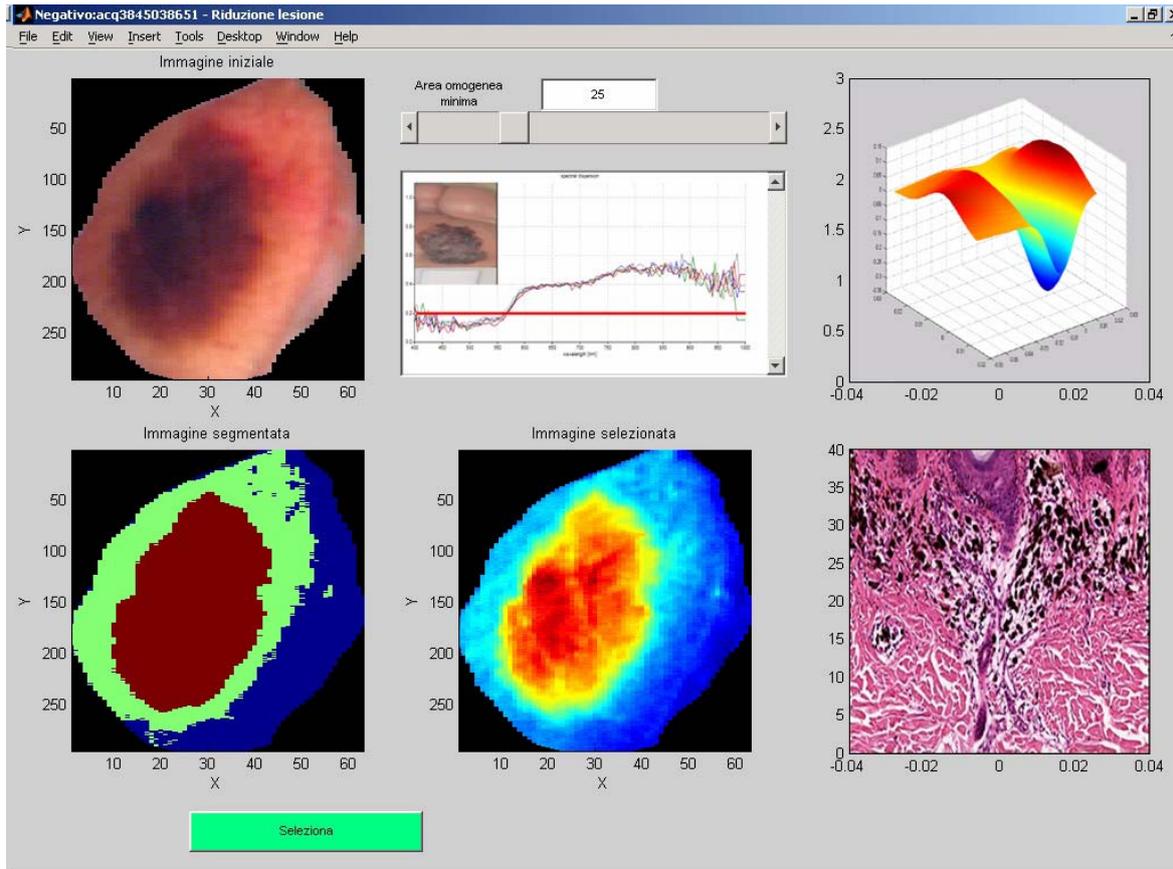


Fig. 6: Processo analitico della lesione pigmentata mediante tecnica PCA. In alto: distribuzione delle medie dei casi negativi (punti azzurri) e positivi (croci rosse) secondo le prime 2 componenti principali (95.7% della varianza globale). In basso: densità relativa dei casi nel piano: "più blu" = maggior concentrazione di negativi e minor concentrazione di positivi.



Discussione

Il sistema, infatti, è stato inizialmente concepito per fornire, al medico specialista, un supporto alla diagnosi del melanoma per mezzo di informazioni oggettive dei colori della lesione. Tuttavia un sistema di questo tipo potrebbe non trovare spazio applicativo nella pratica ospedaliera di tutti i giorni. Il medico specialista, infatti, ricorrerà sempre alla sua esperienza per effettuare una diagnosi di melanoma e, se è dubbioso sulla malignità della lesione, provvederà a farla rimuovere per poi procedere con l'esame istologico, per individuarne univocamente la natura.

Sta emergendo, chiaramente, una nuova finalità che riguarda l'applicazione del sistema diagnostico come metodo di screening da far utilizzare ai medici di base per discriminare tra casi sicuramente negativi e casi dubbi che necessitano di analisi specialistiche.

Questo sviluppo porterebbe notevoli miglioramenti a livello del Servizio Sanitario Nazionale, limitando l'accesso alle analisi specialistiche solamente per quei pazienti che ne hanno una reale necessità, con tutti i benefici annessi e connessi, tra i quali possiamo citare:

- Risparmio di tempo e denaro per i pazienti, non sono infatti costretti a spostarsi al centro specialistico più vicino, che in alcuni casi può essere considerevolmente distante.

Fig.7: Isolamento della lesione dal resto della cute. In alto a sinistra: il lembo di cute acquisito a colori visibili. In basso al centro: il lembo cutaneo visualizzato in falsi colori, secondo la "prima componente principale" (dal metodo della PCA, Principal Component Analysis). In alto al centro: controlli che regolano il processo di segmentazione. In alto a destra: istogramma dell'immagine ridotta alla componente principale (corrisponde alla distribuzione di valori dell'immagine a falsi colori). In basso a destra: immagine istologica relativa alla lesione analizzata. In basso a sinistra: l'immagine segmentata secondo l'istogramma raggruppato.

- Il paziente, nella prima fase di screening, si interfaccia direttamente con il suo medico di base, riducendo quindi lo stress a cui può venire sottoposto il paziente in un centro specialistico.

- Riduzione delle liste di attesa per le visite nelle strutture specialistiche, il primo filtro agli esami specialistici avviene a monte.

- Miglior utilizzo delle risorse nelle strutture specialistiche dovuto al fatto che possono concentrarsi solo sui casi, giudicati dubbi, sulla base dell'utilizzo dei sistemi AISPEM usati dai medici di famiglia.

Le indagini che stiamo conducendo in questa direzione sembrano indicare come corretto

Riassunto.

Appurato il fatto che la diagnosi precoce rappresenti il "gold standard" nella lotta al Melanoma, l'U.O. di Chirurgia Plastica del Istituto Nazionale per la Ricerca sul Cancro di Genova sta sviluppando un nuovo progetto basato sullo studio spettrofotometrico delle lesioni cutanee pigmentate in collaborazione con DV S.r.l. (Padova, Italy). Il nostro progetto di ricerca si pone l'obiettivo di sviluppare, testare e validare un sistema prototipale in grado di fornire al medico un valido supporto nell'analisi delle lesioni cutanee, consentendo l'acquisizione e la visualizzazione della lesione a bande di luce visibili e infrarosso. Il sistema adotterà un metodo non invasivo basato sull'imaging spettrale consentendo un utilizzo innovativo di questa tecnologia nell'estrazione delle caratteristiche di alto livello per l'individuazione del melanoma cutaneo.

Il sistema spettrofotografico è basato sulla tecnologia PGP (Prism-Grating-Prism) che analizza lo spettro della luce (dall'infrarosso all'ultravioletto) indipendentemente dalla luce polarizzata. La spettrofotometria, ottenuta dalla combinazione della spettrofotografia con il sensore della matrice ottica, permette la misurazione del colore di un gran numero di punti lungo una linea, con altissima risoluzione spaziale e spettrale.

Al momento sono stati individuati 13 casi positivi per melanoma cutaneo su una casistica di 400 lesioni esaminate. L'impatto clinico di tale progetto è comunque supportato da un programma di coordinamento tra le diverse unità cliniche coinvolte. Dopo l'escissione della lesione pigmentata questa viene immediatamente analizzata con lo spettrofotometro. Attualmente stiamo creando un database per la correlazione dei dati spettrofotometrici con i dati istologici.

PAROLE CHIAVE: Melanoma cutaneo, diagnosi precoce, spettrofotometria.

questo nuovo approccio al progetto. L'applicazione dell'intero sistema sviluppato durante il progetto, ossia sistema di acquisizione e elaborazione dati e database, insieme al sistema di telemedicina possono costituire un efficace strumento di supporto per la diagnosi precoce del melanoma. Perché questa affermazione possa essere confermata, sarà però necessaria una validazione statistica supportata da un numero molto maggiore di casi clinici di melanoma accertato.

Bibliografia

1. C.M. Balch (ed.): Surgical approaches to cutaneous melanoma, Karger, Basel, 1985.
2. C.M. Balch, G. Milton (eds.): Cutaneous melanoma, J.B. Lippincott, Philadelphia, 1985.
3. C. Clemente, M. Mihm jr., T. Cainelli, M. Cristofolini, N. Cascinelli: Melanomi e nevi, ed. Effetti, Milano, 1997.
4. Consiglio Nazionale delle Ricerche (CNR) - Progetto finalizzato ad applicazioni cliniche della ricerca oncologica: Basi scientifiche per la Definizione di Linee Guida in Ambito clinico per il Melanoma Cutaneo - gennaio 2000.
5. M. Cristofolini, F. Pisciole (eds.): Melanoma cutaneo, TEMI Editrice, Trento, 1988.
6. J.C. Maize, A.B. Ackerman (eds.): Pigmented lesions of the skin, Lea & Febiger, Philadelphia, 1987.
7. U. Veronesi, N. Cascinelli: Surgical treatment of malignant melanoma of the skin World J. Surg. 3:279-288, 1979.
8. Hall HI et al. Update on the incidence and mortality from melanoma in the United States. J Am Acad Dermatol 1999; 40: 35-42.
9. Koh HK et al. Who discovers melanoma? Patterns from a population based study. J Am Acad Dermatol 1992; 26: 914-919.
10. Richard MA et al. Delays in diagnosis and melanoma prognosis: the role of patients. Int J Cancer 2000; 89: 271-279.
11. Brochez L et al. Time delays and related factors in the diagnosis of cutaneous melanoma. Eur J Cancer 2001; 37: 843-848.
12. Lindsay I. Smith - A tutorial on Principal Components Analysis, Febbraio 2002.
13. Simon Folkes et al. - The 2dF galaxy redshift survey: spectral types and luminosity functions, Aprile 1999.

KAWASAKI DISEASE: AN IMPORTANT CAUSE OF CARDIOVASCULAR MORBIDITY AND MORTALITY IN PEDIATRICS

MALATTIA DI KAWASAKI: UNA IMPORTANTE CAUSA DI MORBIDITÀ E MORTALITÀ CARDIOVASCOLARE IN ETÀ PEDIATRICA

Miriam Distefano, Valentina Giacchi

CAPSULA EBURNEA, 3(4):1-13, 2008.

Dipartimento di Pediatria, U.O. Cardiologia Pediatrica e Patologia Neonatale, Università di Catania.

Correspondence:

Dr. Miriam Distefano:
miriamdistefano@libero.it

Received: November 22nd, 2007
Revised: January 18th, 2008
Accepted: January 23rd, 2008.

No conflicts of interest were declared.

Category of paper:

REVIEW

Language of the Article: Italian.

Note: The Abstract in Italian is at the end of the paper.

Abstract.

Kawasaki disease (KD) is an acute febrile, systemic vasculitic syndrome affecting medium-sized arteries, unknown aetiology, probably multifactorial, which affects mainly infants and early childhood. KD is characterized by fever, conjunctivitis nonexudative bilateral conjunctivitis, erythema lips and oral mucosa, changes in the extremities, erythematous rash and cervical lymphadenopathy. It combines risk of developing ecstasies or aneurisms of the coronary arteries that may lead to ischemic heart disease, myocardial infarction or sudden death. Treatment with intravenous immunoglobulin is generally effective but its mechanism of action is still unclear.

The development of a diagnostic test, a more specific treatment and ultimately the prevention of this potentially fatal disease in children from all depend on continued progress in understanding the etiopathogenesis of this fascinating disease.

The purpose of this review is to outline the main hypothesis on the genesis of KD, diagnostic criteria, treatment options currently available and the importance of follow-up.

KEYWORDS: Vasculitis, Immune Abnormalities, Fever, Aneurisms, Echocardiography.

Introduzione

La malattia di Kawasaki, descritta per la prima volta da Tomisaku Kawasaki nel 1967 ed inizialmente considerata una malattia febbrile benigna autolimitantesi, oggi è la causa principale di cardiopatia acquisita nei bambini dei paesi industrializzati (1). Consiste in una importante vasculite sistemica della prima infanzia che colpisce in misura predominante le arterie di medio e piccolo calibro, specialmente le arterie coronarie. Le sequele cardiache sono la causa principale della morbidità e della mortalità della MK e si verificano nel 15-25% dei bambini non trattati. Invece tra i bambini trattati adeguatamente il 5% sviluppa dilatazione coronarica e l'1% aneurismi giganti. Il trattamento ha lo scopo di prevenire la formazione di aneurismi coronarici (2).

Epidemiologia

Gli studi epidemiologici evidenziano che l'85%

dei casi di MK si verifica nei bambini di età inferiore a 5 anni, con un picco di incidenza nei bambini dai due anni in giù e con un rapporto maschi:femmine di 1,5-1,7:1. I lattanti con meno di 6 mesi e i bambini con più di 8 anni, a causa della diagnosi più tardiva, sono a maggior rischio di complicanze cardiovascolari. La MK è diffusa in tutte le razze e in tutte le etnie, con maggiore prevalenza nei bambini di origine asiatica. L'incidenza annuale è di 3,4-100/100.000, con valori massimi in Giappone (112 casi per 100.000 bambini) e i valori più bassi tra i bambini caucasici (2). Studi sul tasso d'incidenza correlato alla provenienza etnica condotti negli USA riportano che è più alto nei discendenti asiatici e delle isole del pacifico, intermedio negli americani africani non ispanici e ispanici, più basso nei bianchi. La Corea ha il secondo tasso di incidenza più alto con 86 casi per 100.000 bambini con 5 anni o più di età (3). I tassi di ricaduta e di familiarità della MK sono

meglio documentati nella letteratura giapponese che riportano rispettivamente valori del 2-4% e del 2%. Inoltre il tasso di malattia tra fratelli risulta essere del 2%, mentre il rischio di malattia nei gemelli sale al 13% (4,5,6).

Eziopatogenesi

L'eziopatogenesi della MK è sconosciuta ma verosimilmente multifattoriale: diversi meccanismi (infettivi, immunologici e genetici) si integrano tra loro nel determinismo della malattia. L'identificazione di tali meccanismi sarebbe essenziale per elaborare strategie di prevenzione, primaria e secondaria, e strategie terapeutiche.

Gli aspetti clinici ed epidemiologici della malattia fanno fortemente sospettare una causa infettiva. Infatti febbre, esantema, iniezione congiuntivale, adenopatia cervicale, natura autolimitata della malattia, così come le ben definite epidemie con predominanza nelle stagioni invernale e primaverile, e il raggruppamento geografico dei casi sono comuni ad altre malattie infettive virali e batteriche.

Il picco di incidenza nella prima infanzia, con pochi casi prima dei 3 mesi e negli adulti suggerisce la protezione degli anticorpi materni trasmessi per via transplacentare e lo sviluppo di una efficace difesa immunitaria conseguente ad una infezione asintomatica in molti individui. Tuttavia, ad oggi non hanno avuto successo gli sforzi per identificare un agente eziologico con i convenzionali metodi di coltura virale e batterica, le indagini sierologiche, o con inoculo in animali.

Diversi agenti eziologici batterici (*Streptococcus pyogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Mycoplasma pneumoniae*, *Chlamydia pneumoniae*) e virali (Adenovirus, EBV, Parvovirus B19, HHV 6, VZV, virus parainfluenzale tipo3, virus del morbillo, virus Dengue, retrovirus, New Haven Coronavirus) sono stati isolati da pazienti con MK, ma nessuno può essere considerato l'agente responsabile (2). Nel 1999 Shibata riportò la presenza di una nuova specie di *Corynebacterium* nei pazienti con MK che catturò l'attenzione dei ricercatori. Non si può però escludere una contaminazione delle colture batteriche del nasofaringe dei pazienti con MK in quanto i *Corynebacteri* sono parte della normale flora batterica di cute e mucose. Nuovi studi sono necessari per chiarire un eventuale ruolo patogenetico di questo batterio nella MK (2). Per quanto riguarda i virus la grande varietà di agenti riscontrati e l'impossibilità di dimostrare una relazione univoca sierologica suggeriscono che questi virus possono essere o casuali oppure giocare un ruolo "helper" nella patogenesi.

Le caratteristiche della MK sono simili a quelle

di malattie causate da tossine batteriche, come la sindrome da shock tossico e la scarlattina. Le enterotossine stafilococciche e le esotossine streptococciche rappresentano il prototipo dei superantigeni che legati a molecole MHC di II classe stimolano un'ampia popolazione di linfociti T. Queste tossine si legano al di fuori del sito di legame con l'antigene sulle molecole MHC di II classe direttamente a residui amminoacidici conservati e stimolano selettivamente le cellule T ad esprimere particolari segmenti variabili del gene delle catene β . Tutte le cellule T presentanti una specifica sequenza sul TCR (T-cell-receptor) sono attivate dal complesso superantigene-MHC e producono una gran quantità di citochine, da qui il nome di "superantigene". In un report del 1992 in pazienti con MK è stata descritta una espansione selettiva delle famiglie di recettori delle cellule T V β 2 e V β 8 simile a quella che si verifica nei pazienti con sindrome da shock tossico. Tali risultati risultano tuttora controversi (2,7-11). Altri studiosi hanno evidenziato invece una risposta anticorpale oligoclonale che si correla ad antigeni convenzionali (11-13), testimoniata dalla caratteristica gobba delle gamma globuline che può essere riscontrata nel protidogramma di soggetti affetti già prima del trattamento con Ig e.v.

Tra le ipotetiche cause non infettive prese in considerazione per la MK si riportano la poliartrite nodosa infantile, la tossicità da mercurio (acrodinia), la sindrome di Stevens-Johnson, l'eritema multiforme, reazioni avverse a farmaci (ADR), artrite reumatoide giovanile (2). Si sospetta che fattori genetici possano influenzare la suscettibilità alla MK in base a diverse osservazioni: la forte prevalenza nella popolazione asiatica e nei discendenti di tali popolazioni migrati in paesi occidentali, la comparsa in figli di genitori precedentemente affetti, la maggiore incidenza nei fratelli e soprattutto nei gemelli (14-19).

La MK causa una severa vasculite che interessa le arterie di piccolo e medio calibro con predilezione particolare per le coronarie. Negli stadi iniziali di sviluppo dell'arterite si osserva edema endoteliale e subendoteliale con successiva dissociazione delle cellule muscolari lisce ed infiltrazione di neutrofili nella parete vascolare. Rapidamente i neutrofili vengono sostituiti da monociti macrofagi e linfociti T in gran parte CD8+. In fase di flogosi più avanzata sono state trovate nella parete vascolare anche plasmacellule produttrici IgA. Le IgA prodotte nella MK sono oligoclonali come avviene in una risposta immune scatenata da un antigene. Poiché le plasmacellule che producono IgA sono prominenti nel tratto respiratorio si suppone che l'agente o gli agenti eziologici della MK penetri-

no nell'organismo attraverso le vie aeree. Il processo infiammatorio frequentemente coinvolge l'intera parete vascolare con distruzione della lamina elastica interna. L'edema e la necrosi causano la perdita di integrità della parete vascolare favorendo la formazione di aneurismi. Uno o due mesi più tardi l'infiltrato infiammatorio è sostituito dalla proliferazione di fibroblasti. Il vaso potrà occludersi per stenosi progressiva o per trombosi (2,5).

Le indagini di laboratorio nella fase acuta della MK riflettono una condizione di marcata flogosi sistemica. Durante lo stadio precoce della malattia, si riscontra leucocitosi associata ad aumento delle proteine di fase acuta, come risulta dalla misurazione della velocità di eritrosedimentazione (VES), della α 1-antitripsina sierica e della proteina C-reattiva. La linfocitosi è seguita dalla prevalenza dei linfociti B. Gli esami sierologici dei pazienti con MK sono negativi per gli anticorpi frequentemente associati ad altre vasculiti - FR, ANA, anti-DNA, ANCA. Nello stadio subacuto il numero delle piastrine aumenta e frequentemente raggiunge il 1.000.000 per microlitro o più entro la terza settimana di malattia. I linfociti B non sono i soli ad essere coinvolti in questo stato di attivazione. Si riscontra anche un'attivazione delle cellule T CD4+ e CD8+ e livelli aumentati del recettore solubile dell'interleuchina 2 (IL-2).

Nella fase acuta di MK si verificano, inoltre, alterazioni immunologiche evidenti, che comprendono la stimolazione della cascata delle citochine e l'attivazione delle cellule endoteliali. I livelli circolanti di molte citochine proinfiammatorie - tumor necrosis factor- α (TNF- α), interferone- γ (IFN- γ), interleuchina-(IL-) 1,6,8,15,17,18, sono più elevati durante la fase acuta di malattia. Queste citochine provocano il sovrapporsi di risposte proinfiammatorie e protrombotiche nelle cellule endoteliali. In fase acuta si osserva inoltre l'aumento di anticorpi citotossici nei confronti dell'endotelio prestimolato da IL-1, TNF- α o INF- γ (2). I pazienti mostrano un'anergia ai test cutanei di ipersensibilità ritardata, confermando il concetto di una disfunzione generale dei linfociti T circolanti.

Il successo del trattamento della MK con immunoglobuline endovena (IVIG) in aggiunta all'aspirina è dovuto anche alla riduzione della produzione delle citochine e dell'attivazione delle cellule endoteliali.

Si ipotizza che l'attivazione endoteliale mediata dalle citochine, possibilmente interessante l'intima delle arterie di medio calibro, svolge un ruolo di rilievo nella patogenesi della MK. Questa attivazione potrebbe essere associata all'espressione di nuovi antigeni cellulari e culminare in una risposta diretta contro le cellule dell'endotelio vascolare abnormemente stimolato

con afflusso di cellule infiammatorie nella media e conseguente indebolimento della parete vascolare che predispone alla formazione di aneurismi. L'aderenza di leucociti alle cellule endoteliali è l'evento chiave nella sequenza di una risposta infiammatoria (vasculite leucocitoclastica). Nella fase iniziale della flogosi i leucociti circolanti scorrono sulle cellule endoteliali con un debole contatto mediato dalle E-selectine, P-selectine ed L-selectine. Nella seconda fase della flogosi si ha attivazione delle integrine leucocitarie con espressione di molecole di adesione sulle cellule endoteliali quali ICAM e VCAM. Il passaggio dei linfociti nello spessore della parete vascolare dipende dall'interazione tra leucociti ed endotelio mediato dalle molecole di adesione. Elevati livelli di forme solubili di queste molecole sono state trovate in condizioni associate a flogosi ed attivazione endoteliale, come nella fase acuta della MK. Inoltre in campioni bioptici di cute di pazienti con MK è stata riscontrata l'espressione di ICAM-1 ed E-selectine sulle cellule endoteliali (20).

Studi recenti suggeriscono che nel processo di rimodellamento della parete vasale, quindi nella patogenesi degli aneurismi coronarici, hanno un ruolo importante le metalloproteinasi (MMPs) della matrice extracellulare e lo squilibrio tra MMPs e inibitori tissutali di MMPs (TIMP). I pazienti con MK in fase acuta possono presentare infatti elevati livelli, espressione e attività di MMPs. Molte citochine infiammatorie nella MK possono provocare una lesione endoteliale e modulare l'attività delle MMPs. Uno studio di Sensaki H. ed altri riporta che le elastasi dei neutrofili sono aumentate nella fase acuta della MK e che i livelli delle stesse sono significativamente più elevati nei pazienti con aneurisma coronarico, rispetto a quelli senza aneurisma (21). Queste proteine possono attivare MMPs ed inibire le TIMP spostando l'equilibrio MMP/TIMP a favore delle prime accelerando così la distruzione della parete coronarica. Baramaova EN, Mazzieri R e rispettivi collaboratori, nei loro studi evidenziano che gli attivatori del plasminogeno e la plasmina (serin proteinasi) sono presenti in concentrazioni elevate nella MK (22,23). Questi enzimi possono agire da "trigger" dell'attivazione delle MMP e quindi influire nella formazione dell'aneurisma. Appare probabile così, che la complessa interazione fra tali sistemi scateni il processo di degradazione della matrice extracellulare arteriosa che determina la formazione dell'aneurisma. Comunque altri studi sono necessari per definire il ruolo di MMPs e TIMPs nella formazione degli aneurismi coronarici nella MK e quindi il possibile utilizzo di inibitori delle MMPs per prevenirli (24).

Aspetti clinici e diagnosi

La diagnosi di MK si basa sulla presenza di criteri clinici (criteri diagnostici classici) definiti appositamente per aiutare i medici nella diagnosi, mancando nella Kawasaki segni patognomonicamente e test di laboratorio specifici. I dati di laboratorio ed altre manifestazioni cliniche, come l'estrema irritabilità, la re-infiammazione in sede di inoculo di BCG possono aiutare la diagnosi (25,4).

I criteri diagnostici classici comprendono:

- febbre prolungata (della durata di almeno 5 giorni) associata a 4 o più dei seguenti segni:
- congiuntivite bilaterale non purulenta,
- rash polimorfo
- alterazioni delle labbra e della mucosa orofaringea
- linfadenopatia cervicale
- alterazioni alle estremità (25,26).

La **febbre** è tipicamente elevata (39-40°C) e remittente, non responsiva ad antibiotici ma parzialmente responsiva ad antipiretici. In assenza di una terapia adeguata persiste in media 11 giorni, ma può continuare per 3-4 settimane o, seppur raramente anche più a lungo. Di solito si risolve in due giorni con la terapia. Poco tempo dopo la comparsa della febbre appare la **congiuntivite bilaterale, caratteristica non essudativa**, bulbare che risparmia il limbus, cioè la zona avascolare intorno all'iride, e generalmente non dolorosa. Con la lampada a fessura è possibile rilevare una lieve iridociclite acuta o uveite anteriore, a risoluzione rapida e raramente associata a fotofobia o dolore oculare. Il **rash** in genere ha carattere maculopapuloso, oppure orticarioide, o scarlattiniforme, o

tipo eritema multiforme, raramente, finemente micro pustoloso. Compare entro 5 giorni dall'inizio della febbre ed è tipicamente localizzato al tronco ma può estendersi anche al viso, alle estremità e in regione perineale (5,25). Le **alterazioni delle labbra e della mucosa orale** comprendono eritema, secchezza, fissurazioni, desquamazione e sanguinamento delle labbra, lingua a fragola (indistinguibile da quella osservata nella scarlattina), eritema diffuso della mucosa orofaringea, in assenza di ulcerazioni del cavo orale e di essudato. Le **alterazioni delle estremità** sono caratteristiche e comprendono eritema palmo-plantare e/o edema duro, a volte doloroso, delle mani e dei piedi. Queste compaiono spesso nella fase acuta della malattia. Entro 2-3 settimane dall'esordio della febbre si verifica una desquamazione delle dita, che solitamente inizia in regione periungueale e che può estendersi alla regione palmoplantare. A distanza di 1-2 mesi dalla comparsa della febbre possono comparire le linee di Beau, solchi trasversali profondi a livello delle unghie. In fase acuta si manifesta inoltre un **eritema perineale**, che evolve rapidamente in desquamazione (25). La Consensus Conference EULAR/PRES ha perciò proposto di modificare il criterio "anomalie delle estremità" in "anomalie delle estremità o dell'area perineale" (27). La **linfadenopatia laterocervicale** generalmente è unilaterale, con uno o più linfonodi di diametro >1,5 cm, spesso fissi, ricoperti da cute integra, di consistenza parenchimatosa, senza segni di colliquazione (5,26). La linfadenopatia cervicale è il meno comune tra i criteri diagnostici (è presente in circa 3/4 dei bambini più grandi),

mentre la febbre prolungata e la desquamazione periferica sono stati riportati come i segni diagnostici più comuni.

Data la varietà dei segni clinici sarebbe più opportuno parlare di "sindrome di Kawasaki" piuttosto che di "malattia di Kawasaki". I criteri diagnostici - febbre \geq 5 giorni, più almeno 4 segni clinici - derivano dagli studi epidemiologici condotti in Giappone (28). In molti casi, tuttavia, i criteri clinici per la MK non compaiono contemporaneamente ma nell'arco di più giorni senza un preciso ordine e alcuni possono anche mancare. Inoltre i sintomi della MK sono comuni ad altre malattie infantili quali rosolia, morbillo, scarlattina, di conseguenza la mancanza di test diagnostici sensibili e specifici rimane un grande ostacolo per la corretta identificazione di tutti i pazienti con MK, ritardandone il trattamento e peggiorandone la prognosi (29). La tabella 1 riporta le manifestazioni cliniche che possono associarsi alla MK (Tab. 1)

Tabella 1

MANIFESTAZIONI CLINICHE ASSOCIATE

(in corsivo le più frequenti)

- **Cardiache:** pericardite, miocardite, endocardite, insufficienza mitralica, insufficienza cardiaca, shock cardiogeno, aritmie.
- **Vascolari:** fenomeno di Raynaud, gangrena periferica.
- **Articolari:** artralgia, artrite.
- **Neurologiche:** *irritabilità, meningite asettica, ipoacusia neurosensoriale, paresi facciale periferica unilaterale transitoria.*
- **Gastrointestinali:** *diarrea, vomito, dolori addominali, addome acuto, interessamento epatico, idrope acuta della colecisti.*
- **Altre:** *piuria sterile, eritema e tumefazione nel progressivo sito di inoculo del vaccino BCG, tumefazione testicolare, noduli e infiltrati polmonari, sindrome emofagocitica, uretriti.*

A confondere ulteriormente il quadro clinico è la crescente preoccupazione che i criteri diagnostici siano troppo ristretti. Il termine MK "atipica" o "incompleta" è utilizzato per i bambini che presentano febbre associata a meno dei 4 criteri classici. Il termine più appropriato è "MK incompleta" poiché questi bambini non mostrano segni atipici ma solo alcuni segni di malattia. La MK incompleta può essere più difficilmente riconosciuta e si presenta più spesso nei lattanti (26). Dovrebbe essere considerata:

- in tutti i bambini con febbre apparentemente sine causa di durata ≥ 5 giorni associata a 2-3 delle caratteristiche cliniche principali della MK;
- in ogni lattante di età < 6 mesi con febbre di durata > 7 giorni, infiammazione sistemica documentata con indagini di laboratorio e nessun'altra spiegazione per la malattia febbrile.

Nei bambini che presentano MK incompleta, e soprattutto nei lattanti, è indicata l'ecocardiografia, poiché hanno un più alto rischio di sviluppare lesioni alle coronarie sia a causa della giovane età sia per la possibilità di non ricevere per tempo il trattamento con immunoglobuline. I criteri diagnostici clinici necessitano di un perfezionamento continuo per aumentare il loro valore predittivo positivo e recenti linee guida sono state sviluppate nel tentativo di migliorare la sensibilità della diagnosi clinica. La **fig. 1** mostra l'iter diagnostico terapeutico attualmente consigliato per le forme incomplete (30).

L'ecocardiografia-color Doppler bidimensionale è la modalità di immagine più utilizzata in età pediatrica per valutare il coinvolgimento cardiaco in corso di MK, in quanto sensibile e non invasiva. Tale indagine viene eseguita in tutti i pazienti con MK:

- alla diagnosi;
- dopo 2 settimane;
- dopo 6-8 settimane dall'inizio della malattia.

Controlli più frequenti vanno effettuati nei pazienti con febbre persistente, con anomalie coronariche, alterazione della funzione ventricolare sinistra, insufficienza mitralica o versamento pericardico (25,30).

I dati di laboratorio seppur non specifici possono essere di aiuto nel confermare il sospetto di MK. Nella fase acuta è tipica la **leucocitosi** con prevalenza di polimorfonucleati, a vari stadi di maturazione: circa il 50% dei pazienti hanno valori di GB $> 15.000/\text{mmc}$, mentre la leucopenia è rara. Nei casi in cui la malattia è lo stato infiammatorio durano a lungo può verificarsi **anemia** solitamente normocitica ed **ipoalbuminemia**. L'**aumento di VES e PCR** è quasi costante, la normalizzazione di solito avviene 6-10 settimane dopo l'esordio. Frequente anche la **trombocitosi**, che di solito compare nella seconda settimana e regredisce un picco nella ter-

za con graduale ritorno alla normalità in 4-8 settimane nei casi non complicati. La **trombocitopenia** all'esordio è rara, ma può essere segno di coagulazione intravascolare disseminata, ed è inoltre un fattore di rischio per lo sviluppo degli aneurismi coronarici (25).

Nella fase acuta della MK si osservano anche alterazioni marcate del profilo lipidico con **riduzione di colesterolo**, HDL e apolipoproteina AI, **ipertransaminasemia** di grado lieve-moderato in $\leq 40\%$ dei pazienti, lieve **iperbilirubinemia** in circa il 10%, **aumento di γ GT** in circa il 70%. L'**ipoalbuminemia** è comune e si associa a una forma acuta più grave e più prolungata. L'iponatremia, presente all'esordio, si associa alle forme gravi ed è fattore prognostico sfavorevole.

All'esame chimico-fisico delle urine si riscontra **piuria sterile** di grado lieve-moderato in circa un terzo dei pazienti (probabilmente dovuta ad uretrite). Dei pazienti sottoposti a rachicentesi circa il 50% presenta un quadro di **meningite asettica** con prevalenza di cellule mononucleari, normale glicorachia e protidorrachia. Nei pazienti con **artrite**, il liquido sinoviale prelevato con artrocentesi è di aspetto purulento con una concentrazione di GB di 125.000-300.000/mmc, normale contenuto di glucosio e sterile (30,31).

Complicanze

Le complicanze più importanti sono a carico del sistema cardiovascolare. Durante la fase acuta in più dell'80% dei casi sono presenti segni di cardite con soffio, ritmo di galoppo e riduzione dei toni all'ascoltazione. Alterazioni elettrocardiografiche tipiche sono un allungamento del PR e del QT, la presenza di un'onda Q, bassi voltaggi, aritmie e modificazioni del tratto S-T. Tuttavia l'assenza dei segni clinici ed elettrocardiografici sopra riportati non esclude la diagnosi di MK. All'Rx del torace può evidenziarsi una cardiomegalia causata da miocardite e/o da pericardite. All'ecocardiogramma possono essere presenti modificazioni dei vasi coronarici (32).

Disfunzioni sistoliche e diastoliche possono essere diagnosticate mediante ecocardiocolordoppler. Anomalie della meccanica miocardica possono essere associate ad un incremento dei livelli plasmatici di BNP (Brain Natriuretic Peptide) responsabile di iponatremia che quando presente è fattore prognostico sfavorevole. Lo stress ossidativo può contribuire allo sviluppo di una disfunzione cardiaca nei bambini con Malattia di Kawasaki (33). Seppur raramente può presentarsi pericardite con un'incidenza dello 0.07% (34).

Le complicanze più temute si verificano però a carico delle coronarie e sono: l'occlusione va-

Figura 1

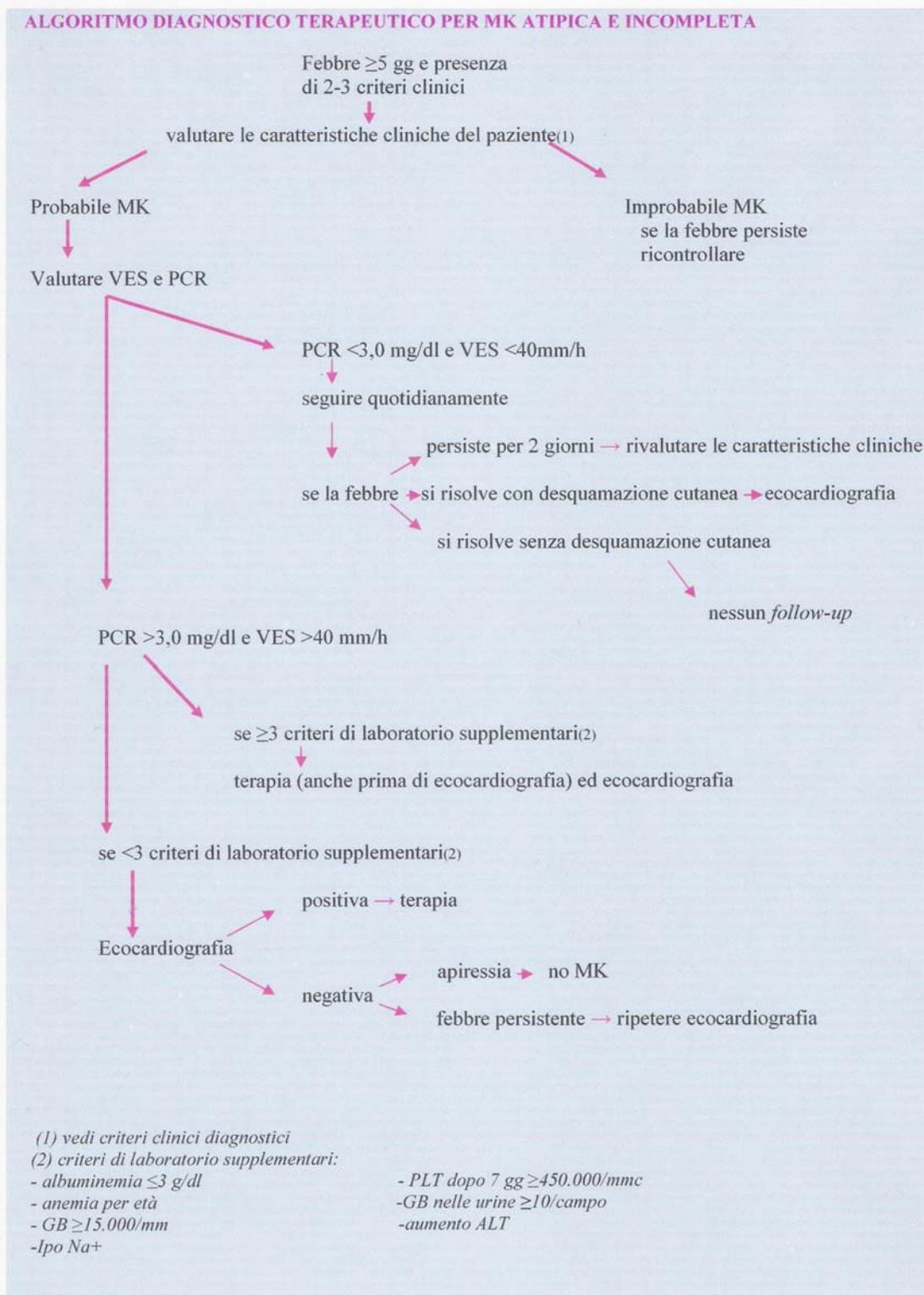


Figura 1: Rappresentazione schematica dell'algoritmo diagnostico e terapeutico per la MK atipica ed incompleta.

scolare, la trombosi, l'aneurisma, la fibrosi. Gli aneurismi delle arterie coronariche, assumono importanza prioritaria per frequenza e gravità e

sono responsabili di infarto miocardico acuto e di morte improvvisa; si sviluppano nel 18-25% dei bambini ma solo nel 5% degli adulti. E' da

sottolineare che il 50-75% degli aneurismi si risolve senza intervento, benché fenomeni di fibrosi nel tempo possano interessare i vasi (35,36).

Circa il 20-25% dei bambini trattati solo con aspirina presenta aneurismi entro il 13° giorno di malattia. Invece, se all'aspirina si associano le immunoglobuline somministrate per via endovenosa e tale terapia è praticata entro i primi 10 giorni, l'incidenza degli aneurismi coronarici si riduce al 4-5%, e gli aneurismi giganti, indice di elevato rischio di ischemia miocardica, diventano molto rari (36,37).

In corrispondenza degli aneurismi giganti, il processo trombotico è promosso dalla combinazione di una bassa velocità di flusso sanguigno entro lo spazio vascolare dilatato e dal frequente verificarsi di lesioni stenotiche nel tratto prossimale o distale dell'aneurisma. L'infarto miocardico causato dall'occlusione trombotica in corrispondenza di aneurisma è la principale causa di morte nella MK (38).

Gli aneurismi giganti delle arterie coronariche possono regredire se adeguatamente trattati ma successivamente andare lentamente incontro ad un processo di stenosi vasale che necessita di adeguato trattamento chirurgico (39).

La valutazione periodica delle dimensioni delle arterie coronariche in pazienti con Kawasaki ottimamente trattati ha dimostrato che per molti pazienti le dimensioni diminuiscono progressivamente e che le complicanze sono correlate anche alle dimensioni iniziali (40). Gli aneurismi più comunemente coinvolgono le zone di biforcazione o la porzione prossimale dei vasi arteriosi, e possono associarsi ad aterosclerosi precoce e conseguenti infarti miocardici (35).

I pazienti con malattia di Kawasaki possono presentare aumentato rischio di aterosclerosi, ma non mostrano a lungo termine disfunzioni endoteliali arteriose sistemiche (41). Pazienti che dopo la guarigione clinica presentano segni subclinici di aterosclerosi, anche in assenza di alterazioni permanenti delle arterie coronarie, sono a rischio di malattia cardiovascolare (42). Le sequele a lungo termine non si limitano solo allo sviluppo di lesioni delle arterie coronarie ma includono anche la formazione di cicatrici fibrotiche renali. Tale fibrosi è dovuta ad un processo di infiammazione che è valutabile mediante scintigrafia o SPECT e può realizzarsi nell'arco di alcuni mesi. La presenza di alterazioni ecocardiografiche a distanza è indice di fibrosi (43).

Metodiche strumentali

Poiché le lesioni delle arterie coronarie che si sviluppano nei bambini con malattia di Kawasaki possono causare infarto miocardico e morte improvvisa, è importante la diagnosi precoce

(44). L'ecocardiocolordoppler transtoracico bidimensionale rappresenta un valido strumento per la diagnosi non invasiva delle disfunzioni microvascolari coronariche (45). Al fine di visualizzare accuratamente le arterie coronarie la valutazione ecocardiografica tridimensionale in tempo reale è però superiore all'ecocardiografia bidimensionale (46). L'ecocardiografia permette di individuare nei bambini lesioni coronariche nel 100% dei casi; più difficile invece il riconoscimento di tali lesioni negli adulti nei quali potrebbero essere utilizzate altre metodiche non invasive come la TC o la RM (47).

La TC spirale permette la diagnosi di aneurismi, stenosi e calcificazioni delle coronarie e mostra maggiore sensibilità rispetto all'ecocardiografia bidimensionale (44). La TC multispirale offre dei vantaggi anche rispetto all'angiografia coronaria, soprattutto per l'individuazione degli aneurismi calcificati e dell'ipertrofia intimale; può essere inoltre utilizzata come guida durante l'intervento di rivascolarizzazione nei pazienti con pregressa malattia di Kawasaki (48).

L'angiografia coronarica permette una diagnosi precoce ma espone i bambini piccoli ad alto rischio. L'angioRM è una metodica meno invasiva ma non permette di ottenere immagini limpide nei bambini piccoli. Takemura ed altri hanno evidenziato che nei bambini si può migliorare la qualità dell'angioRM se eseguita sotto guida ecocardiografica tridimensionale in tempo reale e monitoraggio elettrocardiografico (49).

Terapia

La terapia della Malattia di Kawasaki nella fase acuta ha l'obiettivo di ridurre l'infiammazione delle coronarie. Nei bambini che sviluppano aneurismi è necessaria anche una terapia a lungo termine per prevenire la trombosi e l'infarto miocardico. Le linee guida elaborate dall'"American Heart Association" (AHA) e dall'"American Academy of Pediatrics" sono oggi utilizzate per il trattamento iniziale sia dei pazienti che soddisfano i criteri per la diagnosi di malattia di Kawasaki sia di quelli con la forma incompleta.

La terapia standard comprende la somministrazione di aspirina ed immunoglobuline entrambe a dosi elevate. Altri farmaci come cortisonici, ciclofosfamide, etanercept, infliximab sono riservati ai casi refrattari (25).

L'aspirina è utilizzata per ridurre l'infiammazione ed inibire l'aggregazione piastrinica ma non contrasta lo sviluppo di anomalie coronariche. Attualmente sono somministrate alte dosi di aspirina (80-100 mg/Kg/die in quattro somministrazioni) durante la fase acuta della

malattia. In molti centri dopo 48-72 ore di apressia si riduce la dose di aspirina a una singola dose giornaliera di 3-5 mg/Kg da somministrare per 6-8 settimane dall'inizio della malattia se il paziente non mostra alterazioni coronariche; viceversa se si sviluppano lesioni nei vasi cardiaci l'aspirina deve essere somministrata fino a 2 anni dalla risoluzione dell'aneurisma (5,35). Lo scopo della terapia con aspirina nei pazienti che sviluppano aneurismi delle arterie coronarie è quello di prevenire la trombosi e la proliferazione miointimale che provoca stenosi. Basse dosi di aspirina (3-5 mg/Kg/die) costituiscono il trattamento principale per i bambini con aneurismi piccoli o medi (< 8 mm). L'uso di altri agenti antiaggreganti (e.g., clopidogrel e ticlopidina) in associazione o meno all'aspirina può essere benefica per alcuni pazienti. Studi randomizzati sono necessari per valutare l'efficacia di eparina a basso peso molecolare, anticorpi monoclonali diretti contro il recettore IIB/IIIA delle piastrine (abciximab), e warfarin nel trattamento a lungo termine dei bambini con aneurismi giganti (> 8 mm) (5).

Le immunoglobuline per via endovenosa somministrate in fase acuta riducono invece l'incidenza di lesioni coronariche. Il meccanismo d'azione rimane sconosciuto anche se alcune teorie ipotizzano il cross-legame del recettore FcγII e FcγIII sui macrofagi, il blocco dell'interazione tra cellule endoteliali e le cellule natural-killer, l'attivazione delle cellule T-suppressore, la soppressione della sintesi di anticorpi, la neutralizzazione dei superantigeni batterici o di altri agenti eziologici. La terapia standard consiste nella somministrazione di una dose di 2 g/Kg somministrate in più di 10-12 ore ed entro i primi 10 giorni dall'inizio della malattia e se possibile entro i primi 7 giorni (5). Gli aneurismi coronarici si sviluppano nel 20% dei bambini non trattati. Uno studio multicentrico in USA ha dimostrato che una singola somministrazione di IVIG ad alte dosi (2 g/Kg) in associazione all'aspirina potrebbe abbassare l'incidenza di aneurismi coronarici dal 20% al 3-5%. Il trattamento con IVIG potrebbe inoltre ridurre la durata della febbre quando somministrato entro 10 giorni dall'inizio della malattia. Poiché le lesioni delle arterie coronariche si sviluppano non prima di 10 giorni dall'esordio, è importante il trattamento e la prevenzione delle lesioni stesse nei primi 9 giorni. In uno studio eseguito da Ho-Chang ed altri è stato evidenziato che la persistenza di monocitosi, tipica di fase acuta, dopo la somministrazione di IVIG è correlata allo sviluppo di aneurismi coronarici. Ciò suggerisce che i pazienti con la malattia di Kawasaki possono sviluppare lesioni delle arterie coronarie se il trattamento con IVIG è incapace di sopprimere l'attivazione dei monociti

(50). Sembrerebbe che nel trattamento della Malattia di Kawasaki l'effetto terapeutico delle IVIG alla dose di 1g/Kg non sia significativamente differente da una singola dose di 2 g/Kg (51).

Il ruolo dei corticosteroidi nel trattamento iniziale della malattia di Kawasaki è stato oggetto di diversi studi, senza mai raggiungere tuttavia una conclusione che ne abbia definito con sicurezza il rapporto rischio/beneficio. Sebbene uno studio molto vecchio effettuato da Kato et al. avesse dimostrato un effetto dannoso del trattamento con corticosteroidi, i risultati di altri studi successivi suggerirono che i corticosteroidi possono avere un effetto favorevole nel prevenire la comparsa degli aneurismi dell'arteria coronaria. In nessuno di questi studi era stata valutata l'efficacia di una singola somministrazione di steroide in bolo in aggiunta alle immunoglobuline in una sperimentazione randomizzata e controllata verso placebo (52,53).

Ricercatori statunitensi hanno condotto di recente uno studio multicentrico, randomizzato, a doppio cieco, controllato contro placebo, per determinare se l'aggiunta del metilprednisolone (30 mg/Kg) per via venosa in bolo al trattamento iniziale con IVIG riduce il rischio di alterazioni a carico delle arterie coronarie. Gli autori hanno concluso che rispetto ai pazienti cui era stato somministrato placebo, i bambini ai quali era stato somministrato lo steroide presentavano una più breve degenza e più bassi livelli di VES dopo una settimana dalla terapia, ma, invece, nessuna significativa differenza riguardante le dimensioni delle coronarie ad una ed a cinque settimane. Inoltre il numero totale di giorni di degenza, la durata della febbre, la necessità di risomministrare le IVIG e il numero di eventi avversi non differiva nei due gruppi. Gli autori hanno concluso che la terapia con metilprednisolone somministrato per via endovenosa non è indicata come trattamento principale nei bambini in fase acuta di Malattia di Kawasaki (54). Il 10-15% dei bambini trattati con alte dosi di aspirina ed IVIG alla dose di 2g/Kg continuano a presentare febbre. Molti studi hanno dimostrato che i bambini che non presentano sfebbramento dopo la prima somministrazione di IVIG hanno un maggior rischio di sviluppare aneurismi delle arterie coronarie. Il fallimento della terapia è solitamente caratterizzato dalla persistenza della febbre dopo 36 ore dalla somministrazione della prima dose di IVIG. I corticosteroidi sono stati usati per trattare pazienti resistenti alla terapia anche se i loro effetti sullo sviluppo delle lesioni coronariche sono incerti. Altri trattamenti di successo utilizzati nei bambini refrattari comprendono l'uso di infliximab (anticorpi monoclonali anti-TNFα), ulinastatine, plasmaferesi, e agenti citotossici come la ciclofosfamide

Figura II

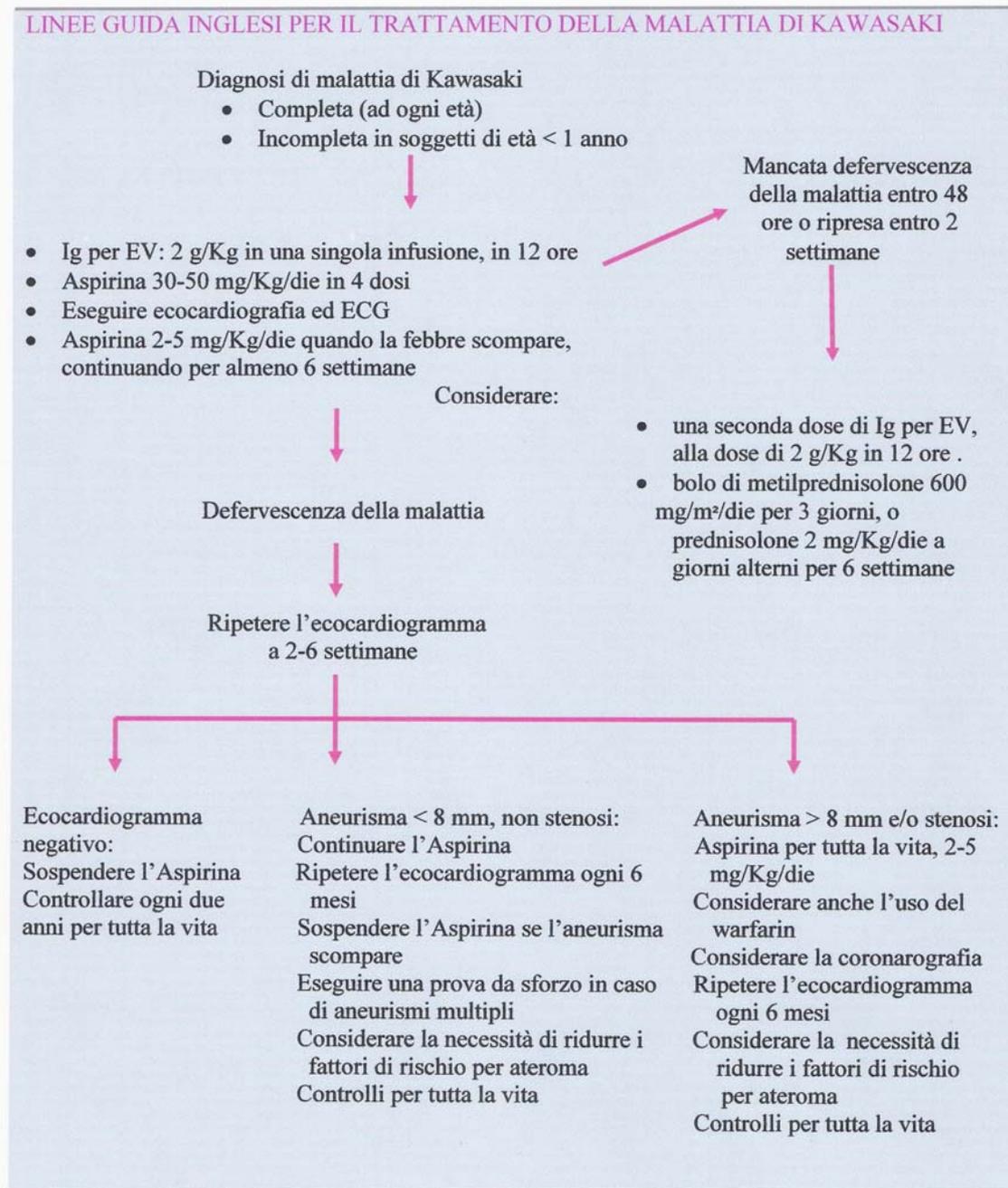


Figura 2: diagramma di flusso che mostra gli step suggeriti dalle linee guida inglesi per il trattamento della MK.

e ciclosporina A. Il Metotrexate (MTX), un inibitore della diidrolato reduttasi, è stato usato per le sue proprietà antinfiammatorie nelle vasculiti severe ed appare efficace nei pazienti resistenti alle IVIG. Basse dosi di MTX (10 mg) provocano una rapida defervescenza in assenza di dilatazione delle arterie coronarie. Il meccanismo dell'azione antinfiammatoria del MTX è sconosciuto, ma alcuni ipotizzano l'inibizione dell'attività e della secrezione di citochine proinfiammatorie come IL-1 e IL-6 (5).

In alcuni bambini che sviluppano stenosi anastomotiche post-aneurismatiche si rende necessario un intervento di rivascolarizzazione tramite angioplastica intraluminale o bypass, utilizzando in quest'ultimo caso le arterie toraciche interne destra e sinistra per la branca discendente anteriore sinistra e la branca marginale ottusa e l'arteria radiale per la branca atrio-ventricolare e la branca discendente posteriore (55,56).

Prognosi e importanza del monitoraggio a lungo termine

A lungo termine la prognosi del bambino con malattia di Kawasaki dipende essenzialmente dallo sviluppo di aneurismi coronarici e dalle loro dimensioni iniziali.

Fattori di rischio correlati allo sviluppo degli aneurismi sono:

- persistenza della febbre dopo terapia con I-VIG;
- anemia;
- iposodiemia
- ipoalbuminemia;
- spiccata leucocitosi;
- elevati livelli ematici di PCR;
- sesso maschile;
- età inferiore ad 1 anno.

Le lesioni delle arterie coronariche si modificano nel tempo. Gli aneurismi più piccoli (< 4 mm) possono più facilmente regredire, quelli giganti (> 8 mm) sono invece associati ad una prognosi peggiore con elevato rischio di trombosi. Altri fattori predittivi di regressione includono la precocità di insorgenza della malattia, la forma fusiforme anziché sacculare dell'aneurisma e la sua localizzazione nella porzione distale della arteria coronarica. Circa il 20% dei pazienti che sviluppano aneurismi coronarici durante la fase acuta va incontro a stenosi e possibilmente necessita di intervento di rivascolarizzazione (5).

L'AHA stratifica i pazienti con MK in relazione al rispettivo rischio di ischemia ed infarto miocardico. Tale stratificazione permette un management ed una terapia più adeguata al singolo paziente.

I livello di Rischio: pazienti con coronarie normali. Si pratica terapia antiaggregante con aspirina per 6-8 settimane. Non è necessaria nessuna restrizione dell'attività fisica.

II livello di Rischio: pazienti con ectasia coronarica che regredisce entro 8 settimane dall'inizio della malattia. Il trattamento è simile a quello effettuato nei pazienti del precedente livello.

III livello di Rischio: pazienti con piccoli o medi aneurismi coronarici (3-7 mm). È necessario prolungare il trattamento con aspirina a basso dosaggio fino alla regressione degli aneurismi. Nei bambini fino a 10 anni di età l'attività fisica non è limitata, ma nella seconda decade di vita, prima di iniziare sport a livello agonistico è necessario eseguire una prova da sforzo. È raccomandato eseguire prima ecocardiografia ed elettrocardio-

gramma.

IV livello di Rischio: pazienti con aneurismi di grandi dimensioni (>7 mm) o coronarie con aneurismi multipli senza ostruzione. È indicata la terapia antiaggregante a lungo termine. Nei pazienti con aneurismi giganti valutare eventuale associazione di warfarin o eparina a basso peso molecolare. Vanno eseguiti ogni 6 mesi elettrocardiogramma ed ecocardiografia, annualmente una prova da sforzo ed eventuale cateterismo cardiaco 6-12 mesi dopo la fase acuta.

V livello di Rischio: pazienti con aneurismi coronarici stenosanti documentati con angiografia. La terapia è uguale a quella dei pazienti del IV livello, con l'aggiunta di β -bloccanti per ridurre il lavoro cardiaco. Il cateterismo cardiaco è importante per valutare l'eventuale necessità di terapia trombolitica ed intervento di rivascolarizzazione con angioplastica o by-pass (11).

Tutti i pazienti, compresi i bambini che non presentano segni di coinvolgimento cardiaco e ritornano al loro precedente stato di salute, vanno monitorizzati a lungo termine. In figura 2 è riportato l'algoritmo terapeutico e il follow-up da attuare nei bambini con MK secondo le linee guida inglesi (57).

Conclusioni

La malattia di Kawasaki è un'affascinante ed importante malattia pediatrica potenzialmente fatale, la cui eziopatogenesi è ancora oggetto di studio. La gravità della malattia varia da caso a caso. Non tutti i pazienti hanno l'intera gamma dei sintomi e la maggioranza non sviluppa interessamento cardiaco. La malattia non si può prevenire ma può essere curata. Pertanto in tutti i casi di sospetta MK è indicato il ricovero ospedaliero al fine di eseguire gli accertamenti diagnostici necessari ed attuare la terapia più precocemente possibile.

Riassunto

La malattia di Kawasaki (MK) è una vasculite sistemica acuta febbrile che interessa i vasi di medio calibro, a eziologia sconosciuta, probabilmente multifattoriale, che colpisce prevalentemente i lattanti e la prima infanzia. La MK è caratterizzata da febbre, congiuntivite non essudativa bilaterale, eritema delle labbra e della mucosa orale, alterazioni delle estremità, rash eritematoso e linfadenopatia cervicale. Si associa a rischio di sviluppare ectasie o aneurismi delle arterie coronarie che possono determinare cardiopatia ischemica, infarto miocardico o morte improvvisa. Il trattamento con immunoglobuline endovena è generalmente efficace ma il suo meccanismo d'azione è tutt'ora poco chiaro.

Lo sviluppo di un test diagnostico, una più specifica terapia e in ultimo la prevenzione di questa malattia potenzialmente fatale nei bambini dipendono tutti dai continui progressi nella comprensione dell'eziopatogenesi di questa affascinante malattia.

Scopo di questa review è di delineare le principali ipotesi eziopatogenetiche, i criteri diagnostici, le opzioni terapeutiche attualmente disponibili e l'importanza del follow-up.

PAROLE CHIAVE: Vasculite, Alterazioni Immunologiche, Febbre, Aneurismi, Ecocardiografia.

BIBLIOGRAFIA

1. Kawasaki T: Acute febrile mucocutaneous syndrome with lymphoid involvement with specific desquamation of the fingers and toes in children. *Allergy* 1967; 16:178-222;
2. Barron KS: Kawasaki disease: etiology, pathogenesis, and treatment. *Cleve Clin J Med.* 2002;69 Suppl 2:SII69-78;
3. Park YW, Park IS, Kim CH, Ma JS, Lee SB, Kim CH, Yun YS, Lee HJ, Lee SK, Tockgo YC. Epidemiologic study of Kawasaki disease in Korea, 1997-1999: comparison with previous studies during 1991-1996. *J Korean Med Sci.* 2002 Aug;17(4):453-6;
4. Newburger JW, Fulton DR: Kawasaki disease. *Curr Opin Pediatr* 2004;16:508-14;
5. Kim DS: Kawasaki disease. *Yonsei Med J.* 2006 Dec 31;47(6):759-72;
6. Fujita Y, Nakamura Y, Sakata K, Hara N, Kobayashi M, Nagai M, Yanagawa H, Kawasaki T.: Kawasaki disease in families. *Pediatrics.* 1989 Oct;84(4):666-9;
7. Wang CL, Wu YT, Liu CA, et al: Kawasaki disease: infection, immunity and genetics. *Pediatr Infect Dis J* 2005;11:998-1004;
8. Abe J, Kotzin BL, Juio K, Melish ME, Glode MP, Kohsaka T, et al.: Selective expansion of T cells expressing T-cell receptor variable regions V beta 2 and Vbeta 8 in Kawasaki disease. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992;89:4066-70;
9. Leung DY, Giorno RC, Kazemi LV, Flynn PA, Busse JB: Evidence for superantigen involvement in cardiovascular injury due to Kawasaki syndrome. *J Immunol* 1995;155:5018-21;
10. Leung DJ, Meissner HC, Shulman ST, Mason WH, Gerber MA, Glode MP et al. : Prevalence of superantigen-secreting bacteria in patients with Kawasaki disease. *J Pediatr* 2002;140:742-6;
11. Choi IH, Chwae YJ, Shim WS, Kim DS, Kwon DH, Kim JD, et al. Clonal expansion of CD8+ T cells in Kawasaki disease. *J Immunol* 1997;159:481-6;
12. Rowley AH, Shulman ZT, Spike BT, Mask CA, Baker SC: Oligoclonal IgA response in the vascular wall in acute Kawasaki disease. *J Immunol* 2001;166:1334-43;
13. Lee JS, Park IH, Shin JS, Kim DS: Clonal Expansion of Peripheral B cells in Kawasaki Disease (in Korean). *Pediatr Allergy Respir Dis* 2002;12:299-314;
14. Dergun M, Kao A, Hauger SB, Newburger JW, Burns JC: Familial Occurrence of Kawasaki Syndrome in North America. *Arch Pediatr Adolesc Med.* 2005;159:876-881;
15. Yanagawa H, Nakamura Y, Yashiro M, Oki I, Hirata S, Zhang T et al.: Incidence survey of Kawasaki disease in 1997 and 1998 in Japan. *Pediatrics* 2001;107:E33.
16. Morens DM, O'Brien RJ: Kawasaki disease in the United States. *J Infect Dis.* 1978;137:91-93;
17. Shulman ST, McAuley JB, Pachman LM, Miller ML, Ruschhaupt DG: Risk of coronary abnormalities due to Kawasaki disease in urban area with small Asian population. *AJDC.* 1987;141:420-425;
18. Holman RC, Curns AT, Belay ED, Steiner CA, Schonberger LB: Kawasaki syndrome hospitalizations in the United States, 1997 and 2000. *Pediatrics.* 2003;112:495-501.
19. Uehara R, Yashiro M, Nakamura Y, Yanagawa H: Kawasaki disease in parents and children. *Acta Pediatr.* 2003;92:694-697;
20. Leung KYM, Cotran RS, Kurt-Jones E, Burns JC, Newburger JW, Pober JS: Endothelial cell activation and high-interleukin-1 secretion in the pathogenesis of acute Kawasaki disease. *Lancet* 1989;2:1298-1302;
21. Sensaki H, Masutani S, Koboyashi J, et al.: Circulating matrix metalloproteinases and their inhibitors in patients with Kawasaki disease. *Circulation* 2001;104:830-3;
22. Baramaova EN, Bajou K, Remakle JM, et al.: Involvement of PA/plasmin system in the processing of pro-MMP9 and in the second step of pro-MMP-2 activation. *FEBS Lett* 1997;405:157-62;
23. Mazzieri R, Masiero L, Zanetta L, et al.: Control of type IV collagenase activity by components of the urokinase-plasmin system: a regulatory mechanism with cell-bound reactants. *EMBO J* 1997;16:2319-32;
24. H Senzaki: The pathophysiology of coronary artery aneurysm in Kawasaki disease: role of matrix metalloproteinases. *Arch Dis Child* 2006;91:847-851;
25. Newburger JW, Takahashi M, Gerber MA, Gewitz MH, Tani LY, Burns JC, Shulman ST, Bolger AF, Ferrieri P, Baltimore RS, Wilson WR, Baddour LM, Levison ME, Pallasch TJ, Falace DA, Taubert KA: Diagnosis, Treatment, and Long-Term Management of Kawasaki Disease A Statement for Health Professionals From the Committee on Rheumatic Fever, Endocarditis and Kawasaki Disease, Council on Cardiovascular Disease in the Young, American Heart Association. *Circulation* 2004;110:2747-2771;
26. Freeman FA, Shulman TS: Kawasaki Disease: Summary of the American Heart Association Guidelines. *American Academy of Family Physicians*, 2006.
27. Ozen S, Ruperto N, Dillon M, et al: EULAR/PRES Endorsed Consensus Criteria for the classification of childhood vasculitides under review by ARC. *Ann Rheum Dis* 2005 Dec;
28. Burns JC, Glode MP: Kawasaki syndrome.

- Lancet 2004;364:533-44;
29. Burgner D, Harnden A: Kawasaki disease: What is the epidemiology telling us about the etiology?. *Int J Inf Dis* 2005;9:185-194;
 30. Marchesi A, Gonfiantini, De Zorzi A, D'Argenio P, Cortis E, ME Hachem, Villani A: La malattia di Kawasaki: diagnosi, stratificazione di rischio e strategie terapeutiche. *Area Pediatrica*, Maggio 2006;
 31. Newburger JW, Burns JC, Beiser AS, Loscalzo J: Altered lipidic profile after Kawasaki syndrome. *Circulation* 1991;84:625-31;
 32. Schroh AM, Dominguez P, Laghezza LB, Melonari PA, Olguin M, Miatello R: Kawasaki disease: Heart disease during Childhood. *Rev Esp Cardiol* 2006;59(4):387-90;
 33. Takeuchi D, Saji T, Takatsuki S, Fujiwara M: Abnormal Tissue Doppler Images are associated with elevated Plasma Brain Natriuretic Peptide and Increased Oxidative Stress in Acute Kawasaki Disease. *Circ J* 2007;71:357-362;
 34. Soncagi A, Devrim I, Karagöz T, Dilber E, Celiker A, Ozen S, Secmeer G: Septated pericarditis associated with Kawasaki disease: a brief case report. *Turk J Pediatr.* 2007 Jul-Sep;49(3):312-4;
 35. Wolff AE, Hansen KE, Zakowski L: Acute Kawasaki disease: not just for kids. *Society of General Internal Medicine* 2007;22:681-684;
 36. Higashi K, Terai M, Hiromichi H, Honda T, Masaki K, Kohno Y: Impairment of angiogenic activity in the serum from patients with coronary aneurysms due to Kawasaki disease. *Circ J* 2007;71:1052-59;
 37. Sciacca P, Falsaperla R, Barone P, Tornamene G, Mattia C, Marletta M, Betta P, Distefano G: Il coinvolgimento cardiaco nella malattia di Kawasaki. *Esperienza personale. Minerva Pediatrica* 2001;53(02):87;
 38. Ohkubo T, Fukuzawa R, Ikegami E, Ogawa S: Reduced shear stress and disturbed flow may lead to coronary aneurysm and thrombus formations. *Pediatr Int.* 2007 Feb;49(1):1-7;
 39. Atik E: Kawasaki disease: giant coronary arteries aneurysms regression and later stenosis. *Arq. Bras. Cardiol.* 2007 Jan; 88(1);
 40. McCrindle BW, Li JS, Minich LL, Colan SD, Atz AM, Takahashi M, Vetter VL, Gersony WM, Mitchell PD, Newburger JW, Pediatric Heart Network Investigators: Coronary artery involvement in children with Kawasaki disease: risk factors from analysis of serial normalized measurements. *Circulation.* 2007 Jul 10;116(2):174-9;
 41. McCrindle BW, McIntyre S, Kim C, Lin T, Adeli K: Are patients after Kawasaki disease at increased risk for accelerated atherosclerosis? *J Pediatr.* 2007 Sep;151(3):244-8;
 42. Dalla Pozza R, Bechtold S, Urschel S, Kozlik-Feldmann R, Netz H. Subclinical atherosclerosis, but normal autonomic function after Kawasaki disease. *J Pediatr.* 2007 Sep;151(3):225-8;
 43. Wang JN, Chiou YY, Chiu NT, Chen MJ, Lee BF, Wu JM: Renal scarring sequelae in childhood Kawasaki disease. *Pediatr. Nephrol.* 2007 May;22(5):684-9;
 44. Yu XY, Wang H, Hou Y, Chen R, Xing YL. Value of multislice spiral computed tomography in finding coronary artery lesion in children with Kawasaki disease. *Zhonghua Er Ke Za Zhi.* 2006 Dec;44(12):896-900;
 45. Cicala s, Galderisi M, Greco M, Lamberti A, Cosimi R, Pellegrini F, De Leva F. Transthoracic echo-doppler assessment of coronary microvascular function late after Kawasaki disease. *Pediatr Cardiol.* 2007 Aug 28;
 46. Miyashita M, Karasawa K, Taniguchi K, Kanamaru H, Ayusawa M, Sumitomo N, Harada K. Usefulness of real-time 3-dimensional echocardiography for the evaluation of coronary artery morphology in patients with Kawasaki disease. *J Am Soc Echocardiogr.* 2007 Aug;20(8):930-3;
 47. Dauphi C, Motref P, Souteyrand G, Laurichesse H, Gourdon F, Lesens O, Lamaison D, Beytout J, Cassagnes J, Lusson JR. Kawasaki disease is also a disease of adult: report of six cases. *Arch Mal Coeur Vaiss.* 2007 May;100(5):439-47;
 48. Kanamaru H, Karasawa K, Ichikawa R, Abe O, Miyashita M, Taniguchi K, Ayusawa M, Sumitomo N, Okada T, Takayama T, Sato Y, Saito S, Harada K. Advantages of multislice spiral computed tomography for evaluation of serious coronary complications after Kawasaki disease. *J cCardiol.* 2007 Jul;50(1):21-7;
 49. Takemura A, Suzuki A, Inaba R, Sonobe T, Tsuchiya K, Omuro M, Korenaga T. Utility of coronary MR angiography in children with Kawasaki disease. *AJR Am J Roentgenol.* 2007 Jun;188(6):W534-9;
 50. Ho-Chang Kuo, Chih-Lu Wang, Chi-Di Liang, Hong-Ren Yu, Hsin-Hsu Chen, Lin Wang, Kuender D. Yang. Persistent monocytosis after intravenous immunoglobulin therapy correlated with the development of coronary artery lesions in patients with Kawasaki disease. *J Microbiol Immunol Infect.* 2007;40:395-400;
 51. Qin LJ, Wang HW, Hu XF, Liu QJ, Shi H, Wei YX, Chen QJ, Cheng PX. Therapeutic effectiveness of intravenous immunoglobulin at 1 g/Kg and 2 g/Kg on Kawasaki disease: a comparative and follow-up study. *Zhonghua Er Ke Za Zhi.* 2006 Dec;44(12):891-5;
 52. Kato H, Koike S, Yokoyama T: Kawasaki disease: effect of treatment on coronary artery

- involvement. *Pediatrics* 1979;63:175-9;
53. Shinohara M, Sone K, Tomomasa T, Morikawa A: Corticosteroids in the initial treatment of Kawasaki disease. *J Pediatr* 1999;135:465-9;
54. Wu Chang M: Do corticosteroids improve outcome in Kawasaki disease? *Journal Watch Dermatology*. 2007 February 14;
55. Miyazaki A, Tsuda E, Miyazaki S, Kitamura S, Tomita H, Echino S. Percutaneous transluminal stenosis after coronary arterial bypass grafting in Kawasaki disease. *Cardiol Young*. 2003 Jun;13(3):284-9;
56. Matsuura K, Kobayashi J, Bando K, Niwaya K, Tagusari O, Nakajima H, Kitamura S. Redo off-pump coronary bypass grafting with arterial graft for Kawasaki disease. *Heart Vessels*. 2006 Nov;21(6):361-4;
57. Brogan PA, Bose A, Burgner D et al: Kawasaki disease. An evidence based approach to diagnosis, treatment, and proposals for future research. *Arch Dis Child* 2002;86-90.

PROTEIN KINASES AND PHOSPHATASES AS DRUG TARGETS TO CURE HUMAN MALIGNANCIES

PROTEINE CHINASI E FOSFATASI: BERSAGLI TERAPEUTICI PER IL TRATTAMENTO DI NEOPLASIE UMANE

Manlio Vinciguerra

CAPSULA EBURNEA, 3(5):1-9, 2008.

Department of Cell Physiology and Metabolism, Faculty of Medicine, University of Geneva, Geneva, Switzerland.

Correspondence:

Dr. Manlio Vinciguerra:
Manlio.Vinciguerra@medecine.unige.ch

Received: February 14th, 2008

Revised: February 25th, 2008

Accepted: February 26th, 2008.

No conflicts of interest were declared.

Category of paper:
REVIEW

Language of the Article: English.

Abstract.

Protein phosphorylation controls various aspects of cell proliferation, differentiation, metabolism, survival and motility. Protein kinases and phosphatases are involved in intracellular signal transduction pathways providing a dynamic and reversible regulation of many biological activities. One of the biggest challenges of modern medicine is to identify promising therapeutic targets among these families of enzymes, which are involved in the development of various human cancers.

This review focuses on protein kinases and phosphatases as targets of small-molecule drugs. Some examples of breakthrough compounds are highlighted to illustrate achievements and challenges in the generation of small-molecule inhibitors to cure human malignancies.

KEYWORDS: phosphorylation, protein kinases, protein phosphatases, cellular signal transduction, drug targets, small-molecule inhibitors.

Riassunto.

La fosforilazione proteica regola diversi aspetti della sopravvivenza, della proliferazione, della differenziazione, del metabolismo e della motilità della cellula. Le proteine chinasi e fosfatasi sono coinvolte nella propagazione dei segnali intracellulari, creando una regolazione dinamica e reversibile di molte attività biologiche. Una grande sfida della medicina moderna consiste nell'identificare bersagli terapeutici tra questi enzimi, legati all'insorgere di varie neoplasie umane.

Questa review descrive alcune chinasi e fosfatasi identificate come bersagli terapeutici di inibitori a basso peso molecolare. Alcuni esempi di molecole rivoluzionarie evidenziano i successi e le difficoltà nella creazione di inibitori a basso peso molecolare per curare neoplasie umane.

PAROLE CHIAVE: fosforilazione, proteine chinasi, proteine fosfatasi, vie cellulari di segnalazione, bersagli terapeutici, inibitori a basso peso molecolare.

Introduction

Protein phosphorylation regulates almost all aspects of the life of the cell. This process comprises the transfer of a phosphate group from a donor molecule (usually ATP) to serine, threonine or tyrosine residues in an acceptor protein.

Already in the 19th century it was known that

phosphates could be bound to proteins. Most examples of these 'phosphoproteins' were found in milk (caseins) and egg yolk (phosvitin) and were simply considered a biological method of providing phosphorus as a nutrient. Therefore, the existence of phosphoproteins was considered a consequence of metabolic reactions, and nothing more, for almost 100

years after their discovery (1).

In the 1950's this all began to change as phosphoproteins began to emerge as key regulators of cellular life. In 1954, an enzyme activity was observed that transferred a phosphate onto another protein (2), a reaction called phosphorylation. The protein responsible was a liver enzyme that catalyzed the phosphorylation of casein and became known as a protein kinase, the first of its kind to be discovered. A year later, the role of phosphorylation became more interesting as Fischer and Krebs (3), followed by Wosilait and Sutherland (4), showed that an enzyme involved in glycogen metabolism was regulated by the addition or removal of a phosphate, suggesting that reversible phosphorylation could control enzyme activity. This idea was later proven to be true and has now seeped into virtually every aspect of cell biology.

Today, it is thought that one third of the proteins present in a typical mammalian cell are covalently bound to phosphate (meaning that they are phosphorylated at one time or another). Cell biology provides us with many examples of regulation by phosphorylation: increasing or decreasing the biological activity of an enzyme, helping move proteins between subcellular compartments, allowing interactions between proteins to occur, as well as labelling proteins for degradation. Targets of phosphorylation are enzymes, structural proteins, cell receptors, ion channels and signalling molecules. The variety is immense and now many human diseases

have been recognized to be associated with the abnormal phosphorylation of cellular proteins. These developments have brought the study of phosphorylation into the central stage of medical research, a fact that was recognized in 1992 when Fischer and Krebs received the Nobel Prize in medicine for their pioneering efforts (5).

Phosphorylation as a biological mechanism to transduce signals

How can phosphorylation control enzyme activity? Phosphorylation refers to the addition of a phosphate to one of the amino acid side chains of a protein. Proteins are composed of amino acids bound together and that each amino acid contains a particular side chain, which distinguishes it from other amino acids. Phosphates are negatively charged (with each phosphate group carrying two negative charges) so that their addition to a protein will change the characteristics of the protein. This change is often a conformational one, causing the protein to change how it is structured (Fig. 1).

This reaction is reversible by a process called dephosphorylation. The protein switches back to its original conformation when the phosphorus is removed (Fig. 1). If these two conformations provide the protein with different activities (i.e. being enzymatically active in one conformation but not the other), phosphorylation of the protein will act as a molecular switch, turning the activity on or off. The transfer of phosphates onto proteins is catalyzed by a variety of enzymes in the cell. Although the variety is

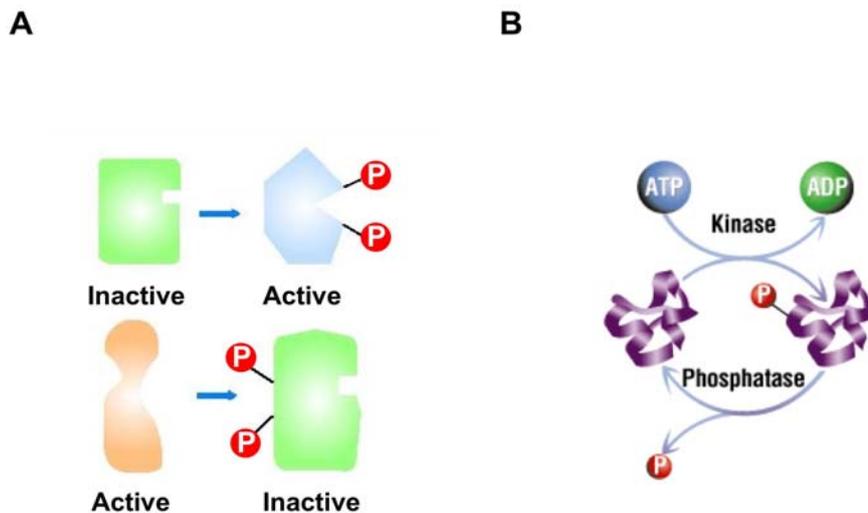


Fig. 1: Mechanisms of protein phosphorylation. A. Phosphorylation reactions often induces conformational changes in proteins affecting their activities, either enhancing it (upper panel) or decreasing it (lower panel). B. Kinase and phosphatase activities. The addition of a phosphate group to an acceptor protein is catalyzed by protein kinases to the expenses of an ATP donor molecule. The inverse reaction is catalyzed by protein phosphatases families of proteins.

large, all of these enzymes share certain characteristics and fall into one class of proteins, called protein kinases (6). There are 518 protein kinases in humans that have been classified in 20 different families based on amino acid sequence comparisons (7) (Fig. 2). A second class of enzymes is responsible for the reverse reaction, in which phosphates are removed from a protein. These are termed protein phosphatases. Phosphatases are structurally and functionally diverse enzymes that are represented by three distinct gene families. Within each family, the catalytic domains are highly

conserved, with functional diversity endowed by regulatory domains and subunits. There are almost 100 genes predicted to encode protein phosphatases in humans, which is about a quarter the number of protein kinases implying a higher degree of redundancy and substrate promiscuity among phosphatases (8). In addition, a number of signal transduction events are regulated by non-protein kinases like the lipid kinase family. Similar to protein kinases also lipid kinase activity is reversed by lipid phosphatases. One of the best studied pathways is controlled by various phosphorylated forms of

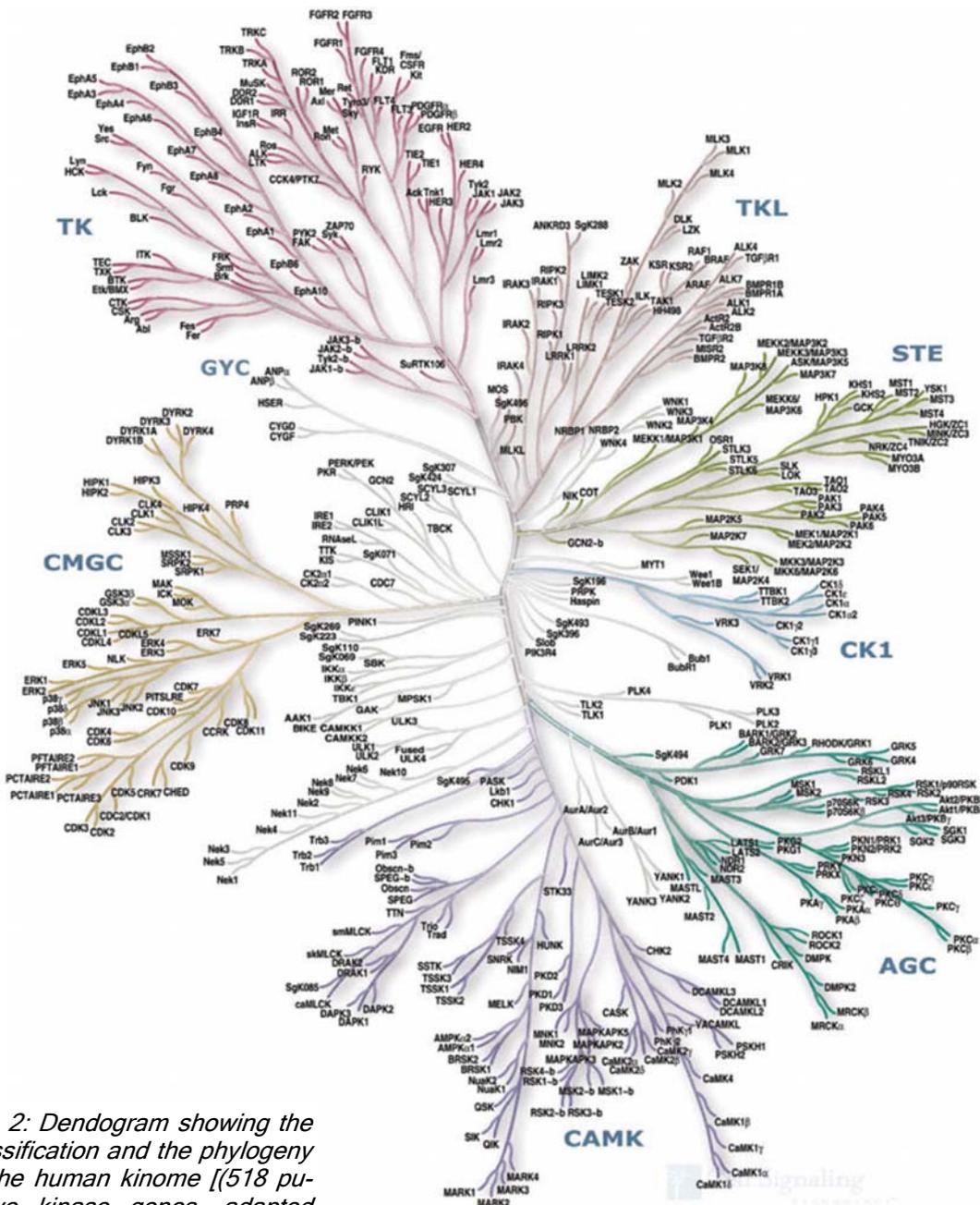


Fig. 2: Dendrogram showing the classification and the phylogeny of the human kinome [(518 putative kinase genes, adapted from (Manning G et al., Science 2002)].

phosphatidylinositol that can undergo reversible phosphorylation at multiple sites and plays a crucial role in cell proliferation, differentiation, apoptosis, cytoskeletal reorganization, membrane trafficking as well as in the regulation of protein synthesis and metabolism. The use of the phosphorylation/dephosphorylation of a protein as a control mechanism has many advantages: (i) it is rapid, taking as little as a few seconds; (ii) it does not require new proteins to be made or degraded; (iii) it is easily reversible. The extensive use of this control mechanism is apparent by the large number of known kinases and phosphatases (6).

Importantly, phosphorylation reactions are fundamental to transduce external cues to the inside of the cell. The reception of a signal on the surface of a cell often results in the activation of kinases and phosphatases (6). Once activated, cellular phosphorylation patterns will begin to change, with various proteins being phosphorylated or dephosphorylated. The final result will be various changes in cellular behaviour. Many of the proteins that are phosphorylated upon reception of a signal are protein kinases as well. This organization of kinases produces a phosphorylation cascade (6), in which one protein kinase is activated by phosphorylation upon reception of a signal; this kinase then phosphorylates the next kinase in the cascade, and so on until the signal is transmitted through the cell. In such a system, the kinase cascade can start with the receptor itself (which is often a kinase) or a free-floating cytoplasmic kinase. Upon reception of a signal, these phosphorylation cascades continue to function until protein phosphatases are activated and shut off their transmission. In animal cells, these cascades are mediated by two types of kinases: serine/threonine kinases (6) (which phosphorylate serine and threonine amino acid side chains) and tyrosine kinases (6) (which phosphorylate tyrosine amino acid side chains).

The central role of phosphorylation dependent signalling in the control of a large number of cellular processes make kinases and phosphatases very attractive drug targets, which is the subject of this review. As a consequence, detailed knowledge of the structure of kinases and phosphatases is of pivotal importance for any rational drug design approach. In particular kinases have been selected as targets for therapeutic invention since about 80 kinases map to loci that are implicated in human diseases and 164 kinases map to amplicons that have been detected frequently in tumours. A large number of kinase inhibitors entered clinical trials as anti cancer drugs, since these molecules have the potential of being less toxic and more specific than currently used generic

chemotherapeutic agents. Kinases play also a major role in other disease areas like immunosuppression, arthritis, neurodegeneration, retinopathy, schizophrenia, hypertension and obesity. In this review, far from wanting to cover in a comprehensive manner the extensive literature on the subject, I will provide only some paradigmatic examples, which show the great therapeutic potential of small molecules inhibiting protein kinases and phosphatases activities to cure human cancers.

Protein kinases as cancer therapeutic targets

Protein kinases can be simplistically subdivided in four groups: 1) growth factor receptor tyrosine kinases (EGFR family, VEGFR family, PDGFR, KIT, FGFR, IGFR etc.), 2) non-receptor tyrosine kinases (Abl, Src family, FAK1), 3) growth factor receptor serine/threonine kinases (e.g. TGF β R) and 4) non-receptor serine/threonine (e.g. MAPK family, CDK family, Raf kinase, PI-3K, PKC, PKB/Akt, mTOR and aurora kinase). The role of protein kinases in several pathogenic processes, such as oncogenic transformation, has been known for 30 years. However, in the beginning they were dismissed as targets for therapy due to the lack of knowledge on their specific roles and the concerns about drug safety. In more recent years, the fear left the place to the excitement when safe and effective small molecules inhibiting specific protein kinases have been discovered and developed. Here I will discuss some proof-of-concept examples of inhibitors for three of the four groups of protein kinases, which I listed above:

1) The epidermal growth factor receptor (EGFR) family have key roles in fetal development, tissue repair, and disease processes such as neoplastic formation (9). In normal cells EGFR tyrosine kinase (TK) activity is tightly regulated at multiple levels, influenced by factors such as availability of ligand and degradation of the receptor by intracellular endocytosis (10). Many human tumours have increased or altered expression of EGFR-TK and its ligands (11). Expression of EGFR and its ligands is correlated with patient outcomes in a number of solid cancers, such as head and neck squamous cell carcinoma (12) and lung adenocarcinoma (13,14). Because of the importance of EGFR-TK activation in transduction of growth signals in tumours, considerable effort has been put into developing cancer treatment approaches that target EGRF-TK. A successful approach has been to target the EGFR tyrosine kinase activity with small molecule inhibitors which compete with adenosine triphosphate (ATP) for binding to the ATP-binding pocket of EGFR-TK, located inside the cell (15).

Different inhibitors were derived from a combination of molecular modelling and random screening of libraries of libraries of small compounds; molecular modelling was based on x-ray crystallographic structures of EGFR-TK as well as on the structures of natural tyrosine kinase inhibitors such as soy-bean derived genistein (15). Among several inhibitors developed with these approaches, the main stage is taken by Gefitinib (commercialized with the name Iressa® by AstraZeneca). Gefitinib can rapidly disable signal transduction pathways downstream of EGFR (16,17). Gefitinib treatment in preclinical tumours has resulted in additive or synergistic tumour inhibition when combined with chemotherapy agents or radiation therapy (18,19). Therefore, anti-EGFR-TK agents have clearly the potential to treat common solid cancers.

2) In chronic myelogenous leukaemia (CML), a balanced reciprocal chromosomal translocation in hematopoietic stem cells (HSCs) produces the hybrid BCR-ABL gene, which encodes the oncogenic Bcr-Abl fusion protein. In normal conditions, the ABL gene produces a tightly regulated non-receptor protein tyrosine kinase (Abl). Abl plays a fundamental role in regulating cell proliferation, adherence and apoptosis (20). In contrast, the BCR-ABL fusion protein encodes a constitutively activated kinase. This event induces HSCs to have a deregulated clonal proliferation, decreased ability to adhere to the bone marrow stroma and a decreased apoptotic response to mutagenic stimuli, which triggers with time malignant transformations. The resulting granulocytes fail to develop into mature lymphocytes leading also to an increased susceptibility to infection. This aetiology renders Bcr-Abl protein kinase an attractive target for drug intervention in CML. Here again, as in the case of EGFR-TK, a successful strategy has been to target the ATP-binding site of Abl and to screen large and diverse compound archives for the capacity to inhibit Abl tyrosine kinase activity. This was done at Novartis Pharma (Basel, Switzerland) and led to the identification of pyrimidine A as a structurally attractive lead molecule to target Abl (21). Chemical modifications of this lead molecule, driven by several structure/activity studies, led to the development of Imatinib (commercialized as Glivec®). Glivec is well tolerated in CML patients, with nearly all the subjects in chronic phase showing a complete haematological response and half of them showing also a cytogenetic response (22). The key of the success of Glivec® has been to precisely target the underlying cause of CML, that is to inhibit with efficacy the mutant protein Bcr-Abl with a molecule tuned chemically to have an excellent inhibitory

and a safe toxicological profile.

3) mTOR is a serine/threonine kinase that integrates nutrient and mitogenic stimuli to regulate cell growth and proliferation (23). mTOR is under direct influence of PI-3K-PKB/Akt pathway, since it can be phosphorylated, both in vitro and in vivo, by PKB/Akt on Ser2448, suggesting that PKB/Akt may directly modulate the function of mTOR (24,25). In the cell, mTOR enhances phosphorylation of S6K1 and the eukaryotic initiation factor 4E-binding protein-1 (4E-BP1), which upregulates translation of several specific mRNAs and increases available translation initiation factor 4E (eIF4E) (26) (Fig. 3). mTOR pathway is fundamental in normal progression of the cell cycle, since both the downstream S6K1 and the 4E-BP1/eIF4E pathways are required for and independently mediate mTOR-dependent G1 phase progression (27) (Fig. 3). Thus, it is not astonishing that deregulation in mTOR pathway is frequently observed in several human malignancies (28,29). In this case, a useful hint to search and discover new therapeutic mTOR inhibitors came by Nature: mTOR is inhibited by rapamycin, a macrolide initially identified as an antifungal. Rapamycin binds avidly to the immunophilin FK506 binding protein 12 (FKB12), and the resultant complex inhibits the phosphorylation of mTOR downstream targets, ultimately leading to cell cycle arrest (30,31). The tumour-growth-inhibitory properties of rapamycin were early recognized (32); however, initially rapamycin was clinically developed and currently used for its immunosuppressive properties. Moreover, rapamycin has an undesirable pharmacological profile, including the fact that it is poorly soluble in water and unstable. Therefore, based on rapamycin

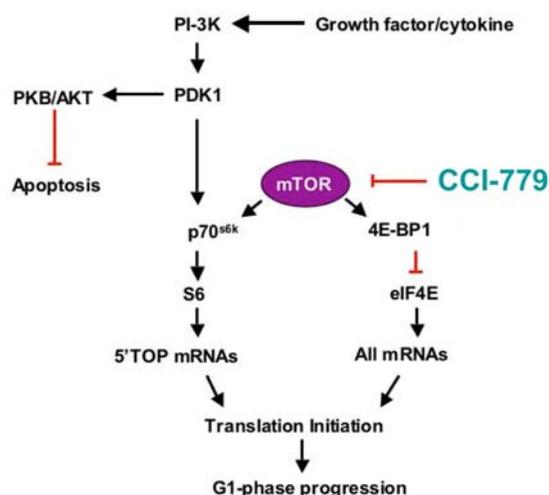


Fig. 3: Schematic representation of mTOR signalling pathway and site of pharmacological action of rapamycin analog CCI-779 (in green). See text for detailed description.

structure, pharmaceutical companies invested considerable effort to develop rapamycin analogs, which are now in or near clinical trials. The reader is referred to a recent review to find an exhaustive description of rapamycin analogs for clinical use (33), while here I will focus only on one of them, which is the promising cell cycle inhibitor 779 (CCI-779) (Fig. 3). CCI-979 formula was developed by Wieth-Lederle (USA): CCI-779 has been shown to have antitumor effects in animal studies (34,35). A number of clinical trials have been completed with CCI-779 in patients with different malignancies, such as glioblastoma, melanoma, glioma, mantle-cell non-Hodgkin's lymphoma, small cell lung cancer, and renal cell carcinoma (33,36). Overall, the results of these trials showed that CCI-779 exhibit a promising clinical activity in a significant sub-population of cancer patients. Current efforts in the private sector are aimed to understand in which precise patient population this agent is more effective and if its activity could be more optimal if combined with other therapeutics (chemotherapy, radiotherapy etc.).

Protein phosphatases as cancer therapeutic targets

Protein phosphatases may be considered promising targets for small molecule-based inhibiting strategies in some cancers, although less is known and the investment of resources by the industry is much less consistent, compared to their biological counterpart, protein kinases. Protein phosphatases can be diversified in protein phosphatases (either on tyrosine or serine/threonine residues), lipid phosphatases and dual activity phosphatases (displaying both protein and lipid phosphatases activities), according to their substrate specificities. A good example of successfully 'druggable' phosphatases to treat cancer is the family of PTPs Cdc25s, composed by three members, which activate cyclin-dependent kinases (37). Among these, Cdc25B is highly overexpressed in more than 30% of human primary breast cancers. For this reason, several pharmaceutical companies are now developing small molecule Cdc25B inhibitors, which have been proven to be effective in tumour models (38), to enter them in human clinical trials.

An other candidate phosphatase to be targeted to cure cancer is Prl-3. Prl-3 is specifically overexpressed in metastasis but not in the originating primary tumours (39), strongly suggesting that it may be essential for the formation of metastases but not for normal tissue growth. If these findings will be confirmed in the future, Prl-3 may constitute a promising small-molecule drug target to inhibit metastasis formation in human malignancies. Interestingly, a

recent study on *in vitro* cellular models uncovered the mechanism of action of Prl-3 in promoting cancer cell invasion (40): this occurs through downregulation of PTEN and upregulation of the PI-3K/PtdIns(3,4,5)P3 pathway, described further below in this section.

In the cell, signalling systems are exploited for multiple and interconnected functions in physiological and pathological states, and strategies aiming at inhibiting phosphatase-dependent signalling pathways with small molecules should be carefully experimentally proven, in order to do not impact negatively 'healthy' homeostasis. An established paradigm of this concept is the PI-3K/PtdIns(3,4,5)P3 signalling, mentioned above. One phosphatase that seems to be important in attenuating PI-3K/PtdIns(3,4,5)P3 signalling, upregulated in many malignancies, is the lipid phosphatase known as phosphatase and tensin homologue on chromosome 10 (PTEN). PTEN is a major regulator of PI3K signalling in many cell types, and functions as a tumour suppressor due to antagonism of the anti-apoptotic, proliferative and hypertrophic activities of the PI3K pathway (41). In addition, in the last five years multiple *in vitro* and *in vivo* studies demonstrated the fundamental role that PTEN plays also in insulin signal transduction in target tissues (42,43). Tissue-specific PTEN knock-out mice (in adipose tissue, muscle and liver) display improved glucose tolerance, thus ameliorating systemic insulin sensitivity and reversing diabetes in these animal models (42,43). However, liver specific PTEN knock-out or decrease in its expression in the long-term may favour the development of liver steatosis and hepatocellular carcinoma (44-46). Therefore, even if PTEN has been proposed as a useful small molecule drug target to treat diabetes/insulin resistance (47), this could be a double-edge sword and serious concerns exist for the safety and effectiveness of this strategy in humans.

Transient protein-protein interactions as cancer therapeutic targets

Since dysregulation in the cell cycle is an hallmark of all cancers, protein kinases and phosphatases that control the cell cycle could be interesting anticancer targets (48). As already mentioned in the section on phosphatases, Cdc25 phosphatases are particularly attractive candidates for the development of cancer therapeutics because of their role in promoting cell-cycle progression and their observed overexpression in many cancers (49). During cell proliferation, Cdc25 phosphatases dephosphorylate and thereby activate the cyclin-dependent kinase (CDK)-cyclin complexes. One of the most recent and innovative strate-

gies to cure human malignancies is to identify drugs that target transient protein-protein interactions as a therapeutic target. In fact, the interactions of protein kinases and protein phosphatases with their protein substrates are transient, and are therefore poorly characterized and problematic for drug discovery. On the other hand, the best inhibitors discovered so far protein-protein interactions have been described for stable, not transient, protein complexes (50). Currently there are no available valid inhibitors for transient kinase/phosphatase interactions with their substrates exploited in the clinics, but advances in the technologies and in the knowledge could reasonably soon lead to the identification of such inhibitors. A paradigm of this concept is the transient interaction between Cdc25 and phosphorylated CDK-cyclins. A docking site remote from the active site in Cdc25 that mediates efficient recognition of phosphorylated CDK-cyclins has been identified (51). Crystallographic (52,53), structural (site-directed mutagenesis) (51,54,55) and computational (56,57) studies validated a model of the docking orientation of CDC25B with its CDK-cyclin substrate in which the interfacial contacts in the remote docking site are primarily ionic (58). A pocket exists close to this docking site on CDC25B to which potential inhibitors of this transient protein-protein interaction could be targeted by new drugs, and current efforts in many laboratories worldwide are directed toward this direction.

Although clarifying the details of transient protein-protein interactions involved in cell-cycle control is difficult and requires a combination of computational, genetic, biochemical and structural efforts, it could be a new frontier of discovery and development of inhibitors that can serve as cancer therapeutics.

Perspectives

In this review we tried to highlight the great potential that small molecule inhibitors of protein kinases and phosphatases have to treat human malignancies, by bringing some proof-of-concept examples that have proved successful in the last past few years. This is the reason why concerted efforts in the private sector and in the academia are currently directed, for instance, toward the identification and the high throughput screening of new inhibitors in tumor cell lines (59). In the coming years it is expected to see the appearance on the market of new validated and therapeutically efficient inhibitors of kinase, phosphatases, and of transient interactions of those with their substrates, which will improve the quality of life of patients with cancer.

References

1. Marks F: Protein Phosphorylation. Edited by VCH, Weinheim. New York, Basel, Cambridge, Tokyo, 1996.
2. Burnett G, Kennedy EP: The enzymatic phosphorylation of proteins. *J Biol Chem* 1954; 211:969-980.
3. Fischer EH: Conversion of phosphorylase b to phosphorylase a in muscle extracts. *J Biol Chem* 1955; 216:121-132.
4. Sutherland EW Jr: Inactivation and activation of liver phosphorylase. *Nature* 1955; 175:169-170.
5. e-Museum: Nobel Prize in Physiology and Medicine 1992.
6. Sefton BM, Hunter T: Protein Phosphorylation. Edited by Academic Press, San Diego, 1998.
7. Manning G, Whyte DB, Martinez R, Hunter T, Sudarsanam S: The protein kinase complement of the human genome. *Science* 2002; 298:1912-1934.
8. Ducruet AP, Vogt A, Wipf P, Lazo JS ; Dual specificity protein phosphatases: therapeutic targets for cancer and Alzheimer's disease. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 2005; 45:725-750.
9. Woodburn JR: The epidermal growth factor receptor and its inhibition in cancer therapy. *Pharmacol Ther* 1999; 82:241-250.
10. Waterman H, Yarden Y: Molecular mechanisms underlying endocytosis and sorting of ErbB receptor tyrosine kinases. *FEBS Lett* 2001; 490:142-152.
11. Salomon DS, Brandt R, Ciardiello F, Normanno N: Epidermal growth factor-related peptides and their receptors in human malignancies. *Crit Rev Oncol Hematol* 1995; 19:183-232.
12. He Y, Zeng Q, Drenning SD, Melhem MF, Tweardy DJ, Huang L, Grandis JR: Inhibition of human squamous cell carcinoma growth in vivo by epidermal growth factor receptor antisense RNA transcribed from the U6 promoter. *J Natl Cancer Inst* 1998; 90:1080-1087.
13. Tateishi M, Ishida T, Mitsudomi T, Kaneko S, Sugimachi K: Immunohistochemical evidence of autocrine growth factors in adenocarcinoma of the human lung. *Cancer Res* 1990; 50:7077-7080.
14. Tateishi M, Ishida T, Kohdono S, Hamatake M, Fukuyama Y, Sugimachi K: Prognostic influence of the co-expression of epidermal growth factor receptor and c-erbB-2 protein in human lung adenocarcinoma. *Surg Oncol* 1994; 3:109-113.
15. Noonberg SB, Benz CC: Tyrosine kinase inhibitors targeted to the epidermal growth factor receptor subfamily: role as anticancer

- agents. *Drugs* 2000; 59:753-767.
16. Arteaga CL, Johnson DH: Tyrosine kinase inhibitors-ZD1839 (Iressa). *Curr Opin Oncol* 2001; 13:491-498.
 17. Yarden Y, Sliwkowski MX: Untangling the ErbB signalling network. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2001; 2:127-137.
 18. Sirotnak FM, Wendel HG, Bornmann WG, Tong WP, Miller VA, Scher HI, Kris MG: Co-administration of probenecid, an inhibitor of a cMOAT/MRP-like plasma membrane ATPase, greatly enhanced the efficacy of a new 10-deazaaminopterin against human solid tumors in vivo. *Clin Cancer Res* 2000; 6:3705-3712.
 19. Ranson M: ZD1839 (Iressa): for more than just non-small cell lung cancer. *Oncologist* 2002; 7 Suppl 4:16-24.
 20. Pendergast AM: The Abl family kinases: mechanisms of regulation and signaling. *Adv Cancer Res* 2002; 85:51-100.
 21. Paul R, Hallett WA, Hanifin JW, Reich MF, Johnson BD, Lenhard RH, Dusza JP, Kerwar SS, Lin Y, Pickett WC, Seifert CM, Torley LW, Tarrant ME, Wrenn S: Preparation of substituted N-phenyl-4-aryl-2-pyrimidinamines as mediator release inhibitors. *J Med Chem* 1993; 36:2716-2725.
 22. Druker BJ, Sawyers CL, Kantarjian H, Resta DJ, Reese SF, Ford JM, Capdeville R, Talpaz M: Activity of a specific inhibitor of the BCR-ABL tyrosine kinase in the blast crisis of chronic myeloid leukemia and acute lymphoblastic leukemia with the Philadelphia chromosome. *N Engl J Med* 2001; 344:1038-1042.
 23. Hidalgo M, Rowinsky EK: The rapamycin-sensitive signal transduction pathway as a target for cancer therapy. *Oncogene* 2000; 19:6680-6686.
 24. Sekulic A, Hudson CC, Homme JL, Yin P, Otterness DM, Karnitz LM, Abraham RT: A direct linkage between the phosphoinositide 3-kinase-AKT signaling pathway and the mammalian target of rapamycin in mitogen-stimulated and transformed cells. *Cancer Res* 2000; 60:3504-3513.
 25. Reynolds TH, Bodine SC, Lawrence JC Jr: Control of Ser2448 phosphorylation in the mammalian target of rapamycin by insulin and skeletal muscle load. *J Biol Chem* 2002; 277:17657-17662.
 26. Gingras AC, Kennedy SG, O'Leary MA, Sonenberg N, Hay N: 4E-BP1, a repressor of mRNA translation, is phosphorylated and inactivated by the Akt(PKB) signaling pathway. *Genes Dev* 1998; 12:502-513.
 27. Fingar DC, Richardson CJ, Tee AR, Cheatham L, Tsou C, Blenis J: mTOR controls cell cycle progression through its cell growth effectors S6K1 and 4E-BP1/eukaryotic translation initiation factor 4E. *Mol Cell Biol* 2004; 24:200-216.
 28. Kwon HK, Bae GU, Yoon JW, Kim YK, Lee HY, Lee HW, Han JW: Constitutive activation of p70S6k in cancer cells. *Arch Pharm Res* 2002; 25: 685-90.
 29. Bärlund M, Forozan F, Kononen J, Bubendorf L, Chen Y, Bittner ML, Torhorst J, Haas P, Bucher C, Sauter G, Kallioniemi OP, Kallioniemi A: Detecting activation of ribosomal protein S6 kinase by complementary DNA and tissue microarray analysis. *J Natl Cancer Inst* 2000; 92:1252-1259.
 30. Brown EJ, Albers MW, Shin TB, Ichikawa K, Keith CT, Lane WS, Schreiber SL: A mammalian protein targeted by G1-arresting rapamycin-receptor complex. *Nature* 1994; 369:756-758.
 31. Sabatini DM, Erdjument-Bromage H, Lui M, Tempst P, Snyder SH: RAFT1: a mammalian protein that binds to FKBP12 in a rapamycin-dependent fashion and is homologous to yeast TORs. *Cell* 1994; 78:35-43.
 32. Guba M, von Breitenbuch P, Steinbauer M, Koehl G, Flegel S, Hornung M, Bruns CJ, Zuelke C, Farkas S, Anthuber M, Jauch KW, Geissler EK: Rapamycin inhibits primary and metastatic tumor growth by antiangiogenesis: involvement of vascular endothelial growth factor. *Nat Med* 2002; 8:128-135.
 33. Meric-Bernstam F, Mills GB: Mammalian target of rapamycin. *Semin Oncol* 2004; 31:10-17.
 34. Neshat MS, Mellinghoff IK, Tran C, Stiles B, Thomas G, Petersen R, Frost P, Gibbons JJ, Wu H, Sawyers CL: Enhanced sensitivity of PTEN-deficient tumors to inhibition of FRAP/mTOR. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2001; 98:10314-10319.
 35. Podsypanina K, Lee RT, Politis C, Hennessy I, Crane A, Puc J, Neshat M, Wang H, Yang L, Gibbons J, Frost P, Dreisbach V, Blenis J, Giaccone Z, Fisher P, Sawyers C, Hedrick-Ellenson L, Parsons R: An inhibitor of mTOR reduces neoplasia and normalizes p70/S6 kinase activity in Pten^{+/-} mice. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2001; 98:10320-10325.
 36. Faivre S, Raymond E: Current development of mTOR inhibitors as anticancer agents. *Nat Rev Drug Discov* 2006; 5:671-688.
 37. Galaktionov K, Lee AK, Eckstein J, Draetta G, Meckler J, Loda M, Beach D: CDC25 phosphatases as potential human oncogenes. *Science* 1995; 269:1575-1577.
 38. Lazo JS, Nemoto K, Pestell KE, Cooley K, Southwick EC, Mitchell DA, Furey W, Gussio R, Zaharevitz DW, Joo B, Wipf P: Identification of a potent and selective pharmacophore for Cdc25 dual specificity phosphatase inhibitors. *Mol Pharmacol* 2002; 61:720-728.

39. Saha S, Bardelli A, Buckhaults P, Velculescu VE, Rago C, St Croix B, Romans KE, Choti MA, Lengauer C, Kinzler KW, Vogelstein B: A phosphatase associated with metastasis of colorectal cancer. *Science* 2001; 294:1343-1346.
40. Wang H, Quah SY, Dong JM, Manser E, Tang JP, Zeng Q: PRL-3 down-regulates PTEN expression and signals through PI3K to promote epithelial-mesenchymal transition. *Cancer Res* 2007; 67:2922-2926.
41. Leslie NR, Downes CP: PTEN function: how normal cells control it and tumour cells lose it. *Biochem J* 2004; 382:1-11.
42. Lazar DF, Saltiel AR: Lipid phosphatases as drug discovery targets for type 2 diabetes. *Nat Rev Drug Discov* 2006; 5:333-342.
43. Vinciguerra M, Foti M: PTEN and SHIP2 phosphoinositide phosphatases as negative regulators of insulin signalling. *Arch Physiol Biochem* 2006; 112:89-104.
44. Vinciguerra M, Veyrat-Durebex C, Moukil MA, Rubbia-Brandt L, Rohner-Jeanrenaud F, Foti M: PTEN down-regulation by unsaturated fatty acids triggers hepatic steatosis via an NF-kappaBp65/mTOR-dependent mechanism. *Gastroenterology* 2008; 134:268-280.
45. Stiles B, Wang Y, Stahl A, Bassilian S, Lee WP, Kim YJ, Sherwin R, Devaskar S, Lesche R, Magnuson MA, Wu H: Liver-specific deletion of negative regulator Pten results in fatty liver and insulin hypersensitivity. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004; 101:2082-2087.
46. Horie Y, Suzuki A, Kataoka E, Sasaki T, Hamada K, Sasaki J, Mizuno K, Hasegawa G, Kishimoto H, Iizuka M, Naito M, Enomoto K, Watanabe S, Mak TW, Nakano T: Hepatocyte-specific Pten deficiency results in steatohepatitis and hepatocellular carcinomas. *J Clin Invest* 2004; 113:1774-1783.
47. Rosivatz E, Matthews JG, McDonald NQ, Mulet X, Ho KK, Lossi N, Schmid AC, Mirabelli M, Pomeranz KM, Erneux C: A small molecule inhibitor for phosphatase and tensin homologue deleted on chromosome 10 (PTEN). *ACS Chem Biol* 2006; 1:780-790.
48. Toogood PL: Progress toward the development of agents to modulate the cell cycle. *Curr Opin Chem Biol* 2002; 6:472-478.
49. Kristjánssdóttir K, Rudolph J: Cdc25 phosphatases and cancer. *Chem Biol* 2004; 11:1043-1051.
50. Arkin MR, Wells JA: Small-molecule inhibitors of protein-protein interactions: progressing towards the dream. *Nat Rev Drug Discov* 2004; 3:301-317.
51. Sohn J, Parks JM, Buhrman G, Brown P, Kristjánssdóttir K, Safi A, Edelsbrunner H, Yang W, Rudolph J: Experimental validation of the docking orientation of Cdc25 with its Cdk2-CycA protein substrate. *Biochemistry* 2005; 44:5307-5316.
52. Jeffrey PD, Russo RA, Polyak K, Gibbs E, Hurwitz J, Massagué J, Pavletich NP: Mechanism of CDK activation revealed by the structure of a cyclinA-CDK2 complex. *Nature* 1995; 376:313-320.
53. Reynolds RA, Yem AW, Wolfe CL, Deibel MR Jr, Chidester CG, Watenpaugh KD: Crystal structure of the catalytic subunit of Cdc25B required for G2/M phase transition of the cell cycle. *J Mol Biol* 1999; 293:559-568.
54. Sohn J, Kristjánssdóttir K, Safi A, Parker B, Kiburz B, Rudolph J: Remote hot spots mediate protein substrate recognition for the Cdc25 phosphatase. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004; 101:16347-16341.
55. Sohn J, Buhrman G, Rudolph J: Kinetic and structural studies of specific protein-protein interactions in substrate catalysis by Cdc25B phosphatase. *Biochemistry* 2007; 46:807-818.
56. Wang Y, Brown P, Edelsbrunner H, Rudolph J: Coarse and reliable geometric alignment for protein docking. *Pac Symp Biocomput* 2005; 64-75.
57. Choi V, Agarwal PK, Edelsbrunner H, Rudolph J: Local search heuristic for rigid protein docking. In 4th Workshop on Algorithms in Bioinformatics (WABI): Lecture Notes in Computer Science 2004; 218-229.
58. Rudolph J: Inhibiting transient protein-protein interactions: lessons from the Cdc25 protein tyrosine phosphatases. *Nat Rev Cancer* 2007; 7:202-211.
59. McDermott U, Sharma SV, Dowell L, Greninger P, Montagut C, Lamb J, Archibald H, Raudales R, Tam A, Lee D, Rothenberg SM, Supko JG, Sordella R, Ulkus LE, Iafrate AJ, Maheswaran S, Njauw CN, Tsao H, Drew L, Hanke JH, Ma XJ, Erlander MG, Gray NS, Haber DA, Settleman J: Identification of genotype-correlated sensitivity to selective kinase inhibitors by using high-throughput tumor cell line profiling. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2007; 104:19936-19941.

MILK INTOLERANCE: A BIG TROUBLE FOR LITTLE PATIENTS

INTOLLERANZA AL LATTE: UN GRANDE PROBLEMA PER PICCOLI PAZIENTI

Salvatore Accomando, Francesca Serraino, Roberta Antona, Giovanni Corsello

CAPSULA EBURNEA, 3(6):1-5, 2008.

Sezione di Pediatria; Dipartimento Materno Infantile, Università di Palermo.

Correspondence:

Dr. Salvatore Accomando:
salvoaccomando@hotmail.com

Received: February 1st, 2008

Revised: March 10th, 2008

Accepted: March 12th, 2008.

No conflicts of interest were declared.

Category of paper:
REVIEW

Language of the Article: **English.**

Abstract

Our aim was to develop a diagnostic algorithm for milk intolerance. We distinguish adverse reaction to milk assumption in lactose intolerance and in cow milk protein intolerance. Anamnesis, clinical examination, laboratory investigations and double blind challenge procedures are discussed and argued in this paper, with the above mentioned aim to help paediatricians in diagnosis and management of milk intolerance. When is it necessary that patients refer to a specialist paediatrician gastroenterologist? How long time elimination diet must be followed? All these and other questions will have an answer in this paper.

KEYWORDS: Cow Milk Protein Intolerance, Lactase Deficiency, Double Blind Challenge Test.

Riassunto

Il nostro obiettivo è quello di proporre un algoritmo diagnostico per l'intolleranza al latte. Distinguiamo la reazione avversa all'assunzione del latte in intolleranza al lattosio ed intolleranza alle proteine del latte vaccino. L'anamnesi, l'esame obiettivo, le indagini di laboratorio ed il test di scatenamento in doppio cieco sono discusse ed argomentate in questo articolo, con il proposito sopra menzionato di aiutare i pediatri nella diagnosi e nella gestione dell'intolleranza al latte. Quando è necessario inviare questi pazienti allo specialista in gastroenterologia pediatrica? Per quanto tempo va seguita la dieta di eliminazione? Queste ed altre domande troveranno risposta in questo articolo.

PAROLE CHIAVE: Intolleranza alle proteine del latte vaccino, carenza di lattasi, procedura di scatenamento in doppio cieco.

Introduction

Food intolerance or food sensitivity is a reproducible adverse reaction to aliments, that could be related, or not, to the immune system. It can be caused by the absence of specific enzymes needed to digest a substance, or to the body's response to certain food constituents either natural or artificial (1,2).

Milk intolerance is an interesting topic for all pediatricians. In fact milk would be the exclusive food for all younger babies. Both breast fed and formula fed infants use milk nutrients to grow up in their first months of life until weaning is started.

Amongst milk intolerances we can distinguish Cow's Milk Protein Intolerance (CMPI) from lactose intolerance and galactosaemia.

Biochemical and immunological pathogenesis

Cow's milk protein intolerance is a complex disorder involving an abnormal immunological response towards one or more of milk's proteins or towards some of their fractions (mediated by one or more of four Gell and Coombs immunological mechanisms) (2). Most major cow's milk proteins, both casein and whey (e.g., beta-lactoglobulin, alfa-lactalbumin), have been implicated in allergic response. Immunological

mechanisms underlying cow's milk proteins intolerance include IgE-mediated allergy (CMPA) with immediate hypersensitivity, which is rather common, and non-IgE-mediated allergy due to delayed hypersensitivity or to class two or three by Gell and Coombs. The last two forms have respectively rare and unusual gastroenterological clinical features. The reasons why some individuals develop cow's milk allergy are not well understood, probably a complex interaction between genetic and environmental factors are involved. A family history of atopy and early exposure to cow's milk are risk factors for cow's milk allergy. Immunological pathogenesis differentiate CMPI from others adverse reactions, like lactose intolerance and galactosaemia: both of these are characterized by an enzymatic deficit in milk digestion. Galactosaemia is a congenital metabolic disease, indeed it is classified like inborn error of metabolism; enzymatic deficit in lactose intolerance is more complex because there are two components of small bowel's lactase. One is variably genetically expressed, encoded by a gene sited on chromosome 2 q21, the other is induced. Intestinal lactase is a dysaccharidase, *id est* an enzyme that hydrolyzes lactose in its two constituents: one molecule of glucose and one molecule of galactose.

Epidemiology and Clinical Features

Primitive lactase deficiency is very rare and is caused by genetical mistakes or post-transcriptional abnormalities. The inducible amount of lactase gains the top level during breast feeding, then physiologically decreases after the first year of life. It could become insufficient to lactose loads in the second childhood or in adulthood. Secondary deficits are more common and they can be caused by a transient reduced bowel absorption, like in gastroenteritis, celiac disease and Crohn's disease. The reduced expression of the inducible amount of

lactase is the most common reason of lactose maldigestion in adults (3-5).

Breath test with labelled H₂ demonstrates the lactose deficiency also in asymptomatic individuals (lactose "maldigesters"). The presence of gastrointestinal complaints (abdominal bloating and acid diarrhoea) characterizes the true lactose "intolerants" who experience adverse clinical features (6,7).

Cow's milk proteins intolerance is the most common food allergy in young children: about 5-15% of children's as having manifestations of adverse reactions to cow's milk protein while the real prevalence is minor (2-7.5%). The reason is that there are many different diagnostic criteria and study design, so it would be important to have a common method for diagnosis of CMPA.

We can differentiate early symptoms, like urticaria, angioedema, lip swelling, probably characterized by IgE mediated reaction; infants with early reaction were more likely to have a positive skin test or test positive for specific IgE. Infants with non IgE-associated mechanisms may have atopic dermatitis and gastrointestinal symptoms as an expression of a later reaction. There are many signs and symptoms that may be useful for diagnosis. Most of them are listed below in table 1.

In most cases, at least two organ systems are involved; the difference between severe and mild-moderate CMPI depends on the presence of alarm symptoms and findings, like anaphylaxis, acute laryngoedema or bronchial obstruction with difficult breathing, essudative atopic dermatitis with hypoalbuminaemia, macroscopic blood loss. The possibility of becoming tolerant to CMP represents the prognosis of these infants and depends on the patient's age and titre of specific IgE at the time of diagnosis. Furthermore, atopic diseases like asthma, atopic dermatitis and rhinoconjunctivitis are more frequent in children with IgE mediated

Tab. 1: Most frequent and alarm symptoms of CMPI

Organ involvement	Most frequent symptoms	Alarm symptoms
Gastrointestinal tract	Vomiting, gastro-oesophageal reflux, Sandifer syndrome, diarrhoea, constipation (with or without perianal rash), blood in stool, iron deficiency anaemia, abdominal pain and/or bloating	Macroscopic blood loss
Skin	Atopic dermatitis, angioedema (swelling of lips or eye lids), urticaria	Essudative atopic dermatitis with hypoalbuminaemia
Respiratory tract	Runny nose (otitis media), chronic cough, wheezing, asthma	Acute laryngoedema, bronchial obstruction with difficulty breathing
General	Impaired growth, hypotension, tachycardia	Anaphylaxis, shock

history of CMPA.

Diagnosis and Management

A reliable marker of CMPI does not exist; sometimes gastro-oesophageal reflux disease, atopic dermatitis and adverse reaction to other foods (egg, soy) can be associated; for these reasons, differential diagnosis can be difficult and include several diseases, including metabolic disorders, malignancy and infections.

About 0.5% of exclusively breast-fed infants show mild-moderate symptoms of CMPI, especially dermatological and gastrointestinal manifestations: in fact in breast milk the level of CMP is 100000 times lower than in cow's milk. The different prevalence of CMPI in breast-fed infants compared to formula-fed infants depends on differences in antigenic load, in the gut flora composition and in immunomodulators present in breast milk. Breast fed infants, rarely, show severe manifestations of CMPI, like severe atopic dermatitis with protein losses and failure to thrive or anaemia due to colitis with rectal bleeding and protein-losing enteropathy. Breast feeding is considered as the primary prevention of allergy, but in breast-fed infants with CMPI it's necessary a treatment with allergen avoidance that can result in elimination diet for the mother.

In breast-fed infants with mild-moderate symptoms of CMPI, breastfeeding must be continued. Elimination diet is necessary in mother, up to four weeks. Calcium supplementation is mandatory (1000 mg/die divided into several doses). Lactant mother should avoid dairy products and eggs too. Indeed breast fed baby may sensitize also to egg proteins (8).

If there is an improvement it's possible to reintroduce CMP in the mother's diet:

- If symptoms re-appear, it's necessary to maintain an elimination diet in mother, as long as she is breast feeding; after breast feeding, the child should receive an exten-

sively hydrolysed formula (eHF) with demonstrated clinical efficacy

- If symptoms improve or disappear during elimination diet, one food per week can be reintroduced into the mother's diet, in order to find early symptoms of relapse.

Cases with alarm symptoms should be referred to a paediatric specialist for further diagnostic work-up and management at the same time.

On the other hand, in formula-fed infants with suspected CMPA, the first step is clinical assessment with a correct history taking, including establishing if there is a family history of atopic disease. If there aren't alarm symptoms, it's possible to initiate a diagnostic challenge procedure followed by elimination diet without hen's egg, soy protein and peanut, and with eHFs (extensively hydrolysed formula) or AAF (amino acid-based formula), that are therapeutic formulas tolerated by 90% of CMPI infants (8). Patients with alarm symptoms and life-threatening, in particular respiratory symptoms and anaphylaxis, should be treated with an elimination diet, for a minimal 2-4 weeks and these cases should be referred to paediatric specialist or to an emergency department experienced in the treatment of this condition, according to the severity of adverse reactions. After 6 months also these patients may undergo challenge procedure (8).

A diagnostic test for CMPI does not exist, for this reason elimination diets and challenge procedures are the gold standards for the diagnosis.

Unfortunately we cannot predict the severity of adverse reactions during the challenge: previous mild reactions may be followed by severe reactions like anaphylaxis during the challenge. In a case of previous anaphylaxis a challenge is not recommendable unless skin prick tests (SPTs) and/or specific IgE measurement show an improvement. In fact children with severe IgE mediated reactions in their medical history (like breathing problems) can be monitored for a period with SPTs or specific IgE measurements. In these cases a strict exclusion diet should be maintained until there is an improvement of the allergy tests.

If during the challenge or up to one week after symptoms of CMPI re-appear, the diagnosis is confirmed, while children who don't show any symptom can resume their normal diet, although they should be observed for any adverse reaction.

Lactose intolerance and CMPI may have a similar clinical presentation, for this reason we propose two double-blind challenges to some of our patients; this pathway is composed by two different challenges. Usually this method is performed in hospital, because of its risks; it's

Tab. 2: The two challenges executed to demonstrate adverse reactions to lactose or to cow's milk proteins.

Biberon A	Biberon B
T0: 10 ml	T0: 10 ml
T30: 20 ml	T30: 20 ml
T60: 30 ml	T60: 30 ml
T90: 40 ml	T90: 40 ml
T120: 50 ml	T120: 50 ml

important doing a correct history taking, accurate clinical examination and laboratory test investigations:

- Total blood cell count: it's possible to observe an hypereosinophilia and/or anaemia.
- Transaminase, to differentiate CMPI from other metabolic disorders.
- IgG, IgA, IgM, for a correct evaluation of immunological system.
- Total IgE levels.
- RAST for specific IgE titre.
- Beta-lattotest to observe immunological reactions non-IgE associated.
- Prick tests (beta-lactoglobulin, alpha-lactalbumin, casein), to predict prognosis and the gap of time until the next challenge.
- Prick by prick (milk, apple, banana), because fresh foods are more reactive.
- Chemical and physical examination of the stools, to evaluate faecal fat and reducing substances that can be index of malabsorption.
- Faecal eosinophilia, index of intestinal immunological activation.
- Clinitest, to detect all faecal reducing substances.
- Breath test, to evaluate increment of C and H in the expired air in lactose intolerant subjects due to increased availability of lactose for colonic microbial flora.

The concordance between a positive skin prick test and positive challenge is about 58.8% using commercial extract and 91.7% using fresh foods, that is the reason why fresh cow milk is preferred.

Prick-test and RAST can be helpful in predicting the prognosis and the gap time until the next challenge.

If infants have a positive Prick-test with a diameter >7mm or very high titres in the RAST-test, food challenge will be positive in over 90% of cases; in these children the challenge can be postponed until they show a reduced reaction at these tests. Patch test method still needs to be standardised; it could be useful to the diagnosis of non-IgE associated reactions.

For our challenges, we use these kind of formulas:

The first challenge: to diagnose Lactase Deficiency.

- First formula is a lactose containing soya milk (lactose +; CMP -): Soyamil Unico by Milte™.
- Vs Placebo extensive hydrolysed formula (lactose-; CMP-) Alfarè by Nestlé™.

The second challenge: to diagnose Cow Milk Protein Intolerance.

- First formula is milk derived lactose free formula (lactose -; CMP+): AL 110 by Nestlé;
- Vs Placebo extensive hydrolysed formula (lactose-; CMP-) Alfarè by Nestlé™.

The two challenges are executed in two different moments and they must be distant at least one week, each one from the other, at the aim to demonstrate adverse reactions to lactose or to cow's milk proteins. During the challenge we monitor early adverse reactions. The parents of the patient check for any possible later reaction at home, fulfilling an appropriate form.

In the first challenge, we use a formula with lactose and without CMP, in comparison with a placebo; in the second, the formula admits CMP with or without lactose, in comparison with a placebo too. In every challenge we divide 300 cc of milk in ten administrations in the way proposed in table 2. In adult patients (> 7-8 years old), we redouble the single doses of milk in order to better mimic the physiological intake.

In patients with suspected lactose intolerance we prefer to administrate 500 ml of whole cow's milk (containing 25 gr of lactose) more than 25 gr of water melted pure lactose. Because of noteworthy difference between adverse reactions afterwards assumption of milk sugar (8%) more than afterwards assumption of pure lactose (33%) (4). It's necessary that biberon A and biberon B assumption are distant at least 3 hours, to respect gastric emptying and the immunological times.

If any severe, IgE mediated adverse reaction appears, we promptly administrate the following drugs in this sequence:

1. Adrenalin i.v (dilution 1:10000)
2. Hydrocortisone 500 and/or 1000 mg i.v.
3. Chlorpheniramine maleate (Trimeton) 5 and/or 10 mg i.m. and/or i.v.

If the symptoms of CMPI re-appear during the challenge or within 48-72 hours, the diagnosis of CMPI is confirmed and the infants must use eHF or AAF for at least 6 months, then the challenge could be repeated. Infants who don't develop symptoms during challenge and after a week far from it can resume a normal diet.

References

- 1) Wershil BK, Butzner D, Sabra A, et al.: Allergy and immunologic disease: working group report of the first world congress of pediatric gastroenterology, hepatology and nutrition. *J Ped Gastroenterol Nutr* 2002;35:S74- S77.
- 2) Walker-Smith J: Cow's milk allergy: a new understanding from immunology. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2003;90: 81-83.
- 3) Swallow DM, Hollox EJ: The genetic polymorphism of intestinal lactase activity in adult

humans. In *The Metabolic and Molecular Basis of Inherited Disease*, 2000 ed. Scriver C.R., Beaudet A.L., Sly W.S., Valle D., 1651-62. New York : McGraw-Hill.

4) Swallow DM: Genetics of lactase persistence and lactose intolerance. *Annu Rev Genet* 2003;37:197-219.

5) Wang I, Harvey CB, Hollox EJ, Phillips AD, Poulter M, Clay P, Walker-Smith JA, Swallow JM: The genetically programmed down-regulation of lactase in children. *Gastroenterology* 1998;114:1230-1236

6) Carroccio A, Montalto G, Cavera G, et al.: Lactose intolerance and self-reported milk intolerance: relationship with lactose maldigestion and nutrient intake. *Lactase Deficiency Study Group. J Am Coll Nutr* 1998;17:631-636.

7) Sategna Guidetti C, Cruto E, Capobianco P: Breath hydrogen excretion after lactose and whole milk ingestion. A prospective comparison in lactase deficiency. *J Clin Gastroenterol* 1989;11:287-289.

8) Vandenplas Y, Brueton M, Dupont C, Hill D, et al.: Guidelines for the diagnosis and management of cow's milk protein allergy in infants. *Arch Dis Child* 2007;92: 902-908.

MINIVOLLEY AND MOTOR SKILLS: AN EXPERIMENTAL STUDY

MINIVOLLEY ED ABILITÀ MOTORIE: UNO STUDIO SPERIMENTALE

Rosario Barone¹, Savina Zingales², Antonino Taormina¹, Giuseppe Battaglia¹, Filippo Macaluso¹, Daniele Palumbo¹, Vincenza Leonardi³

CAPSULA EBURNEA, 3(7):1-7, 2008.

1. Human Anatomy Section "E. Luna", Department of Experimental Medicine, University of Palermo, Via del Vespro, 129, 90127 Palermo, Italy.

2. Faculty of Exercise and Sport Science, University of Palermo, Via Maggiore Toselli, 87/B, 90100 Palermo, Italy.

3. Department of General Surgery, Emergency and Organ Transplants (GENURTO), University of Palermo, Via L. Giuffrè, 5, 90127 Palermo, Italy.

Correspondence:

Dr. Rosario Barone:
rusbarone@libero.it

Received: March 5th, 2008

Revised: March 20th, 2008

Accepted: March 25th, 2008.

No conflicts of interest were declared.

Category of paper:
ORIGINAL PAPER

Language of the Article: Italian.

Abstract.

Improvements in coordination and technical sports must be considered among the key components of training in every sports, the most receptive adaptability skills are expressed in the youth age. By administering tests explosive force in three different periods, the study intends to verify if a minivolley protocol training for six weeks on two groups of young players of different ages can improve capabilities and coordination through the teaching of basic technical disciplines so that they can consequently improve explosive power of the lower and upper limbs. The results show a marked improvement in performance, both in jump and in putting, of trained groups between the initial test and post-test training protocol. The final test, performed thirty days after the end of training protocol, shows a pattern not consistent in performance.

KEYWORDS: Motor skills, coordination, jump, putting, training.

Riassunto.

I miglioramenti della coordinazione e della tecnica sportiva devono essere considerati tra le componenti fondamentali dell'allenamento in tutti gli sport e l'età giovanile rappresenta il momento più recettivo. Il presente studio vuole verificare, attraverso la somministrazione di test di forza esplosiva in tre periodi diversi, se un protocollo di allenamento di minivolley della durata di sei settimane su due gruppi di giovani soggetti di diversa età possa, attraverso l'insegnamento dei fondamentali tecnici di tale disciplina, migliorare le capacità coordinative e quest'ultime migliorare la forza esplosiva degli arti inferiori e superiori. I risultati mostrano un netto miglioramento della prestazione, sia nel salto che nel lancio, dei gruppi allenati tra il test iniziale ed il test successivo al protocollo di allenamento. Il test finale, trenta giorni dopo la fine del protocollo di allenamento, mostra invece un andamento non omogeneo delle prestazioni.

PAROLE CHIAVE: Abilità motoria, coordinazione, salto, lancio, allenamento.

Introduzione

Nel 1935 Bernstein definì la coordinazione come "il processo di padroneggiamento dei gradi di libertà dell'organo in movimento, in modo da convertirlo in un sistema controllabile"; lo stesso Bernstein suggerì che una possibile strategia per studiare la coordinazione motoria è riassumere i rapporti tra i vari componenti di una o

diverse variabili essenziali. Attraverso la base di un approccio dinamico per l'apprendimento motorio, l'acquisizione di una nuova abilità è considerata come la transizione di uno stato di coordinazione stabile ad un'altra condizione stabile (1).

Il punto di partenza per l'apprendimento delle abilità motorie è lo sviluppo delle capacità coor-

dinative di base che si ottiene con l'acquisizione e l'elaborazione delle informazioni delle esperienze motorie e con il controllo del movimento attraverso le progressive informazioni provenienti dagli analizzatori: tattile, visivo, acustico e cinestetico (2).

Meinel et al. (3), evidenziano tre tappe di apprendimento motorio: prima tappa - coordinazione grezza (ritmo e struttura del movimento); seconda tappa - il movimento viene migliorato, raffinato, automatizzato, ma ancora condizionato da variabili (ambiente, fatica, emozione, ecc.); terza tappa - stabilizzazione del movimento che non richiede più grande attenzione (abilità motoria). Riassumendo si può affermare che nel periodo compreso tra i 5 e i 6 anni di età si sviluppano gli schemi motori di base (marcia, corsa, salto e lancio) che rappresentano i presupposti psicomotori delle abilità motorie; nel periodo compreso tra gli 8 e i 10 anni si sviluppano le abilità motorie sportive elementari (3).

Gli studi sulla plasticità cerebrale hanno dimostrato come il cervello non sia un organo rigido, ma sia invece in grado di rigenerarsi parzialmente e soprattutto di mutare il numero e l'attività delle sinapsi e in funzione di ciò sia capace di apprendere, memorizzare e recuperare schemi verbali e motori. Tale plasticità è verosimilmente alla base dei trattamenti riabilitativi (4,5,6).

Benché il numero dei neuroni sia già definitivamente stabilito fin dalla nascita, il cervello continua a presentare per tutta la vita un fenomeno chiamato plasticità neuronale. Esso consiste nella riorganizzazione macroscopica delle aree cerebrali, produzione o eliminazione di sinapsi, nelle variazioni della concentrazione di neurotrasmettitori, infine nella variazione del numero dei recettori dei differenti neurotrasmettitori. Questi processi di plasticità neuronale sono controllati, in parte, dagli stessi neurotrasmettitori. La capacità del sistema nervoso di modificarsi o plasticità del sistema nervoso, è particolarmente marcata nel corso del periodo dello sviluppo. Fino a poco tempo fa si riteneva che il cervello fosse un organo "rigido" le cui cellule non fossero più in grado di modificarsi dopo la nascita. Ora, invece, si è visto che le cellule dell'ippocampo, area decisiva per l'apprendimento e per la memoria, sono in grado di modificarsi in risposta a stimoli esterni o interni e che il sistema nervoso centrale è notevolmente plastico, "progettato per risolvere i suoi problemi". È noto anche che durante la vita post-natale precoce si ha il massimo sviluppo numerico di collegamenti sinaptici neuronali, infatti questo è il periodo di maggiore acquisizione di abilità motorie e verbale (7).

Secondo Paissan (8) esistono "livelli evolutivi di crescita" secondo cui: dai 6 ai 10 anni vi sono buoni presupposti per lo sviluppo della destrezza motoria e per il miglioramento delle capacità coordinative; dai 10 ai 13-14 anni per le femmine e dai 14-15 anni per i maschi si ha il periodo più favorevole per le tecniche sportive di base; dai 14 ai 18 anni per le femmine e dai 15 ai 19 anni per i maschi si ha il periodo più favorevole per lo sviluppo delle capacità condizionali e quindi i presupposti per la specializzazione (8).

I miglioramenti della coordinazione e della tecnica sportiva devono essere considerati tra le componenti fondamentali dell'allenamento in tutti gli sport e l'età giovanile è il momento più recettivo. Le capacità coordinative vengono sviluppate nel settore di base e nel settore giovanile, cioè a livelli relativamente bassi di preparazione condizionale. Più giovane è l'età più generale è la formazione delle capacità coordinative. Quando il bambino, l'adolescente, il giovane atleta dimostra una predilezione verso uno sport, una specialità, allora si deve allenare per creare una coordinazione più specifica e mirata.

I movimenti degli individui esperti sono caratterizzati da una fluidità nell'esecuzione, da un controllo più efficiente e da una più fine coordinazione delle articolazioni e dei muscoli; a seguito dell'esercizio, i movimenti diventano apparentemente meno rigidi. Southard et al. (9) hanno analizzato i cambiamenti negli schemi di coordinazione nel colpo di rovescio nel racketsball, dopo dieci giorni di allenamento riscontrarono un aumento della velocità d'esecuzione del movimento del braccio e dell'avambraccio ed un miglioramento del controllo, della coordinazione e della fluidità del movimento stesso (9).

Questo tipo di cambiamento avviene anche negli schemi dell'attività muscolare, infatti ricerche elettromiografiche hanno dimostrato che gli allievi inizialmente utilizzano uno schema di attività caratterizzato dalla contrazione simultanea dei muscoli agonisti ed antagonisti, con la pratica dell'esercizio fisico lo schema si sposta verso una sequenza nella quale gli agonisti e gli antagonisti si contraggono soltanto nei tempi appropriati e necessari (10), ed ovviamente anche il costo energetico dei movimenti diminuisce con l'esercizio (11).

L'obiettivo del nostro studio è quello di verificare se un protocollo di allenamento di minivolley della durata di sei settimane somministrato a due gruppi di giovani soggetti con lieve differenza di età possa, attraverso l'insegnamento dei fondamentali tecnici di tale disciplina, migliorare le capacità coordinative e queste ultime migliorare la forza esplosiva degli arti inferiori e

superiori, ma soprattutto verificare se vi è una differenza prestativa tra i soggetti esaminati dopo un periodo di pausa di 30 giorni; verificando se gli schemi coordinativo-motori acquisiti facciano parte della infrastruttura cerebrale ovvero per questi bambini siano soltanto una sovrastruttura destinata all'oblio.

Abbiamo pensato di sfruttare per il nostro studio le caratteristiche del minivolley, un tipo di attività ludica che utilizza i gesti tipici della pallavolo. In questa attività è di fondamentale importanza insegnare i primi elementi tecnici attraverso il gioco, inserendo situazioni divertenti, gratificanti e vincenti. Il gioco quindi rappresenta il fine principale ed i fondamentali tecnici sono funzionali ad esso.

Materiali e metodi

Lo studio è stato condotto su un campione di 74 soggetti sani, destrimani, di entrambi i sessi, che non avevano mai praticato nessuna disciplina sportiva, suddivisi in quattro gruppi e sottoposti ad un primo test T1 di sei prove differenti. Due dei quattro gruppi, che chiameremo gruppo minivolley 8-9 anni (MV8) e gruppo minivolley 10-11 anni (MV10) (Tab. 1), costituiti rispettivamente da 18 e 20 soggetti, hanno partecipato, subito dopo il test T1, ad un progetto di avviamento alla pallavolo, questo progetto prevedeva tre allenamenti a settimana di due ore ciascuno per una durata totale di sei settimane. In questo corso, oltre l'insegnamento dei fondamentali della pallavolo (palleggio, bagher, battuta e colpo d'attacco), si svolgevano molte attività ludiche associate anche ad esercizi specifici per l'età evolutiva. Il terzo ed il quarto gruppo sono stati utilizzati come gruppo controllo, entrambi i gruppi erano costituiti da 18 soggetti ciascuno con un'età di 8-9 anni (SED8) e 10-11 anni (SED10) (Tab. 1). Alla fine del corso di pallavolo i 74 soggetti sono stati sottoposti nuovamente al test iniziale, che chiameremo T2, ed infine ai gruppi MV8 e MV10 trenta giorni dopo T2, senza svolgere nessun tipo di attività sportiva, sono stati riproposti i test, che chiameremo T3.

Le sei prove effettuate nei test T1, T2 e T3 con-

sistevano in: 1) salto da fermo (Test di Sargeant); 2) salto con rincorsa; 3) lancio da fermo di una palla da 2 kg a due mani dal petto in stazione eretta; 4) lancio da fermo di una palla da 2 kg a due mani dal petto in ginocchio; 5) lancio da fermo di una palla da 1 kg con l'arto destro in stazione eretta; 6) lancio da fermo di una palla da 1 kg con l'arto sinistro in stazione eretta. Durante le prove di lancio è stato imposto ai soggetti di non effettuare nessun altro movimento se non quello esclusivo degli arti superiori. I soggetti disponevano di tre tentativi per ogni singola prova, si è scelta la migliore prestazione per effettuare la media finale della prova di ogni singolo gruppo.

L'analisi statistica, al fine di valutare le differenze tra i test (T1, T2, T3) all'interno dello stesso gruppo, è stata effettuata con il programma statistico SPSS 15.0 Evaluation software (SPSS Inc., 1989-2006), i dati sono stati confrontati con lo Student's *t*-test (unpaired *t* test). I livelli di significatività sono stati valutati con $p < 0.05$. I valori sono espressi come media \pm deviazione standard.

Risultati

I dati utilizzati sono stati ottenuti dalla selezione della migliore prestazione di ogni soggetto su ogni singola prova. Le medie dei singoli gruppi testati sono il risultato di tali migliori prestazioni e dalla loro successiva analisi statistica. Il confronto è stato effettuato tra il test iniziale T1 ed il secondo test T2 su tutti i gruppi, per verificare se il protocollo d'allenamento della durata di sei settimane sui gruppi allenati (MV8 e MV10) rispetto ai gruppi sedentari (SED8 e SED10) avesse indotto dei cambiamenti, intesi come miglioramenti della prestazione. Esclusivamente sui gruppi allenati, si è proceduto successivamente al confronto dei dati del T2 ed il test finale T3, per verificare se gli eventuali adattamenti prodotti dall'allenamento si erano mantenuti oppure avevano subito una regressione.

Non ci sono differenze significative nei dati antropometrici tra i gruppi MV10 e SED10; si è invece riscontrata una differenza nel confronto tra MV8 e SED8 nell'altezza con arto superiore

Tab. 1: Dati e misurazioni antropometriche. I valori sono espressi come media \pm deviazione standard. MV8 indica il gruppo minivolley età 8-9 anni; SED8, gruppo sedentari 8-9 anni; MV10, gruppo minivolley 10-11 anni; SED10, gruppo sedentari 10-11 anni.

	età	altezza (cm)	peso (kg)	apertura arti superiori (cm)	altezza da seduto (cm)	altezza con arto superiore disteso in alto (cm)
MV8	8.62 \pm 0.5	136.3 \pm 6.28	31.81 \pm 2.68	134.5 \pm 7.31	71.43 \pm 2.73	179.87 \pm 7.46
SED8	8.60 \pm 0.5	134.6 \pm 4.19	32.92 \pm 5.69	131.2 \pm 5.03	70.51 \pm 3.30	174.71 \pm 6.21
MV10	10.2 \pm 0.4	144.1 \pm 4.88	39.67 \pm 8.91	141.8 \pm 4.28	72.16 \pm 2.68	189.05 \pm 6.51
SED10	10.1 \pm 0.3	148.9 \pm 5.08	41.86 \pm 7.25	141.5 \pm 8.50	74.63 \pm 3.43	193.16 \pm 6.36

disteso in alto ($p=0.023$). Il confronto tra i gruppi allenati (MV8 vs MV10) e tra i gruppi sedentari (SED8 vs SED10) mostra differenze significative su tutti i dati antropometrici ($p<0.05$).

I risultati della prima prova, salto da fermo, mostrano un aumento significativo della prestazione dei gruppi allenati tra T1 e T2 ($p<0.05$) e tra T2 e T3 ($p<0.01$); nessuna differenza è stata riscontrata tra T1 e T2 nel gruppo SED8 a differenza del gruppo SED10 che mostra un decremento significativo ($p=0.05$) della prestazione tra le due prove (T1 vs T2) (Tab. 2).

La seconda prova, salto con rincorsa, mostra un aumento significativo della prestazione dei gruppi MV8 e MV10 tra T1 e T2 ($p<0.05$) e tra T2 e T3 ($p<0.01$); il gruppo SED8 non mostra nessuna differenza della prestazione, si ha invece un decremento significativo ($p<0.05$) tra T1 e T2 nel gruppo SED10 (Tab. 3).

I dati relativi alle prove di lancio, ed in particolare il lancio di una palla da 2 kg da fermo a due

mani dal petto in stazione eretta, mostrano un aumento significativo della prova del gruppo MV8, tra T1 e T2 ($p=0.010$) ed un aumento non significativo tra T2 e T3; il gruppo MV10 mostra un aumento significativo tra T1 e T2 ($p=0.045$) ed un decremento significativo tra T2 e T3 ($p=0.004$); nessuna differenza di prestazione nei gruppi SED8 e SED10 (Fig. 1).

La prova di lancio da fermo a due mani dal petto in ginocchio di una palla da 2 kg mostra un aumento significativo della prova del gruppo MV8, tra T1 e T2 ($p=0.01$) ed un aumento non significativo tra T2 e T3; il gruppo MV10 mostra un aumento significativo tra T1 e T2 ($p=0.01$) ed un decremento significativo tra T2 e T3 ($p=0.05$); un decremento non significativo della prestazione è stato osservato nei gruppi SED8 e SED10 (Tab. 4).

Il lancio della palla da 1 kg con l'arto destro mostra un aumento significativo nel gruppo MV8 tra T1 e T2 ($p=0.003$), ed un aumento, ma non

Tab. 2: Salto da fermo [cm] (test di Sargeant). I valori sono espressi come media \pm deviazione standard. MV8 indica il gruppo minivolley età 8-9 anni; SED8, gruppo sedentari 8-9 anni; MV10, gruppo minivolley 10-11 anni; SED10, gruppo sedentari 10-11 anni.

	T1	T2	p	T3	p (T2 vs T3)
MV8	12.33 \pm 0.6	13.73 \pm 0.5	0.05	20.43 \pm 0.9	0.001
SED8	14.19 \pm 0.5	14.19 \pm 0.7	ns	---	---
MV10	17.35 \pm 0.6	19.05 \pm 0.7	0.05	21.75 \pm 0.9	0.01
SED10	16.14 \pm 0.8	14.44 \pm 0.9	0.05	---	---

Tab. 3: Salto con rincorsa [cm]. I valori sono espressi come media \pm deviazione standard. MV8 indica il gruppo minivolley età 8-9 anni; SED8, gruppo sedentari 8-9 anni; MV10, gruppo minivolley 10-11 anni; SED10, gruppo sedentari 10-11 anni.

	T1	T2	p	T3	p (T2 vs T3)
MV8	11.33 \pm 0.4	13.43 \pm 0.5	0.05	18.73 \pm 0.8	0.001
SED8	14.99 \pm 0.5	14.69 \pm 0.3	ns	---	---
MV10	15.15 \pm 0.6	17.15 \pm 0.8	0.05	19.75 \pm 0.5	0.01
SED10	17.04 \pm 0.5	15.14 \pm 0.7	0.05	---	---

Tab. 4: Lancio da fermo di una palla da 2 kg a due mani dal petto in ginocchio [cm]. I valori sono espressi come media \pm deviazione standard. MV8 indica il gruppo minivolley età 8-9 anni; SED8, gruppo sedentari 8-9 anni; MV10, gruppo minivolley 10-11 anni; SED10, gruppo sedentari 10-11 anni.

	T1	T2	p	T3	p (T2 vs T3)
MV8	235.6 \pm 35.6	251.5 \pm 37.6	0.01	253.7 \pm 31.3	ns
SED8	234.5 \pm 52.2	231.5 \pm 39.4	ns	---	---
MV10	301.6 \pm 39.5	318.9 \pm 48.1	0.01	304.9 \pm 35.7	0.05
SED10	308.2 \pm 45.5	289.8 \pm 46.8	ns	---	---

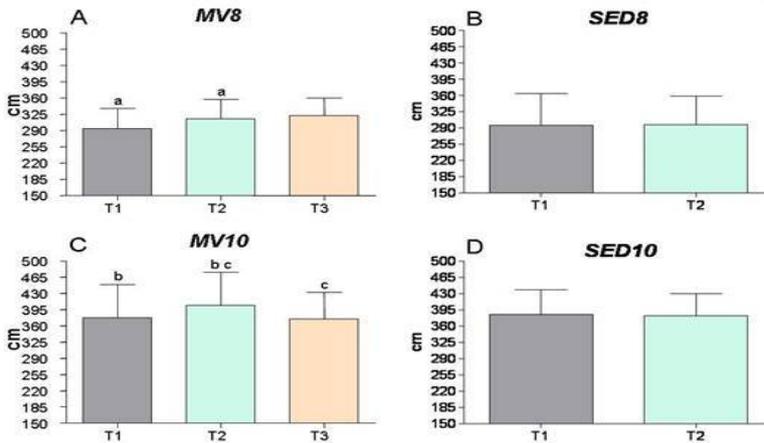


Fig. 1: Lancio da fermo di una palla da 2 kg a due mani dal petto (stazione eretta). I valori sono espressi come media \pm deviazione standard. A: MV8 indica il gruppo minivolley età 8-9 anni; B: SED8, gruppo sedentari 8-9 anni; C: MV10, gruppo minivolley 10-11 anni; D: SED10, gruppo sedentari 10-11 anni. a: $p=0.010$; b: $p=0.045$; c: $p=0.004$.

Tab. 5: Lancio da fermo di una palla da 1 kg con l'arto destro [cm] (stazione eretta). I valori sono espressi come media \pm deviazione standard. MV8 indica il gruppo minivolley età 8-9 anni; SED8, gruppo sedentari 8-9 anni; MV10, gruppo minivolley 10-11 anni; SED10, gruppo sedentari 10-11 anni.

	T1	T2	p	T3	p (T2 vs T3)
MV8	345.9 \pm 67.4	366.3 \pm 64.6	0.003	382.2 \pm 72.5	ns
SED8	404.7 \pm 125.1	409.5 \pm 132.2	ns	---	---
MV10	531.6 \pm 86.9	563.8 \pm 90.9	0.001	540.8 \pm 84.7	0.019
SED10	472.2 \pm 98.4	456.5 \pm 88.8	0.041	---	---

significativo tra T2 e T3; il gruppo allenato MV10 mostra un aumento significativo tra T1 e T2 ($p=0.001$), un decremento significativo tra T2 e T3 ($p=0.019$); il gruppo controllo SED8 non mostra nessuna differenza significativa a differenza del gruppo SED10 in cui si ha un decremento significativo della prestazione ($p=0.041$) (Tab. 5).

L'ultima prova, lancio della palla da 1 kg con l'arto sinistro, mostra un aumento significativo della prestazione del gruppo MV8 tra le prove T1 e T2 ($p=0.001$) e tra T2 e T3 ($p=0.040$); nei gruppi MV10, SED8 e SED10 non si riscontra nessuna differenza significativa tra le prove effettuate (Fig. 2).

Discussione

L'obiettivo del nostro studio è stato quello di verificare e quantificare gli adattamenti indotti da un protocollo di allenamento, come quello illustrato, per durata e tipologia di esercizi, in giovani soggetti, in particolare sulla coordinazione motoria e sulla forza esplosiva, confrontandone i risultati con idonei gruppi di controllo e se tali adattamenti subivano un miglioramento, una regressione o non subivano alcuna modificazione dopo un periodo di pausa che noi abbiamo quantificato in trenta giorni dalla fine del protocollo di allenamento.

Come atteso entrambi i gruppi allenati hanno ottenuto miglioramenti prestativi della coordina-

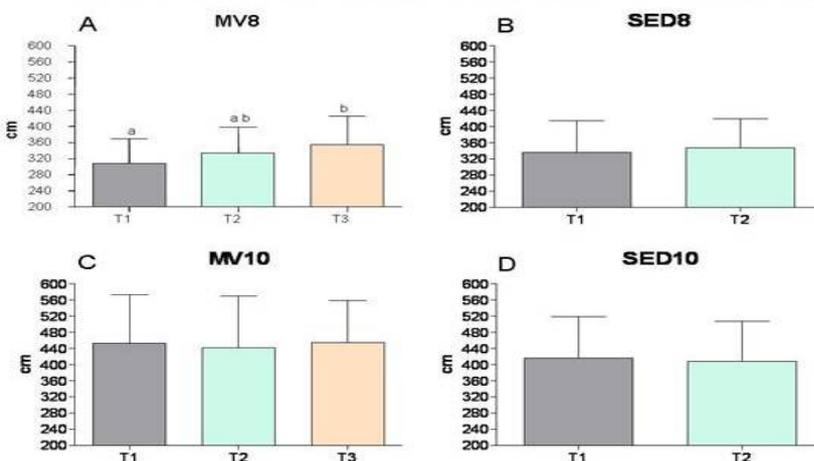


Fig. 2: Lancio da fermo di una palla da 1 kg con l'arto sinistro (stazione eretta). I valori sono espressi come media \pm deviazione standard. A: MV8 indica il gruppo minivolley età 8-9 anni; B: SED8, gruppo sedentari 8-9 anni; C: MV10, gruppo minivolley 10-11 anni; D: SED10, gruppo sedentari 10-11 anni. a: $p=0.001$; b: $p=0.040$.

zione e della motricità rispetto ai gruppi controllo. Nel gruppo allenato MV10 abbiamo però potuto notare come tali miglioramenti si annullassero dopo una pausa di 30 giorni come dal nostro protocollo stabilito. Di contro nella prova del lancio della palla medica da 1kg col braccio sinistro il gruppo in oggetto ha mantenuto il miglioramento prestativo ottenuto durante l'allenamento. Il gruppo di soggetti più giovani, MV8, ha sorprendentemente non solo migliorato le prestazioni durante l'allenamento ma tali risultati si sono mantenuti anche dopo il periodo di pausa.

Ci saremmo aspettati che la maggiore maturità degli schemi motori nel gruppo di età MV10 corrispondesse a una maggiore capacità non soltanto di acquisire uno schema motorio nuovo ma anche di replicarlo dopo tempo (3). Invero questo è stato dimostrato dai risultati dei test del gruppo dei soggetti più piccoli. Questo dimostra, a nostro avviso, come la capacità di acquisire e fare propri schemi nuovi sia legata all'età, tanto più giovane è l'età tanto migliore sarà il risultato prestativo (8). Se è vero che la capacità di acquisire e memorizzare schemi motori nuovi è legata alla "plasticità cerebrale" (7), risulta evidente che tale capacità è maggiore nei soggetti più giovani nella fase di elaborazione di schemi motori più complessi. Ci si chiede, allora, quale l'età più giusta per avvicinare i giovani allo sport ?

Le prove di salto, da fermo e con rincorsa, mostrano un netto miglioramento tra i vari test dei gruppi allenati rispetto ai gruppi sedentari. Questo risultato era da noi atteso, poiché il nostro protocollo d'allenamento prevedeva innumerevoli esercitazioni, sia attraverso l'insegnamento della tecnica di rincorsa del colpo d'attacco, ma soprattutto con tecniche di esercitazione degli arti inferiori, quali la corsa con: cerchi, bastoni, ostacoli bassi, balzi, skip, calciata dietro, a zigzag, indietro, laterale, etc., effettuate con grande impegno da tutti i soggetti dei gruppi allenati. La rielaborazione degli schemi motori di base, associate alla tecnica di gioco ha migliorato le capacità coordinative e di conseguenza la prestazione nel salto. Il protocollo d'allenamento prevedeva anche un'ampia esercitazione per gli arti superiori, considerando che il fondamentale più usato nella pallavolo è il palleggio. Anche in queste prove l'andamento tra i gruppi allenati e i gruppi sedentari è diverso, ma a differenza dei salti abbiamo riscontrato un'ulteriore differenza nell'andamento delle prestazioni tra i gruppi allenati. Il gruppo MV8 mostra un progressivo miglioramento tra i test effettuati in tutti i lanci, a differenza del proprio gruppo controllo, SED8, in cui non riscontriamo nessuna differenza

significativa nell'analisi di comparazione tra il T1 ed il T2. Inoltre il gruppo MV8 mostra un ulteriore miglioramento significativo nelle prestazioni valutate nel test T3 dopo 30 gg. di pausa. Il gruppo MV10 mostra in tutte le prove di lancio, tranne il lancio con l'arto sinistro, un aumento significativo della prestazione tra il T1 ed il T2, dimostrazione dell'efficacia dell'allenamento, ma un decremento tra il T2 ed il T3, in cui la prestazione del T3 ritorna ad essere molto vicina alla prestazione iniziale (T1), come se MV10, trenta giorni dopo la fine dell'allenamento, avesse perso gli adattamenti acquisiti. La prova di lancio con l'arto sinistro, ha invece un andamento opposto, in cui si ha un decremento della prestazione tra T1 e T2, probabilmente perché essendo tutti i soggetti destrimani diverse esercitazioni si effettuavano con l'arto dominante e questo ha provocato un utilizzo limitato dell'arto controlaterale, per poi ritornare nel test finale (T3) alla prestazione iniziale (T1). Il proprio gruppo controllo, SED10, mostra un decremento di prestazione tra il T1 ed il T2, addirittura significativo nella prova di lancio con l'arto destro.

Concludendo, l'analisi comparativa dei dati ottenuti dai test dei gruppi allenati ci consente di affermare che i soggetti allenati sviluppano capacità coordinativo-motorie superiori ai gruppi sedentari di controllo; questo comporta l'esecuzione di una migliore prestazione intesa come sviluppo di una maggiore forza esplosiva. Il gruppo di età 8-9 (MV8) non solo ha dimostrato un miglioramento prestativo durante il periodo di allenamento, ma tale capacità si mantiene dopo una pausa di 30 giorni, a differenza del gruppo MV10 il quale perde, dopo lo stesso periodo di pausa, gli adattamenti acquisiti. L'analisi dei risultati ci consente di poter affermare che ancora all'età di 8-9 anni l'apprendimento di nuovi schemi motori arricchisce e fa parte dello sviluppo cerebrale con una acquisizione duratura e soggetta a miglioramento spontaneo di contro all'età di 10-11 anni l'apprendimento di nuovi schemi motori è più veloce, ma per mantenere e migliorare le abilità apprese è necessario l'allenamento.

Ringraziamenti

Un doveroso ringraziamento ai Dirigenti Scolastici Gabriella Filippone dell'Istituto "F.P. Te-sauro" di Ficarazzi (PA) e Angela Pizzitola dell'Istituto "L. Da Vinci" di Palermo; un particolare ringraziamento, per il grande impegno, a tutti gli studenti che hanno partecipato alla realizzazione dello studio.

Bibliografia

1. Bernstein N: The Co-ordination and Regulation of Movements. Oxford, England: Perga-

mon Press, 1967.

2. Manno R: Le capacità coordinative. SdS n.1, 1984.

3. Meinel K, Schnabel G: Teoria del Movimento. Società Stampa Sportiva, Roma 1984.

4. Liepert J, Bauder H, Wolfgang HR, Miltner WH, Taub E, Weiller C: Treatment-induced cortical reorganization after stroke in humans. Stroke 2000;31(6):1210-1216.

5. Taub E, Uswatte G, Elbert T: New treatments in neurorehabilitation founded on basic research. Nat Rev Neurosci 2002;3(3):228-236.

6. Nudo RJ: Postinfarct cortical plasticity and behavioral recovery. Stroke 2007;38(2):840-845.

7. Bastrikova N, Gardner GA, Reece JM, Jeromin A, Dudek SM: Synapse elimination accompanies functional plasticity in hippocampal neurons. Proc Natl Acad Sci U S A. 2008;26;105(8):3123-3127.

8. Paissan G: L'insegnamento dell'Atletica Leggera a scuola. Centro Studi e Ricerche 2001.

9. Southard D, Higgins T. Changing movement patterns: Effects of demonstration and practice. Research Quarterly for Exercise and Sport 1987;58:77-80.

10. Moore S, Marteniuk R: Kinematic and electromyographic changes that occur as a function of learning a time-constrained aiming task. Journal of Motor Behavior 1986;18:397-426.

11. Sparrow W, Irizarry-Lopez V: Mechanical efficiency and metabolic cost as measures of learning a novel gross motor task. Journal of Motor Behavior 1987;19:240-264.

EFFECTS OF WATER TEMPERATURE ON SWIMMERS

GLI EFFETTI DELLA TEMPERATURA DELL'ACQUA SUI NUOTATORI

Filippo Macaluso, Daniele Palumbo, Rosario Barone, Giuseppe Battaglia, Felicia Farina, Valentina Di Felice

CAPSULA EBURNEA, 3(8):1-5, 2008.

Dipartimento di Medicina Sperimentale (DI.ME.S.), Sezione di Anatomia Umana "E. Luna", Università degli Studi di Palermo

Correspondence:

Dr. Filippo Macaluso:
filippo.mac@libero.it

Received: March 15th, 2008

Revised: March 25th, 2008

Accepted: March 27th, 2008.

No conflicts of interest were declared.

Category of paper:

REVIEW

Language of the Article: Italian.

Abstract.

The focus of this paper is to review the current knowledge about the effects of water temperature on metabolism, thermoregulation and performance in swimmers; to determine if the rules established by FINA (Federation Internationale de Natation) and ITU (International Triathlon Union) on the water temperature, agree with the results of scientific works already published. The range of water temperatures between 25 and 28 °C, set by FINA, for swimming pool during international competitions is correct, but we suggest that it may be useful to increase the water temperature at 32 °C in competitions of short duration (50 and 100 meters) for better performance time. Furthermore, we believe that in open water competitions, the temperature limit established by FINA (16 °C) and by ITU (14 °C) are too low, and we consider important the two ITU rules on water temperature, in order to preserve the health of athletes. Hence, we suggest FINA to set the inferior limit to 20 °C and time limit to end the swimming.

KEYWORDS: metabolism, body temperature, exercise performance

Riassunto.

Lo scopo di questo lavoro è quello di riassumere le attuali conoscenze sugli effetti indotti dalla temperatura dell'acqua sul metabolismo, sulla temperatura corporea e sulla prestazione sportiva dei nuotatori, per determinare se le temperature stabilite dai regolamenti tecnici della FINA (Federation Internationale de Natation) e della ITU (International Triathlon Union) concordano con i risultati dei lavori scientifici già pubblicati.

Da questo lavoro si evidenzia che l'intervallo di temperatura compreso tra 25 e 28 °C, stabilito dalla FINA, per la temperatura dell'acqua della piscina durante le competizioni sportive internazionali è corretto, ma suggeriamo che possa essere utile aumentare la temperatura dell'acqua fino a 32°C nelle competizioni di breve durata (50 e 100 mt) per ottenere migliori prestazioni cronometriche dagli atleti.

Inoltre riteniamo che, nelle competizioni in acque libere, le temperature limite stabilite dalla FINA (16 °C) e dall'ITU (14 °C) siano troppo basse, e consideriamo indispensabili i due accorgimenti presi dalla ITU per preservare la salute degli atleti, l'utilizzo della muta con l'acqua < 20 °C e il tempo limite per terminare la frazione di nuoto.

PAROLE CHIAVE: metabolismo, temperatura corporea, prestazione sportiva

Introduzione

Il nuoto viene definito da Dal Monte (1) uno sport ciclico di resistenza alla forza ad elevata valenza coordinativa. L'acqua, l'ambiente fisico in cui è immerso il nuotatore, rende il nuoto unico e particolare, in quanto le normali risposte fisiologiche all'esercizio fisico condotto sulla terra ferma possono essere accentuate o attenuate, anticipate o ritardate in base alla temperatura dell'acqua.

Le discipline sportive che prevedono l'esecuzione del gesto motorio del nuoto sono regolamentate dalla FINA (Federation Internationale de Natation) (2), che prevede gare di nuoto in piscina (50-1500 mt) o in mare (fino a 25000 mt), e dalla ITU (International Triathlon Union) (3), che prevede il nuoto nella prima frazione della gara di triathlon disputata in mare (400-4000 mt). I regolamenti delle due discipline sportive stabiliscono entro quale intervallo deve essere compresa la temperatura dell'acqua per non mettere a rischio l'incolumità dell'atleta, ma non specificano su quali basi scientifiche sono stati fissati questi parametri.

Lo scopo di questo lavoro è quello di riassumere le attuali conoscenze sugli effetti indotti dalla temperatura dell'acqua sul metabolismo, sulla termoregolazione e sulla prestazione sportiva dei nuotatori, per determinare se le temperature stabilite dai regolamenti tecnici delle due discipline concordano con i risultati dei lavori scientifici già pubblicati.

Relazione tra la temperatura dell'acqua ed il metabolismo

Dalla scissione dei legami chimici delle molecole organiche si libera energia metabolica, da tale processo, circa il 40% di questa energia viene utilizzata dalle cellule per lo svolgimento delle loro funzioni biologiche (contrazione muscolare, trasporto attivo, sintesi proteica eccetera). Il rimanente 60% dell'energia liberata dai processi metabolici appare immediatamente sottoforma di calore che è fondamentale per il mantenimento della temperatura corporea di 37 °C e che permette il corretto funzionamento dell'organismo (4). In condizioni ambientali estreme, il metabolismo aumenta o diminuisce la propria attività allo scopo di aumentare o diminuire la produzione di calore per preservare la temperatura interna dai cambiamenti termici (5,6).

Sulla terra ferma il metabolismo umano è minimo alla temperatura ambientale di 30 °C, mentre in acqua a 32-36 °C si registra il minimo consumo di ossigeno (VO_2) a riposo, mentre solamente dopo 20 minuti di immersione in acqua a 30 °C il metabolismo aumenta (7). Il VO_2 di un individuo che rimane immobile ed immerso completamente in acqua a 27 °C per un'ora

è significativamente maggiore di quello che si ha sulla terra ferma (7). Tuttavia si ha un aumento del metabolismo anche con l'acqua a 28°C durante un esercizio ad intensità blanda o durante un esercizio intenso in acqua ≤ 26 °C (8). Quando ci si esercita in acqua, se l'intensità dell'esercizio è bassa il VO_2 cresce del 150% rispetto a quello di riposo, se l'intensità è alta del 240% (8). L'aumento del metabolismo in condizioni di riposo in ambienti freddi è dovuto principalmente ai sistemi di termogenesi con brivido e senza brivido (9).

Holmér (10), esaminando il VO_2 e la temperatura esofagea durante 20 minuti di nuoto al 50% del VO_{2max} a tre temperature differenti dell'acqua (18, 26 e 34°C), scoprì che il VO_2 era maggiore alla minore temperatura dell'acqua (18°C) e che il VO_2 aumentava proporzionalmente alla diminuzione della temperatura esofagea.

La relazione tra la temperatura corporea e il metabolismo è diversa a seconda se ci si trovi a fare un esercizio fisico o se si stia a riposo. Durante un esercizio fisico molto blando e prolungato nel tempo e in un ambiente termoneutro (acqua o terra ferma), benché il metabolismo sia aumentato, la temperatura interna tende a diminuire, poiché la vasodilatazione periferica favorisce il flusso del sangue periferico (più freddo) verso le parti profonde del corpo (più calde) (11).

Nielsen (12), studiando la relazione tra il grado di attivazione del metabolismo e la temperatura dell'acqua (14, 16, 18 e 20 °C), osservò la relazione inversa tra il metabolismo e la temperatura dell'acqua, cioè il VO_2 aumentava al diminuire della temperatura dell'acqua. In particolare tutte e quattro le temperature dell'acqua, sia a riposo che durante il nuoto causavano un aumento del consumo di ossigeno di 0.5 l/min a causa del tremore. Nuotando alla velocità di 0.5 m/s con l'acqua ≤ 16 °C, la temperatura interna continuava a decrescere in maniera lineare e il VO_2 , dopo un iniziale incremento, raggiungeva uno stato di plateau. Mentre a riposo, con l'acqua a 17 °C, sebbene la temperatura interna non cambiasse molto, il VO_2 aumentava di 1.0 l/min, diventando pari a quello registrato durante l'esercizio fisico. Tale aumento del VO_2 è dovuto al tremore, ossia alle contrazioni ritmiche involontarie dei muscoli agonisti ed antagonisti che aumentano la termogenesi (con brivido).

In acque molto fredde, l'unico metodo per mantenere la temperatura corporea entro dei limiti fisiologicamente accettabili è tramite l'esercizio fisico (13). La ricerca condotta da Vybiral (14) ha dimostrato che soggetti abituati a nuotare in acque fredde (13 °C) posseggono degli adattamenti metabolici e termoregolatori che gli per-

mettono di disperdere e di produrre meno calore durante 1 ora di nuoto in acque gelide rispetto ai soggetti non acclimatati.

Relazione tra la temperatura dell'acqua e la temperatura corporea

Gli esseri umani, essendo animali omeotermici, sono in grado di controllare e di mantenere costante la propria temperatura corporea che, entro determinati limiti, risulta relativamente indipendente da quella dell'ambiente circostante. Quindi la temperatura dell'ambiente che circonda il corpo umano, aria o acqua che sia, influisce notevolmente sulla regolazione della temperatura corporea (15), la quale in acqua è differente da quella sulla terra ferma perché l'evaporazione del sudore, la principale via della termodispersione, non è molto efficiente durante l'immersione in acqua; mentre la convezione e la conduzione, rispettivamente la seconda e la terza via della termodispersione, sono molto efficienti (12).

In acqua la conduttività termica è 25 volte maggiore di quella che si riscontra nell'aria, durante gli sport terrestri (16,17), rendendo la temperatura dell'acqua un elemento fondamentale della termoregolazione durante il nuoto. Più precisamente, la conduttività termica in acqua è $230 \text{ W/m}^2 \cdot ^\circ\text{C}$ a riposo e $580 \text{ W/m}^2 \cdot ^\circ\text{C}$ durante il nuoto (18), mentre sulla terra ferma è $17 \text{ W/m}^2 \cdot ^\circ\text{C}$ nel ciclismo (19). Questi dati indicano che la dissipazione di calore è maggiore durante l'esecuzione di un esercizio fisico piuttosto che a riposo.

Nel 1955, Pugh e Edholm (20), esaminando la relazione tra varie temperature dell'acqua (15.8, 20.5, 21.8, 24.2 e $28.3 \text{ }^\circ\text{C}$) e le conseguenti variazioni della temperatura interna (temperatura rettale) dei nuotatori, dimostrarono che la temperatura corporea diminuisce rapidamente ad una temperatura dell'acqua $\leq 24.2 \text{ }^\circ\text{C}$ e che la diminuzione della temperatura interna aveva un effetto negativo sulla durata dell'esercizio in acqua.

Craig (7), studiando la termodispersione del corpo umano immobile ed immerso in acqua a varie temperature $24\text{-}37 \text{ }^\circ\text{C}$, scoprì che ad una temperatura dell'acqua $\leq 30 \text{ }^\circ\text{C}$ la temperatura rettale e timpanica inizialmente aumentava per poi diminuire, mentre aumentava con l'acqua $\geq 36 \text{ }^\circ\text{C}$. I dati mostrano che la temperatura interna è direttamente dipendente dalla temperatura dell'acqua e che l'intervallo termico nel quale la temperatura corporea non cambia è estremamente ridotto ($28\text{-}30 \text{ }^\circ\text{C}$).

In un differente studio, Craig (8) dimostrò che durante l'esercizio fisico la temperatura corporea mostra comportamenti diversi in base all'intensità dell'esercizio fisico e/o della temperatura dell'acqua. In particolare, la temperatura tim-

panica inizialmente aumentava indipendentemente dall'intensità dell'esercizio per poi diminuire se l'intensità dell'esercizio rimaneva blanda e/o l'acqua era ad una temperatura $\leq 32 \text{ }^\circ\text{C}$; se l'intensità dell'esercizio fisico era elevata, la temperatura timpanica aumentava a qualunque temperatura dell'acqua, eccetto che a $24 \text{ }^\circ\text{C}$. La temperatura rettale diminuiva se l'intensità dell'esercizio fisico era bassa e/o la temperatura dell'acqua $\leq 32 \text{ }^\circ\text{C}$, mentre aumentava ad intensità elevate e/o con l'acqua ad una temperatura $\geq 28 \text{ }^\circ\text{C}$.

Nielsen (11) per evidenziare le differenze che esistono nei due differenti ambienti fisici dell'acqua e dell'aria, misurò il cambiamento della temperatura corporea di alcuni soggetti, sottoponendoli a 4 sessioni di allenamento di nuoto e a 4 di ciclismo a due differenti temperature ambientali (30 e $33 \text{ }^\circ\text{C}$) e a due differenti intensità di allenamento (VO_2 : 1.6 e 2.6 l/min). I risultati dimostrarono che in acqua la dissipazione di calore era maggiore e che l'incremento della temperatura corporea era limitato, perché il calore prodotto dall'esercizio era immediatamente trasferito dalla pelle all'acqua. Infatti, la temperatura interna dei soggetti era $0.4 \text{ }^\circ\text{C}$ più bassa in acqua che sulla terra ferma, anche se un minimo cambiamento nella temperatura dell'acqua poteva indurre un significativo effetto sulla temperatura corporea.

Nel 1979, Galbo (21) mostrò che durante 60 minuti di nuoto al 68% del VO_2max in acqua a 27 e a $33 \text{ }^\circ\text{C}$ la temperatura rettale e la frequenza cardiaca aumentava, mentre diminuivano nell'acqua a $21 \text{ }^\circ\text{C}$. Nello studio condotto da Fujishima (22), la temperatura rettale diminuiva progressivamente durante i 120 minuti di nuoto ad intensità blanda a 23 e a $28 \text{ }^\circ\text{C}$, ma non a $33 \text{ }^\circ\text{C}$. I differenti risultati ottenuti da Galbo e Fujishima sono da imputare all'intensità di esecuzione dell'esercizio.

Relazione tra la temperatura dell'acqua e la prestazione sportiva

La produzione di calore è incrementata dall'attività dei muscoli durante l'esercizio fisico e dalla sua correlata intensità. Il prolungato esercizio ad un'elevata temperatura ambientale tende a far giungere la sensazione di fatica molto prima rispetto ad un esercizio praticato in un ambiente fresco (23,24). La prestazione fisica durante un esercizio diminuisce quando la temperatura corporea aumenta indipendentemente dall'intensità e dal tipo di esercizio fisico (25,26).

La disponibilità o la motivazione di iniziare un esercizio fisico diminuisce con l'incremento della temperatura corporea (27). Nell'ipertermia, temperatura corporea $> 40 \text{ }^\circ\text{C}$, la volontà di terminare un determinato esercizio diminuisce notevolmente (28).

E' stato dimostrato che un'elevata temperatura muscolare dovuta all'esercizio fisico ad intensità modesta aumenta il consumo di glicogeno muscolare (29), mentre ad intensità elevate aumenta il consumo di carboidrati e la concentrazione di acido lattico nel muscolo (30). Un'altra causa di riduzione della prestazione sportiva in un ambiente caldo è dovuta alla vasocostrizione periferica; aggiustamento che tende a non riscaldare ulteriormente il nucleo interno del corpo, che riduce il volume di sangue nei muscoli scheletrici (27), riducendone l'attività contrattile (31). Pertanto la prestazione fisica di tutti gli sport è condizionata dalla temperatura interna degli atleti.

Nel caso specifico del nuoto, la prestazione fisica è limitata dall'aumento della temperatura corporea dovuta all'aumento della temperatura dell'acqua e dell'intensità dell'esercizio fisico o dall'abbigliamento indossato (mute, costumi interi e cuffie).

Nielsen (12) dimostrò che era difficile nuotare per lungo tempo in acque con temperatura ≥ 32 °C, e che nuotare in acque con temperatura ≥ 34 °C aumentava la temperatura corporea fino al raggiungimento di livelli pericolosi per la salute dell'atleta in circa 30 minuti.

Mougios (32), indagando l'influenza della temperatura dell'acqua (20, 26 e 32 °C) ad intensità massima (100 mt) o sottomassimale (30 min), determinò che ad elevate intensità di allenamento la prestazione natatoria, la frequenza cardiaca e la lattatemia aumentavano con l'acqua a 32 °C e diminuivano con l'acqua alla temperatura di 20 °C. Quindi la migliore prestazione sportiva alla massima intensità si aveva con l'acqua a 32 °C, questo effetto sembrava svanire ad intensità sottomassimali.

Conclusioni

Numerosi studi sono stati pubblicati dal 1955 ad oggi sugli effetti della temperatura dell'acqua sul metabolismo, sulla temperatura corporea e sulla prestazione sportiva dei nuotatori. Abbia-

mo riassunto nella tabella 1 i principali effetti determinati dalla temperatura dell'acqua sull'organismo durante il nuoto.

Temperature dell'acqua < 25 °C inducevano nei nuotatori un elevato aumento del VO_2 (7,10,12), una significativa riduzione della temperatura corporea (10,20,22) ed un declino nella prestazione di lunga durata (20,32) rispetto ai valori determinati in acque alla temperatura compresa nell'intervallo tra i 25 e i 28 °C. A temperatura dell'acqua > 28 °C i nuotatori ottenevano peggiori prestazioni nel nuoto di lunga durata (12,32) e migliori prestazioni nel nuoto di breve durata (32) rispetto a quelle ottenute con la temperatura dell'acqua compresa nell'intervallo tra i 25 e i 28 °C.

Da questo lavoro si evidenzia che l'intervallo di temperature compreso tra 25 e 28 °C, stabilito dalla FINA (2), per la temperatura dell'acqua della piscina durante le competizioni sportive internazionali è corretto, ma suggeriamo che possa essere utile aumentare la temperatura dell'acqua fino a 32 °C nelle competizioni di breve durata (50 e 100 mt) per ottenere migliori prestazioni cronometriche dagli atleti.

Inoltre riteniamo che, nelle competizioni in acque libere, le temperature limite stabilite dalla FINA (16 °C) e dall'ITU (14 °C) siano troppo basse, e consideriamo indispensabili i due accorgimenti presi dalla ITU per preservare la salute degli atleti, l'utilizzo della muta con l'acqua < 20 °C e il tempo limite per terminare la frazione di nuoto.

Bibliografia

1. Dal Monte A and Faina M. Valutazione dell'atleta - analisi funzionale e biomeccanica della capacità di prestazione, edited by UTET, 1999.
2. <http://www.fina.org/rules/index.php>
3. http://www.triathlon.org/docs/downloads_Competition_Rules_2006_10a.pdf?ts=120566300
4. Levine JA. Nonexercise activity thermoge-

Temperatura dell'acqua	Metabolismo	Temperatura Corporea	Prestazione
< 20 °C	$\uparrow\uparrow VO_2$ (7,10,12)	$\downarrow\downarrow$ Temp. esof. (10) \downarrow Temp. ret. (20)	\downarrow Lunga durata (20)
$20 \leq X < 25$	$\uparrow\uparrow VO_2$ (7,12)	\uparrow Temp. timp. (8) \downarrow Temp. ret. (20,22)	\downarrow Lunga durata (20,32) \downarrow Breve durata (32)
$25 \leq X \leq 28$	$\uparrow VO_2$ (7,10)	\downarrow Temp. esof. (10) \uparrow Temp. timp. (8) \downarrow Temp. ret. (21); \uparrow Temp. ret. (22)	\uparrow Lunga durata (32) \downarrow Breve durata (32)
> 28 °C		\uparrow Temp. timp. (8) \uparrow Temp. ret. (21)	\downarrow Lunga durata (12,32) \uparrow Breve durata (32)

Tab. 1: Gli effetti della temperatura dell'acqua sul metabolismo, sulla temperatura corporea e sulla prestazione sportiva dei nuotatori. VO_2 : consumo di ossigeno; temp. esof.: temperatura esofagea; temp. ret.: temperatura rettale; temp. timp.: temperatura timpanica.

- nesis-liberating the life-force. *J Intern Med* 200-7;62:273-287.
5. Weber JM, Haman F. Fuel selection in shivering humans. *Acta Physiol Scand* 200-5;184:319-329.
 6. Febbraio MA. Alterations in energy metabolism during exercise and heat stress. *Sports Med* 2001;31:47-59.
 7. Craig AB Jr, Dvorak M. Thermal regulation during water immersion. *J Appl Physiol* 1966; 21:1577-1585.
 8. Craig AB Jr, Dvorak M. Thermal regulation of man exercising during water immersion. *J Appl Physiol* 1968; 25:28-35.
 9. Rintamäki H. Human responses to cold. *Alaska Med.* 2007;49:29-31.
 10. Holmér I, Bergh U. Metabolic and thermal responses to swimming in water at varying temperature. *J Appl Physiol* 1974; 37:702-705.
 11. Nielsen B. Metabolic reactions to changes in core and skin temperature in man. *Acta Physiol Scand* 1976; 97:129-138.
 12. Nielsen B. Physiology of thermoregulation during swimming. In Eriksson B, Furbreg B, eds. *Swimming medicine IV*, Baltimore, Maryland: University Park Press 1978; 297-304.
 13. Craig AB. Jr. Temperature regulation and immersion. In Hollander AP, Huijing PA, de Groot G, edited by *Biomechanics and medicine in swimming*, Champaign, Ill: Human Kinetics 1983; 263-274.
 14. Vybíral S, Lesná I, Jansky L, Zeman V. Thermoregulation in winter swimmers and physiological significance of human catecholamine thermogenesis. *Exp Physiol* 2000; 8-5:321-326.
 15. Brooks GA, Fahey TD, White TP, Baldwin KM. *Exercise physiology - Human bioenergetics and its applications*. Edited by Mayfield Publishing Company, 1999.
 16. Costill DL, Cahill PJ, Eddy D. Metabolic responses to submaximal exercise in three water temperature. *J Appl Physiol* 1967; 22:628-632.
 17. Nielsen B, Davis C. Temperature regulation during exercise in water and air. *Acta Physiol Scand* 1976; 98:500-508.
 18. Nadel ER, Holmar I, Bergh U, Astrand P-O, Stolwijk AJ. Energy exchanges of swimming man. *J Appl Physiol* 1974; 36:465-471.
 19. Nielsen B. Thermoregulation in rest and exercise. *Acta Physiol Scand* 1969; suppl: 323.
 20. Pugh LGC, Edholm OG. The physiology of channel swimmers. *The Lancet* 1955; 269:761-768.
 21. Galbo H, Houston ME, Christensen NJ, Holst JJ, Nielsen B, Nygaard E, Suzuki J. The effect of water temperature on the hormonal response to prolonged swimming. *Acta Physiol Scand* 1979;105:326-337.
 22. Fujishima K, Shimizu T, Ogaki T, Hotta N, Kanaya S, Shono T, Ueda T. Thermoregulatory responses to low-intensity prolonged swimming in water at various temperatures and treadmill walking on land. *J Physiol Anthropol Appl Human Sci* 2001;20:199-206.
 23. Parkin JM, Carey MF, Zhao S, Febbraio MA. Effect of ambient temperature on human skeletal muscle metabolism during fatiguing submaximal exercise. *J Appl Physiol* 1999; 8-6:902-908.
 24. Ftaiti F, Grelot L, Coudreuse JM, Nicol C. Combined effect of heat stress, dehydration and exercise on neuromuscular function in humans. *Eur J Appl Physiol* 2001; 84:87-94.
 25. Morris J, Nevill M, Lakomy H, Nicholas C, Williams C. Effect of a hot environment on performance during prolonged, intermittent, high-intensity shuttle running. *J Sports Sci* 1998; 1-6:677-686.
 26. Galloway SDR, Maughan RJ. Effects of ambient temperature on the capacity to perform prolonged exercise in man. *Med Sci Sports Exerc* 1997; 29:1240-1249.
 27. González-Alonso J, Teller C, Andersen SL, Jensen FB, Hyldig T, Nielsen B. Influence of body temperature on the development of fatigue during prolonged exercise in the heat. *J Appl Physiol* 1999; 86:1032-1039.
 28. Sawka, M. Physiological consequences of hypohydration: Exercise performance and thermoregulation. *Med Sci Sports Exerc* 1992; 2-4:657-670.
 29. Starkie RL, Hargreaves M, Lambert D, Proietto J, Febbraio M. Effect of temperature on muscle metabolism during submaximal exercise in humans. *Exp Physiol* 1999; 84:775-784.
 30. Febbraio MA, Carey MF, Snow RJ, Stathis CG., Hargreaves M. Influence of muscle temperature on metabolism during intense dynamic exercise. *Am J Physiol* 1996; 271:R1251-1255.
 31. Tucker R, Rauch L, Harley YXR, Noakes D. Impaired exercise performance in the heat is associated with an anticipatory reduction in skeletal muscle recruitment. *Pflugers Arch* 200-4; 448:422-430.
 32. Mougios V, Deligiannis A. Effect of water temperature on performance, lactate production and heart rate at swimming of maximal and submaximal intensity. *J Sports Med Phys Fitness* 1993; 33:27-33.

HEAT SHOCK PROTEIN 70 AND EXERCISE: MORPHOFUNCTIONAL RELATIONSHIPS

HEAT SHOCK PROTEIN 70 ED ESERCIZIO FISICO: RELAZIONI MORFOFUNZIONALI

Daniele Palumbo, Filippo Macaluso, Giuseppe Battaglia, Rosario Barone

CAPSULA EBURNEA, 3(9):1-7, 2008.

Dipartimento di Medicina Sperimentale (DI.ME.S.), Sezione di Anatomia Umana "E. Luna", Università degli Studi di Palermo

Correspondence:

Dr. Daniele Palumbo:
daniele_palumbo@hotmail.it

Received: March 16th, 2008

Revised: March 20th, 2008

Accepted: March 30th, 2008.

No conflicts of interest were declared.

Category of paper:

Review

Language of the Article: Italian.

Abstract.

The expression of Heat Shock Proteins (HSPs) is one of the most defensive mechanism against cellular stress, HSPs are an heterogeneous family of molecules highly maintained across the species during the evolution.

Exercise training represents the most important source of stress in the skeletal muscle and it triggers the increase of the expression of HSPs, particularly Hsp70, into the cells, plays the intracellular role of chaperone and stress sensor. It has been shown that the expression of Hsp70 as cell response to stress is directly proportional to stress intensity. Several authors described Hsp70 trends as result of different training protocols in both human and animal skeletal muscles, getting out contrasting results.

The purpose of this review is to clarify the influence of exercise on the production of Hsp70.

Further experiments are necessary to understand better the Hsp70 role in damage induced by physical training to schedule an optimal workout program.

KEYWORDS: physical exercise, heat shock proteins, muscle damage, stress proteins.

Riassunto.

Le cellule si difendono dallo stress attraverso una serie di Heat Shock Proteins (HSPs), una famiglia di molecole ubiquitariamente presenti negli organismi e altamente conservate con l'evoluzione.

L'esercizio fisico rappresenta una delle maggiori fonti di stress per il muscolo scheletrico che in risposta aumenta la sintesi di diverse HSPs. Tra queste, quella maggiormente espresse è la Hsp70 che svolge un ruolo di chaperone e di segnalatore di stress.

È stato dimostrato come la risposta della Hsp70 sia direttamente proporzionale all'intensità dello stress. Molti autori descrivono l'andamento e l'espressione di questa proteina nel muscolo scheletrico di uomo e di animali in seguito a diversi protocolli di allenamento ottenendo risultati contrastanti.

Scopo di questa review è di chiarire l'influenza dell'esercizio fisico sulla produzione della Hsp70.

Ulteriori esperimenti permetteranno di comprendere meglio il ruolo di questa proteina contro i danni indotti dall'esercizio fisico in modo da pianificare una tipologia di allenamento ottimale.

PAROLE CHIAVE: esercizio fisico, proteine da shock termico, danno muscolare, proteine da stress.

Muscolo scheletrico e Hsp70

Il muscolo scheletrico è un tessuto estremamente dinamico, possiede la capacità di adattarsi a numerosi stimoli fisiologici o stress esterni. Durante la contrazione muscolare una grande quota dell'energia utilizzata è convertita in energia termica provocando l'innalzamento della temperatura muscolare (1). Lo stress termico può indurre direttamente o indirettamente la denaturazione proteica che funge da termometro cellulare. Uno dei meccanismi di adattamento allo stress cellulare di natura termica è la produzione delle Heat Shock Proteins (HSPs); queste rappresentano il più antico sistema di difesa in tutti gli organismi viventi. Questa molecola chaperone è presente in tutti gli organismi ed è indispensabile per la sopravvivenza della cellula (2-4). Nelle cellule non stressate, le HSPs svolgono funzioni di chaperone associate con nuova sintesi polipeptidica assicurando il corretto folding, localizzazione e funzione proteica (5,6). Un incremento delle HSPs in seguito a stress ristabilisce l'omeostasi cellulare, facilita il processo di riparazione da danno e protegge le cellule da infortuni futuri (7-9).

Vi sono diverse HSPs che variano a seconda delle caratteristiche biologiche e funzionali, classificate in diversi gruppi in base al peso molecolare. Le HSPs identificate nel muscolo scheletrico maggiormente espresse sono la Hsp70, Hsp60 e Hsp90 (10). In particolare la Hsp70 funziona da indicatore cellulare di stress e riveste un importante ruolo nella trasduzione del segnale in quanto il suo ruolo nel muscolo scheletrico è di segnalatore di stress (11). Inoltre svolge un ruolo fondamentale nel metabolismo delle proteine, e recentemente è stato riconosciuto un suo ruolo nel processo di adattamento muscolare, così come nell'apoptosi e nella miogenesi (12,13). Diversi lavori presenti in letteratura mostrano come la risposta della Hsp70 è indotta da differenti meccanismi correlati con l'intensità della causa stressante (14-16). È ampiamente accettato che l'esercizio fisico è uno stimolo sufficientemente stressante per indurre la risposta della Hsp70 nel muscolo scheletrico (17-20).

Molti fattori stressanti sono associati con l'esercizio fisico tra cui: elevata temperatura, stress metabolici, produzione di catecolamine, incremento intracellulare di calcio e delle specie reattive dell'ossigeno, deplezione di glicogeno e di ATP, diminuzione del pH intracellulare (15,21,22).

Inoltre durante la fase di contrazione muscolare l'apporto di sangue intramuscolare è interrotto temporaneamente per poi riprendere nella fase di rilasciamento; in questo modo il muscolo va incontro al fenomeno della ischemia-riperfusion (23,24). Tutti questi fattori stres-

santi determinano un aumento della espressione delle HSPs da parte del muscolo scheletrico, e in particolare della Hsp70.

Variazione dei livelli sierici e tissutali di Hsp70 in seguito a diversi protocolli di allenamento

Diversi autori hanno ipotizzato che modificando i parametri del lavoro muscolare come carico, volume e intensità dell'allenamento, si possono avere effetti diversi sugli adattamenti precedentemente descritti e quindi una diversa risposta della Hsp70.

Già negli anni '90 l'attività fisica era considerata come uno stimolo che induce le HSPs (25). Molti lavori mostrano che la risposta della Hsp70 è direttamente correlata all'intensità della causa stressante (15); questo è ben documentato negli studi sugli animali, mentre sono di meno e controversi i lavori relativi ai muscoli scheletrici nell'uomo.

È stato dimostrato che anche negli esseri umani la produzione della Hsp70 può essere indotta molto rapidamente in organi e tessuti dopo esposizione a uno stimolo stressante (26-28). Ad esempio Fehrenbach ha dimostrato come i livelli della Hsp70 e Hsp27 aumentano nei leucociti dopo uno sforzo di tipo acuto, mantenendosi elevati anche dopo 24 ore (29,30). In uno studio condotto da Walsh alcuni soggetti effettuavano una seduta di allenamento di corsa su treadmill di 1 ora al 70% della soglia aerobica (moderata intensità). Si osservava già a 30 minuti un aumento di espressione della Hsp70 nel sangue durante l'esercizio. Questo incremento non era una diretta conseguenza del lavoro muscolare, ma era ampiamente preceduto da un incremento intramuscolare della Hsp70 (31). Un'ulteriore conferma si è avuta da Febbraio et al. (32) in uno studio condotto su soggetti in cui è andato a investigare il rilascio della Hsp70 nel tessuto epatico. I soggetti venivano sottoposti ad un allenamento di 2 ore su bike statica alla massima capacità aerobica; veniva prelevato contemporaneamente sangue dall'arteria brachiale e delle vene femorale ed epatica principale a 30, 60 e 120 minuti dopo l'esercizio. La concentrazione della Hsp70 aumentava solo nel sangue epatico e non negli altri distretti sanguigni. Questo dimostrava che l'esercizio stimolava la produzione di questa proteina nel fegato. Tuttavia la risposta della Hsp70 nel muscolo scheletrico, sembra essere specifica in termini di tempo. Nell'uomo il tempo di risposta nella produzione della Hsp70 ha una maggiore latenza rispetto ai roditori (in particolare i ratti) in cui varia dal minuto all'ora (19).

Uno dei primi autori a studiare il tempo di risposta della Hsp70 nel muscolo scheletrico in seguito ad esercizio fisico è stato Puntschart (33). Questi ha studiato l'espressione della forma

inducibile della Hsp70 nelle cellule muscolo scheletriche umane, dopo una singola seduta di allenamento di tipo aerobico, su treadmill per 30 minuti, in soggetti non allenati. Si è visto che la concentrazione dell'mRNA della Hsp70 era aumentata significativamente dopo 4 minuti dal termine dell'esercizio e che questo valore si manteneva elevato anche dopo 3 ore dalla fine della seduta allenamento. Ma al contrario il livello proteico della Hsp70 non cambiava nelle 3 successive all'allenamento. La conclusione tratta è stata che un singolo esercizio non ha effetti sul livello proteico basale, di per se elevato, della Hsp70; oppure il periodo di osservazione è stato troppo breve per avere un incremento significativo. Puntschart concluse che l'analisi del mRNA della Hsp70 è potenzialmente utile come metodo per rilevare lo stress in tessuti con un elevato livello basale di HSPs (33).

Da uno studio condotto sui canottieri professionisti, e quindi con un livello di allenamento elevato, Liu e collaboratori sono andati a indagare il livello proteico della Hsp70 dopo un allenamento di endurance (34). Dopo 4 settimane dal termine della prova, i livelli proteici erano ancora significativamente più alti di 3 volte rispetto al livello basale. Questo lavoro ha dimostrato che nei canottieri professionisti aumenta il livello proteico della Hsp70 nel muscolo scheletrico, ma non spiega se questo aumento è dipeso dall'intensità o dal volume dell'allenamento.

Sempre lo stesso Liu ha condotto un lavoro su due gruppi di canottieri allenati, sottoponendoli a un protocollo di allenamento, in cui variava l'intensità e il volume dividendo il lavoro in tre fasi (20). Un gruppo ha effettuato un allenamento ad alta intensità in una prima fase, mentre l'altro gruppo ha effettuato un allenamento ad alta intensità in una seconda fase. Il volume dell'allenamento è aumentato in entrambi i

gruppi nella seconda fase. Nella terza fase sono stati ridotti sia l'intensità sia il volume dell'allenamento. Da questa sperimentazione hanno osservato che si ha un aumento della risposta della Hsp70 subito dopo l'aumento dell'intensità dell'allenamento e riduzione quando questa viene ridotta nella terza fase, mentre l'espressione della Hsp70 non sembra risentire del parametro del volume dell'allenamento (20). Questa relazione, tra intensità e volume di allenamento, e risposta della Hsp70 nel muscolo scheletrico umano, è fortemente supportata da studi successivi sugli animali (v. tab. 1).

Tupling nel 2007 (35) ha dimostrato come inseguito a un allenamento di tipo acuto isometrico l'espressione della Hsp70 a livello proteico non cambiava immediatamente dopo l'esercizio. Questo aumentava del 43% dopo un giorno di recupero e restava elevato per i 6 giorni successivi. Questi autori ipotizzano che la discrepanza tra i tempi di risposta a livello proteico e a livello di mRNA potrebbe essere dovuta al fatto che i meccanismi post trascrizionali svolgono un ruolo nella regolazione dei livelli di espressione della Hsp70 umana nel muscolo scheletrico, in risposta ad allenamento.

Hsp70 e muscolo scheletrico: studi sul modello animale

Diversi lavori hanno mostrato come non vi sia una correlazione specifica tra la risposta della Hsp70 nel muscolo scheletrico umano e nel muscolo scheletrico degli animali, e in particolare nei ratti. Uno studio sulla risposta della Hsp70 all'allenamento di endurance sugli animali è stato effettuato da Milne e Noble (36). Questi hanno sottoposto due gruppi di ratti a un protocollo di allenamento di corsa su treadmill; un gruppo a bassa intensità, l'altro ad alta intensità. Entrambi i gruppi sono stati allenati per 8 settimane. L'incremento dell'espressione si è

TIPO DI ALLENAMENTO	DURATA	NUMERO SOGGETTI	VARIAZIONE Hsp70	RIFERIMENTO BIBLIOGRAFICO
Aerobico, alta intensità	30 minuti	5, non allenati	++	(33)
Endurance, intensità massima	4 settimane	10, allenati	++	(20)
Alta intensità e settimana di recupero	3 settimane	6, allenati	+	(34)
Bassa intensità e settimana di recupero	3 settimane	8, allenati	±	(34)
Acuto isometrico	30 minuti	10, non allenati	+	(35)

Tab. 1: Relazione tra intensità e volume di allenamento e risposta della Hsp70 nel muscolo scheletrico umano.

avuto soltanto nel gruppo allenato ad alta intensità nonostante il volume dell'allenamento, e quindi la distanza percorsa, fosse la stessa per entrambi i gruppi (36).

In un altro studio, Melling (37), ha esaminato l'attivazione del gene della Hsp70 inseguito ad esercizio di tipo acuto, utilizzando due gruppi di ratti; uno formato da ratti sedentari, l'altro da ratti precedentemente allenati con un programma di tipo aerobico. Non vi erano differenze significative nell'espressione della Hsp70 nell'mRNA subito dopo l'esercizio tra i due gruppi di animali.

Altri esperimenti condotti sugli animali sottoposti a un programma di allenamento di endurance a bassa intensità hanno mostrato, a differenza del tipo di risposta avuta negli esseri umani, un incremento della HSP70 a prescindere se i ratti avessero effettuato o meno un periodo di adattamento all'esercizio. Diversi autori hanno così ipotizzato che la risposta della HSP70 nel muscolo scheletrico umano è influenzata dallo stato di allenamento e quindi di adattamento all'esercizio (20,38,39).

L'espressione della Hsp70 nelle fibre muscolari

Differenti tipologie muscolari presentano caratteristiche biochimiche funzionali diverse tra loro, così com'è diversa la loro risposta all'espressione delle HSPs. Già nel 1991 Locke (40) aveva dimostrato che la forma inducibile della Hsp70 è costitutivamente espressa nei muscoli di ratto nelle fibre di tipo I e non in quelle di tipo II. Nei muscoli con fibre di tipo misto l'espressione è proporzionale alla presenza delle fibre di tipo I.

In un lavoro sulla relazione tra l'isoforma MHC e la risposta della Hsp70 è stato dimostrato che durante lo sviluppo muscolare il livello basale della Hsp70 nel muscolo soleo (fibre low-twitch) incrementa parallelamente all'aumentare delle fibre di tipo I, evento non riscontrato nel muscolo plantare prevalentemente formato da fibre di tipo II (fast-twitch) (41).

È stato mostrato come l'espressione della Hsp70 e la risposta all'esercizio sono in relazione con il tipo di fibra muscolare che viene stimolata (42). Molti dei lavori presenti in letteratura hanno utilizzato come modello il muscolo vasto laterale (con tipologia di fibre low-twitch) con svariati esercizi tutti di tipo aerobico (corsa e ciclismo). Thompson è stato il primo ad andare a valutare e comparare la risposta della Hsp70, utilizzando un altro modello muscolare, il bicipite brachiale (con tipologia di fibre fast-twitch) e nel vasto laterale (43). L'esperimento è stato condotto su soggetti non allenati; il protocollo di allenamento ha previsto un esercizio di tipo eccentrico ad alta intensità per il bicipite brachiale (50 ripetizioni alla massima intensità)

e un esercizio a bassa intensità per il vasto laterale (corsa su treadmill con inclinazione di meno 10 gradi per 30 min). L'espressione della Hsp70 è stata valutata 48 ore dopo la fine dell'allenamento e si è avuta una risposta significativa sia a livello proteico sia nell'mRNA solo nel bicipite brachiale e non nel vasto laterale.

Brkic, invece, ha messo in correlazione la risposta e l'espressione della Hsp70 con l'esercizio e la tipologia delle fibre muscolari stimulate (44). Quest'ultimo ha osservato la risposta della Hsp70 nel muscolo tricipite brachiale (fibre veloci) ad un allenamento di forza combinato con esercizi balistici e di stretching. Si è avuto un incremento della Hsp70 sia a livello proteico sia a livello dell'mRNA. La conclusione è stata che in risposta all'allenamento, la Hsp70 può essere indotta nei muscoli del braccio umano, e che il ruolo universale di chaperone molecolare Hsp70 può avere importanti effetti nell'adattamento all'allenamento di forza nei muscoli del braccio, composti prevalentemente da fibre muscolari veloci (44).

Recentemente Tupling (35) ha studiato la risposta della Hsp70 in fibre specifiche in risposta ad un esercizio di tipo acuto per 30 minuti sul muscolo vasto laterale. Non vi era differenza nel contenuto basale, pre esercizio, della Hsp70 nelle fibre di tipo I, IIA, e IIX/IIIX. Immediatamente dopo l'esercizio il contenuto della Hsp70 aumenta nelle fibre di tipo I di circa l'87%, e rimane invariata nelle fibre di tipo II. A un giorno di recupero, e nei 6 giorni successivi alla prova, il contenuto aumentava in tutte le fibre rispetto al livello basale, maggiormente nelle fibre di tipo I dove era sempre più alto rispetto alle altre. È stato valutato che la deplezione del contenuto di glicogeno subito dopo l'esercizio avveniva a carico soltanto delle fibre di tipo II e non nelle fibre di tipo I. Quindi la differente espressione della Hsp70 nelle fibre non è correlata con la disponibilità di glicogeno. Questi risultati dimostrano che la risposta della Hsp70 nel muscolo scheletrico indotta dall'esercizio è specifica a seconda del tipo di fibra.

Ruolo della Hsp70 nell'adattamento muscolare conseguente all'allenamento

Il primo a ipotizzare che un protocollo di allenamento che non crea danno muscolare possa incrementare la risposta della Hsp70 è stato Khassaf (45). Questi è andato a studiare l'andamento della risposta della Hsp70 con un protocollo di allenamento sub massimale a tempo zero a 24, 48, 72 ore e dopo 6 giorni dalla fine della prova, su biopsie del muscolo vasto laterale. In questo studio i soggetti eseguivano un esercizio di ciclismo con una gamba sola per 45 minuti al 70% della loro soglia aerobica. Questo modello di esercizio è stato utiliz-

zato per ridurre il più possibile la possibilità di trauma muscolare e quindi di infiammazione, fattori che avrebbero potuto influenzare il risultato finale in quanto promotori della risposta della Hsp70. La media del contenuto muscolare della Hsp70 aumenta enormemente dopo 6 giorni dal termine della prova. Il segnale responsabile per l'attivazione della risposta da stress dopo questa forma di esercizio non è chiaro; si è ritenuto ciò potesse essere dovuto all'aumentata temperatura muscolare, alla presenza di enzimi dello stress ossidativo o alla variabilità dei soggetti.

Morton nel 2006 ha caratterizzato le modalità e l'andamento della risposta delle maggiori HSPs, e in particolare della Hsp70, nel muscolo scheletrico umano inseguito ad allenamento acuto su treadmill (45 minuti a velocità corrispondente alla soglia aerobica dei soggetti) che non provoca danno muscolare in soggetti che praticano attività fisica di tipo ricreativo (non allenati e non sedentari) (46). In questo studio vengono effettuate delle biopsie muscolari subito dopo l'allenamento e dopo 24, 48, 72 ore e una settimana dopo l'allenamento. Si è riscontrato un aumento della risposta della Hsp70 anche se l'andamento e la variazione della risposta era sostanzialmente bassa rispetto a precedenti lavori su soggetti sedentari. Si è speculato che la risposta dei soggetti sedentari a stimoli stressanti è maggiore rispetto a soggetti attivi, o allenati, in modo tale da ripristinare, più rapidamente, l'omeostasi cellulare turbata dall'esercizio (46).

Recentemente Paulsen (47) ha investigato la risposta di alcune HSPs, e in particolare della Hsp70, nel muscolo scheletrico ad un esercizio di tipo eccentrico massimale in soggetti non abituati a questa tipologia di allenamento. Sono state effettuate delle biopsie sul quadricipite femorale a 30 minuti e a 4, 8, 24, 96 e 168 ore dopo la prova. La Hsp70 aumentava in modo significativo dopo 24 ore a livello citosolico, e dopo 4 giorni a livello miofibrillare, mentre l'espressione dell'mRNA era largamente aumentata già dopo 8 ore dal termine dell'esercizio. Si è ipotizzato, quindi, che l'incremento sia a livello proteico sia a livello di mRNA indichi un ruolo fondamentale della Hsp70 nel recupero e nel processo di rimodellamento/adattamento muscolare nell'esercizio di tipo eccentrico massimale.

Conclusioni

Nonostante la presenza di molteplici lavori in bibliografia, la risposta del muscolo scheletrico umano allo stress indotto dall'esercizio fisico rimane non del tutto chiara e compresa. L'interpretazione dei dati provenienti da studi umani è spesso limitata alla risposta di una par-

ticolare famiglia HSP (in particolare Hsp70), ed è complicata da variazioni dei tempi di campionamento dei tessuti, da soggetti con differenti caratteristiche (ad esempio, l'età, lo stato di allenamento, il sesso, lo stato nutrizionale), e dall'utilizzo dei protocolli di allenamento più disparati. Ciò è particolarmente importante nel caso in cui vi è una componente nel protocollo di allenamento che crea danno muscolare, dove il danno è definito come necrosi evidente, accompagnato da una riduzione significativa della capacità del muscolo di generare forza. Le cellule fagocitarie migrano verso il sito dove è presente il danno e in cui i livelli di HSPs sono relativamente alti (48). L'uso di un protocollo di allenamento che non crea danno muscolare, tuttavia, fornisce un approccio metodologico più controllato in cui la maggiore espressione di HSPs è probabile che si presenti all'interno delle cellule muscolari scheletriche, piuttosto che nel contenuto delle cellule fagocitarie.

La risposta dose dipendente della Hsp70 allo stress cellulare nel muscolo scheletrico ha un importante significato fisiologico e fisiopatologico in quanto un incremento del contenuto muscolare della Hsp70 inseguito ad esercizio fisico è pensato per ristabilire l'omeostasi cellulare, promuovere il rimodellamento cellulare e provvedere a protezione cellulare contro danni futuri (48,49). Uno dei processi di adattamento del muscolo scheletrico in seguito ad allenamento è dato dalla diminuzione del danno. Poiché una delle funzioni della Hsp70 è quella di svolgere un ruolo protettivo nei confronti del danno muscolare indotto dall'allenamento, la sua espressione è stata messa in correlazione al processo di adattamento muscolare, anche se ulteriori indagini sono necessarie per confermare questa ipotesi (50).

Un'ulteriore comprensione del ruolo di queste proteine, in particolare della Hsp70, nella protezione contro i danni indotti dall'esercizio nel muscolo scheletrico, e dell'induzione della loro produzione dopo diverse tipologie di esercizio, potrebbe facilitare una pianificazione logica per un allenamento ottimale, riducendo al minimo i danni muscolari, ottenendo il massimo adattamento all'attività contrattile e prevenendo l'overtraining.

Bibliografia

1. Brooks GA, Hittelman KJ, Faulkner JA, Beyer RE: Tissue temperatures and whole-animal oxygen consumption after exercise. *Am J Physiol* 1971; 221, 427-431.
2. Senisterra GA, Huntley SA, Escaravage M, Sekhar KR, Freeman ML, Borrelli M, Lepock JR: Destabilization of the Ca²⁺-ATPase of sarcoplasmic reticulum by thiol-specific, heat shock inducers results in thermal denaturation

- at 37 degrees C. *Biochemistry* 1997; 36, 1100-2-11011.
3. Hightower LE: Heat shock, stress proteins chaperones, and proteotoxicity. *Cell* 1991; 66, 191-197.
 4. Liu Y, Steinacker JM: Changes in skeletal muscle heat shock proteins: Pathological significance. *Front Biosci* 2001; 6, D12-D25.
 5. Ku Z, Yang J, Menon V, Thompson DB: Decreased polysomal HSP70 may slow polypeptide elongation during skeletal muscle atrophy. *Am J Physiol* 1995; 268, C1369-C1374.
 6. Beckmann RP, Mizzen LA, Welch WJ: Interaction of HSP70 with newly synthesized proteins: Implications for protein folding and assembly. *Science* 1990; 248, 850-854.
 7. Kiang JG, Tsokos GC: Heat shock protein 70 kDa: molecular biology, biochemistry and physiology. *Pharmacol Ther* 1998; 80: 183-201.
 8. McArdle F, Spiers S, Aldemir H, Vasilaki A, Beaver A, Iwanejko I, McArdle A, Jackson MJ. Preconditioning of skeletal muscle against contraction-induced damage: the role of adaptations to oxidants in mice. *J Physiol* 2004; 561: 233-244.
 9. Maglara AA, Vasilaki A, Jackson MJ, and McArdle A. Damage to developing mouse skeletal muscle myotubes in culture: protective role of heat shock proteins. *J Physiol* 2003; 548: 83-7-846.
 10. Locke M, Noble EG: Stress proteins: the exercise response. *Can J Appl Physiol* 1995; 20, 155-167.
 11. Hightower LE: Heat shock, stress proteins chaperones, and proteotoxicity. *Cell* 1991; 66, 191-197.
 12. Duguez S, Bihan MC, Gouttefangeas D, Feasson L, Freyssenet D: Myogenic and non-myogenic cells differentially express proteinases, Hsc/Hsp70, and BAG-1 during skeletal muscle regeneration. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2003; 285, E206-E215.
 13. Pette D, Staron R S: Myosin isoforms, muscle fiber types, and transitions. *Microsc Res Tech* 2000; 50, 500-509.
 14. Noble EG: Heat shock protein and their induction with exercise. In: *Exercise and Stress Response: The role of stress proteins*, edited by Locke M and Noble EG. Boca Raton, FL: CRC, 2002; p. 43-78.
 15. Liu Y, Steinacker JM: Changes in skeletal muscle heat shock proteins: Pathological significance. *Front Biosci* 2001; 6, D12-D25.
 16. Milne KJ, Noble EG: Exercise-induced elevation of HSP70 is intensity dependent. *J Appl Physiol* 2002; 93, 561-568.
 17. Noble EG: Heat shock protein and their induction with exercise. In: *Exercise and Stress Response: The role of stress proteins*, edited by Locke M and Noble EG. Boca Raton, FL: CRC, 2002; p. 43-78.
 18. Noble EG, Ho R, Dzialoszynski T: Exercise is the primary factor associated with Hsp70 induction in muscle of treadmill running rats. *Acta Physiol* 2006; 187, 495-501.
 19. Oishi Y, Taniguchi K, Matsumoto H, Ishihara A, Ohira Y, Roy RR: Differential responses of HSPs to heat stress in slow and fast regions of rat gastrocnemius muscle. *Muscle Nerve* 2003; 28, 587-594.
 20. Liu Y, Mayr S, Opitz-Gress A, Zeller C, Lormes W, Baur S, Lehmann M, Steinacker JM. Human skeletal muscle HSP70 response to training in highly trained rowers. *J Appl Physiol* 1999 Jan; 86(1):101-4.
 21. Steinacker JM, Liu Y: Stress proteins and applied exercise physiology. In: *Exercise and Stress Response - The Role of Stress Proteins*. Eds: Locke, M, Noble, E,G, CRC Press, Boca Raton, 2002;211-230.
 22. Kraniou Y, Cameron-Smith D, Misso M, Collier G, Hargreaves M: Effects of exercise on GLUT-4 and glycogenin gene expression in human skeletal muscle. *J Appl Physiol* 2000; 88, 794-796.
 23. Lindquist S: The heat-shock response. *Ann Rev Biochem* 1986; 55, 1151-1191.
 24. Lindquist S, Craig EA: The heat-shock proteins. *Ann Rev Genet* 1988; 22, 631-677.
 25. Fehrenbach E, Niess AM: Role of heat shock proteins in the exercise response. *Exerc Immunol Rev* 1999; 5, 57-77.
 26. Ramaglia V, Harapa GM, White N, Buck LT: Bacterial infection and tissue-specific Hsp7-2, -73 and -90 expression in western painted turtles. *Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol* 2004; 138, 139-148.
 27. Manzerra P, Rush SJ, Brown IR: Tissue-specific differences in heat shock protein hsc70 and hsp70 in the control and hyperthermic rabbit. *J Cell Physiol* 1997;170, 130-137.
 28. Zhang Z, Ferraris JD, Brooks HL, Brisc I, Burg MB: Expression of osmotic stress-related genes in tissues of normal and hyposmotic rats. *Am J Physiol Renal Physiol* 2003;285, F688-F693.
 29. Fehrenbach E, Niess A M, Schlotz E, Passek F, Dickhutt HH, Northoff H: Transcriptional and translational regulation of heat shock proteins in leukocytes of endurance runners. *J Appl Physiol* 2000; 89, 704.
 30. Fehrenbach E, Niess AM: Role of heat shock proteins in the exercise response. *Exerc Immunol Rev* 1999; 5, 57-77.
 31. Walsh RC, Koukoulas I, Garnham A, PL Moseley, M Hargreaves, MA Febbraio: Exercise increases serum Hsp72 in humans. *Cell Stress Chaperones* 2001;6, 386-393.
 32. Febbraio MA, Ott P, Nielsen HB, Steen-berg A, Keller C, Krstrup P, Secher NH, Pe-

- dersen BK: Exercise induces hepatosplanchnic release of heat shock protein 72 in humans. *J Physiol* 2002; 544, 957-962.
33. Puntschart A, Vogt M, Widmer HR, Hoppele H, Billeter R: Hsp70 expression in human skeletal muscle after exercise. *Acta Physiol Scand* 1996; 157, 411-417.
34. Liu Y, Lormes W, Baur S, Opitz-Gress A, Altenburgm D, Lehmann M, Steinacker JM: Human skeletal muscle HSP70 response to physical training depends on exercise intensity. *Int J Sports Med* 2000; 21, 351-355.
35. Tupling AR, Bombardier E, Stewart RD, Vigna C, Aquil AE: Muscle fiber type-specific response of Hsp70 expression in human quadriceps following acute isometric exercise. *J Appl Physiol* 2007 Dec; 103 (6): 2105-11.
36. Milne KJ, Noble EG: Exercise-induced elevation of HSP70 is intensity dependent. *J Appl Physiol* 2002; 93, 561- 568.
37. Melling CW, Thorp DB, Milne KJ, Krause MP, Noble EG: Exercise-mediated regulation of Hsp70 expression following aerobic exercise training. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2007; Dec 293 (6): H3692-8.
38. Samelman TR: Heat shock protein expression is increased in cardiac and skeletal muscles of Fischer 344 rats after endurance training. *Exp Physiol* 2000; 85, 92-102.
39. Samelman TR, Shiry LJ, Cameron DF: Endurance training increases the expression of mitochondrial and nuclear encoded cytochrome c oxidase subunits and heat shock proteins in rat skeletal muscle. *Eur J Appl Physiol* 2000; 83, 22-27.
40. Locke M, Noble EG, Aktinson BG: Inducible isoform of HSP70 in constitutively expressed in a muscle fiber type specific pattern. *Am J Physiol* 1991; 261, C774-C779.
41. Ogata T, Y Oishi, Roy RR, Ohmori H: Endogenous expression and developmental changes of HSP72 in rat skeletal muscles. *J Appl Physiol* 2003; 95, 1279-1286.
42. Neuffer PD, Ordway GA, Hand GA, Shelton JM, Richardson JA, Benjamin IJ, Williams RS: Continuous contractile activity induces fiber type specific expression of HSP70 in skeletal muscle. *Am J Physiol* 1996; 271, C1828-C1837.
43. Thompson HS, Maynard EB, Morales ER, Scordilis SP.: Exercise-induced HSP27, HSP70 and MAPK responses in human skeletal muscle. *Acta Physiol Scand* 2003; 178, 61-72.
44. Brkic M, Liu Y, Schlumberger A, Wirth K, Schmidtbleicher D, Steinacker JM: Arm muscle HSP70 response to strength training. *Med Sci Sports Exerc* 2004; 36, S318.
45. Khassaf M, Child RB, McArdle A, Brodie DA, Esanu C, Jackson MJ: Time course of responses of human skeletal muscle to oxidative stress induced by nondamaging exercise. *J Appl Physiol* 2001; 90, 1031-1035.
46. Morton JP, MacLaren PM, Cable NT, Bongers T, Griffiths RD, Campbell IT, Evans L, Kayani A, McArdle A, Drust B: Time course and differential responses of the major heat shock protein families in human skeletal muscle following acute nondamaging treadmill exercise. *J Appl Physiol* 2006; 101: 176-182.
47. Paulsen G, Vissing K, Kalhovde JM, Ugelstad I, Bayer ML, Kadi F, Schjerling P, Hallén J, Raastad T: Maximal eccentric exercise induces a rapid accumulation of small heat shock proteins on myofibrils and a delayed HSP70 response in humans. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2007; 293:R844-53.
48. Maglara AA, Vasilaki A, Jackson MJ, McArdle A: Damage to developing mouse skeletal muscle myotubes in culture: protective effect of heat shock proteins. *J Physiol* 2003; 548, 837-846.
49. McArdle A, Dillmann WH, Mestrel R, Faulkner JA, Jackson MJ: Overexpression of HSP70 in mouse skeletal muscle protects against muscle damage and age-related muscle dysfunction. *FASEB J* 2004; 18, 355-357.
50. Kilgore JL, Musch TI, Ross CR: Physical activity, muscle, and the HSP70 response. *Can J Appl Physiol* 1998; 23, 245-260.

BIOLOGICAL AND METHODOLOGICAL BASES OF MUSCULAR STRETCHING

BASI BIOLOGICHE E METODOLOGICHE DELL'ALLUNGAMENTO MUSCOLARE

Giuseppe Battaglia, Rosario Barone, Daniele Palumbo, Filippo Macaluso

CAPSULA EBURNEA, 3(10):1-6, 2008.

Human Anatomy Section "E. Luna", Department of Experimental Medicine, University of Palermo, Via del Vespro, 129, 90127 Palermo, Italy.

Correspondence:

Dr. Giuseppe Battaglia:
peppe.bat@virgilio.it

Received: March 14th, 2008

Revised: March 24th, 2008

Accepted: April 1st, 2008.

No conflicts of interest were declared.

Category of paper:

REVIEW

Language of the Article: Italian.

Abstract.

There are several adverse opinions about muscular stretching efficacy and utility in training session, regarding biology and physiology response and methodological application results. On the basis of literature, a unique kind of stretching does not exist because of great number of factor implicated: sports, training levels, skeletal muscle types, etc. The administration of flexibility tests at different training levels could be important to understand when apply stretching during training and which methodology, known in literature, is more opportune to use.

KEYWORDS: Stretching, performance, prevention, sarcomere

Riassunto.

L'allungamento muscolare è oggetto di numerosi contrasti di opinioni che mettono in discussione l'efficacia e la sua utilità nelle diverse fasi della seduta di allenamento. Molte delle divergenze nascono da un'apparente contraddizione tra gli eventi biologici e fisiologici che vi stanno alla base e i risultati delle applicazioni metodologiche. È impensabile ipotizzare un'unica forma di allungamento muscolare valida in maniera assoluta poiché sono diverse le variabili da considerare (disciplina sportiva, livello dell'atleta, tipo di muscolo etc.). La somministrazione di test di valutazione della flessibilità a diversi livelli della pratica sportiva potrebbe però suggerire se e in quali termini debbano essere inseriti momenti di allungamento muscolare durante le unità di allenamento e quale tra le tante metodologie note in letteratura sia più opportuno utilizzare.

PAROLE CHIAVE: Allungamento, prestazione, prevenzione, sarcomero

Introduzione

Il termine "*stretching*" deriva dall'inglese "*to stretch*" che significa allungare, tendere, tirare e indica nel linguaggio tecnico sportivo una metodica di allungamento del muscolo per un periodo di tempo variabile (1). Non esiste una sola forma di *stretching*, anche se la più conosciuta è quella codificata da Bob Anderson, che negli anni '80 ha contribuito a diffondere questa metodica di allenamento a ogni livello della pratica sportiva. Lo *stretching*, oggi, è oggetto di numerosi contrasti di opinioni che mettono in discussione l'efficacia, l'utilità e l'inserimento di esercitazioni di allungamento muscolare nelle diverse fasi della seduta di allenamento. Molte delle

divergenze nascono da una scarsa corrispondenza tra le basi biologiche, fisiologiche e i risultati delle applicazioni metodologiche che stanno alla base di questa metodica di allenamento.

Biologia dell'allungamento muscolare

Da un punto di vista prettamente biologico è ormai noto come i sarcomeri modificano la loro lunghezza durante lo stiramento o la contrazione muscolare modificando la lunghezza totale del muscolo stesso. Nel 1954 Huxley e Niedergerke, infatti, usando un microscopio ad interferenza, evidenziarono che, durante l'accorciamento del muscolo, la lunghezza della banda A

rimaneva costante, mentre le bande I e le zone H diventavano più strette (2). Durante lo stiramento muscolare, invece, la banda A si manteneva sempre costante, mentre la banda I e la banda H si estendevano (2).

Lo *stretching* muscolare si caratterizza di una prima fase quasi totalmente dipendente dai miofilamenti di actina e miosina che si presentano facilmente elongabili, mentre nel corso della seconda fase sono i filamenti di titina a ricoprire un ruolo primario, divenendo i principali responsabili dell'elongazione del sarcomero e della "tensione resistente" che questo offre all'allungamento (3,4). La titina, una proteina elastica di alto peso molecolare (3×10^6 dalton) che si estende dalla linea Z sino alla linea M, rappresenta circa il 10% della massa totale della miofibrilla (5). La porzione di titina che si trova nella banda A si comporta come fosse rigidamente legata al miofilamento di miosina, mentre la regione della molecola di titina che è legata alla linea Z, presenta un comportamento di tipo elastico (6-8). Durante l'allungamento della fibra muscolare varia quindi la lunghezza della porzione dei miofilamenti di titina connessi alla stria Z mentre, durante la contrazione muscolare, l'accorciamento dei sarcomeri comporta una detensione dei miofilamenti di titina stessi (9). Alcuni studi hanno dimostrato che il sarcomero può essere allungato sino al 150% della sua lunghezza di riposo (10), anche se occorre sottolineare che simili allungamenti sono registrabili solamente nel corso di sperimentazioni effettuate in vitro, mentre nel muscolo in situazione di attivazione naturale, anche in atleti dotati di particolari doti d'estensibilità muscolare, è difficile registrare allungamenti del muscolo superiori al 140% (11). I sarcomeri, quindi, non sembrano costituire un fattore limitante l'allungamento del muscolo rilassato. In effetti, in tal senso il più importante fattore limitante sembra essere costituito dal tessuto connettivo denso che avvolge il muscolo nei suoi vari livelli di organizzazione architettonica (le fibre, i fasci e la totalità del ventre muscolare), ossia dall'endomysio, dal perimysio e dall'epimysio. L'effetto anti-allungamento del tessuto connettivo, però, potrebbe essere di fatto sovrastimato (12-14). Dati in letteratura, infatti, minimizzano il ruolo di quest'ultimo in quanto fattore limitante l'allungamento muscolare (15,16) ed indicano la titina ed i ponti acto-miosinici residui, presenti anche in condizioni di rilassamento muscolare, come i maggiori fattori responsabili della tensione passiva del muscolo (12-14). Tutto ciò è anche supportato dal fatto che, in seguito ad un lavoro di tipo eccentrico, si verificherebbe un danneggiamento sia della titina che della nebulina, proteina ad alto peso molecolare implicata nella regolazione della lunghezza dei miofila-

menti di actina (17). Sia la titina che la nebulina del muscolo vasto laterale, infatti, a 24 ore di distanza da un lavoro eccentrico, diminuiscono rispettivamente del 30 e del 15% (12,13). Sempre a questo proposito, anche la desmina, un'altra proteina il cui compito è quello di mantenere i sarcomeri in parallelo, risulterebbe danneggiata in seguito a contrazioni eccentriche ripetute (18). È evidente, quindi, come l'ergonomia del sarcomero venga fortemente compromessa durante esercitazioni che inducano un allontanamento delle sue linee Z.

I tipi di allungamento muscolare

Nella pratica sportiva, si distinguono diversi metodi, tecniche ed esercizi di allungamento, che essenzialmente sono inquadrabili in tre gruppi: 1) gruppo dei metodi di allungamento attivo, 2) gruppo dei metodi di allungamento passivo e 3) gruppo dei metodi statici di allungamento.

Il gruppo dei metodi di allungamento attivo prevede esercizi di ginnastica con i quali, attraverso molleggi o oscillazioni, si cerca di andare oltre i normali limiti di mobilità delle articolazioni. Questo gruppo include esercizi dinamico-attivi, chiamati anche balistici, in cui il lavoro di allungamento avviene grazie a movimenti di molleggio ed esercizi statico-attivi. L'aspetto positivo degli esercizi di allungamento attivo è dato dalla possibilità che determinati muscoli vengono allungati, grazie all'attività di contrazione dei loro antagonisti. L'allungamento improvviso e dinamico, tuttavia, può innescare, attraverso i fusi neuro-muscolari, un riflesso da stiramento in grado di limitare l'allungamento muscolare stesso. L'allungamento attraverso i metodi passivi prevede, invece, esercizi in cui i gruppi muscolari interessati vengono portati in una posizione forzata di allungamento senza il coinvolgimento dei loro antagonisti (19). Anche gli esercizi passivi di allungamento possono essere suddivisi in dinamici e statici. Negli esercizi dinamico-passivi si produce un'alternanza ritmica tra aumento e riduzione dell'ampiezza del movimento, invece in quelli statico-passivi la posizione di allungamento viene mantenuta per alcuni secondi.

I metodi statici di allungamento cercano di ridurre al massimo il riflesso da stiramento dei fusi neuromuscolari avvalendosi, invece, di quello inverso da stiramento degli organi tendinei del Golgi che favorirebbe un *overstretching* della muscolare attraverso una riduzione del tono dei muscoli attenzionati e di quelli sinergici agli stessi (20). Il riflesso miotatico inverso può essere provocato o attraverso una contrazione molto intensa (massimale) oppure mediante un forte stimolo di allungamento. La scelta di un meccanismo non sempre esclude l'altro. Esi-

stono, infatti, almeno 5 diversi metodi di allungamento statico: il metodo della trazione passiva; della contrazione-rilassamento-allungamento; del rilassamento-allungamento; dell'allungamento degli agonisti con contemporanea contrazione degli antagonisti; della contrazione-rilassamento-allungamento con contemporanea contrazione degli antagonisti; che ricorrono in maniera ergonomica a uno o a entrambi i meccanismi sopracitati. L'azione di diminuzione del tono, prodotta dallo *stretching*, può anche essere ulteriormente rafforzata attraverso una respirazione regolare e tranquilla. Nello *stretching*, infatti, va assolutamente evitata una respirazione "compressiva" o "trattenuta" perché attiva il riflesso pneumomuscolare, che produce un aumento involontario del tono muscolare (19).

L'efficacia delle diverse tecniche di stretching viene valutata diversamente a seconda delle modalità di esecuzione e della durata dell'allenamento. Non vi sono, infatti, ricerche che provino chiaramente la superiorità di un metodo sugli altri. Comunque è noto che tecniche di allungamento che accentuano l'escursione del movimento sono più efficaci di quelle che favoriscono la velocità di movimento (21,22). Globalmente, la flessibilità viene addestrata in maniera ottimale solo quando tutti i suoi elementi determinanti sono presi in considerazione nelle unità di allenamento. La scelta degli esercizi di allungamento o della loro combinazione deriva dall'esame analitico del modello prestativo della disciplina di gara. Un miglioramento inadeguato della flessibilità a carico di un distretto anatomico piuttosto che un altro può essere causa di infortuni. Essa, quindi, deve essere sviluppata in modo ergonomico alla luce della tecnica dello sport praticato (23).

Lo *stretching* e la capacità di prestazione

Diversi sono gli studi in letteratura che riportano una diminuzione della capacità di prestazione in seguito a sedute di *stretching* muscolare negli sport in cui il risultato è deciso dalla forza rapida (discipline di salto, di lancio, sprint) (24). Wiemeyer ad esempio ha rilevato una diminuzione significativa della prestazione dal 3,1 al 5,3% in un test di salto eseguito dopo una seduta di allungamento muscolare statico (25). Gli stessi Baum et al. molti anni prima sostenevano questa ipotesi alla luce di una riduzione della capacità di salto di atleti in seguito a esercitazione di *stretching* (26). Anche la reattività degli atleti intesa come tempo di contatto con il suolo subisce un peggioramento in seguito a sedute di allungamento muscolare (27). In particolare la metodologia di allungamento che sembra essere principalmente oggetto di critica è quella statica; difatti Wiemann e Klee suggeri-

scono che sia proprio questa metodica di *stretching* ad avere un effetto negativo immediato sulla capacità di prestazione dell'atleta. Dopo un *stretching* di 15 min dei muscoli estensori e flessori degli arti inferiori i tempi di sprint sui 35 m, con partenza lanciata, peggiorano in media di 0,14 s (28). Anche la forza massima sembra subire, dopo sedute di *stretching*, una riduzione della capacità prestativa del 7,3% (29). Questi risultati possono essere interpretati alla luce degli effetti meccanici che l'allungamento può avere sulla *stiffness* (30). Evetovich et al. riportano, nella fattispecie, che la *stiffness* si riduce dopo lo *stretching* (31). Questo probabilmente perché si ha sia un danno alla struttura muscolare, in particolare a carico dei miofilamenti di titina, che un riorientamento delle fibre collagene tendinee in modo meno obliquo rispetto alla fase di riposo noto come effetto "*creeping*" (32,13). In tal senso, infatti, una riduzione della capacità, da parte delle strutture muscolotendinee, di immagazzinare energia elastica durante la fase dell'allungamento può causare un depotenziamento dei cicli allungamento-accorciamento muscolari tale da ridurre i momenti reattivi tipici delle discipline di corsa e di salto.

È bene ricordare, però, che gli effetti negativi dello *stretching* cessano dopo un periodo di tempo relativamente breve (33), quindi la riduzione della prestazione è evidenziabile subito dopo l'esecuzione delle sedute di allungamento muscolare. In tal senso, quindi, è preferibile evitare di introdurre esercitazioni di *stretching* durante il riscaldamento pre-gara relativamente agli sport dove si ha un forte coinvolgimento della forza rapida (24).

Una diversa valutazione dello *stretching* si ha circa la prevenzione dei traumi. Israel ad esempio sostiene che si può incorrere facilmente in stiramenti e strappi muscolari se la muscolatura non viene allungata a sufficienza (34). L'effetto di prevenzione dei traumi tramite lo *stretching*, però, è sempre più messo in dubbio poiché sono pochi gli studi in letteratura che promuovano l'utilizzo dello *stretching* nelle fasi di riscaldamento come prevenzione degli infortuni. Numerosi autori non hanno rilevato alcun beneficio derivante da una pratica assidua e regolare dello *stretching* (35). Una possibile spiegazione di questa mancanza di correlazione tra capacità d'elongazione del muscolo e diminuzione degli incidenti muscolari, potrebbe risiedere nel fatto che in effetti lo *stretching* provoca una sorta di effetto antalgico, che va sotto il nome di "*stretch-tolerance*", nei confronti dell'allungamento stesso (28). La pratica dello *stretching* indurrebbe quindi una diminuzione della sensazione dolorosa indotta dall'allungamento, data da un aumento della soglia dei nocicettori, per-

mettendo in tal modo all'atleta di sopportare allungamenti muscolari di maggiore entità, situazione che potrebbe anche paradossalmente aumentare il rischio di traumatismi a livello muscolare.

La fase dell'allenamento in cui invece lo *stretching* sembra avere sempre un ruolo determinante, a prescindere dalla tipologia di sport, è quella del defaticamento muscolare dove si cerca di far tornare le fibre muscolari alla loro dimensione tonica e lunghezza ottimale. In questa fase, inoltre, gli esercizi di *stretching* permettono di smaltire più velocemente tutti gli elementi tossici, prodotti con l'allenamento (esempio acido lattico) ed accorciare così i tempi di recupero (36). Specialmente dopo un allenamento di forza, di sprint, di rapidità, che causano un aumento del tono muscolare è consigliabile inserire esercitazioni di *stretching* così da contrastare la naturale tendenza ad accorciarsi della muscolatura allenata. Dopo un allenamento della forza la capacità di allungamento del muscolo allenato diminuisce dal 5 al 13%. Si tratta di una riduzione che si mantiene fino a 48 ore dopo la fine dell'allenamento (37). Se, invece, l'allenamento della forza viene concluso con sedute di *stretching* è ipotizzabile che la capacità di allungamento muscolare venga preservata.

Conclusioni

Quale sia la giusta metodologia di *stretching* da seguire non è ancora chiaro. Alcuni autori, infatti, bandiscono l'allungamento attivo dinamico perché causa di traumi (strappi) (38) altri invece criticano l'allungamento statico perché motivo di dolori muscolari (39). Ipotizzare un unico e assoluto metodo di *stretching* è, pertanto, impensabile poiché le variabili da considerare sono tante e spesso con finalità opposte l'una rispetto all'altra. La scelta, infatti, della metodologia di allungamento, della modulazione dei parametri del carico di lavoro (volume, intensità, frequenza) e delle fasi di allenamento in cui inserire le sedute di *stretching* dev'essere fatto alla luce del livello dell'atleta (capacità coordinative), dello stato (tonicità, lunghezza, elasticità) e del tipo di muscolo (agonista o antagonista nel gesto atletico praticato, muscolo posturale, etc.), delle finalità dell'allenamento (postura, elasticità, recupero muscolare, allungamento etc.) e della tipologia di sport praticato. Ad esempio per migliorare contemporaneamente la stabilità, la flessibilità, la forza muscolare di un determinato distretto anatomico potrebbe essere utile il metodo alternativo di *stretching* della facilitazione neuromuscolare propriocettiva anche nota come PNF, che si basa su cicli di lavoro di contrazione-rilassamento muscolare. È noto, infatti, come ventuno donne

attive dopo un periodo di allenamento di 4 settimane con il metodo PNF migliorano il *range* di movimento, la forza sviluppata e la *stiffness* dell'unità muscolo-tendinea dell'articolazione della caviglia (40). Allo stesso modo un programma di allenamento di *stretching* con il metodo PNF, di 2 volte a settimana per 6 settimane, risulta essere in grado di migliorare il *range* di movimento dell'articolazione della spalla in giocatori che utilizzano prevalentemente gli arti superiori (41).

Sempre più forte è, inoltre, la convinzione che dev'essere evitato un programma completo di *stretching* prima dell'unità di gare dove la forza rapida è un elemento determinante della prestazione. Lo stravolgimento improvviso della seduta di riscaldamento pre-gara è, però, da evitare. Per gli atleti, infatti, il riscaldamento rappresenta una sorta di rituale che in genere viene eseguito sempre nella stessa maniera. Quando si ricorre ad un riscaldamento diverso, ad esempio per motivi di tempo o di sponsor, gli atleti manifestano una sensazione di debolezza (24). Al fine di evitare tutto ciò potrebbe essere opportuno inserire esercitazioni di *stretching* dinamico durante la fase di attivazione per sport dove è fondamentale la capacità di prestazione reattiva. Berget, et al. mostrano, infatti, un effetto più positivo dell'allungamento dinamico rispetto a quello statico relativamente a questa capacità di prestazione (42). I movimenti ripetuti di allungamento, infatti, poiché avvengono molto rapidamente inducono degli adattamenti positivi sul sistema neuromuscolare tali da migliorare eventuali successive prestazioni di forza reattiva. Questo metodo di allungamento, però, è notevolmente più difficile da applicare rispetto a quello statico in quanto, generalmente, i processi dinamici di movimento richiedono delle capacità coordinative elevate.

Concludendo possiamo dire che potrebbe essere interessante incentivare a diversi livelli della pratica sportiva la somministrazione di tests di valutazione della flessibilità, tali da suggerire se e in quali termini debbano essere inseriti momenti di allungamento muscolare durante le unità di allenamento e quale tra le tante metodologie, note in letteratura, sia più opportuno utilizzare.

Bibliografia

1. Ullrich K, Gollhofer A: Physiologische Aspekte und Effektivität unterschiedlicher Dehnmethoden Sportmedizin. 1994;45:336-345.
2. Huxley AF, Niedergerke R: Measurement of muscle striations in stretch and contraction. J Physiol 1954;124(2):46-47P.
3. Alter MJ: Science of flexibility. Edited by Human Kinetics, Champaign 1996.
4. Alter MJ: Ciência della flexibilidade. Edited

- by Artmed, Porto Alegre (Brasil) 1999.
5. Sela BA: Titin: some aspects of the largest protein in the body. *Harefuah* 2002;141(7):631-635.
 6. Itoh Y, Susuki T, Kimura S, Ohsashi K, Higuchi H, Sawada H, Shimizu T, Shibata M, Maruyama K: Extensible and less-extensible domains of connectin filaments in stretched vertebrate skeletal muscle as detected by immunofluorescence and immunoelectron microscopy using monoclonal antibodies. *Journal of Biochemistry (Tokyo)* 1988;104:504-508.
 7. Whiting A, Wardale J, Trinick J: Does titin regulate the length of the muscle thick filaments? *Journal of the Molecular Biology* 1989;205(1):263-268.
 8. Wiemann K, Hahn K: Influence of strength, stretching and circulatory exercises on flexibility parameters of the human hamstrings. *Int J Sports Med* 1997;18:340-346.
 9. Bisciotti GN, Bertocco R, Gaudino C, Iodice PP: Insulto traumatico e deficit elastico muscolare. *Sport e Medicina* 2001;6:35-39.
 10. Furst DO, Osborn M, Nave R, Weber K: The organisation of titin filaments in the half-sarcomere revealed by monoclonal antibodies in immunoelectron microscopy: A map of ten non repetitive epitomes starting at the Z-line extends close to the M-line. *Journal of Cell Biology* 1988;106(5):1563-1572.
 11. Magid A, Law DJ: Myofibrils bear most of the resting tension in frog skeletal muscle. *Science* 1985;230(4731):1280-1282.
 12. Wydra G: Stretching ein blick über den aktuellen. Stand der Forschung. *Sportwissenschaft* 1997;4:409-427.
 13. Wiemann K, Klee A: Die Bedeutung von Dehen und Stretching in der Aufwärmphase vor Höchstleistungen. *de Leistungssport* 2000;4:5-9.
 14. Trappe TA, Carrithers JA, White F, Lambert CP, Evans WJ, Dennis RA: Titin and nebulin content in human skeletal muscle following eccentric resistance exercise. *Muscle Nerve* 2002;2:289-292.
 15. Hutton RS: Neuromuskuläre Grundlagen des Stretching in: Komi P.V., *Kraft und Schnelkraft im Sport*. Colonia 1994;155-172.
 16. Proske U, Morgan DL: Do cross-bridge contribute to the tension during stretch of passive muscle? *J Muscle Res Cell Motil.* 1999;5-6:433-442.
 17. Lieber RL, Thornell LE, Friden J: Muscle cytoskeletal disruption occurs within the first 15 min of cyclic eccentric contraction. *J Appl Physiol* 1996;80(1):278-284.
 18. Lieber RL, Woodburn TM, Friden J: Muscle damage induced by eccentric contractions of 25% strain. *J Appl Physiol* 1991;70:2498-2507.
 19. Weineck J: L'allenamento della mobilità articolare. In: *L'allenamento Ottimale*, cap 15, Calzetti Mariucci, 2001.
 20. Kandel ER, Swartz JH: *Principles of neural science*. Elsevier, New York, 1981.
 21. Hoster M: Zur Bedeutung verschiedener Dehnungsarten bzw. Dehnungstechniken in der Sportpraxis. *Die Lehre Leichtathletik* 1987;1523-1526.
 22. Wydra G, Bos K, Karisch G: Zur Effektivität verschiedener Dehntechniken. *Dt Z Sportmed* 1991;42:386-400.
 23. Matwejew LP, *Grundlagen des sportlichen Trainings*. Sportverlag, Berlino, 1981.
 24. Turbanski S: Stretching e riscaldamento. *SDS*, 2005;65:27-32.
 25. Wiemeyer J, Dehnen und Leistung - primär psychologische Entspannungseffekte?. *Deutsche Zeitschrift für Sportmedizin* 2003;55(10):288-294.
 26. Baum K, Essfeld D, Oleine K, Quade K: Die maximal erreichbare Sprunghöhe nach unterschiedlichen Aufwarmelemente. In: *Volleball analysieren*, Edited by Dannemann F, Ahrensburg, Czwalina Verlag, 1990.
 27. Kunemeyer J, Schmidtbleicher D: Modification of reactivity by rhythmic neuromuscular stimulation. *Sportverletz Sportschaden.* 1997;11(2):39-42.
 28. Wiemann K, Klee A: Stretching e prestazioni sportive di alto livello. *SdS*, 49:9-15, 2000.
 29. Kokkonen J, Nelson AG, Cornwell A: Acute muscle stretching inhibits maximal strength performance. *Res Q Exerc Sport* 1998; 69(4):411-415.
 30. Klinge K, Magnusson SP, Simonsen EB, Aagaard P, Klausen K, Kjaer M: The effect of strength and flexibility training on skeletal muscle electromyographic activity, stiffness, and viscoelastic stress relaxation response. *Am J Sports Med* 1997;25(5):710-716.
 31. Evetovich TK, Nauman NJ, Conley DS, Todd JB. Effect of static stretching of the biceps brachii on torque, electromyography, and mechanomyography during concentric isokinetic muscle actions. *J Strength Cond Res* 2003;17(3):484-488.
 32. Johansson PH, Lindstrom L, Sundelin G, Lindstrom B: The effects of pre-exercise stretching on muscular soreness, tenderness and force loss following heavy eccentric exercise. *Scand J Med Sci Sports* 1999;9(4):219-225.
 33. Rosenbaum D, Henning EM: Veränderungen der Reaktionszeit und Explosivkraftentfaltung nach einem passiven Stretchingprogramm und 10minütigen Aufwarmen. *Deutsche Zeitschrift für Sportmedizin* 1997;49(3):95-99.
 34. Israel S: Gelenkbeweglichkeit als Leistungsvoraussetzung bei Spitzensportlern. *Leistungssport* 1995;4:13-15.

35. Pope RP, Herbert R, Kirwan JD, Graham BJ: A randomized trial of pre-exercise stretching for prevention of lower limb injury. *Med Sci Sports Exerc* 2000;32(2):271-277.
36. Cerullo Corrado: 66 sedute elementari di stretching per il calcio. Calzetti Mariucci, Ponte San Giovanni, Perugia, 1997.
37. Solverborn SA: Questo è lo stretching. Ermes Editore, Roma, 1983.
38. Nelson AG, Kokkonen J: Acute ballistic muscle stretching inhibits maximal strength performance. *Res Q Exerc Sport* 2001;72(4):415-419.
39. Smith LL, Brunetz MH, Chenier TC, McCammon MR, Houmard JA, Franklin ME, Israel RG: The effects of static and ballistic stretching on delayed onset muscle soreness and creatine kinase. *Res Q Exerc Sport* 1993;64(1):103-107.
40. Rees SS, Murphy AJ, Watsford ML, McLachlan KA, Coutts AJ: Effects of proprioceptive neuromuscular facilitation stretching on stiffness and force-producing characteristics of the ankle in active women. *J Strength Cond Res* 2007;21(2):572-577.
41. Decicco PV, Fisher MM: The effects of proprioceptive neuromuscular facilitation stretching on shoulder range of motion in overhand athletes. *J Sports Med Phys Fitness*. 2005;45(2):183-218.
42. Berget B, Hillbrecht M: Einfluss unterschiedlicher Dehntechniken auf die reaktive Leistungsfähigkeit. *Spectrum der Sportwissenschaften* 2003;15: 6-25.

BRONCHIAL INFLAMMATION IN CHRONIC OBSTRUCTIVE PULMONARY DISEASE: RELATIONSHIP WITH EMPHYSEMA AND SMALL AIRWAYS DISEASE

INFIAMMAZIONE BRONCHIALE NELLA BRONCOPNEUMOPATIA CRONICO-OSTRUTTIVA: RELAZIONE CON ENFISEMA E MALATTIA DELLE PICCOLE VIE AEREE

Silvestro Ennio D'Anna¹, Giuseppe Galardi¹, Francesca Rubino¹ and Antonino di Stefano²

CAPSULA EBURNEA, 3(11):1-5, 2008.

¹ Unità Operativa di Riabilitazione, Fondazione San Raffaele Giglio di Cefalù, Cefalù (PA)

² Divisione di Malattie dell'Apparato Respiratorio, Fondazione "S. Maugeri", IRCCS, Veruno (NO)

Correspondence:

Dr. Silvestro Ennio D'Anna:
sdanna@hsrgiglio.it

Received: February 15th, 2008

Revised: April 12th, 2008

Accepted: May 26th, 2008.

No conflicts of interest were declared.

Category of paper:

REVIEW

Language of the Article: English.

Abstract.

Chronic obstructive pulmonary disease (COPD) is a chronic-progressive disease with high prevalence characterized by progressive chronic airflow limitation not fully reversible, its classification is based on spirometric values and symptoms. Cigarette smoking represents the most important risk factor for the development of COPD. Pathological studies show inflammation in lungs of patients with COPD. The inflammation in the lungs can lead to different pathological alterations and this to a different subtypes of disease: A) Chronic bronchitis, B) Emphysema, C) small airways disease. Current pathogenetic hypothesis for COPD explains chronic airflow limitation with an abnormal inflammatory response to particles and inhaled gases. Radiological tests like High resolution Computerized Tomography can give macroscopic information about lung parenchyma and airways morphology and moreover can estimate the subtype of COPD.

KEYWORDS: COPD, inflammation, lung.

Riassunto.

La broncopneumopatia cronica ostruttiva (BPCO) è una malattia cronica e progressiva con un'alta prevalenza e caratterizzata da una limitazione al flusso aereo cronica e progressiva non completamente reversibile. La sua classificazione è basata su indici spirometrici e sui sintomi. Il fumo di sigaretta rappresenta il fattore di rischio più importante per lo sviluppo della BPCO. Studi anatomopatologici hanno mostrato presenza di infiammazione nei polmoni di pazienti con BPCO. L'infiammazione nei polmoni può portare a differenti alterazioni patologiche e questo a differenti sottotipi della malattia: A) bronchite cronica, B) enfisema, C) malattia delle piccole vie aeree. Le attuali ipotesi patogenetiche sulla BPCO spiegano la cronica limitazione al flusso delle vie aeree come una anomala risposta dell'organismo a particelle e gas inalati. Test radiologici come la tomografia computerizzata ad alta risoluzione possono dare informazioni riguardo il parenchima polmonare e la morfologia delle vie aeree e quindi stimare il sotto tipo di BPCO.

PAROLE CHIAVE: BPCO, infiammazione, polmone

Introduction

Chronic obstructive pulmonary disease (COPD) is a illness characterized by progressive chronic airflow limitation, not fully reversible (1).

This airflow limitation is usually progressive and associated with an abnormal inflammatory response of the lung to noxious particles.

COPD classification is based on spirometric

values and presence of symptoms like cough, dyspnoea and sputum. COPD Stage I is characterized by Forced expiratory volume at 1 second (FEV1) > 80% predicted and Forced expiratory volume at 1 second (FEV1)/ Forced vital capacity (FCV) < 70% , COPD Stage II is characterized by FEV1 > 50% < 80% predicted and FEV1/FCV < 70%, COPD stage III is characterized by FEV1 > 30% < 50% predicted and FEV1/FCV < 70%, COPD stage IV is characterized by FEV1 < 30% predicted or FEV1 < 50% predicted with Chronic respiratory failure or signs of right heart failure

Epidemiology

COPD is a chronic-progressive disease with a high prevalence, in some prevalence surveys up to about one-quarter of adults aged 40 years and older may have airflow limitation classified as stage I COPD (2,3).

This is one of the most important causes of death in most countries.

The Global Burden of Disease Study (4) has projected that COPD, which was ranked sixth as the cause of death in 1990, will become the third leading cause of death worldwide by 2020. At the moment there aren't any drugs that can alter the natural history of the disease.

There are a lot of risk factors for COPD. Some scientists suppose genetic predisposition as an important risk factor for COPD. Different studies showed a higher risk to develop COPD in siblings with probands affected by COPD. This higher risk, in part, can be due to the sharing of the same environmental risk factors, however data obtained from different population suggest a participation of genetic risk on development of this disease (5-7).

Cigarette smoking represents the most important risk factor for the development of COPD and the most important way how tobacco contributes to determine the onset of the disease (8).

COPD is a functional diagnosis of a disease with different pathologic features in which the common element is the chronic airflow limitation. Pathological studies show inflammation in lungs of patients with COPD. The inflammation in the lungs can lead to different pathological alterations.

So far one can identify, on the basis of the inflammation, and of bronchial remodeling, different subtypes of COPD: A) Chronic bronchitis B) Emphysema C) small airways disease.

This different pathological alterations are characterized by a different kind of bronchial inflammation that plays a pathogenetic role on the development of the pathological alterations of the airways and on the progression of the disease.

A) Chronic bronchitis (CB) is defined on the basis of chronic cough and sputum following inflammation induced by inhalation of gas and particles contained in the cigarette smoke; it involves airways epithelium and mucus secreting sub mucosal glands with mucus hyper secretion, reduction in mucociliar clearance and increased permeability of the airspace epithelial barrier. Hyper secretion of mucus secreting glands can be caused by the release of some proinflammatory cytokines that include IL4 from cells presents on these patients' airways. Jeffery (9-11) showed on CB patients a statistically higher number of CD45 (+) cells in epithelium, subepithelium and glandular areas compared to healthy volunteers and COPD patients. Among these cells there are predominant plasma cells distributed mainly in subepithelium and glandular areas around and within small blood vessels and mast cells distributed mainly on subepithelial compartment. These data show that mucosal glands are highly infiltrated in these patients and that a contribution of a Th1/Th2 type of inflammation, together with increased immunoglobulin secretions are involved in the CB status and mild COPD.

B) Emphysema is defined as an enlargement of the distal airspaces, beyond the terminal bronchioles, caused by destruction of the airway walls (7). Lung destruction due to emphysema reduces the maximum expiratory flows by the reduction of elastic recoil force that allows expiration. The centroacinar emphysema is characterized by the destruction of respiratory bronchioles and is more tightly associated with tobacco smoke. Panacinar emphysema is commonly associated to A1 antitripsin deficit and is characterized by dilatation and destruction of the entire acinus. There is a weak association between severity of emphysema and number of pack years: moreover only 40% of strong smokers develop emphysema. Furthermore the presence of emphysema can be observed in some patients with normal or weakly impaired lung function (3).

In lung parenchyma of patients with mild emphysema there is an increased number of inflammatory cells, in those with mild/moderate emphysema there are prevalently T lymphocytes cells. Severe emphysema is accompanied by a general increase of alveolar inflammatory cells including neutrophils, macrophages and T-lymphocytes. In these patients alteration of proteoglycans has been observed subsequent to fibrillar collagen stabilization, decreased peribronchiolar decorin, increase of proteolytic enzymes as collagenase 1 and matrix metallo protease (MMP)-1 , increased indices of alveolar apoptosis as showed by reduction in alveolar expression of vascular endothe-

lium growth factor (VEGF-A) and VEGF receptor (VEGF-R)-2. (12). These data suggest that T-cells other than neutrophils can contribute in inducing alveolar septa alterations in mild stages of the disease, while a massive inflammatory cell infiltration and degrading collagen activity becomes prevalent in severe disease states.

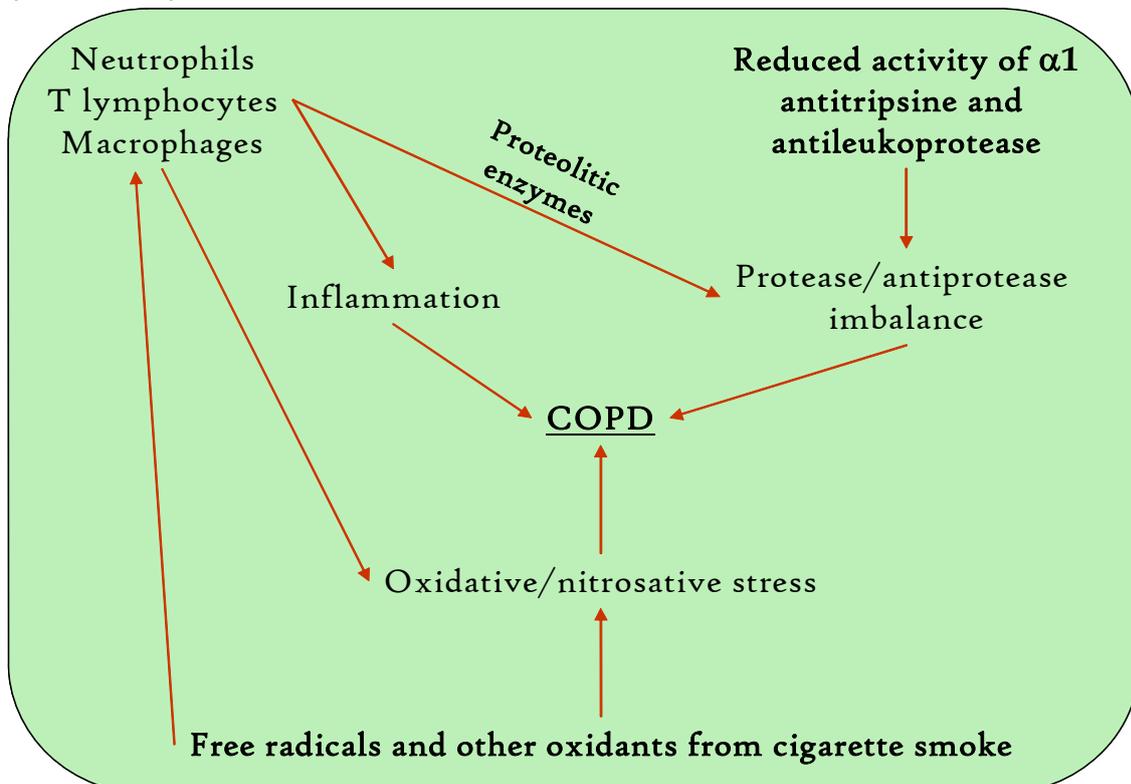
C) Small airways disease is caused by occlusion of inflammatory mucous exudates. Inflammation and peribronchial fibrosis contribute to the fixed airway obstruction in the small airways in COPD, and progression of the inflammation, resulting in destruction of the alveolar attachments on the outer walls of the small airways, may also contribute. Airways inflammation rather than increase mucus secretion how happens on central airways of COPD patients and in subjects with CB may favour the increased airway wall thickening, collagen deposition and smooth muscle hypertrophy that determine fixed obstruction of airways. Data regarding inflammation in peripheral airways are conflicting. Many authors (13,14) showed increased total inflammatory cells in the peripheral airways of patients with mild/moderate airflow limitation and near normal lung function. Saetta et al showed increased total inflammation and CD8+ cells and macrophages in the peripheral air-

ways of patients with mild/moderate airflow limitation, however these data are not confirmed by other investigators (15,16). CD4+ and neutrophils were reported as unchanged in mild/moderate COPD patients compared with control smokers. With progression of the disease the following consequences have been reported: decreased mononuclear cell infiltration of the small airways and increasing fibrosis indexes and smooth airways muscles thickening. Increased MCP-1, IL8 and macrophage infiltration has also been reported in bronchiolar epithelium of patients with mild/moderate obstruction in comparison with control smokers. Increased TGFbeta1, a profibrotic protein mainly secreted by epithelial cells, has been reported in moderate disease, suggesting a role for this cytokine in inducing remodelling of peripheral airways.

COPD and inflammation

Current pathogenetic hypothesis for COPD explains chronic airflow limitation with an abnormal inflammatory response to particles and inhaled gases. (Fig.1) Analysis of inflammatory cell infiltration in bronchial biopsies of patients with mild stages of COPD shows an increasing inflammatory cell infiltration in comparison with control non-smokers, among these cells CD8+

Fig. 1: Pathogenetic hypothesis for COPD development: free radicals and other oxidants from cigarette smoke contribute to develop oxidative stress and activate T lymphocytes and neutrophils that release cytokines and proteolytic enzymes that enhance the inflammation and contribute to protease/antiprotease imbalance.



T-lymphocytes, neutrophils and macrophages are prevalent. In patients with severe COPD total inflammatory cells are reduced, the data furthermore show a prevalence in the bronchial tissue of inflammatory cells possessing phagocytic and proteolytic activity like neutrophils and macrophages (12). Another factor involved in the development of COPD is the protease-antiprotease imbalance. Important component of extracellular matrix of the lungs are elastic fibres that contribute to maintain the elasticity and the correct functionality of the lungs. Elastin is the principal component of elastic fibres. In patients with COPD it has been observed an increased degradation of elastic fibres. In the severe stages of COPD there are increased inflammatory cells possessing proteolytic activity like neutrophils and macrophages capable to degrade elastine. On the other hand, it has been observed a reduction of antiproteases activity like Alpha 1 antitrypsin and antileukoprotease, that can contribute to elastin degradation (17). Another factor involved in the development of emphysema is the oxidative stress. Cigarette smoke is a mixture of more than 4700 chemical products including high concentration of free radicals and other oxidants. Other sources of reactive oxygen species are those derived by normal cellular respiration or by inhalation of air pollutants such as particulate pollution. In normal lungs there is a balance between toxicity of oxidant agents and protective effect of intra- and extracellular antioxidant defence systems. In COPD patients there is a high evidence of oxidative stress (18) due to a production of oxidants with cigarette smoke and due to increased number of neutrophils and macrophages in the alveolar space. In bronchial biopsies of severely diseased COPD patients an increased presence of MPO+ cells and nitrotyrosine has been reported (19) showing that oxidative and nitrosative stress, mediated by neutrophil activation and MPO production, develops in large airways of severe COPD patients. In vitro studies it has observed that alveolar inflammatory cells from cigarette smokers spontaneously release increased amounts of oxidants, such as O₂⁻ and H₂O₂. Free radicals are responsible for lung emphysema because they act directly on extracellular lung matrix (elastin and collagen) damaging it and moreover they peroxidate the airspace surface epithelium lipids leading to an increase in airspace epithelial permeability (20). Once inflammatory process has started it perpetuates itself even if the pathogenic noxa has been removed. This is possible because there are epigenetic modifications of DNA for reduction in activity of histone deacetylase that causes an enhanced transcription of genes involved to in-

flammation and the activation of proinflammatory transcription factors as STAT4 and NF-κB. Another mechanism involved in the loss of alveolar cells in emphysema is apoptosis. This has been observed in emphysematous lungs (20-23) and is supposed can be mediated by the blockade of VEGF receptor vascular endothelium growth factor.

Conclusion

COPD is a disease characterized by progressive chronic airflow limitation, the diagnosis is functional and is possible by lung function tests. Pathological studies can differentiate COPD on the basis of the inflammation in different subtypes: CB, Emphysema and Small airways disease. Radiological tests like High resolution Computerized Tomography can give macroscopic information about lung parenchyma and airways morphology and moreover can estimate the subtype of COPD prevalent in the damaged lung and the extension of the destruction of lung parenchyma (24). Up to now studies that correlate lung pathology with lung function tests and imaging techniques are needed. Such studies could lead to a better phenotypization of COPD and to a more appropriate use of non-invasive techniques to assess COPD patients and predict a better prognosis and a better therapeutic approach.

References

1. GOLD: Global initiative for Chronic Obstructive Lung Disease, National Institutes of health and National Heart, Lung and Blood institute, Aggiornamento 2007.
2. Menezes AM, Perez-Padilla R, Jardim JR, Muiño A, Lopez MV, Valdivia G, Montes de Oca M, Talamo C, Hallal PC, Victora CG: PLATINO Team. Chronic obstructive pulmonary disease in five Latin American cities (the PLATINO study): a prevalence study. *Lancet* 2005;366:1875-1881.
3. Buist AS, Vollmer WM, Sullivan SD, Weiss KB, Lee TA, Menezes AM, Crapo RO, Jensen RL, Burney PG: The burden of obstructive lung disease initiative (BOLD): Rationale and Design. *J COPD* 2005;2:277-283.
4. Murray CJ, Lopez AD: Alternative projections of mortality and disability by cause 1990-2020: Global Burden of Disease Study. *Lancet* 1997;349:1498-1504.
5. Wu L, Chau J, Young RP, Pokorny V, Mills GD, Hopkins R, McLean L, Black PN: Transforming growth factor-beta1 genotype and susceptibility to chronic obstructive pulmonary disease. *Thorax* 2004;59:126-129.
6. Smith CA, Harrison DJ: Association between polymorphism in gene for microsomal epoxide hydrolase and susceptibility to emphy-

sema. *Lancet* 1997;350:630-633.

7. Ashley-Koch A, Agusti A, Calverley P, Coxson H, Donner C, Levy R, Make B, Muller N, Pare P, Rennard S, Vestbo J, Wouters E, Alvarez-Sala JL, Audley L, Barr M, Cabriada V, Camp P, Carlson M, Christensen V, Church A, Dahlstedt K, Dalsgaard O, D'Anna S, Griffiths J, Groenen M, Jakubowski D, Jenkins J, Jensen D, Keary J, Knowles A, Miravittles M, Mostert R, Patel B, Petronacci G, Rousseau R, Ryan J, Sauleda J, Seredentsky T, Walker P, Franklin A, Hall M, Haynes C, Beresford K, Butrim J, Sharma S, Sundseth S, Thomas S, Pericak-Vance MA, Middleton LT, Silverman EK, Lomas DA: International Network to Investigate the Genetics of COPD. *Am J Hum Genet* 2001;69:307.

8. Burrows B, Knudson RJ, Cline MG, Lebowitz MD: Quantitative relationships between cigarette smoking and ventilatory function. *Am Rev Respir Dis* 1977;115:195-205.

9. Zhu J, Majmudar S, Qiu Y, Ansari T, Oliva A, Kips J, Pauwels R, De Rose V, Jeffery P: Interleukin-4 and Interleukin-5 Gene expression and inflammation in the mucus-secreting glands and subepithelial tissue of smokers with chronic bronchitis. *Am J Respir Crit Care Med* 2001;164:2220-2228.

10. Gamble E, Burns W, Zhu J, Ansari T, De Rose V, Kips J, Barnes N, Jeffery P: Variation of CD8+ T-Lymphocytes around the bronchial internal perimeter in chronic bronchitis. *Eur Respir J* 2003;22:992-995.

11. Zhu J, Qiu Y, Valobra M, Qiu S, Maimudar S, Matin D, De Rose V, Jeffery P: Plasma cells and IL4 in Chronic bronchitis and chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med* 2007;175:1125-1133.

12. Di Stefano A, Caramori G, Ricciardolo FLM, Capelli A, Adcock IM, Donner CF: Cellular and molecular mechanisms in chronic obstructive pulmonary disease: an overview. *Clin Exp Allergy* 2004;34:1156-1167.

13. Saetta M, Di Stefano A, Turato G, Facchini FM, Corbino L, Mapp CE, Maestrelli P, Ciaccia A, Fabbri LM: CD8+ lymphocytes in peripheral airways of smokers with chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med* 1998;157:822-826.

14. Mullen JBM, Wright JL, Wiggs Br, Pare PD, Hogg JC: Structure of central airways in current smokers and ex smokers with and without mucus hypersecretion: relationship to lung function. *Thorax* 1987;42:843-848.

15. Bosken CH, Hards J, Gatter K, Hogg J: Characterization of the inflammatory reaction in the peripheral airways of cigarette smokers using immunoistochemistry. *Am Rev Respir Dis* 1992;145:911-917.

16. De Boer WI, van Schadewijk A, Sont JK,

Sharma HS, Stolk J, Hiemstra PS, van Krieken JH: Transforming growth factor B1 and recruitment of macrophages and mast cells in airways in chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med* 1998; 158:1951-1957.

17. MacNee W: Pathogenesis of chronic obstructive pulmonary disease. *Proc Am Thorac Soc* 2005;2:258-266.

18. MacNee W: Oxidative stress and lung inflammation in airways disease. *Eur J Pharmacol* 2001;429:195-207.

19. Ricciardolo FL, Caramori G, Ito K, Capelli A, Brun P, Abatangelo G, Papi A, Chung KF, Adcock I, Barnes PJ, Donner CF, Rossi A, Di Stefano A: Nitrosative stress in the bronchial mucosa of severe chronic obstructive pulmonary disease. *J Allergy Clin Immunol* 2005;116:1028-1035.

20. Gadek J, Fells GA, Crystal RG: Cigarette smoking induces functional antiprotease deficiency in the lower respiratory tract of humans. *Science* 1979;206:1315-1316.

21. Tuder RM, Petrache I, Elias JA, Voelkel NF, Henson PM: Apoptosis and emphysema: the missing link. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2003;28:551-554.

22. Tuder RM, Zhen L, Cho CY, Taraseviciene-Stewart L, Kasahara Y, Salvemini D, Voelkel NF, Flores SC: Oxidative stress and apoptosis interact and cause emphysema due to vascular endothelial growth factor receptor blockade. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2003;29:88-97.

23. Kasahara Y, Tuder RM, Cool CD, Lynch DA, Flores SC, Voelkel NF: Endothelial cell death and decreased expression of vascular endothelial growth factor and vascular endothelial growth factor receptor 2 in emphysema. *Am J Respir Crit Care Med* 2001;163:737-744.

24. Gurney JW, Jones KK, Robbins RA, Gossman GL, Nelson KJ, Daughton D, Spurzem JR, Rennard SI: Regional distribution of emphysema: correlation of high-resolution CT with pulmonary function tests in unselected smokers. *Radiology*. 1992;183:457-463.

ADULT ORBITAL TUMORS: A RETROSPECTIVE PILOT STUDY OF OUR EXPERIENCE

I TUMORI DELL'ORBITA NELL'ADULTO: UNO STUDIO PILOTA RETROSPETTIVO SULLA NOSTRA ESPERIENZA

Alessandro De Stefano¹ and Daniela Lattanzi²

CAPSULA EBURNEA, 3(12):1-4, 2008.

¹ Dipartimento di Scienze Chirurgiche, Sperimentali e Cliniche: sezione di Otorinolaringoiatria; Università degli Studi "G. d'Annunzio" Chieti - Pescara, Italy.

² Dipartimento di Scienze Sperimentali: sezione di Oftalmologia; Università degli Studi "G. d'Annunzio" Chieti - Pescara, Italy.

Correspondence:

Dr. Alessandro De Stefano:
a.destefano@unich.it

Received: April 19th, 2008

Revised: May 5th, 2008

Accepted: May 15th, 2008.

No conflicts of interest were declared.

Category of paper:
ORIGINAL REPORT

Language of the Article: Italian.

Introduzione

Il complesso orbitario ed il suo contenuto sono costituiti da strutture ed organi che contraggono intimi rapporti con il basicranio, il sistema nasoparanasale, il rinofaringe ed i tegumenti esterni (1). Per questo motivo la patologia neoplastica orbitaria appare complessa, inoltre essa può prendere origine sia all'interno della cavità stessa, sia all'esterno, a partenza da organi ed apparati contigui (1-3).

I tumori dell'orbita rappresentano un vario gruppo di lesioni includente tumori primitivi, secondari e metastatici (4,5). Dall'analisi della letteratura appare importante distinguere la patologia tumorale orbitaria pediatrica da quella dell'adulto (5). Nel bambino infatti la tipologia e

Abstract.

The orbit is connected with numerous structures such as the skullbase, the sinus system, the nose, the rhinopharynx and the skin. The improvement of imaging techniques has produced an increase in diagnosis of tumors involving the orbit and the otolaryngologists, together with other colleagues, may be involved in the management of these tumors. The purpose of this study was to describe the cases of tumors involving the orbit in the adult population treated in our Institute in the past three years.

KEYWORDS: Orbit tumors, otolaryngologists, ophthalmologists, *Exenteratio Orbitae*.

Riassunto.

Il complesso orbitario ed il suo contenuto sono costituiti da strutture ed organi che contraggono intimi rapporti con il basicranio, il sistema naso-paranasale, il rinofaringe ed i tegumenti esterni. Essendo migliorate le metodiche di Imaging, sempre più pazienti possono presentarsi con neoplasie originanti direttamente dall'orbita oppure coinvolgenti la stessa dalle strutture circostanti. Lo specialista Otorinolaringoiatra può essere coinvolto, quindi, nel management di questo tipo di tumori insieme ai colleghi di altre branche specialistiche. Questo studio analizza in maniera retrospettiva i casi di tumori coinvolgenti l'orbita a partenza dai distretti ORL nella popolazione adulta trattati presso il nostro Istituto nell'ultimo triennio.

PAROLE CHIAVE: Tumori dell'orbita, otorinolaringoiatria, oftalmologia, *Exenteratio Orbitae*.

la frequenza delle lesioni tumorali (più spesso di natura congenita e benigna) è completamente differente da quella dell'adulto (5).

Nella popolazione adulta i tumori dell'orbita sono frequentemente carcinomi dell'apparato lacrimale, linfomi, tumori vascolari e metastasi (5,6); inoltre appare da subito importante rilevare che tendono ad essere più frequenti con il progredire dell'età e mostrano una spiccata malignità oltre i 60 anni (7-9). Tuttavia con l'utilizzo sempre maggiore delle tecniche di imaging quali l'ecografia, la RM e la TC l'incidenza di tumori dell'orbita (anche intraorbitali) in soggetti di classi d'età inferiore è notevolmente aumentato (7).

L'ecografia oltre ad essere una metodica poco

costosa consente di differenziare le lesioni cistiche da quelle solide, la TC invece appare fondamentale nell'evidenziare i limiti ossei della lesione, mentre la RM è utilissima nello studiare le neoplasie intracraniche come i meningiomi e le masse vascolari (7).

Nel presente lavoro abbiamo effettuato uno studio retrospettivo dei casi di tumori coinvolgenti l'orbita a partenza dai distretti ORL nella popolazione adulta, trattati presso il nostro Istituto nell'ultimo triennio, mettendo in rilievo il possibile trattamento chirurgico ed i relativi problemi ricostruttivi orbitari di queste neoplasie di confine.

Pazienti e metodi

Nel triennio compreso tra gennaio 2003 e dicembre 2006 abbiamo visitato presso il nostro Istituto Universitario di Otorinolaringoiatria 7 pazienti (3 maschi e 4 femmine) di età compresa tra 35 anni e 76 anni (età media: 63,7). Tutti i pazienti sono stati sottoposti, a visita otorinolaringoiatrica comprensiva di rinoscopia a fibre ottiche, visita oculistica con schermo di Hess e/ o ecografia orbitaria, TC del massiccio facciale o RM, FNAB o prelievo biptico. Tutti i pazienti sono stati sottoposti ad intervento chirurgico di exeresi delle neoplasie ed hanno avuto almeno 2 anni di Follow-up. I dati clinici relativi ad i nostri pazienti sono riassunti nella tabella 1.

Risultati

I tumori orbitari benigni sono stati 2, mentre i maligni sono stati 5, nessun tumore si è rivelato come metastasi orbitaria a distanza. Inoltre dall'analisi della nostra casistica abbiamo potuto rilevare che solo 2 tumori sono stati primitivamente intraorbitari: rispettivamente una cisti epidermoide a partenza dal tetto orbitario (pz N° 6, Tab 1) ed un cilindroma della ghiandola lacrimale sinistra (pz N° 2). I restanti 5 tumori sono stati a partenza extraorbitaria ed hanno coinvolto l'orbita in un secondo tempo. Rispettivamente l'origine di queste neoplasie extraorbitarie è stata dal setto nasale, dalla cute del dorso del naso, dal seno mascellare (pz N°1, 3, 5) o dagli annessi oculari (cute palpebrale e ghiandole tarsali) (pz N°4 e 7).

Tutti i tumori sono stati rimossi chirurgicamente. L'exeresi della cisti epidermoide è avvenuta attraverso una orbitotomia mediana, ed il paziente (N°6) a distanza di 3 anni non ha mostrato presenza di recidiva.

Il cilindroma della ghiandola lacrimale è stato rimosso, previa incisione sopraciliare prolungata fino all'arco zigomatico omolaterale ed orbitotomia esterna, con rimozione di un ampio frammento osseo circostante sostituito da materiale protesico (osso eterologo) solidarizzato "ad incastro" sull'osso frontale. Il paziente è attualmente vivente, emmetrope ed il follow-up

PAZIENTE	ETA'	SESSO	ISTOLOGIA	INTERVENTO	FOLLOW-UP
1 C. M.A.	74aa	F	Carcinoma setto	Maxillectomia parziale anteriore	DoD./ 2 anni
2 M. G.	50aa	F	Cilindroma ghiandola lacrimale	Orbitotomia esterna + innesto di osso eterologo	NED / 3anni
3 L. T.	76aa	M	Carcinoma cutaneo del naso + vie lacrimali	Maxillectomia totale + R.P.O. con cartilagine setto	NED / 3 anni
4 P.G.	76aa	M	Basalioma palpebrale sup.+ inf. plurirecidivato	Exenteratio Orbitae all. Palp. + innesto cute addominale	NED / 2 anni
5 A. E.	72aa	M	Adamantinoma seno mascellare	Maxillectomia totale + R.P.O. con cartilagine setto	DwD./ 2 anni
6 P. R.	35aa	F	Cisti epidermoide	Rimozione cisti	NED / 3anni
7 P. E.	63aa	F	Carcinoma ghiandola tarsale di Meibomio	Orbitotomia mediana + catetere vie lacrimali + mucosa geniena	NED /2anni

Tab. 1: Dati clinici dei pazienti oggetto dello studio. RPO: Riparazione Perdita Ossea; NED: No Evidence Disease; DOD: Death of Disease; DWD: Death with Disease.



Fig. 1: Innesto di cute addominale dopo exenteratio orbitae.

a 3 anni non ha mostrato recidiva della malattia.

I tumori secondari, tutti coinvolgenti l'orbita in una seconda fase, hanno richiesto 2 maxillectomie totali (Pz N° 3 con carcinoma cutaneo del dorso nasale, pluritrattato in altra sede, esteso al canto interno ed alle vie lacrimali, vivente e privo di malattia a 3 anni; Pz N° 5 con recidiva di adamantinoma già trattato 34 anni prima, deceduto non per malattia dopo 2 anni), una maxillectomia parziale anteriore (Pz N° 1 con recidiva di carcinoma del setto, diffuso all'orbita dopo 2 anni e deceduto dopo 2 anni per malattia), una exenteratio orbitae allargata alle palpebre (Pz N° 4 con basalioma palpebrale superiore ed inferiore plurirecidivato, vivente e senza evidenza di malattia a 2 anno, protesizzato dopo alcuni mesi dall'intervento), un' orbitotomia mediana per un carcinoma a partenza delle ghiandole tarsali di Meibomio, estesosi all'angolo interno dell'orbita (Pz N° 7), con visus e motilità perfettamente conservate e senza segni di ripresa locale di malattia a 2 anni. I dati relativi a questi risultati sono stati riassunti nella tab. 1.

Discussione

Nella popolazione adulta la tipologia dei tumori orbitari varia notevolmente da quella della popolazione pediatrica. Il gruppo più frequente di tumori benigni include: le masse infiammatorie (pseudotumor), le cisti, i meningiomi e i tumori vascolari. Tra i maligni, invece si riscontrano: i carcinomi (prevalentemente di origine nasosinusale), ed i linfomi (4%-13%). Frequenti so-

no anche le metastasi (da cancro polmonare nella donna, e prostatico nell'uomo) essendo l'8% di tutti i tumori orbitari (10,11).

In accordo con la letteratura abbiamo potuto rilevare che i tumori della cavità orbitaria colpiscono ambedue i sessi e possono insorgere in qualunque età, mostrando uno shift verso la malignità mano a mano che l'età del paziente aumenta (12-15).

Tra i tumori ORL con tendenza all'invasione dell'orbita, quelli originanti dal compartimento naso-sinusale sono i più frequenti, infatti il tasso di coinvolgimento orbitario avviene nei 2/3 dei casi (15).

La filosofia che ci ha guidato nel trattamento dei tumori primitivi e secondari dell'orbita è stata quella di dover, a tutti i costi, salvare l'occhio oltre che di impedire alle neoplasie di entrare nell'orbita con il rischio di propagarsi nell'endocranio. Pertanto solo in un caso, peraltro di visus ormai quasi inesistente, abbiamo dovuto effettuare un'exenteratio orbitae.

Nell'ambito dei tumori diffusi all'orbita da strutture distanti, è stato interessante segnalare la particolare evoluzione di una recidiva locale di carcinoma del setto che si era diffusa al bordo orbitario anteriore attraverso le vie lacrimali (pz N°3).

Il principale problema che abbiamo incontrato nella rimozione di questi tumori è stata la successiva ricostruzione della cavità orbitaria e la conservazione (quando possibile) delle vie lacrimali.

Nei 3 casi in cui abbiamo effettuato la maxillectomia totale e parziale la ricostruzione del pavimento orbitario è stata eseguita con riposizionamento di cartilagine settale secondo Krause (16). Nel paziente affetto dal cilindroma dopo l'orbitotomia esterna con asportazione di osso intimamente aderente al tumore abbiamo dovuto ricostruire la parete con osso eterologo. La cavità orbitaria del paziente sottoposto ad exenteratio orbitae allargata alle palpebre è stata foderata con un innesto di cute addominale al fine di poter dopo alcuni mesi riposizionare una protesi (Fig. 1). Mentre nel paziente affetto da carcinoma della ghiandola di Meibonio dopo l'orbitotomia mediana abbiamo provveduto alla conservazione delle vie lacrimali che sono state cateterizzate ed il catetere lasciato in situ per 3 mesi e successivamente rimosso, inoltre la breccia congiuntivale è stata riparata con un innesto di mucosa geniena (Fig. 2).

Conclusioni

L'orbita appare complessa nella sua costituzione anatomica ed è intimamente connessa con strutture anatomiche di pertinenza ORL. Grazie alle avanzate tecniche radiologiche la diagnosi dei tumori orbitari è notevolmente aumentata

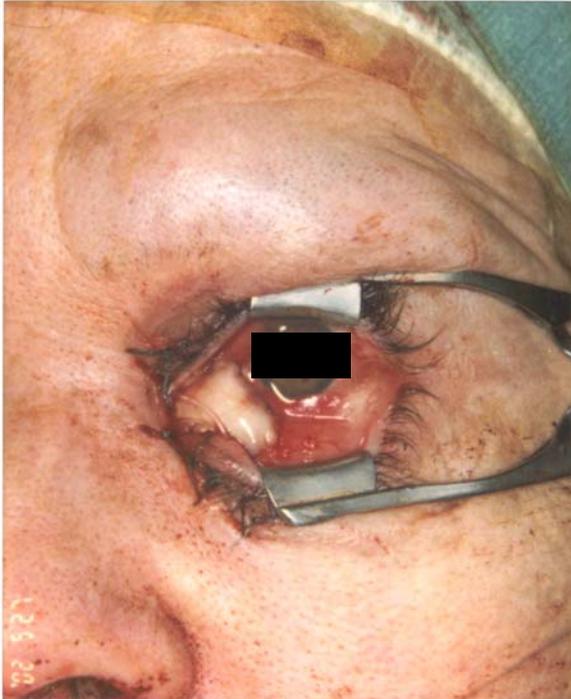


Fig. 2: Visione post-operatoria, riparazione della breccia congiuntivale con mucosa geniena e cateterizzazione delle vie lacrimali.

rispetto al passato. Per tal motivo lo specialista otorinolaringoiatra può essere coinvolto direttamente nella diagnosi e nel management di questo tipo di malattie. Un approccio combinato con l'aiuto dei colleghi oftalmologi, dei chirurghi maxillo-facciali e dei neurochirurghi andrebbe sempre eseguito, avendo come obiettivo principale il risparmio dell'occhio (purtroppo non sempre realizzabile) e la ricostruzione della cavità orbitaria stessa, per una eventuale protezione.

Bibliografia

1. Lukasik S, Betkowski A, Cyran-Rymarz A, Szuber D: Diseases of the orbit. Eur J. Radiol 1997; 24:222-226
2. Ducrey N, Bernasconi O: Non-traumatic orbital disease in Lousanne: 1965-1996. J Fr Ophthalmol 1999; 22:337-382
3. Koop G, Folz B, Schulze S: A rare orbital tumor. Ophthalmologie 2008; 17:30-35
4. Shields JA, Shields CL: Atlas of Orbital Tumors. Philadelphia, Lippincott Williams & Wilkins, 1999; pp. 187-224.
5. Shields JA: Diagnosis and management of orbital tumors. Philadelphia, WB Saunders, 1989; pp. 20-27.
6. Kojima M: Incidence of an intraorbital tumor, ophthalmological [Jpn]. Mook; 1980;13:141-148.
7. Lee AG, Brazis PW, Garrity JA, White M: Imaging for neuro-ophthalmic and orbital disease.

Am J Ophthalmol 2004; 138:852-862

8. Seregard S, Sahlin S: Panorama of orbital space-occupying lesions. The 24-year experience of a referral centre. Acta Ophthalmol Scand 1999; 77:91-98.

9. Henderson JW, Campbell RJ, Farrow GM, Garrity JA: Orbital Tumors. 3rd ed. New York: Raven Press, 1994; pp. 43-52.

10. Khalil M, Arthurs B: Basal cell adenocarcinoma of the lacrimal gland. Ophthalmology; 2000; 107:164-168,

11. Karcioğlu ZA, al-Hussain H, Svedberg AH: Cystic basal cell carcinoma of the orbit and eyelids. Ophthal Plast Reconstr Surg 1998; 14:134-140

12. Margo CE, Mulla ZD. Malignant tumors of the orbit. Analysis of the Florida Cancer Registry. Ophthalmology 1998; 105:185-190.

13. Ingalls RG. Tumors of the orbit and allied pseudo tumors. Springfield, IL: Charles C Thomas, 1953; pp. 3-23.

14. Gunalp I, Gunduz K. Biopsy-proven orbital lesions in Turkey. A survey of 1092 cases over 30 years. Orbit 1994; 13:67-79

15. Maroon JC, Abala AA. Tumor of the orbit. In: Youmans JR, ed. Neurological Surgery. Vol. 4. Philadelphia, PA:WB Saunders; 1982, pp. 2882-2892

16. Krause M, Gatot A, Fliss DM: Repair of traumatic inferior orbital wall defects with nasoseptal cartilage. J Oral Maxillofac Surg 2001; 59:1397-1400.

DELAYED FACIAL NERVE PALSY FOLLOWING OTOLOGIC SURGERY: WHEN TO SUSPECT A HERPES VIRUS INFECTION?

LA PARALISI DEL NERVO FACCIALE TARDIVA DOPO CHIRURGIA OTOLOGICA: QUANDO SOSPETTARE UNA INFEZIONE DA HERPES VIRUS?

Alessandro De Stefano¹, Giampiero Neri², Francesco Dispenza³, Daniela Lattanzi⁴

¹Dipartimento di Scienze Chirurgiche, Sperimentali e Cliniche: Istituto di Otorinolaringoiatria, Università degli Studi "G. d'Annunzio" Chieti-Pescara, Italia.

²Dipartimento di Scienze Mediche di Base e Applicate, Università degli Studi "G. d'Annunzio" Chieti-Pescara, Italia.

³Dipartimento di Scienze Otorinolaringoiatriche, Università degli studi di Palermo, Italia

⁴Dipartimento di Scienze Chirurgiche: Istituto di Oftalmologia, Università degli Studi "G. d'Annunzio" Chieti-Pescara, Italia

Correspondence:

Dr. Alessandro De Stefano:
a.destefano@unich.it

Received: July 15th, 2008
Revised: August 7th, 2008
Accepted: August 8th, 2008.

No conflicts of interest were declared.

Category of paper: CASE REPORT

Language of the Article: Italian.

Introduzione

La Paralisi del Nervo Facciale è la più temuta, ma per fortuna rara, complicanza della chirurgia otologica (1, 2). Generalmente essa può essere riconducibile agli effetti dell'anestesia locale oppure più spesso ad eventi traumatici a carico del nervo verificatisi durante la chirurgia. In entrambi questi casi la paralisi del nervo è sempre riscontrabile al termine dell'intervento chirurgico. Tuttavia una Paralisi del Nervo Facciale Tardiva (PNFT) ipsilaterale all'orecchio operato è stata descritta in letteratura (1-7).

Abstract.

Facial nerve palsy following middle ear surgery is a terrible complication for every otology surgeon. Generally this happens due to identifiable causes like surgical trauma or local anaesthetic use. It is uncommon to see facial nerve palsy more than 72 hours following the surgery. In this study we report two cases of facial nerve paralysis appearing 11 and 5 days following a successful tympano-mastoid surgery and we performed a Viral screening for Herpes Virus type 1 for to confirm the viral aetiology of the Delayed Facial Paralysis. When an ipsilateral facial nerve palsy appears more than 72 hours after an uneventful middle ear procedure, without symptoms of any infection, a viral reactivation must be suspected.

KEYWORDS: Facial Nerve Paralysis, Herpes Virus, Tympanoplasty

Riassunto.

La paralisi del nervo facciale conseguente a chirurgia otologica è una complicanza terribile per ogni chirurgo. Generalmente essa appare ascrivibile a traumi chirurgici o All'uso di d anestetici tuttavia raramente compare dopo 72 ore dall'atto chirurgico. In questo studio riportiamo 2 casi di paralisi del nervo facciale ritardata comparsi 11 e 5 giorni dopo la chirurgia; essi furono indagate con uno screening virale che confermò l'eziologia della paralisi. Quando una paralisi ipsilaterale appare dopo 72 h dall'intervento, senza segni di infezione, e in assenza di trauma diretto sul nervo facciale, una causa virale dovrebbe essere sempre sospettata.

PAROLE CHIAVE: Paralisi del nervo facciale, herpes virus, timpanoplastica

Questo tipo di paralisi presente anche dopo procedure chirurgiche Neuro-Otologiche (4) è molto rara nella chirurgia dell'orecchio medio. Gli autori sembrano concordare che il rischio di PNFT nella chirurgia dell'Otosclerosi è compreso tra lo 0,2 e lo 0,9% mentre dopo chirurgia timpano-mastoidea il rischio sembra essere di poco più alto, essendo compreso tra lo 0,8% e l' 1,4% di tutti i casi (1-3, 5) (tab. 1).

Vari meccanismi patofisiologici sono stati suggeriti per spiegare la PNFT dopo chirurgia otologica e neuro-otologica, tra i più importanti va

ricordato l'edema neurale, che comunque può essere il comune denominatore anche di altri meccanismi quali: l'ischemia, il vasospasmo, la devascularizzazione neurale, la reazione immunitaria ed in ultimo la riattivazione virale (6).

Più recentemente quest'ultima ipotesi è stata candidata da numerosi autori come la reale causa della PNFT dopo chirurgia otologica e neuro-otologica (4-6). Infatti è ben evidente come nel corso di PNFT i titoli anticorpali diretti verso il Virus Varicella-Zoster ed Herpes Virus di tipo 1 e 2 siano sempre aumentati (2, 7) ed inoltre gli studi istologici effettuati sull'osso temporale hanno posto in risalto come il ganglio genicolato sia un sito di latenza dei virus erpetici (8). La riattivazione del virus (e quindi la conseguente paralisi) verrebbe scatenata dallo stress chirurgico conseguente all'intervento anche in assenza di trauma diretto sul nervo facciale.

In questo studio riportiamo due casi di PNFT insorti dopo interventi di chirurgia otologica ed analizziamo i fattori che ci hanno portato ad ipotizzare e confermare la causa virale delle paralisi.

Casi Riportati

Paziente N°1: Un paziente di sesso maschile e con 56 anni di età giunse alla nostra osservazione per la persistenza di ipoacusia destra con occasionale otorrea. La sua anamnesi era assolutamente normale in rapporto all'età, come anche lo erano i suoi esami emato-clinici di routine. Sempre anamnesticamente non vi era storia di precedenti paralisi di Bell. All'esame otoscopico dell'orecchio destro era visibile una perforazione della membrana timpanica subtotale e un'importante erosione della regione epitimpanica con associata neoformazione di tipo colesteatomatoso. La funzione del nervo facciale destro era assolutamente normale.

L'esame audiometrico mostrava una ipoacusia mista con via ossea a 60 dB e via aerea a 90 dB. La funzione uditiva dell'orecchio controlaterale era normale. La TC della rocca petrosa destra confermò la diagnosi di otite media cronica colesteatomatosa. Sottoponemmo il paziente ad una timpanoplastica aperta destra. Durante l'intervento il canale del facciale fu trovato integro, il colesteatoma e la mucosa ipertrofica furono totalmente asportati assieme al martello e all'incudine, erosi dalla malattia. La membrana timpanica fu ricostruita con fascia del muscolo temporale direttamente stabilizzata sulla staffa. Il canale del nervo facciale non fu interessato da traumatismi e la funzione del nervo fu documentata essere normale al termine dell'intervento e al momento della dimissione ospedaliera. Undici giorni dopo la timpanoplastica il paziente ritornò alla nostra osservazione per la presenza di una paralisi del nervo facciale destro di IV grado secondo la classificazione di House-Brackmann (HB). Clinicamente non erano presenti segni o sintomi ascrivibili a patologia erpetica. Il paziente fu ospedalizzato e trattato con terapia steroidea orale ad alto dosaggio (1 mg/kg di prednisolone). Tuttavia nelle 48 ore successive al trattamento la paralisi peggiorò divenendo completa (VI HB). Uno screening virale per gli anticorpi da VZV usando l' Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay (ELISA) fu attuato, mentre l'immunofluorescenza fu usata per determinare gli anticorpi contro HSV-1 e HSV-2. L'ELISA fu negativa per l'infezione da VZV, mentre l'immunofluorescenza mostrò livelli superiori ai valori normali per le IgG e le IgM prodotte contro l'HSV-1 (IgM erano 3,2 e le IgG erano 1,9). Questo dato confermò l'ipotesi virale della PNFT. Sulla base di queste caratteristiche fu aggiunto alla terapia steroidea anche un trattamento antivirale con acyclovir orale. Il dosaggio

AUTORE / ANNO / PAZIENTE CON PNFT	CHIRURGIA	% INCIDENZA DELLA PNFT
Gianoli/ 1996 / 1 Gianoli/2002/ 7 Magliulo/2003/ 25 Franco-Vidal/2004/ 8	Neurinoma dell' VIII	2,2% - 30%
Fayad/2003/ 5 Khitara/2006/ 1	Impianto Cocleare	0,7%
Vrabec/1999/ 7 Gyo/ 1999/ 1 Safdar/2006 /2 Khitara/2006/3	Chirurgia Timpano-mastoidea	0,8% -1,4%
Althaus/1973 /5 Shea/2001/ 11 Salvinelli/2004 /7 Khitara/2006/1	Otosclerosi	0,2% - 0,9%

Tabella 1: Incidenza della Paralisi del Nervo Facciale Tardiva (PFNT) dopo chirurgia Otologica e Neuro-Otologica: dati di letteratura.

fu 2400 mg (800mg per 3/die) per 10 giorni. Una protezione oculare, lacrime artificiali e gel umettanti oftalmici vennero utilizzati per evitare complicanze all'occhio destro. Alla fine del trattamento la paralisi passò ad un grado II-III HB, per recuperare del tutto dopo tre mesi (I HB).

Paziente N° 2: Una giovane donna di 25 anni giunse al nostro cospetto per la presenza di ipoacusia sinistra presente da lunga data, senza storia di otorrea pregressa. La storia anamnestica era negativa per precedenti paralisi di Bell e gli esami di laboratorio erano assolutamente nella norma. L'esame otoscopico mostrava la presenza di una perforazione timpanica sinistra estesa ai quadranti posteriori superiore ed inferiore. Non erano presenti aree di erosione ed otorrea. L'esame audiometrico evidenziava una perdita trasmissiva sinistra con via ossea a 20 dB e via aerea a 40 dB, mentre la funzionalità del nervo facciale era normale bilateralmente. L'esame TC delle rocche petrose non documentava ipertrofia della mucosa della cassa timpanica bilateralmente. Decidemmo di sottoporre la paziente ad intervento di miringoplastica per via retroauricolare e la perforazione timpanica fu chiusa con fascia del muscolo temporale. Nessun traumatismo coinvolse il canale del nervo facciale e la funzione dello stesso fu documentata essere normale al termine dell'intervento ed alla dimissione ospedaliera. Cinque giorni dopo la procedura chirurgica la paziente ritornò presso il nostro Istituto per l'insorgere di una PNFT omolaterale al lato operato di grado VI HB. Fu subito attuata una terapia steroidea orale secondo lo schema posologico del caso N°1 e fu avviata una procedura di screening virale con ELISA ed immunofluorescenza. L'immunofluorescenza confermò la natura virale (da HSV-1) della PNFT (le IgM erano 3,5 e le IgG 2,1). Fu aggiunta alla terapia in atto anche un trattamento antivirale con acyclovir, secondo lo schema del caso N°1. L'occhio fu protetto con una protezione oftalmica e fu idratato costantemente con lacrime artificiali e gel oftalmici umettanti. Al termine del trattamento la PNFT era regredita ad uno stadio III secondo HB. Attualmente dopo appena 30gg di follow-up si mantiene ad uno stadio II-III secondo HB.

Discussione

La PNFT dopo chirurgia dell'orecchio medio è un evento abbastanza raro. Generalmente essa si sviluppa 72h dopo l'intervento chirurgico (5). Il nervo facciale tende a recuperare la sua funzionalità in breve tempo ritornando alla normalità in pochi mesi. Tuttavia in rari casi il recupero può essere incompleto oppure possono residuare spasmi e sincinesie (9, 10).

Numerosi meccanismi sono stati chiamati in

causa per spiegare la genesi della PNFT dopo chirurgia otologica, sono stati presi in considerazione l'insorgenza di edema, di infezione batterica o virale (11). Sicuramente l'insorgenza di un edema a carico delle strutture nervose del nervo facciale è alla base di alcune paralisi del nervo facciale tardive ed inoltre da una revisione di alcuni studi presenti in letteratura si intuisce che esso sia accettato come meccanismo fisiopatologico delle PNFT (6, 7, 12). Tuttavia rimane oscuro, il perché dello sviluppo di un edema del nervo facciale, dopo trattamento chirurgico a-traumatico e a distanza di 72h dall'intervento chirurgico. Inoltre non ha risposta un'altra domanda: perché solo in pochissimi pazienti si verifica questo tipo di paralisi? E' logico supporre altri meccanismi.

Le infezioni batteriche, anche se non comunemente, possono scatenare una paralisi del nervo facciale ritardata inducendo trombosi vascolare ed edema del nervo (5), tuttavia in questi casi è sempre associata l'otorrea (13). Nei nostri pazienti la PNFT insorse rispettivamente dopo 11 e 5 gg ma non fu in nessun caso associata ad otorrea e ciò ci indusse ad ipotizzare un'altra causa.

Le riattivazioni virali, in special modo quelle da VZV, HSV-1 e HSV-2, sono una possibile causa di patologia dopo procedure chirurgiche, e sono state descritte nella letteratura internazionale (1-10, 12, 14). Cheratiti erpetiche, dopo trapianti corneali, pneumoniti erpetiche dopo interventi di cardiocirurgia, ed Herpes Zoster dopo neurochirurgia spinale sono solo alcune delle manifestazioni possibili descritte. Inoltre a livello otologico è stato dimostrato che l'HSV-1 e 2 oltre che il VZV possono vivere in forma latente nel ganglio genicolato e possono indurre una paralisi del nervo facciale ritardata (15-17). La patofisiologia di queste riattivazioni è comunque ancora oggetto di studio, tuttavia McCormick ha ipotizzato che la PNFT avverrebbe quando il virus (presente in forma latente nel nervo) rompe le fibre assonali, infetta le guaine di Schwann e prosegue centripetamente (18). Per scatenare la riattivazione virale non è necessaria la rottura diretta del nervo ma basta il semplice stress chirurgico da manipolazione della *chorda tympani* o basta operare in vicinanza del nervo stesso. Anche la compressione microchirurgica dei vasi sanguigni attorno al nervo facciale può generare una riattivazione virale nel ganglio genicolato. Quest'ultimo meccanismo sembra essere molto probabilmente la vera causa della riattivazione virale con conseguente PNFT.

La causa virale della PNFT viene poi confermata (come nei nostri casi) dai test di screening virale (ELISA) e di immunofluorescenza, e conducono il paziente al corretto management con

terapia steroidea e antivirale. Il tempestivo uso della terapia antivirale consente una rapida regressione della PNFT e ne riduce la durata. Essa inoltre andrebbe sempre consigliata come profilassi nei pazienti anamnesticamente a rischio prima di ogni procedura chirurgica otologica. Altresì appare fondamentale l'idratazione dell'occhio con lacrime artificiali e/o gel umettanti oftalmologici, oltre che la sua protezione soprattutto per evitare complicanze, anche gravi, quali le cherato-congiuntiviti o le ulcere corneali. Sconsigliato è invece ogni trattamento chirurgico aggressivo quale la decompressione del nervo o la sua esplorazione (5, 19).

In conclusione, il rischio della PNFT dopo chirurgia otologica è variabile, ma comunque stimabile in pochi rari casi. Tuttavia quando una paralisi del nervo facciale si manifesta 72h dopo un intervento di oto-chirurgia, in assenza di segni di infezione o di danno diretto del nervo, una riattivazione virale andrebbe sempre sospettata.

Bibliografia

1. Shea JJ Jr, Ge X: Delayed facial palsy after stapedectomy. *Otol Neurotol* 2001; 22:465-470.
2. Althaus SR, House HP: Delayed post-stapedectomy facial paralysis: a report of five cases. *Laryngoscope* 1973; 83:1234-1240.
3. Kitahara T, Kubo T, Doi K, Mishiro Y, Kondoh K, Horii A, Okumura S, Miyahara H: Delayed facial nerve palsy after otologic surgery. *Nippon Jibiinkoka Gakkai Kaiho* 2006;109:600-605.
4. Franco-Vidal V, Nguyen DQ, Guerin J, Darrouzet V: Delayed facial paralysis after vestibular schwannoma surgery: role of Herpes viruses reactivation- our experience in eight cases. *Otol Neurotol* 2004; 25:805-810.
5. Vrabec JT: Delayed facial palsy after tympanomastoid surgery. *Am J Otol* 1999; 20:26-30.
6. Gianoli GJ, Kartush JM: Delayed facial palsy after acoustic neuroma resection: the role of viral reactivation. *Am J Otol* 1996; 17 625-629.
7. Gianoli GJ: Viral titers and delayed facial palsy after acoustic neuroma surgery. *Otolaryngol Head Neck Surg* 2002; 127:427-431.
8. Safdar A, Gendy S, Hilal A, Walshe P, Burns H: Delayed facial nerve palsy following tympo-mastoid surgery: incidence, aetiology and prognosis. *J Laryngol Otol* 2006; 120:475-478.
9. Wiet R: Complication in stapes surgery. *Otolaryngol Clin North Am* 1993; 26:359-372.
10. Salvinelli F, Casale M, Luccarelli V, Greco F, Dianzani C, D'Ascanio L.: Delayed peripheral facial palsy in the stapes surgery: can it be prevented? *Am J Otolaryngol* 2004; 25:105-108.
11. Sargent EW, Kartush JM, Graham MD: Meatal facial nerve decompression in acoustic neuroma resection. *Am J Otol* 1995; 16:457-464.
12. Magliulo G, D'Amico R, Di Cello P: Delayed facial palsy after vestibular schwannoma resection: clinical data and prognosis. *J Otolaryngol*. 2003; 6:400-404.
13. Cotter CS, Avidano MA, Stringer SP, Shultz GS: Inhibition of proteases in pseudomonas otitis media in chinchillas. *Otolaryngol Head Neck Surg* 1996; 115:342-351.
14. Gyo K, Honda N: Delayed facial palsy after middle ear surgery due to reactivation of varicella zoster virus. *J Laryngol Otol*. 1999 ;113: 914-5.
15. Furuta Y, Takayasu T, Fukuda S, Sato KC, Inuyama Y, Hondo R, Nagashima K: Detection of Varicella Zoster Virus DNA in human geniculate ganglia by polymerase chain reaction. *J Infect Dis* 1992; 166:1157-1159.
16. Furuta Y, Takayasu T, Fukuda S, Sato KC, Inuyama Y, Nagashima K: Latent Herpes virus type 1 in human geniculate ganglia. *Acta Neuropathol* 1992; 84:39-44.
17. Sugita T, Murakami S, Yanagihara N, Fujihara Y, Hirata Y: Facial nerve paralysis induced by herpes simplex virus in a mice, animal model of transient facial paralysis. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 1995; 104:574-581.
18. McCormick DP: Herpes simplex virus as cause of Bell's Palsy. *Lancet* 1972; 1:937-939.
19. Fayad JN, Wanna GB, Micheletto JN, Parisier SC. Facial nerve paralysis following cochlear implant surgery. *Laryngoscope* 2003; 113:1344.1346.

SOME LINGUISTIC OBSERVATIONS ON PATIENTS' BLOGS

OSSERVAZIONI SULLE STRUTTURE LINGUISTICHE DEI BLOG SCRITTI DA PAZIENTI

Marianna Lya Zummo

CAPSULA EBURNEA, 3(14):1-9, 2008.

Dipartimento di Scienze Filologiche e Linguistiche Università degli Studi di Palermo, Italy.

Correspondence:

Dr. Marianna Lya Zummo:
m.zummo@unipa.it

Received: July 25th, 2008
Revised: August 9th, 2008
Accepted: August 26th, 2008.

No conflicts of interest were declared.

Category of paper:
ORIGINAL REPORT

Language of the Article: English.

Abstract

In every field, nowadays, there has been a radical change in the amount and in the value of information that are available. In the medical field, in particular, what was once considered obligatory concern of doctors and medical staff is today information that are accessible through other media, the net in the first case. The growth of electronically-mediated information also means a greater amount of users, aware or unaware of the strategies applied in communicative systems and therefore more or less exposed to manipulation. Also, it is notable an increased attention on wellness, health, prevention and related communication. This paper will explore how a medical issue is described by people who suffer from it, analysing through the linguistic behaviour they use in blog spaces how they share their frustration and talk about their disease.

KEYWORDS: Medical concerned communication, blog spaces, attitude linguistic analyses.

Riassunto

L'avvento delle nuove tecnologie si riflette oggi in un cambiamento radicale nella quantità e nella qualità dell'informazione disponibile all'utente. Nel campo medico in particolare, è possibile accedere facilmente alle informazioni tramite mezzi sempre più accessibili, in primo luogo la rete. La crescita dell'informazione corrisponde a un elevato numero di utenti che se ne fornisce, che si inoltra più o meno consapevolmente nelle strategie comunicative specifiche, esponendosi così alla manipolazione comunicativa. A questo si aggiunge una maggiore attenzione sui fatti riguardanti la salute, il benessere, la prevenzione e argomenti ad essi correlati. Questo articolo esplora come è descritto dai pazienti un problema di natura medica, analizzando attraverso il comportamento linguistico, usato in forme di comunicazioni moderne (il blog), come essi trattano la malattia e dichiarano le proprie frustrazioni.

PAROLE CHIAVE: Comunicazione in campo medico, blog, analisi linguistica secondo l'Appraisal Framework.

Background

In the last fifty years the progressive increasing of the net communication system has permitted a better development in communication. People have the chance of getting any information and texts are created to let the non-experts understand certain aspects about a particular topic.

Internet sites and blogs are of great importance in the transfer of information about medicine as well as professional journals because they provide most common people with the information they need. Of course, news media as well as computerized journals are important methods of changing physician knowledge. In fact there

is a change of communication paradigm connected to the quantity (and quality) of the mass of readers reachable through the net. The web constitutes the new and real "mass media" and language adapts itself to it. Language has become in fact more popular and somehow more specialised as specialised terms have become of common use and popularised. Sometimes information lacks in quality as anybody can write in the net although in some web pages there is nowadays a better control of the sources. In the medical field, the net definitely creates the illusion that through the information it provides, one can self-diagnose and choose the proper treatment. Appropriate use of reading skills and knowledge background about a topic is necessary, so the text must be approached by separating real facts from arbitrary speculations. In addition, readers must be familiar with the linguistic strategies for negotiation or persuasion in texts that have an influence in our everyday life adapting our own point of view. Rhetoric can have an important impact on the communication process because it employs rules and principles that can affect language.

Combining the heterogeneous readers of the net and the peculiarity of specialised languages, such as the medical one, the result is a translation, meaning a popularisation of the language, with the purpose of reaching anyone. In medical concerned pages, often in blogs, we assist to some real translations of science, motivated not only by ideal needs of sharing knowledge, but sometimes also to have a good story with a possible medical drama in it. Blogs become the first carriage of personal stories, where the author expresses his/her emotions about something that happened to him/her, and sometimes blogs become also a virtual space to get in touch with other people with the same needs, where to find some help or on the way round, to offer the same help. For this article I have been reading several blogs about a quite new disease that is going to be faced by our health care services but still not really known. The blogs belong to patients, women in particular, who have been infected with HPV, Human Papilloma Virus. HPV is a sexually transmitted disease, with at least 100 different HPV types. Some of them lead to genital warts; some others, the high risk types, lead to cancer. The blogs I have analysed are written by women, men and homosexuals who desperately seek information, therapies and cures, who tell their stories, who complain about a low medical and services sympathies, lack of information, family frustrations (the feeling is often to be worthless, rejected by the partner or responsible of having

infected one or more sexual partners or even the neighbourhood in extreme cases of paranoia). Often the stories begin with a kind of auto-anamnesis or in some other a proper description of the disease. The writers offer their knowledge about medical acronyms (that they immediately explain), tests and their effects, therapies. The message is not, however, a didactic one. These blogs are not written to offer help, often the authors desperately need that help they try to offer. Analysing the blog through the appraisal framework we intend to find what kind of emotion and society the authors live in, how they perceive the medical issues and how they confront themselves with it.

The meaning of words: from representation to positioning. The Appraisal Framework.

A written text can be seen as a carrier of meanings: words have their own sense that is explained by the connection between the sounds, signals and reality. The meanings of words change when they combine in a context. A simple description, for example, can be a statement of facts but it is certain that the utterances contain also indication of interpretation of the facts or things that are described. Implicitly then, words have not a unique meaning but several ones, indicated by the context, by the interaction with reality and the functions the utterances do express. It is possible to say that the semantics of language is organized for representing or modelling the world and consequently, words have special functions which are not just the meaning the lexeme expresses. Following the Bakhtinian theory about a possible interaction between the reader and the writer (1), this representation of the world is affected by the presence of one of the two or more characters in the "virtual dialogue" which means that even the more neutral of the genre conveys negative or positive assessments of some situations, facts, actions or it invites "the reader to supply their own negative or positive assessment" (2). The consequential attitudinal position is at the centre of a quite new field in linguistics that goes under the name of Appraisal Framework. According to the A.F. (2), meanings are expressed by linguistic patterns constructing emotion (Affect), judgements of behaviour (Judgement), or values of aesthetic kind (Appreciation). The evaluation and analysis of these patterns helps to focus on the textual organization but it also offers a model of the way social facts are passed and evaluated through language.

Some aspects of the evaluation system have been investigated during the course of these

years by several linguists (Halliday, Perkins, Lakoff, Thompson and Hunston, Biber, Salager-Myer among the others) who have focused their attention on modals, hedges, boosters and stances. The Appraisal theory discusses aspects that go beyond linguistic aspects as it focuses on the discourse created by a writer for a reader, the discourse that reflects the value system of the writer and of the reader as well. It is not just a tool to distinguish the value of recommendation, the author's attitude and involvement or to understand how the author can influence the reception of the message. The Appraisal Framework is not supposed to find out to what extent the author is engaged: it is actually used to go forward and understand what are the cultural and social basis on which the author determines his evaluation system. Within Negotiation and Involvement, the Appraisal Framework can be considered the way linguistics studies the representation of the world.

Synthetically, the Appraisal Framework encompasses Engagement (of the author with respect to a particular value), Attitude (the writer position towards people or social contexts through affect, judgement and appreciation strategies) and finally Graduation (concerning the force of grading that value). This paper focuses on Attitude, so in particular on:

- Affect: to register positive or negative feelings (using verbs, adverbs, adjectives and nominalization);
- Judgement: to evaluate a human behaviour as positive or negative according to some set of social norms;
- Appreciation: to evaluate a positive or negative assessment of objects, artefacts or even human behaviour according to form, appearance and aesthetic values in general.

The Appraisal Framework in medical context

In medical context, for example in a patient-doctor interaction, people tend to behave in different ways. They interpret the meaning of the description (of one's disease) and then they behave consequently. Sometimes this process results in behaviours that appear to be completely out of control, true overreactions. Emotions flow and speech interactions resent of this as any analysis can prove. The interaction is quite unfiltered, it happens in a very short period of time, it contains different ways to express emotions. However, it is possible to detect expression of emotion in written texts as well, the easier ones being the blogs, as they combine the written channel and the oral register.

We have analysed a particular disease and the

way the net offer information about it. In the case of HPV (acronyms for Human Papilloma Virus), the definitions that appear in internet are quite heterogeneous: they go from the neutral-matter-of-the-fact descriptions of the disease (wikipedia, Government health centers, medical tutorials etc) to the Gardasil site (the site of the pharmaceutical industry that is currently working on the promotion of the vaccine) to the great amount of blogs written by people who are looking for information or who, for one reason or another, want to share their stories. These stories can be analysed through the Appraisal Framework to investigate on the positive or negative feelings of patients; or on their evaluation of the actual set of social values.

The classification of texts was based on the mere consultation of the net. Searching on the Google page the word "HPV", the Gardasil, the Governments' health services, some medical centres and the Wikipedia pages appeared as well as several blogs about the disease. The different approaches to the disease, in terms of description, are of course determined by the force of persuasion the text has to obtain: for example the Gardasil page describes the disease but the intention is also to promote the use of the vaccine they produce. While the Wikipedia page gives a neutral description of the disease as a virtual medical dictionary and finally the blogs offer the way people give freely express their thoughts.

Among an awful amount of blogs concerning gynaecological issues or HPV disease in particular, two were selected, as they seemed to offer the best description of the pathology and at the same time the bloggers' personal feelings.

What is HPV?

The HPV description as medical issue contained in our texts is of course biased with personal emotions and feelings so it was thought to be appropriate to leave the description of the disease offered by the Department of Health and Human Services - Centers for Diseases Control and Prevention - U.S. Government (3), the site of the Department of Health and Human Services - U.S. Food and Drug Administration (4), the Gardasil web site (5) and the Wikipedia web site (6) which resulted the more visited description among those offered by the net (Tab. 1)

These four descriptions of the HPV offer the chance to know about the virus and its effects on human health. As it was said before, these descriptions are inevitably constructed according to the goals the text has to obtain. It is ob-

Table 1: Examples of HPV description offered by the net.

Source	Definition	Ref.
Dept. of Health and Human Services - Centers for Diseases Control and Prevention	"Genital human papillomavirus (HPV) is the most common sexually transmitted infection (STI). The virus infects the skin and mucous membranes. There are more than 40 HPV types that can infect the genital areas of men and women, including the skin of the penis, vulva (area outside the vagina), and anus, and the linings of the vagina, cervix, and rectum. You cannot see HPV. Most people who become infected with HPV do not even know they have it".	[3]
U.S. Food and Drug Administration - U.S. Dept. Of Health and Human Services	"HPV (human papillomavirus) is a sexually transmitted virus. It is passed on through genital contact (such as vaginal and anal sex). It is also passed on by skin-to-skin contact. At least 50% of people who have had sex will have HPV at some time in their lives"	[4]
Gardasil	"Human papillomavirus or HPV is a virus you may not know too much about—but you should. So take a look around. Getting the facts about HPV and the diseases it causes is the first step toward helping to protect against it"	[5]
Wikipedia	"Papillomaviruses are a diverse group of DNA-based viruses that infect the skin and mucous membranes of humans and a variety of animals. Approximately 130 human papillomavirus (HPV) types have been identified. Some HPV types can cause warts while others may cause a subclinical infection resulting in precancerous lesions. All HPVs are transmitted by skin-to-skin contact and/or by fomites. About 30-40 HPV types are typically transmitted through sexual contact and infect the anogenital region. Some sexually transmitted HPVs may cause genital warts. However, other HPV types which may infect the genitals do not cause any noticeable signs of infection. Persistent infection with a "high-risk" subset of sexually transmitted HPVs – different from the ones that cause warts – may lead to potentially precancerous lesions and can progress to invasive cancer. HPV infection is a necessary factor in the development of nearly all cases of cervical cancer. A cervical Pap smear is used to detect cellular abnormalities. This allows targeted surgical removal of condylomatous and/or potentially precancerous lesions prior to the development of invasive cervical cancer. Although the widespread use of Pap testing has reduced the incidence and lethality of cervical cancer in developed countries, the disease still kills several hundred thousand women per year worldwide. HPV vaccines Gardasil and Cervarix, which block initial infection with some of the most common sexually transmitted HPV types, may lead to further decreases in the incidence of HPV-induced cancer."	[6]

vicious that, for example, the Gardasil web page offers a very synthetic, paternalistic description; catchy in form ("you may not know too much about – but you should") and where the important fact is how to "protect" against it, while the Government page tends to minimize the danger of death, reassuring the reader ("At least 50% of people who have had sex will have HPV at some time in their lives", "You cannot see HPV. Most people who become infected with HPV do not even know they have it"). Still, they tend to have a neutral, matter-of-the fact approach, the description is about the disease, suggestions about getting the vaccine are given by using modals that are known to determine not only distance but also legal protection if the stance

would prove not to be true ("HPV vaccines Gardasil and Cervarix (...) may lead to further decreases in the incidence of HPV-induced cancer"). The semantics is not affected by the specialization of language (the information must be readable by anyone, above all those who have not a background in science matters). It comes as no surprise that most oriented sites are in fact advertisement media for products. Advertisement pages however are not so different from our web texts as they both use strong implicated words taken by professional semantic fields ("mucous membranes", "precancerous lesions", "fomites"), explicit suggestions based on research and scientific data, medical literature as reference for authoritativeness and seri-

ousness. In these pages, sentences are built with attention, they must say something and if possible let the reader be under influence by an implied idea that is NOT, however, written in the text, so that it does not appear dishonest from a legal point of view even if it definitely drives the reader opinion. For example: if a pharmaceutical industry writes in his consumer information that you must take their product to build the greatest immune system and be safe from diseases, it is certainly a legal questionable information but if the industry says their product can improve your immune system, that is the first barrier to defeat diseases, it is certainly saying something right and at the same time it is suggesting to take their product to improve your immune system. The pragmatic point of the information that is given is achieved. The use of hedging, rhetoric forms and communicative strategies offers legal protection and shape perception of reality that induce to commercial benefits. These texts, advertisements, government pages, pharmaceutical industries pages and so on are certainly successful translations (in the meaning of popularization) of science.

Medical communication in blogs

All another genre is represented by the blogs, which contain biased description of the issue and contain personal drama as well. Bloggers definitely write to throw their frustrations away, so they describe the disease just as a complement to the real goal of their text: to describe the ultimate impact of the disease in their lives, giving importance to their private events.

In sociological terms, the blog consists in a sort of opening to a plurality of points of view that are represented by the readers. This kind of communication is of personal kind so it obviously stresses on individual identities that are unique and at the same time sharable. The blogger expresses himself and his personal issues but the intent is always sharing them so that other people may get some sort of solidarity in an active way (they have the same problem and have their spirit raised because they share their experience with others, feeling themselves as part of a group, or in a passive way because they share their emotions with the writer).

Moreover the blog offers the most modern kind of communication, which can be defined as "in movement": in a small space of time, static blogs (where the stories are offered by the writer without the possibility for a reader to answer back) have become weblog (with commentaries and trackbacks). Blogs are now a

publishing platform where private communication (messages in feedback) is elaborated in editorial style (one-to-many communication). They combine two different aspects of communication: if on one hand they are spontaneous (they often have orthographic mistakes, they tend to represent oral communication with deictic expressions or fillers), on the other hand they are planned texts (as the blogger surely reads his post before publishing it).

The analysis of patients' blog

As it has already been said, the intent in these stories is not only to provide information but to convey a fact in a specific advise: to be aware of emotional consequences (may they be bad or good ones). The following texts (tab. 2 and 3), taken from the cited web pages (7, 8), have been divided into sections and analysed (tab. 4 and 5). The analysis of both were then compared to find common elements of medical language, description of true facts and expressions of emotion. Also, in a further attempt, we have tried to find linguistic expressions that reveal the writers' social orientation and values.

The purpose of the first story (tabs. 2 and 4, Ref. 7) is not to provide details about the disease (although all the medical words are explained) but to express the author emotions and distress. The author does not hide her communicative purposes and the attitudinal analysis confirms what the reader could understand from the reading of the story. The emotive stress concerns the reactions to the medical system and above all the chains of events that has changed the writer's attitude from a confident one to a worried, paranoid status.

The purpose of the second story (tabs 3 and 5, Ref. 8) changes from the one of the previous text. The focus is not on the disease (Medical Language appears just to indicate some events) but on the perception of the patient in relation to the others may they be patients (positive judgement, solidarity) or herself (shame and disgust). Medical staff is here perceived as concerned but they do not have space in this report. The author focuses on her relationships (friendships, lovers) and certainly there is a deep concern in the external world, expressed by affect (anger to her previous partner, shame, love for because of her friend's solidarity) and by judgement (seek of justification, shame for what the other could think of her).

The two texts open with explicit affect, but they differ on the kind of judgement they have in. In the first case, the author has a negative explicit/implicit judgement toward the medical staff, that

Table 2: Text from "My Story thus far..." [8]

You never want to hear your Dr tell you—"If the results come back **worse**, we're going to sit down and have a nice long talk..." Granted. That's better than "We need to have a nice long talk." But **you still don't want to hear it**.

I began having problems in March 2006 after a miscarriage. I was told by the **extremely uneducated** physician's assistant (**Who BTW wasn't supposed to work on me the ways she did...**) that I either had **Pelvic Inflammatory Disease**...Or something else (I can't remember, how horrible is that?) ... I've got the records someplace... Anyway so I travel to Scottsbluff for a **Colposcopy** and **Biopsy** of my **cervix** to find out what's going on. 2 weeks later I have my results. I don't have **PID**, I don't have cancer... I have **Low Grade Squamous Intraepithelial Lesions... LSIL**... *Which basically is a change in the cells of the cervix.* **HSIL (High Grade) can** turn into cancer.. I was aware at the time that I **may** or **may not** have **HPV**, however I was never told if I had it or not—and never asked.

I was told I needed a repeat **Pap** in 4 months. 4 months later at my repeat... **I was cleared**. I was to come back in 6 months.

(...)

At the end of January/beginning of February I get a call from my Dr's nurse—She wants to schedule me for **cryosurgery** to just get *the cells frozen off* and see if that helps.

In the mean time I'm researching this stuff and talking to friends who've been there, done that. Because I'm **worried** about the **annoying little** cramps, the **strange** discharge and **the lack of appetite** I've been having. **Also** the 20 lb weight loss in 2 months, which could be **and probably is** a direct result of the lack of appetite. I discover a few things, but never really find out why my Dr wants me in for cryosurgery. **Usually they wait** until the repeat pap and then decide...

So I get to my repeat Pap (Last Monday) and my Dr is acting **strangely**. He's usually a **pretty funny** guy... He likes to joke around and make you feel comfortable y'know? Not Monday. **He was all concerned and crap**. So.. I was really **uncomfortable**. **Something was up**. He asked me why I was there. I told him for a repeat pap "Because you wanted me to..." He explained to me that my Pap came back **abnormal (Big shocker there...)** and that I have **the strain or kind or type** of HPV that causes Cervical Cancer... The "Bad kind" as he called it. I remember from reading about it there are hundreds of types of HPV and that a select few cause Cervical Cancer. And I think to myself "**Of ALL** the types of HPV... I get the one that causes Cancer. And God hates me for not going to church..." Although I must admit. I knew deep down **something was wrong** because I just don't feel right lately.

So anyway—he tells me if this test comes back with no more changes.. I'm off the hook after a Pap in 4 months one in 6 after that and then I can go back to yearly Pap tests. I swear... I've had more Pap tests in 3 years than my Mom has her whole **damn** life. He also tells me "If the results come back worse, we're going to sit down and have a nice long talk..."

So. **I know these things**. Cervical Cancer doesn't spread that fast. In fact, it **usually** takes years for HPV to actually morph into Cervical Cancer. I know that I haven't missed a Pap test my entire life. I know that I don't smoke and that helps my chances. I know that cancer doesn't run in my family.

I also know the one exception to all those "rules". She's **the daughter of a co-worker** who spoke with me on the phone, briefly yesterday.

She **had never missed a pap**. Her cancer **spread like wildfire** and when I say that, I mean it. Cancer isn't in her **family history** and **she doesn't smoke**... **Yet** she contracted Cervical Cancer and it spread so rapidly she had to have a very **serious** procedure done. Something I'm not really trying to think about at this point. However, she was **still** able to have 3 kids. So there is **hope for that**.

Anyway. At first I **was** kinda **humorous** about it, **confident** that everything would go well. **At this point it's starting to wear on me**. The what ifs and all that.

is angrily described both for their human and professional peculiarities (they are described as uneducated and incompetent). The doctor she talks to is an ambiguous *textual persona* who is not always clear with his patient, so it seems he increases her anxiety. In the second text there are no reference to a medical staff but the author expresses affect toward the people she lives with. That affect is conveyed first in a negative self-judgement and then in the wish of doing the correct and solidly thing.

Conclusions

An analysis of two different blog website pages are surely insufficient to serve as a basis to consider valid statement about the language

used by patients about particular medical issues. These are not examples of how the net offer information about health issues to its readers, although wandering through the net, blogs certainly offer a way to know something by some other's "direct experience". Blog spaces on one hand offer a kind of communication that lacks in awareness but on the other hand provide a greater amount of available first information.

My purpose is not to offer an account of the texts but to indicate how a text apparently of the same nature offers insights that the Appraisal analysis detects. The *textual persona* definitely changes the approach to the description of events and perceptions, as suggested by the

Table 3: Text from "My Story thus far..." [8]

I was first diagnosed with HPV when I was 21 years old. And of course, my first initial reaction was **disgust with myself** (and *my past partner I had*), **sadness, anger, confusion** and probably most of the similar emotions a person would feel if/when they first find out they had an STD. I found out that I had low risk (wart causing) HPV and later, through a pap, I found out that I also had high risk HPV.

It wasn't until I started researching HPV (thanks to ASHA and other websites) that I **came to terms** with my HPV. I realized that it could have been my ex-partner that had given me HPV, but it also could have been any of the partners I had had prior to that. *I am/and was not a very promiscuous* person. I have only had 4 partners. But I learned that a basic rule for HPV is, if you have had sex with more than one person and so has your partner, then the risk of getting HPV is greater.

I **ended up** having to have a colposcopy done on my cervix. **They were concerned** that I could possibly have some pre-cancerous cells. I also had my warts frozen and **that only** took about 4 visits before I was "symptom" free. The colposcopy **literally scared** me. I think when someone tells you that they are checking for pre-cancerous cells, **there is a part of you that immediately assumes the worse**. I was **extremely ashamed** of myself. *I was dating a lot, but not intimate* with anyone once diagnosed. I **was too scared** to tell anyone what was really going on with me. I thought that any person interested *would just run away and think I was a horrid person. I distanced myself* in any relationship that I had.

Once I got my results back from the colposcopy, which were negative, I **relaxed** a little bit. I started out by telling one of my really close friends about my HPV and found out that she was **extremely supportive**. I ended up dating a **great guy**, told him about my HPV (that was probably one of the *most nerve racking nights* of my life!) and he ended up being ok with it. We got married a year later and are still together. He just started showing the low risk signs of HPV about a month ago and has to get it taken care of. I **feel bad**, because we both know that I "gave" this to him. *But he still loves and supports me anyways.*

I have had **ups and downs** since first being diagnosed with HPV, but in some since **it has made me a different person**. *There isn't a day* that goes by that *I wish that I had made some better choices* in my life, but in some respect *I think that by my having this STD I have been trying to help others with this*. I have had, through sharing my story with friends, found others with this and am **surprised by how ignorant** people are about STDs in general. *I just hope that I can help one person and let them know that it is ok*, I think that's all I ever wanted when I was first diagnosed...someone to say that **it was ok, and that I would get through it**.

Table 4: Analysis of the text reported in tab. 2.

You never want to hear / you still don't want to hear it.	The story starts with an authorial annotation. She's talking about something that is not already known by the reader, she creates expectations. Also she puts herself in a higher position like someone who has an experience which let her give suggestions or recommendations.
extremely uneducated physician's assistant (Who BTW wasn't supposed to work on me the ways she did, I was told, Usually they wait, strangely , He's usually a pretty funny guy, He was all concerned and crap, Something was up, abnormal	Authorial relationship with the medical stuff. The first thing that traumatises her is just the lack of politeness. Then she reacts to what is going on, she realises that there is something wrong but she's not able to understand her doctor's behaviour. In particular note the passive form "I was told" sentence: she tends to evidence the distance between the stuff and herself. Of course, the narration results with a different point of view: different would have been the words: "my doctor told me"
<i>Which basically is a change in the cells of the cervix, get the cells frozen off</i>	Authorial explanation of particular medical procedures, so that the reader knows about the topic
<i>Can, I may or may not have</i>	Modal verbs are very important as they inform about the closeness between the information and the giver. Here modals are used to hedge the information and express doubt
Worried, annoying little (cramps), strange, the lack of appetite, uncomfortable, Big shocker there, Of ALL the types of HPV, something was wrong, damn, I was kinda humorous, (I was) confident, At this point it's starting to wear on me	Distress, paranoid behaviour, change of attitude (from humorous/confident to uncomfortable - worried (expression "wear on me"))
I know these things, usually, I also know the one exception to all those "rules", the daughter of a co-worker	The author tries to look objectively to the facts. She analyses direct and indirect influences, starting from the family history to her general habits. But then she turns into an emotive being: she stops analysing facts (the rules), she actually puts distances between her and "those" rules (indicating something far away from her) and she talks about someone she knows.
the daughter of a co-worker, had never missed a pap, Her cancer spread like wildfire, family history, she doesn't smoke, <i>Yet</i> , serious procedure done, still, hope for that	Here the narration runs fast. She starts again talking about facts but "yet", notwithstanding all the rules she is an exception. The only hope she has in store concerns the possibility to have children.
Pelvic Inflammatory Disease, Colposcopy, biopsy, cervix, PID, Low Grade Squamous Intra-epithelial Lesions, LSIL, HSIL (High Grade), HPV, Pap, cryosurgery	Medical Language

study of these two texts. In fact, the second text undoubtedly offers some interesting insights into the way someone can react according to social values, thus giving rise to questions on the society the author lives in. It would be interesting, for a further study, to apply this analysis on a valuable set of texts, written first hand by patients who need to express their feelings and

doing so offer a reflexion not only of their personality but also of the society, its values and rules. The understanding through linguistic analysis of the social and psychological mechanism that works in particular times, such as when dealing with a disease, can offer a way for doctors and specialists to help people who need special care.

Table 5: Analysis of the text reported in tab. 3.

<p>sadness, anger, confusion, I came to terms with my HPV, literally scared, there is a part of you that immediately assumes the worse. I was too scared, any person interested <i>would just run away and think I was a horrid person, distanced myself</i> in any relationship that I had, I relaxed a little bit., <i>most nerve racking nights</i>, I feel bad, I have had ups and downs, <i>I wish that I had made some better choices</i>, surprised by, it was ok, and that I would get through it</p>	<p>Affect. The adjectives tend to be of negative kind, they express distress not only for the disease but also for the perception of herself according to external values. She's not only scared, she's ashamed. She also tries to feel positive for the potential future ("I would get through it")</p>
<p>HPV, STD, colposcopy</p>	<p>Medical Language.</p>
<p>disgust with myself, I was extremely ashamed, <i>I am/and was not a very promiscuous, I was dating a lot, but not intimate, has made me a different person</i></p>	<p>Attitude. The author tries to assess her behaviour according to social values.</p>
<p>They were concerned</p>	<p>Authorial consideration about the medical stuff</p>
<p>she was extremely supportive, great guy, <i>But he still loves and supports me anyways</i>, how ignorant people are</p>	<p>Reactions of her micro society. On the one hand there is the concept of support she's found in a friend of her and a guy, on the other the ignorance she's come</p>
<p><i>I think that by my having this STD I have been trying to help others with this, I just hope that I can help one person and let them know that it is ok</i></p>	<p>Once again, the authorial position is not focused on herself, but on the others. She gives attention on what she can do or how she can help.</p>

References

1. Bakhtin, M.M. (1986), Speech Genres and Other Late Essays, Edited by C. Emerson, M. Holquist, University of Texas Press, 1986.
2. White, P.R.R. (2003), An introductory course in Appraisal Analysis - The Language of Attitude, Arguability and Interpersonal Positioning, <http://www.grammatics.com>.
3. Dept. of Health and Human Services - Centers for Diseases Control and Prevention, <http://www.cdc.gov/STD/HPV/STDFact-HPV.htm>.
4. U.S. Food and Drug Administration - U.S. Dpt. of Health and Human Services <http://www.fda.gov/WOMENS/getthefacts/hpv.html>.
5. Gardasil web site, www.gardasil.com.
6. Wikipedia, www.wikipedia.com.
7. My Story thus far... (<http://www.inspire.com/groups/national-cervical-cancer-coalition/journal/my-story-thus-far/>).
8. My Story - American Social health Association. (http://www.ashastd.org/hpv/hpv_share.cfm).

ROLE OF SMADS IN RESPIRATORY DISEASE PATHOGENESIS

RUOLO DEGLI SMADS NELLA PATOGENESI DELLE MALATTIE RESPIRATORIE

Francesca Magno, Simona Corrao, Tiziana Loria, Melania Lo Iacono.

CAPSULA EBURNEA, 3(15):1-7, 2008.

Dipartimento di Medicina Sperimentale, Sezione di Anatomia Umana, Università degli Studi di Palermo, Italy

Correspondence:

Dr. Francesca Magno:
francymagno@libero.it

Received: September 15th, 2008

Revised: October 5th, 2008

Accepted: October 9th, 2008.

No conflicts of interest were declared.

Category of paper:

REVIEW

Language of the Article: English.

Abstract.

Transforming Growth Factor beta (TGF β) cytokine plays an important role in normal pulmonary morphogenesis and function as well as in the pathogenesis of lung diseases. The principal signaling pathway downstream to activate TGF β is the Smad pathway. Even though many studies have focused on Smads' structural features and pathway, less is known about the possible relationship between protein and mRNA expression of Smads and lung diseases. This review will focus on Smads and sum up what is known about their role in some respiratory diseases: COPD, asthma and fibrosis.

KEYWORDS: TGF β , Smads, Lung disease, COPD, pulmonary fibrosis.

Riassunto.

La citochina TGF β (Transforming Growth Factor beta) gioca un ruolo importante nella normale morfogenesi e funzione polmonare nonché nella patogenesi delle malattie respiratorie. Il principale pathway di trasduzione del segnale indotto dal TGF β attivato è quello degli Smads. Anche se molti studi si sono soffermati sull'analisi delle caratteristiche strutturali e sui meccanismi alla base del pathway, poco si sa circa la possibile correlazione tra l'espressione proteica e trascrizionale degli Smads e le patologie polmonari. Questa review analizzerà le caratteristiche degli Smads e riassumerà le informazioni riguardanti il loro ruolo nelle patologie respiratorie: asma, COPD e fibrosi.

PAROLE CHIAVE: TGF β , Smads, malattie polmonari, COPD, fibrosi polmonare.

Introduction

COPD (Chronic Obstructive Pulmonary Disease) is characterised by a slow, progressive and partially reversible airflow limitation, which is associated with an abnormal inflammatory response of the lung to noxious particles or gases. The pathological hallmarks of COPD are typical of the principal lung diseases: mucus hypersecretion and submucosal gland hyperplasia (chronic bronchitis), collapsed airways and destruction of airways parenchyma (emphysema), tightening of the muscles around the airways (chronic asthma) followed by tissue damage and inflammation of small airways and fibrosis (1). TGF β appears to be directly involved in the development and maintenance of

pulmonary diseases. TGF β superfamily consists of secreted growth factors regulating different cellular process such as cell growth, development, differentiation, proliferation, motility, adhesion and apoptosis (Table 1) (2-4). Members of this family are secreted as latent forms, due to the presence of a propeptide, or in trapped form by binding to occluding factors. The active form is a dimer able to initiate signal by binding to a specific pair of membrane serine/threonine kinases receptors, type I and type II receptor. Destruction of the TGF β signaling system has been implicated in embryonic anomalies (5-8), cancer and tumorigenesis (4,9), autoimmune diseases (10-13), atherosclerosis (14-16), hypertension (17), osteoporosis

Tab. 1: TGFβ regulatory effects on target cells.

Endothelium	Epithelium	Fibroblasts
Migration Morphogenesis ⁵⁵ Growth control ⁵⁶	Cell cycle arrest Apoptosis ^{55, 57} Adhesion ECM production ⁵⁸ Cytokine production Growth control ⁵⁶ Epithelial-mesenchymal transition (EMT) ⁵⁹	ECM production ^{58,60} Proliferation ^{61,62,63} Cytokine secretion Anchorage-independent growth ⁶⁴ Growth arrests ^{56,65}

sis (18), fibrotic disease (9-19) and hereditary hemorrhagic telangiectasia (20-21). These pathological states suggest a possible involvement of Smads/TGFβ signaling in development and maintenance of these pathological conditions.

Basic features of Smads

The name "Smad" was coined in reference to its sequence similarity to the *Sma* and *Mad* proteins. Eight Smad proteins are encoded in the human and mouse genome, four in *Drosophila* and three in *C. Elegans* (22). Only five of the mammalian Smads (Receptor-regulated Smads or R-Smads: Smad1, Smad2, Smad3, Smad5 and Smad8) act as substrates for the TGFβ family's receptors; specifically Smad1, 5, and 8 serve principally as substrates for the BMP (Bone Morphogenetic Protein) and anti-Muellerian receptors, Smads2 and 3 for the TGFβ, activin, and nodal receptors. Co-Smad Smad4 serves as a common partner for all R-Smads while Smad6 and 7 are inhibitory Smads (I-Smads) that serve as decoys interfering with Smad-receptor or Smad-Smad interactions (23). Functional studies, together with the X-ray crystal structure analysis, showed that these ~500 amino acids proteins consist of two conserved globular domains (*MH1 and MH2 domains*) coupled by a flexible *linker region* rich of binding sites for Smurf (Smad ubiquitination-related factors) ubiquitin ligase, of phosphorylation sites for several classes of protein kinases and, in Smad4, a nuclear export signal (NES) involved in nucleus-cytoplasmatic translocation (23). The MH1 domain is conserved in all R-Smads and in Co-Smad, but not in I-Smads and functions as a DNA-binding site, while the MH2 domain is conserved in Smad proteins and involved in Smad-Smad interaction and in R-Smad activation/phosphorylation. Binding of TGFβ to the type I receptor triggers phosphorylation of its cytoplasmatic GS domain by the type II receptor, thus creating a repeated pS-X-pS motif, that serves as a docking site for the R-Smads. The latter are presented to the activated type I receptor by the anchor protein SARA (Smad Anchor for Receptor Activation).

In the basal state, Smads form homooligomers and remain in an inactive conformation until both activated R-Smads and Smad4 form homotrimeric complexes (24,25). In this state R-Smads decrease their affinity for SARA, and the R-Smad/Smad4 complex is translocated into the nucleus, where can directly bind DNA with DNA promoters or interact with transcription factors or co-factors (26,27) (Figure 1). Smads activation and downstream targets activation can be regulated in both cytoplasmatic and nuclear compartments by different mechanisms including inhibitory Smads activation (28), ubiquitination (29), acetylation (30), sumoylation (31) and, as recently reported, dephosphorylation by PPM subfamily phosphatases (PPM1A, PPM1B and SCP1) (32,33).

TGFβ and lung disease: role of Smads

Injury of lung tissue leads to induction of TGFβ that limits some inflammatory reactions. It is also involved in mediating fibrotic tissue remodelling, by increasing the production and decreasing the degradation of connective tissue, and acts mediating the normal tissue repair (34). In several studies, TGFβ has been shown to be a marker of activity of tissue repair and remodelling; acute, as well as chronic, lung diseases showed an increase of TGFβ protein and mRNA expression during the phase of tissue remodelling (35-36). Disruption of the TGFβ signaling system has been shown to be involved in different pulmonary diseases such as COPD and pulmonary fibrosis.

Fibrosis

The direct involvement of TGFβ in fibrosis has been observed during several studies on fibrotic diseases. The prominent hypothesis of fibrosis development is that it is caused by chronic inflammation in response to an unknown etiologic agent, leading to tissue destruction, ongoing wound healing responses, and fibrosis (37). TGFβ is a critical element of progression from inflammation to chronic fibrosis. The pro-fibrotic effects of TGFβ are numerous, including induction of myofibroblasts, increase of matrix synthesis, and inhibition of col-

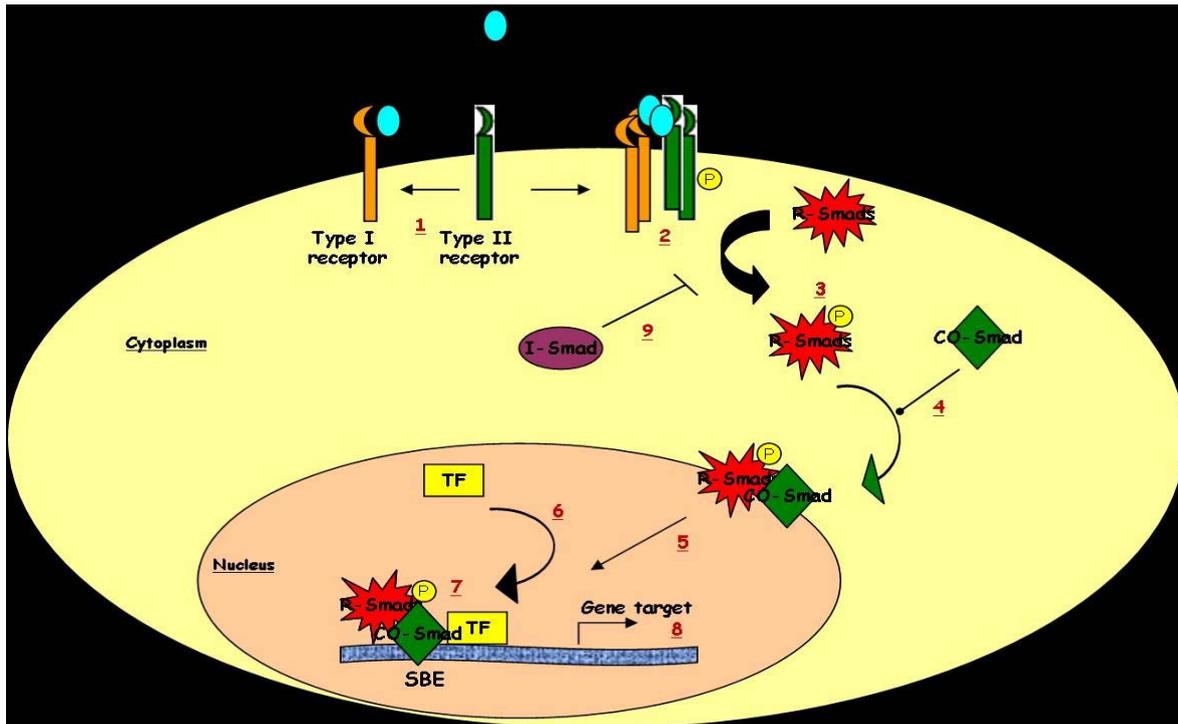


Fig. 1: Molecular mechanism of Smads pathway. **1)** Binding of TGF β to the type I and type II receptors, induces formation of multimeric receptors. **3-4)** Activated R-Smads dissociate from the receptor/SARA complex and form an oligomeric complex with Co-Smad Smad4. **5-6-7)** The complex R-Smad/Co-Smad translocates to the nucleus where it can interact with transcription factors or directly with DNA in Smad Binding Elements (SBE). **8)** Gene target transcription is activated. **9)** I-Smads (Smad7) inhibits signals competing with R-Smads for interacting with type I receptor and preventing phosphorylation.

lagen breakdown. Most of these effects are mediated through the Smad signaling pathway. Smad3 is principally related to fibrotic phenotype. Smad3 pathway is involved in pathogenic mechanisms mediating tissue destruction (lack of repair) and fibrogenesis (excessive repair); Smad3 null mice are protected from progressive fibrosis mediated by overexpression of TGF β 1 (38), do not develop lung fibrosis induced by bleomycin (39), and are protected against radiation-induced fibrosis of the skin (39). In a study by Gauldie and colleagues (41), administration of active TGF β to mice deficient in Smad3, blocked the ability of TGF β to induce matrix gene expression, enzyme inhibitors' gene expression and matrix accumulation, thus not progressing to scar formation or fibrosis. This indicates that TGF β and Smad signalling pathway, specifically Smad3, are required to initiate fibrosis and that mechanisms inducing expression of this growth factor are prominent in this disease. Loss of Smad3 was shown to confer resistance to fibrosis and resulted in reduced inflammatory cell infiltrates, reduced autoinduction of TGF- β (important to sustain the process) and reduced elaboration of collagen. Also, the key cellular mechanism of fibrosis is associated with myofibroblasts transdiffer-

entiation; myofibroblasts are generated from resident mesenchymal cells, endothelial and epithelial cells (epithelial-mesenchymal transition-EMT) (42); TGF β stimulates myofibroblast transdifferentiation through Smad3-dependent and -independent signals, contributing to the excessive matrix deposition that characterizes obliterative bronchiolitis. A significantly reduced expression of the Smad3 protein was observed in cystic fibrotic epithelial cells of nasal epithelium, and this reduction was apparently sufficient to influence the transmission of TGF β signals, including anti-inflammatory signals. (43).

COPD and Asthma

Less is known about the direct involvement of Smad proteins in COPD, even though various studies have shown that TGF β is involved in airways remodelling which characterize this disease. TGF β 1 protein and mRNA expression were increased in the bronchial and alveolar epithelium of COPD patients and correlated with the number of intraepithelial macrophages (44). Elevated levels of TGF β 1 have been observed in bronchial epithelium of smokers with COPD compared with those without COPD (45). Springer et colleagues (46) demonstrated that cigarette smoke down-regulates the inhibi-

tory Smad6 and 7 transcription in bronchial mucosal biopsies from severe COPD patients. A reduced mRNA expression of Smad7 was observed in bronchial biopsies of COPD stage II patients in comparison with controls, but no significant change was observed for Smad3 and 4. The study did not detect Smad2 transcription in the bronchial biopsies tested. In contrast, Zandvoort and colleagues (47) verified Smad2 protein expression, but found no significant differences between controls and COPD. Increased presence of TGF β 1 in the parenchyma may protect against emphysema as demonstrated in a mouse model, where constitutive expression of TGF β 1 prevented emphysema development. Absence of proper Smad3 signaling results in an ineffective repair response to damage in the lung, reduction of suppression of expression of MMPs, and susceptibility to airspace enlargement and emphysema. Disregulation of MMP expression has been shown as a key feature of smoke-exposed human lung fibroblasts in an in vitro model of COPD pathogenesis (48). Moreover Smad3-deficient animals are protected from fibrosis but are more susceptible to emphysema: Smad3 null mice are resistant to bleomycin- and TGF β -mediated fibrosis, but they develop spontaneous age-related airspace enlargement, consistent with emphysema, with a lack of ability to repair tissue damage appropriately (49). Studies on asthmatic patients showed increased levels of TGF β 1 and its transducer factors in the airways (50). Airway remodelling is one of the hallmark features of asthma. TGF β appears to be implicated in ECM proteins deposition which characterizes asthma, especially collagen. Concentrations of the active form TGF β 1 are higher in bronchoalveolar lavage fluid (BAL) of patients with severe asthma compared with controls (51). Runyan and colleagues (52) found a cross talk between Smads and PI3K (Phosphoinositide 3-kinase) pathway that enhanced TGF β -induced collagen type I expression in human mesangial cells. Recently, a different Smad2 activation was observed between asthmatic and non-asthmatic airway smooth muscle cells (ASM) with levels of phosphorylated Smad2 significantly higher in the asthmatic cells in comparison to the non-asthmatic (53). Expression levels of Smad7 in bronchial epithelial cells of asthmatic patients were inversely correlated with basement membrane thickness and airway hyperresponsiveness in asthmatic subjects, suggesting an active remodelling process resulting in a thickened basement membrane (54).

Concluding remarks

In the last ten years the attention of scientists for Smad proteins has increased, in view of

their prominent roles in the pathogenesis of lung diseases. Studies on Smads have started to explain their potential role in regulation and inhibition of TGF β effects. Modifications of Smad pathways or of their receptor systems, with a combination of genetic and environmental factors, could contribute to development of several TGF β -dependent diseases. All these information will expand the complex network about the TGF β signaling and thereby the potential role of Smad proteins in human respiratory diseases, potentially helping to design therapeutic strategies that should target TGF β signaling.

Reference

1. Global Initiative on Obstructive Lung Diseases (GOLD), Workshop Report 2006.
2. Hogan BLM. Bone morphogenetic proteins: Multifunctional regulators of vertebrate development. *Genes & Dev.* 1996; 10:1580-1594.
3. Mehler, MF, Mabie PC, Zhang D and. Kessler JA. Bone morphogenetic proteins in the nervous system. *Trends Neurosci* 1997; 20:309-317.
4. Dijke PT, Gourmans MJ, Itoh F, Itoh S. Regulation of cell proliferation by smad proteins. *J.Cell. Phys.* 2002; 191:1-16.
5. Chang H, Huylebroeck D, Verschueren K, Guo Q, Matzuk MM, Zwijsen A. Smad5 knockout mice die at mid-gestation due to multiple embryonic and extraembryonic defects. *Development* 1999; 126:1631-1642.
6. Chang H, Zwijsen A, Vogel H, Huylebroeck D, Matzuk MM. Smad5 is essential for left-right asymmetry in mice. *Dev Biol* 2000; 219:71-78.
7. Galvin KM, Donovan MJ, Lynch CA, Meyer RI, Paul RJ, Lorenz J, Fairchild-Huntress V, Dixon KL, Dunmore JH, Gimbrone MA, Falb D, Huszar D. A role for Smad6 in development and homeostasis of the cardiovascular system. *Nat Genet* 2000; 24:171-174.
8. Yang X, Castilla LH, Xu X, Li C, Gotay J, Weinstein M, Liu PP, Deng C-X. Angiogenesis defects and mesenchymal apoptosis in mice lacking SMAD5. *Development* 1999; 126:1571-1580.
9. Blobel GC, Schiemann WP, Lodish HF. Role of transforming growth factor β in human disease. *N Engl J Med* 2000; 342:1350-1358.
10. Oshima M, Oshima H, Taketo MM. TGF- β receptor type II deficiency results in defects of yolk sac hematopoiesis and vasculogenesis. *Dev Biol* 1996; 179:297-302.
11. Zhu Y, Richardson JA, Parada LF, Graff JM. Smad3 mutant mice develop metastatic colorectal cancer. *Cell* 1998; 94:703-714.
12. Yang X, Letterio JJ, Lechleider RJ, Chen

- L, Hayman R, Gu H, Roberts AB, Deng C. Targeted disruption of Smad3 results in impaired mucosal immunity and diminished T cell responsiveness to TGF- β . *EMBO J* 1999; 18:1280-1291.
13. Ashcroft GS, Yang X, Glick AB, Weinstein M, Letterio JL, Mizelm DE, Anzano M, Greenwell-Wild T, Wahl SM, Deng C, Roberts AB. Mice lacking Smad3 show accelerated wound healing and an impaired local inflammatory response. *Nat Cell Biol* 1999; 1:260-266.
 14. Grainger DJ, Kemp PR, Metcalfe JC, Liu AC, Lawn RM, Williams NR, Grace AA. The serum concentration of active transforming growth factor- β is severely depressed in advanced atherosclerosis. *Nat Med* 1995; 1:74-79.
 15. Grainger DJ, Wittchell CM, Metcalfe JC. Tamoxifen elevates TGF- β and suppresses diet-induced formations of lipid lesions in mouse aorta. *Nat Med* 1995; 1:1067-1072.
 16. Grainger DJ, Heathcote K, Chiano M, Snieder H, Kemp PR, Metcalfe JC, Carter ND, Spector TD. Genetic control of the circulating concentration of transforming growth factor type β 1. *Hum Mol Genet* 1999; 8:93-97.
 17. Cambien F, Ricard S, Troesch A, Mallet C, Genereaux L, Evans A, Arveiler D, Luc G, Ruidavets JB, Poirier O. Polymorphisms of the TGF β -1 gene in relation to myocardial infarction and blood pressure—the ECTIM study. *Hypertension* 1996; 28:881-887.
 18. Langdahl BL, Knudsen JY, Jensen HK, Gregersen N, Eriksen EF. A sequence variation (713-8delC) in the TGF β -1 gene has higher prevalence in osteoporotic women than in normal women and is associated with very low bone mass in osteoporotic women and increased bone turnover in both osteoporotic and normal women. *Bone* 1997; 20:289-294.
 19. Beránek M, Kančková K, Benes P, Izakovicova-Hollá L, Znojil V, Hájek D, Víkova E, Vařcha J. Polymorphism R25P in the gene encoding transforming growth factor-beta (TGF- β 1) is a newly identified risk factor for proliferative diabetic retinopathy. *Am J Med Genet* 2002; 109:278-283.
 20. Johnson DW, Berg JN, Baldwin MA. Mutations in the activin receptor like kinase 1 gene in hereditary haemorrhagic telangiectasia type 2. *Nat Genet* 1996; 13:189-195.
 21. Gallione CJ, Klaus DJ, Yeh EY. Mutation and expression analysis of the endoglin gene in hereditary hemorrhagic telangiectasia reveals null alleles. *Hum Mutat* 1998; 11:286-294.
 22. Massagué J. TGF- β signal transduction. *Annu. Rev. Biochem.* 1998; 67, 753-791.
 23. Massagué J, Seoane J, Wotton D. Smad transcription factors. *Genes and Dev.* 2005; 19:2783-2810.
 24. Shi Y, Hata A, Lo RS, Massagué J, Pevetich NP. A structural basis for mutational inactivation of the tumor suppressor Smad4. *Nature*, 1997; 388:87-93.
 25. Zhang Y, Feng X, We R & Derynck R. Receptor associated Mad homologues synergize as effectors of the TGF- β response. *Nature* 1996; 383:168-172.
 26. Xu L, Chen YG and Massagué J. The nuclear import function of Smad2 is masked by SARA and unmasked by TGF β -dependent phosphorylation. *Nat. Cell Biol.* 2000; 2:559-562.
 27. Xu L, Kang Y, Col S and Massagué J. Smad2 nucleocytoplasmic shuttling by nucleoporins CAN/Nup214 and Nup153 feeds TGF β signaling complexes in the cytoplasm and nucleus. *Mol. Cell* 2002; 10:271-282.
 28. Nakao A, Afrakhte M, Morén A, Nakayama T, Christian JL, Heuchel R, Itoh S, Kawabata M, Heldin NE, Heldin CH, et al. Identification of Smad7, a TGF β -inducible antagonist of TGF- β signaling. *Nature* 1997; 389: 631-635.
 29. Suzuki C, Murakami G, Fukuchi M, Shimanuki T, Shikauchi Y, Imamura T and Miyazono K. Smurf1 regulates the inhibitory activity of Smad7 by targeting Smad7 to the plasma membrane. *J. Biol. Chem.* 2002; 277:39919-39925.
 30. Tu AW, Tuo K. Acetylation of Smad2 by the Co-activator p300 Regulates Activin and Transforming Growth Factor β Response. *The Journal of Biological Chemistry* 2007; 29: 2118-21196.
 31. Song J, Durrin LK, Wilkinson TA, Krontiris TG and Chen Y. Identification of a SUMO-binding motif that recognizes SUMO-modified proteins. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 2004; 101: 143-73-14378.
 32. Lin X, Duan YY, Liang Y, Su Y, Wrighton KH, Long J, Hu M, Davis CM, Wang J, Brunicaudi FC, Shi Y, Chen YG, Meng A, Feng XH. PPM1A function as a smad phosphatase to terminate TGF β signalling. *Cell* 2006; 125 915-928.
 33. Lin X, Chen Y, Meng A, Feng X. Termination of TGF β Superfamily signalling through SMAD desphosphorylation- a functional genomic view. *Journal of Genetics and Genomics* 2007; 34: 1-9.
 34. Sporn MB, Roberts AB. Transforming growth factor- β : recent progress and new challenges. *J Cell Biol* 1992;119:1017-1021.
 35. Elssner A, Jaumann F, Dobmann S, et al. Elevated levels of interleukin-8 and transforming growth factor- β in bronchioalveolar lavage fluid from patients with bronchiolitis obliterans syndrome: proinflammatory role of bronchial epithelial cells. *Transplantation* 2000; 70:362-367.
 36. Broekelmann TJ, Limper AH, Colby TV,

- et al. Transforming growth factor- β 1 is present at sites of extracellular matrix gene expression in human pulmonary fibrosis. *Proc Natl Acad Sci* 1991; 88:6642-6646.
37. Bonniaud P, Margetts PJ, Ask K, Flanders K, Gauldie J, and Kolb M. TGF- β and Smad3 Signaling Link Inflammation to chronic fibrogenesis. *The Journal of Immunology*, 2005; 175: 5390-5395.
38. Bonniaud P, Kolb M, Galt T, Robertson J, Robbins C, Stampfli M, Lavery C, Margetts PJ, Roberts AB and Gauldie J. Smad3 null mice develop airspace enlargement and are resistant to TGF- β -mediated pulmonary fibrosis. *J. Immunol.* 2004; 173: 2099-2108.
39. Zhao J, Shi W, Wang JY, Chen H, Bringas P Jr, Datto MB, Frederick JP, Wang XF and Warburton D. Smad3 deficiency attenuates bleomycin-induced pulmonary fibrosis in mice. *Am. J. Physiol.* 2002; 282:L585-L593.
40. Flanders KC, Sullivan CD, Fujii M, Sowers A, Anzano MA, Arabshahi A, Major C, Deng C, Russo A, Mitchell JB, and Roberts AB. Mice lacking Smad3 are protected against cutaneous injury induced by ionizing radiation. *Am. J. Pathol.* 2002; 160:1057-1068.
41. Gauldie J, Bonniaud P, Sime P, Ask K and Kolb M. TGF- β , Smad3 and the process of progressive fibrosis. *Biochemical Society Transactions* 2007; 35:661-664.
42. Zeisberg EM, Tarnavski O, Ziesberg M, Dorfman AL, McMullen JR, Gustafsson E et al. endothelial-to-mesenchymal transition contributes to cardiac fibrosis. *Nat Med* 2007; 13:952-961.
43. Kelley TJ, Elmer HL, Corey DA. Reduced smad3 protein expression and altered transforming growth factor- β 1-mediated signalling in cystic fibrosis epithelial cells. *Am. J. Resp. Cell. Mol. Biol.* 2001; 25:732-738.
44. De Boer W, Van Shadwicke A, Sont JK et al. Transforming growth factor β 1 and recruitment of macrophages and mast cells in the airways in chronic obstructive pulmonary disease. *Am J respire Crit Care Med* 1998; 158:1951-1957.
45. De Boer W, Sont JK, Van Sa, Stolk J, Van KJ, Hiemstra PS. Monocyte chemoattractant protein 1, interleukin 8 and chronic airways inflammation in COPD. *J Pathol* 2000; 190:619-626.
46. Springer J, Scholz FR, Peiser C, Groneberg DA, Fischer A. SMAD-signaling in chronic obstructive pulmonary disease: transcriptional down-regulation of inhibitory SMAD6 and 7 by cigarette smoke. *Biol. Chem.* 2004; 385:649-653.
47. Zandvoort A, Postma DS, Jonker MR, Noordhoek JA, Vos JTWM, Van Der Geld YM and Timens W. Altered expression of the Smad signalling pathway: implications for COPD pathogenesis. *Eur Respir J.* 2003; 28: 533-541.
48. La Rocca G, Anzalone R, Magno F, Farina F, Cappello F and Zummo G. Cigarette smoke exposure inhibits extracellular MMP-2 (gelatinase A) activity in human lung fibroblasts. *Resp Res* 2007; 8:23.
49. Gauldie J, Kolb M, Ask K, Martin G, Bonniaud P and Warburton D. Smad3 Signaling Involved in Pulmonary Fibrosis and Emphysema. *Proc Am Thorac Soc* 2006; 3: 696-702.
50. Redington AE, Madden J, Frew AJ, Djukanovic R, Roche WR, Holgate ST, Howarth PH. Transforming growth factor-beta 1 in asthma. Measurement in bronchoalveolar lavage fluid. *Am J Respir Crit Care Med* 1997; 156:642-47.
51. Tillie-Leblond I, Pugin J, Marquette CH, Lamblin C, Saunier F, Briche A, Wallaert B, Tonnel AB, Gosset P. Balance between proinflammatory cytokines and their inhibitors in bronchial lavage from patients with status asthmaticus. *Am. J. Respir Crit Care Med* 1999; 159: 487-494.
52. Runyan CE, Schnaper HW, Poncelet AC. The phosphatidylinositol 3-kinase/Akt pathway enhances Smad3-stimulated mesangial cell collagen I expression in response to transforming growth factor-beta1 *J Biol Chem* 2004; 279:2632-2639.
53. Johnson PRA, Burgess JK, Ge Q, Poniris M, Boustany S, Twigg SM, Black JL. Connective Tissue Growth Factor Induces Extracellular Matrix in Asthmatic Airway Smooth Muscle. *Am J Respir Crit Care Med* 2006; 173: 32-41.
54. A Nakao, H Sagara, Y Setoguchi, T Okada, K Okumura, H Ogawa and T Fukuda. Expression of Smad7 in bronchial epithelial cells is inversely correlated to basement membrane thickness and airway hyperresponsiveness in patients with asthma. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 2002; 110:873-878.
55. Siegel PM, Massagué J. Cytostatic and apoptotic actions of TGF-beta in homeostasis and cancer. *Nat rev Cancer.* 2003. 3:807-821.
56. Massague J, Gomis RR. The logic of TGFbeta signaling. *FEBS Lett.* 2006. 580:2811-2820.
57. Ramjaun AR, Tomlinson S, Eddaoudi A, Downward J. Upregulation of two BH3-only proteins, Bmf and Bim, during TGF beta-induced apoptosis. *Oncogene.* 2007. 26:970-981.
58. Shi-Wen X, Rodriguez-Pascual F, Lamas S, homes a, Howat S, pearson JD, Dashwood MR, Du Bois RM, Denton CP, Black CM, Abraham DJ, Leask A. Constitutive ALK5-independent c-Jun N-terminal kinase activation contributes to endothelin-1 overexpression in pulmonary fibrosis: evidence of an autocrine

endothelin loop operating through the endothelin A and B receptors. *Mol cell Biol.* 2006. 26:5518-5527.

59. Rahimi RA, Leof EB. TGF- β signaling: a tale of two responses. *Journal of cellular Biochemistry.* 2007. 102:593-608.

60. Holmes A, Abraham DJ, Sa S, Shiwen X, Black CM, Leask A. CTGF and SMADs, maintenance of scleroderma phenotype is independent of SMAD signaling. *J Biol Chem.* 2001. 276:10594-10601.

61. Strutz F, Zeisberg M, Renziehausen A, Raschke B, Becker V, Van Kooten C, Muller G. TGF-beta 1 induces proliferation in human renal fibroblasts via induction of basic fibroblast growth factor (FGF-2). *Kidney Int.* 2001. 59:579-592.

62. Khalil N, Xu YD, O'Connor R, Duronio V. Proliferation of pulmonary interstitial fibroblasts is mediated by transforming growth factor-beta1-induced release of extracellular fibroblast growth factor 2 and phosphorylation of p38 MAPK and JNK. *J Biol Chem.* 2005. 280:43000-43009.

63. Pelaia G, Gallelli L, D'agostino B, Vatrella A, Cuda G, Fratto D, Renda T, Galderisi U, Piegari E, Crimi N, Rossi F, Caputi M, Costanzo FS, Vancheri C, Maselli R, Marsico SA. Effects of TGF-beta and glucocorticoids on map kinase phosphorylation, IL-6/IL-11 secretion and cell proliferation in primary culture of human lung fibroblasts. *J Cell Physiol.* 2007. 210:489-497.

64. Anzano MA, Roberts AB, Smith JM, Sporn MB, De Larco JE. sarcoma growth factor from conditioned medium of virally transformed cells is composed of both type alpha and type beta transforming growth factors. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1997. 80:6264-6268.

65. Datto MB, Frederick JP, Pan L, Borton AJ, Zhuang Y, Wang XF. targeted disruption of smad3 reveals an essential role in transforming growth factor beta-mediated signal transduction. *Mol Cell Biol.* 1999. 19:2495-2504.

UPPER EXTREMITY EXAMINATION PROTOCOLS OF GERIATRIC PATIENTS UNDERGOING DIALYSIS

PROTOCOLLO DI STUDIO PER LA FUNZIONALITÀ DELL'ARTO SUPERIORE IN SOGGETTI ANZIANI DIALIZZATI

Ario Federici¹, Anna M. P. Mastropasqua¹, Sergio Baldini², Silva Casadei¹, Manuela Valentini¹, Cesare Bartolucci³, Ivano Testa³

CAPSULA EBURNEA, 3(16):1-8, 2008.

¹ Istituto di Ricerca sull'Attività Motoria, Facoltà di Scienze Motorie, Università degli Studi di Urbino "Carlo Bo"; ² U.O. Nefrologia e Dialisi Ospedale Geriatrico I.N.R.C.A. Ancona; ³ U.O. Diabetologia e Malattie del Ricambio Ospedale Geriatrico I.N.R.C.A. Ancona; Italy

Correspondence:

Dr. Cesare Bartolucci
cesare.bartolucci@tiscali.it

Received: August 30th, 2008

Revised: October 3rd, 2008

Accepted: October 5th, 2008.

No conflicts of interest were declared.

Category of paper:
ORIGINAL REPORT

Language of the Article: Italian.

Abstract.

Many geriatric people experience a certain loss of self sufficiency because of reduced capacities in the use of the upper limbs and, consequently, in the use of the hand. In this connection, the following hypothesis was formulated. Can a moderate physical activity, planned for elderly people in fragile health, in this case, undergoing dialysis, improve their physical capacities and those of their vital functions (strength, mobility, coordination) and some of their haemochemical parameters To study this hypothesis, two groups of people undergoing recurrent dialysis were taken into consideration. The experimental group was made up of twelve people (seven men and five women) and the control group of seven people (five men and two women) between the ages of 60 and 85. The study protocol successfully demonstrated the validity and the benefits, both physical and psychological, which an elderly person undergoing dialysis can obtain by means of appropriate and constant physical activity.

KEYWORDS: Physical Activity, Elderly, Dialysis, Physical Abilities.

Riassunto.

Molti anziani vanno incontro ad una diminuzione della propria autonomia a causa della ridotta abilità dell'arto superiore e di conseguenza della mano. A tal proposito è stata elaborata la presente ipotesi: può un'attività fisica moderata, programmata per anziani fragili (dializzati) migliorare le capacità motorie e funzionali (forza, mobilità, coordinazione) e alcuni parametri ematochimici (azotemia, creatininemia). Per studiare tale ipotesi sono stati presi in considerazione 2 gruppi di soggetti sottoposti a dialisi periodica: il gruppo sperimentale costituito da 12 soggetti (7 maschi e 5 femmine) e il gruppo di controllo costituito da 7 soggetti (5 maschi e 2 femmine). Per entrambi i gruppi l'età è compresa tra 60 e 85 anni. Il protocollo di studio ha dimostrato efficacemente la validità e il giovamento sia fisico che psicologico che l'anziano in dialisi può ricevere attraverso un'adeguata e costante attività motoria.

PAROLE CHIAVE: Attività fisica, Anziani, Dializzati, Capacità motorie.

Introduzione

Gli anziani vedono progressivamente ridursi la propria autonomia per le limitate abilità dell'arto superiore e della mano. Particolarmente esposti sono gli anziani "fragili"; tra questi figurano

anche i dializzati. Ipotizzando che un'attività fisica moderata e programmata possa migliorare le capacità motorie e funzionali (forza, mobilità e coordinazione) ed alcuni parametri ematochimici (azotemia e creatininemia) sono stati

studiati due gruppi di soggetti dializzati. Il primo gruppo ha partecipato alla sperimentazione. Era costituito da dodici soggetti, sette maschi e cinque femmine di età compresa fra 60 ed 85 anni. Il gruppo di controllo era costituito da sette soggetti, cinque maschi e due femmine, anche questi con età compresa tra 60 ed 85 anni. E' stato formulato un protocollo di studio relativo alla funzionalità dell'arto superiore per tali soggetti, dializzati da lungo tempo. Questi infatti vivono in condizione di maggiore disagio quotidiano in quanto l'uso delle mani e dell'arto superiore sono di fondamentale importanza per il mantenimento dell'autonomia anche per i più semplici gesti quotidiani (vestirsi, svestirsi, pettinarsi, svitare ed avvitare il tappo di una bottiglia d'acqua, girare le pagine di un libro o di un quotidiano etc.) (1). Il protocollo di studio è stato eseguito nel reparto di emodialisi dell'Istituto Nazionale di Riposo e Cura Anziani, Ospedale Geriatrico di Ancona.

Materiali e metodi

Protocollo

L'attività motoria si è svolta due volte a settimana

per due mesi (ottobre-dicembre); la lezione è stata tenuta in forma individualizzata ed è stato utilizzato un metodo globale-misto-analitico. I principi fondamentali presi in considerazione nello svolgimento dell'attività motoria proposta all'anziano sono: la consapevolezza, la progressività e la continuità (2). È stata programmata un'attività motoria moderata per migliorare la funzionalità dell'arto superiore, secondo il principio della tassonomia: predisposizione degli esercizi, aumento del numero di esecuzione, di difficoltà e intensità (3). Gli obiettivi prefissati sono riportati nella tabella 1, mentre gli attrezzi utilizzati codificati, non codificati e di fortuna sono evidenziati nella tabella 2. Sia il gruppo sperimentale che il gruppo di controllo sono stati sottoposti ad una valutazione iniziale e finale tramite i seguenti test: valutazione dinamometrica per la forza totale della mano (handgrip) utilizzando un dinamometro a molla ad uso pediatrico Lafayette hand dynamometer modello 78011® della Lafayette Instrument Company (4); forza di opposizione pollice-indice (pinch-test) utilizzando un dinamometro pinch-test a pressione Jamar, Sammons, Pre-

Tab. 1: Obiettivi dello studio.

OBIETTIVI

- | | |
|---|--|
| - Prendere coscienza del proprio corpo, delle sue funzioni e delle sue possibilità residue. | - Migliorare la presa di forza, di precisione e di sostegno. |
| - Riacquistare fiducia nelle proprie capacità psico-fisiche. | - Migliorare la coordinazione fine oculo-manuale. |
| - Migliorare la mobilità articolare dell'arto superiore in particolare della mano. | - Favorire scambi interpersonali (altri anziani, medici, operatori). |
| - Migliorare la forza muscolare. | - Favorire il controllo dell'emotività, dell'impulsività e dell'autostima. |
| - Migliorare il tono muscolare. | |

Tab. 2: Attrezzi codificati, non codificati e di fortuna.

ATTREZZI UTILIZZATI

- | | |
|--|-----------------------------------|
| - palla zavorrata con impugnatura da 1kg | - cera pongo |
| - palline zavorrate da 400g, 800g | - gomito di lana |
| - palloni di spugna | - mollette di legno e di plastica |
| - palla propriocettiva | - foglio di quotidiano |
| - palline da tennis | - foglio di quaderno A4 |
| - palline di gommapiuma | - biglie |
| - bastoni costruiti artigianalmente con una bottiglia di sabbia da 500g, 1kg | - fiammiferi |
| - spugne da bagno | - cestino |
| - elastici per capelli | |

ston; valutazione goniometrica per l'estensione-flessione del polso; deviazione ulnare e radiale del polso; flessione metacarpofalangea e interfalangea del polso; abduzione metacarpofalangea (5); valutazione della coordinazione fine della mano con un test A (che si serviva di rondelle) ed un test B (avvitare e svitare un tappo di bottiglia) (6). Inoltre sono stati utilizzati test per la valutazione dell'autonomia delle attività della vita quotidiana (BADL indice di Katz) (7), e valutazione dell'autonomia nell'utilizzare mezzi/strumenti della vita quotidiana (IADL indice di Lawton) (8). Inoltre si è proceduto ad una valutazione psicologica tramite la somministrazione della Geriatric Depression Scale (GDS), test che evidenzia la presenza di sindromi depressive. Un questionario è stato sottoposto solo al gruppo sperimentale, alla fine dei due mesi, per conoscere le impressioni dei soggetti esaminati riguardo: l'attività svolta, la figura dell'operatore, la percezione dell'immagine di se stessi (9). Tutte le valutazioni sono state effettuate alle 11.30 ed alle 12.30 sia per il gruppo sperimentale che per quello di controllo.

Analisi statistica

Al termine della sperimentazione, sono state confrontate le variazioni nelle variabili tra prima (T0) e dopo (T1) il protocollo di attività proposto nel gruppo sperimentale e nel gruppo di controllo. A tal proposito ricordiamo che alla valutazione dinamometrica sono associate 4 variabili (forze di entrambe le mani e forza di opposizione pollice-indice); alla valutazione goniometrica sono associate 14 variabili (estensione polso e flessione polso, deviazione ulnare e radiale polso, flessione metacarpofalangea e interfalangea, abduzione metacarpofalangea) tutte calcolate per entrambe le mani; alla valutazione della coordinazione fine della mano 2 variabili (test A-rondelle e test B-bottiglia); alla valutazione

psicologica 1 variabile (GDS). Per quanto riguarda le valutazioni della BADL e della IADL, esse non saranno oggetto di ulteriori analisi statistiche perché non si sono riscontrati cambiamenti nella capacità di gestire le attività quotidiane nel periodo di riferimento in nessuno dei 2 gruppi. I risultati ottenuti dai test sui due campioni sono stati confrontati tramite il test statistico "t- student" che consente di confermare o meno l'ipotesi di partenza. Affinché sia possibile applicare la distribuzione t di student a test di verifica delle ipotesi è necessario rispettare le condizioni di validità ossia gli assunti di normalità ed omoschedasticità. Il livello di significabilità è stato fissato al 5% per tutte le analisi.

Risultati

Nel gruppo sperimentale sono stati riscontrati miglioramenti verificati attraverso risultati statisticamente significativi nella forza di opposizione pollice-indice, nella mobilità articolare, nella coordinazione fine della mano e nella Geriatric Depression Scale. I valori della forza di tutta la mano e dei parametri ematochimici quali l'azotemia e la creatinina, invece, non hanno evidenziato benefici rilevanti.

Per quanto riguarda la valutazione dinamometrica si nota che le medie dei 2 gruppi, all'inizio del periodo, sono piuttosto simili tra loro. Dopo il trattamento differiscono in modo più netto, non tanto per la forza delle mani quanto per il pinch test (tabella 3).

Le differenze nelle medie tra inizio e fine sperimentazione descrivono un generalizzato peggioramento nelle prestazioni del gruppo di controllo, contro i migliori risultati raggiunti dal gruppo sperimentale soprattutto nel pinch test.

I valori del t-test (tabella 4) confermano che solo la variabile pinch test (Fig.1) mostra delle differenze statisticamente significative. Infatti l'ipotesi nulla (l'inefficacia del programma di at-

Tab. 3: Confronto tra le variabili al tempo T0 e T1 nei due gruppi.

Variabili misurate al tempo T0 e T1	Gruppo	N° soggetti	Media T0	Media T1	Deviazione standard T0	Deviazione standard T1
Forza mano destra	Sperimentale	12	25,42	24,67	10,67	8,24
	Controllo	7	24,86	22,86	9,04	8,19
Forza mano sinistra	Sperimentale	12	22,42	22,67	10,14	7,96
	Controllo	7	21	18,86	8,41	8,76
Pinch test mano destra	Sperimentale	12	13,67	16,92	6,51	6,13
	Controllo	7	13,43	14	1,32	6,16
Pinch test mano sinistra	Sperimentale	12	13,67	16,33	5,68	4,73
	Controllo	7	11,14	10,71	3,24	4,6

Tab. 4: T-test sulle variabili tra il tempo T0 e T1 nei due gruppi.

Variabili	Gruppo	Media (T1-T0)	T-test	GDL	Ipotesi nulla
Forza mano destra	Sperimentale	-0,75	-0,516	11	non rifiutata
	Controllo	-2	-1,27	6	non rifiutata
Forza mano sinistra	Sperimentale	0,25	0,175	11	non rifiutata
	Controllo	-2,14	-1,56	6	non rifiutata
Pinch test mano destra	Sperimentale	3,25	2,7	11	rifiutata
	Controllo	0,57	0,436	6	non rifiutata
Pinch test mano sinistra	Sperimentale	2,66	2,44	11	rifiutata
	Controllo	-0,43	-0,55	6	non rifiutata

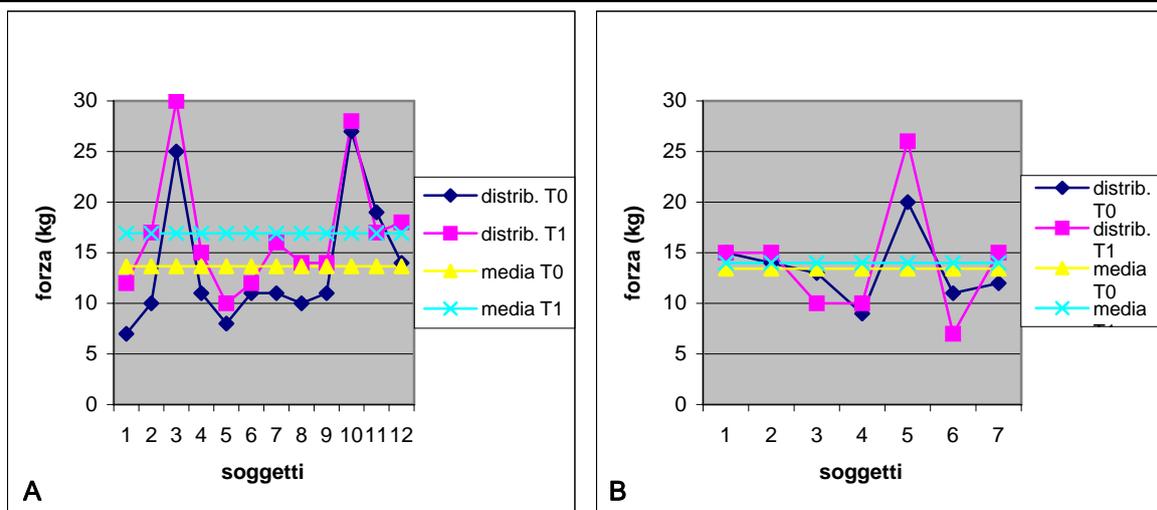


Fig. 1: Valori del test di valutazione della forza di opposizione pollice-indice (pinch-test) della mano destra all'inizio (tempo T0) e alla fine (tempo T1) del protocollo di studio. A: gruppo sperimentale. B: gruppo di controllo. Come si nota dai grafici, l'asse delle ascisse rappresenta il numero dei soggetti mentre l'asse delle ordinate rappresenta la forza muscolare in Kg. La linea di distribuzione T0 (linea blu), indica la forza di opposizione di ciascun soggetto all'inizio (tempo T0) mentre la linea di distribuzione T1 (linea fucsia) indica la forza di opposizione di ciascun soggetto alla fine (tempo T1) del protocollo di studio. A differenza del gruppo di controllo (grafico B) in quello sperimentale (grafico A) si evince che i valori della media T1 (linea celeste) sono più alti rispetto ai valori della media T0 (linea gialla); ciò dimostra che si sono ottenuti ottimi risultati nel test di valutazione.

tività motoria) è stata rifiutata. Ciò significa che il gruppo sperimentale ha migliorato la forza di opposizione pollice-indice mentre non ha tratto benefici rilevanti la forza della mano, probabilmente perché occorreva un arco di tempo maggiore.

Per la valutazione goniometrica i valori medi nel gruppo sperimentale registrano, tra i due tempi di rilevazione, una decisa impennata per tutte le variabili, al contrario di quanto avviene per il gruppo di controllo, che assiste ad un peggioramento medio di tutte le funzionalità motorie di carattere goniometrico (tabella 5). I t-test, calcolati sulle variabili goniometriche confermano quasi interamente quanto atteso. Per quasi tutte le variabili del campione speri-

mentale l'ipotesi nulla (l'inefficacia del programma di attività motoria) è stata rifiutata. Tutti gli esercizi quindi, sono risultati particolarmente validi nel migliorare le funzionalità goniometriche, tranne quelli relativi all'estensione del polso della mano destra e all'abduzione metacarpofalangea della mano sinistra per conseguenza della dialisi (tabella 6).

Per la coordinazione fine della mano le differenze delle medie tra il tempo T1 e T0 (tabella 7) mostrano che tra prima e dopo l'esecuzione del programma i soggetti del gruppo sperimentale hanno decisamente ridotto il tempo medio di realizzazione dei test, registrando ottimi risultati. Il gruppo di controllo, nello stesso periodo di tempo e senza essere sottoposto a nessun

Tab. 5: Confronto tra le variabili goniometriche al tempo T0 e T1 nei due gruppi.

Variabili misurate al tempo T0 e T1	Gruppo	N° soggetti	Media T0	Media T1	Deviazione standard T0	Deviazione standard T1
Estensione polso m.d.	Sperimentale	12	72,58	81,67	14,14	11,64
	Controllo	7	64,29	51,43	21,49	20,35
Estensione polso m.s.	Sperimentale	12	45,92	68,33	20,09	14,67
	Controllo	7	65,71	45,71	11,92	25,73
Flessione polso m.d.	Sperimentale	12	69,58	78,33	18,64	11,93
	Controllo	7	54,29	44,29	11,34	12,72
Flessione polso m.s.	Sperimentale	12	63,33	81,67	16,7	9,37
	Controllo	7	55,71	38,57	22,99	21,93
Dev. Ulnare m.d.	Sperimentale	12	35,17	46,67	17,06	9,85
	Controllo	7	34,29	25,57	18,13	9,86
Dev. Ulnare m.s.	Sperimentale	12	32,92	42,5	15,73	16,58
	Controllo	7	37,14	26,43	12,53	11,8
Dev. Radiale m.d.	Sperimentale	12	26,33	46,67	11,32	13,03
	Controllo	7	28,57	22,86	13,45	9,51
Dev. Radiale m.s.	Sperimentale	12	28,42	55	11,6	19,77
	Controllo	7	30	24,29	16,33	13,97
Fles. Metacarp. m.d.	Sperimentale	12	2,89	3,88	0,95	0,61
	Controllo	7	3,21	2,43	0,81	0,73
Fles. Metacarp. m.s.	Sperimentale	12	2,54	3,92	0,89	0,79
	Controllo	7	2,86	2,21	0,63	0,76
Fles. Interfal. m.d.	Sperimentale	12	1,59	2,25	0,64	0,34
	Controllo	7	2	1,39	0,76	0,51
Fles. Interfal. m.s.	Sperimentale	12	1,52	2,33	0,65	0,49
	Controllo	7	1,87	1,5	0,63	0,5
Abduz. Metac. m.d.	Sperimentale	12	23,08	24,88	2,33	2,43
	Controllo	7	21,31	20,63	2,4	2,41
Abduz. Metac. m.s.	Sperimentale	12	24,04	24,73	2,6	2,05
	Controllo	7	21,14	20,56	1,92	2,37

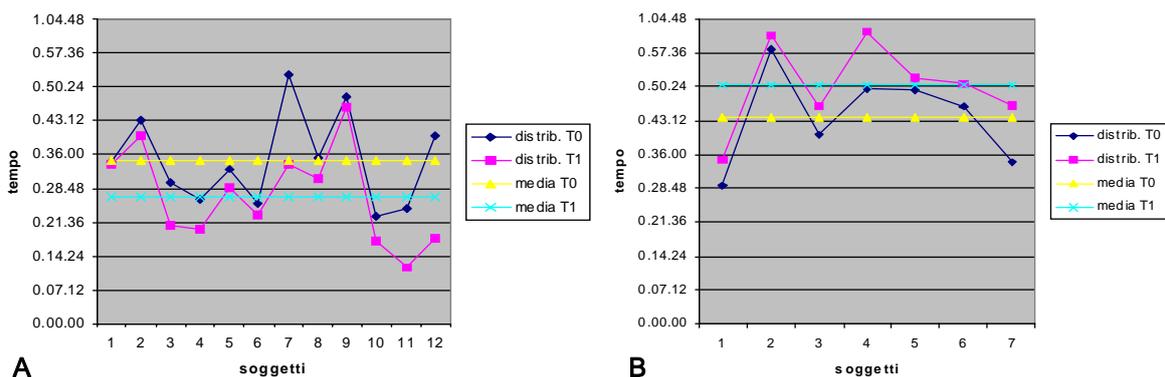


Fig. 2: Valori del test A della coordinazione fine della mano all'inizio (T0) e alla fine (T1) del protocollo di studio. A: gruppo sperimentale. B: gruppo di controllo. Dai grafici si nota che l'asse delle ascisse rappresenta il numero dei soggetti mentre l'asse delle ordinate il tempo impiegato nell'esecuzione del test - A. La linea di distribuzione T0 (linea blu) indica il tempo di esecuzione del test- A di ogni soggetto all'inizio (T0) mentre la linea di distribuzione T1 (linea fucsia) indica il tempo di esecuzione del test di ogni soggetto alla fine (T1) del protocollo di studio. A differenza del gruppo di controllo (grafico B) in quello sperimentale (grafico A) si evince che i valori della media T1 (linea celeste) sono diminuiti rispetto ai valori della media T0 (linea gialla); ciò dimostra una diminuzione del tempo di esecuzione ottenendo così ottimi risultati nel test di valutazione.

Tab. 6: T-test sulle variabili goniometriche tra il tempo T0 e T1 nei due gruppi.

Variabili	Gruppo	Media (T1-T0)	T-test	GDL	Ipotesi nulla
Estensione polso m.d.	Sperimentale	9,09	0,79	11	non rifiutata
	Controllo	-12,86	-1,55	6	non rifiutata
Estensione polso m.s.	Sperimentale	22,41	2,74	11	rifiutata
	Controllo	-20	-2,1	6	non rifiutata
Flessione polso m.d.	Sperimentale	8,75	1,83	11	rifiutata
	Controllo	-10	-1,49	6	non rifiutata
Flessione polso m.s.	Sperimentale	18,34	2,38	11	rifiutata
	Controllo	-17,14	-1,96	6	non rifiutata
Dev. Ulnare m.d.	Sperimentale	11,5	2,14	11	rifiutata
	Controllo	-8,72	-1,1	6	non rifiutata
Dev. Ulnare m.s.	Sperimentale	9,58	1,83	11	rifiutata
	Controllo	-10,71	-1,96	6	non rifiutata
Dev. Radiale m.d.	Sperimentale	20,34	2,87	11	rifiutata
	Controllo	-5,71	-1,17	6	non rifiutata
Dev. Radiale m.s.	Sperimentale	26,58	2,57	11	rifiutata
	Controllo	-5,71	-1,51	6	non rifiutata
Fles. Metacarp. m.d.	Sperimentale	0,99	2,6	11	rifiutata
	Controllo	-0,78	-1,83	6	non rifiutata
Fles. Metacarp. m.s.	Sperimentale	1,38	2,9	11	rifiutata
	Controllo	-0,65	-1,6	6	non rifiutata
Fles. Interfal. m.d.	Sperimentale	0,66	2,52	11	rifiutata
	Controllo	-0,61	-1,52	6	non rifiutata
Fles. Interfal. m.s.	Sperimentale	0,81	2,58	11	rifiutata
	Controllo	-0,37	-1,81	6	non rifiutata
Abduz. Metac. m.d.	Sperimentale	1,8	2,54	11	rifiutata
	Controllo	-0,68	-1,54	6	non rifiutata
Abduz. Metac. m.s.	Sperimentale	0,69	0,84	11	non rifiutata
	Controllo	-0,58	-0,95	6	non rifiutata

Tab. 7: Confronto tra le variabili di coordinazione fine della mano e GDS al tempo T0 e T1.

Variabili misurate al tempo T0 e T1	Gruppo	N° soggetti	Media T0	Media T1	Deviazione standard T0	Deviazione standard T1
Test A (rondelle)	Sperimentale	12	0.34.45	0.27.10	0,007	0,007
	Controllo	7	0.44.01	0.50.42	0,028	0,006
Test B (bottiglia)	Sperimentale	12	0.07.18	0.04.31	0,003	0,001
	Controllo	7	0.12.06	0.18.04	0,008	0,005
Geriatric Depr. Scale	Sperimentale	12	15,50	13,00	6,76	5,8
	Controllo	7	15,29	18,43	7,89	8,36

tipo di esercizio, ha visto allungare i tempi medi di esecuzione dei test, sinonimo questo di un peggioramento delle proprie capacità di coordinazione (Fig. 2).

A confermare queste considerazioni intervengono i risultati dei t-test sulle due variabili (tabella 8). Infatti nel gruppo sperimentale l'ipotesi nulla (l'inefficacia del programma di attività motoria) è stata rifiutata.

Nella Geriatric Depression Scale il punteggio medio del gruppo sperimentale si è ridotto di 2,5 punti, mentre nel gruppo di controllo lo stato depressivo si è aggravato di oltre 3 punti

(tabelle 7-8) (Fig.3). Quindi nella Geriatric Depression Scale in alcuni soggetti si è verificata una gratificante ripresa del tono dell'umore che sembrava abbassatosi vertiginosamente a causa dei continui ricoveri ospedalieri, del lento progredire della malattia e della presunta impossibilità di continuare un'esperienza di vita socialmente partecipativa.

Per i parametri ematochimici le medie dei due tempi mostrano un leggero aumento dei livelli ematici di azotemia nel campione sperimentale (legati al progressivo decorso della patologia) ed una sostanziale stabilità degli stessi valori

Tab. 8: T-test sulle variabili di coordinazione fine della mano e GDS tra il tempo T0 e T1.

Variabili	Gruppo	Media (T1-T0)	T-test	GDL	Ipotesi nulla
Test A (rondelle)	Sperimentale	- 0.07.34	2,51	11	rifiutata
	Controllo	0.06.40	2,14	6	non rifiutata
Test B (bottiglia)	Sperimentale	- 0.02.47	2,16	11	rifiutata
	Controllo	0.05.58	2,07	6	non rifiutata
Geriatric Depr. Scale	Sperimentale	-2,50	-3,03	11	rifiutata
	Controllo	3,14	2,15	6	non rifiutata

Tab. 9: Confronto tra le variabili al tempo T0 e T1 nei due gruppi.

Variabili misurate al tempo T0 e T1	Gruppo	N°soggetti	Media T0	Media T1	Deviazione standardT0	Deviazione standard T1
Azotemia	Sperimentale	12	173,25	180,58	44,69	36,49
	Controllo	7	139,57	148	34,66	49,43
Creatinina	Sperimentale	12	9,73	9,73	1,62	2,22
	Controllo	7	10,17	10,53	1,83	2,23

Tab. 10: Confronto tra le variabili al tempo T0 e T1 nei due gruppi.

Variabili	Gruppo	Media (T1-T0)	T-test	GDL	Ipotesi nulla
Azotemia	Sperimentale	7,33	1,016	11	non rifiutata
	Controllo	8,43	0,962	6	non rifiutata
Creatinina	Sperimentale	-0,01	-0,018	11	non rifiutata
	Controllo	0,36	0,825	6	non rifiutata

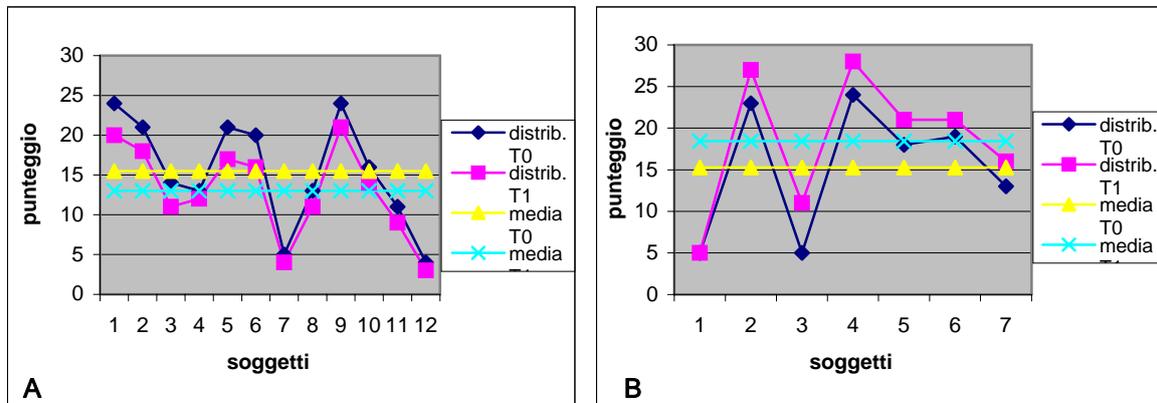


Fig. 3: Valori del test di valutazione psicologica "Geriatric Depression Scale (GDS)" all'inizio (tempo T0) e alla fine (tempo T1) del protocollo di studio. A: gruppo sperimentale. B: gruppo di controllo. Come si nota dai grafici, l'asse delle ascisse rappresenta il numero dei soggetti mentre all'asse delle ordinate rappresenta il punteggio del test. La linea di distribuzione T0 (linea blu) indica il punteggio del test ottenuto da ciascun soggetto all'inizio (T0) mentre la linea di distribuzione T1 (linea fucsia) indica il punteggio del test ottenuto da ciascun soggetto alla fine (T1) del protocollo di studio. A differenza del gruppo di controllo (grafico B) in quello sperimentale (grafico A) si evince che i valori della media T1 (linea celeste) sono diminuiti rispetto ai valori della media T0 (linea gialla); ciò dimostra che si sono ottenuti ottimi risultati nel test di valutazione infatti lo stato depressivo risulta migliorato.

nel gruppo di controllo. La creatininemia invece non subisce nessuna variazione nei due periodi in entrambi i campioni (tabella 9).

Con i risultati del t-test entrambe le ipotesi nulle (l'inefficacia del programma di attività motoria)

testate sui due campioni sono non rifiutate (tabella 10). Il programma di attività motoria quindi non ha influenza sui valori ematochimici scelti.

Discussione

Il gruppo sperimentale ha trovato riscontri molto positivi nell'applicazione del protocollo formulato. Questo dimostra che l'ipotesi iniziale ha avuto un esito favorevole e può essere convalidata. D'altro canto si evidenzia come nel gruppo di controllo, l'inattività tende a creare un decadimento parziale e spesso progressivo di alcune abilità anche in un lasso di tempo breve. Un'adeguata e costante attività motoria ha mirato a valorizzare le potenzialità attive dei pazienti ed a farli riappropriare delle abilità motorie non del tutto perse con l'involuzione fisiologica e con l'inattività dell'arto superiore ed in particolare della mano che rappresenta per l'uomo un impareggiabile strumento di espressione e di sensazione, capace di compiere migliaia di operazioni diverse (10,11).

La funzionalità della mano è stata messa in relazione con il livello dell'attività fisica. Si può confermare che c'è una stretta correlazione tra il numero di ore settimanali di esercizio fisico ed i risultati ottenuti nel protocollo di studio. In letteratura la forza della mano è spesso usata come un indicatore della forza generale dei soggetti (9,12). Il miglioramento ottenuto fa pensare che l'effetto allenante possa essere legato anche ad un perfezionamento dei programmi motori centrali. Si conferma quindi l'ipotesi di Sale per cui l'acquisizione di una maggiore abilità nel controllo motorio comporta una più coordinata e completa attivazione dei muscoli (13,14). È indispensabile, pertanto, nella terza età prolungare l'indipendenza del soggetto, migliorare e mantenere la funzionalità motoria, elevare la qualità della vita in rapporto alla sofferenza, in modo da affrontare con maggior destrezza e sicurezza la vita di tutti i giorni.

Bibliografia

1. Federici A, Tacconi T: Chinesiologia preventiva e rieducativa dell'arto superiore nell'anziano. Quaderni di attività motoria. Ed. Montefeltro, Urbino, 2005.
2. Federici A, Valentini M, Tonini Cardinali C: Sportivamente anziano. Proposte operative per la terza età. Ed. Montefeltro, Urbino, 2000.
3. Vicenzini O: Aspetti preventivi e rieducativi della ginnastica correttiva. Disturbi psicomotori, problematiche motorie della terza età, rachialgie, lesioni traumatiche sportive, ginnastica in acqua. Ed. Margiacchi-Galeno, Perugia, 2000.
4. Era P, Viitasalo JT, Heikkinen E, Determinants of isometric muscle strength in men of different ages. *Eur J Appl Physiol* 1992; 64: 84-91.
5. Clarkon HM, Gilewich G: Valutazione cine-siologica. Esame della mobilità articolare e della forza muscolare. Ed. Edi- Ermes, Milano, 19-96.
6. Forni I, Cappellini O: Compendio di meccanica articolare. Ed. Argalia, Urbino, 1987.
7. Heyward H. Vivian. Advanced fitness assessment and exercise prescription. Ed. Human Kinetics Publishers, Atlanta, 2006.
8. Cappellini O: Chinesiologia rieducativa e riabilitativa dell'apparato locomotore. Ed. Argalia, Urbino, 1992.
9. Imeroni A: L'attività motoria nella grande età. Ed. Carocci, Roma, 2002.
10. Durafourg MP, Levame JH: La rieducazione del traumatizzato della mano. Ed. Marrapese, Roma, 1998.
11. Latham Duvekot. Promoting Physical Activity, a guide for community action. Ed. Human Kinetics Publishers, Atlanta, 1996.
12. Sherphard RJ, Montelpare W, Plyley M, McCracken D, Goode Rc. Handgrip Dynamometry, Cibex measurements and lean mass as markers of the ageing of muscle function. *Br J Sport Med.*, 1991; 25 (4): 204-208.
13. Bassey EJ, Harries UJ. Normal values for handgrip in 920 men and women aged 65 years, and longitudinal changes over 4 years in 620 survivors. *Clin Sci (London)*, 1993; 84 (3): 331-337.
14. Sale D.G. Neural Adaptation to Resistance Training. *Med. Sci. Sports Exercises* 199-8; 20: 135-145.

TELOMERASE ACTIVITY AND TELOMERIC STATES IN CELL PROLIFERATIVE AND DIFFERENTIATIVE MECHANISMS.

L'ATTIVITÀ TELOMERASICA E GLI STATI DEI TELOMERI NEI MECCANISMI DI PROLIFERAZIONE E DIFFERENZIAMENTO CELLULARE.

Tiziana Loria, Simona Corrao, Francesca Magno, Melania Lo Iacono, Rita Anzalone, Giampiero La Rocca.

CAPSULA EBURNEA, 3(17):1-5, 2008.

Sezione di Anatomia Umana,
Dipartimento di Medicina
Sperimentale,
Università degli Studi di Palermo,
Italy.

Correspondence:

Dr. Giampiero La Rocca:
giampylr@hotmail.com

Received: November 14th, 2008

Revised: November 24th, 2008

Accepted: November 27th, 2008

No conflicts of interest were declared.

REVIEW

Language of the Article: English.

Abstract.

Telomeres are DNA-protein complexes playing an important role in the maintenance of genome integrity. Telomerase is the enzyme acting as a template for addition of new telomeric repeats; this addition is essential for those cellular populations that have proliferative and differentiative potential.

Telomerase and associated proteins are essential in response to DNA damage. Moreover, telomere-associated proteins as TRF2 are involved in all signalling transduction pathway which drive cellular proliferation and differentiation. In somatic cells, shortening of telomeres contributes to the onset of senescence or apoptosis; tissues which require cellular renewal express telomerase activity in order to compensate telomeric shortening. Telomerase activity remains detectable in adult stem cells populations and in cells with high proliferative potential. Reactivation of telomerase activity may be a pathogenetic characteristic of neoplastic cellular population favouring tumoral proliferation and progression.

Riassunto.

I telomeri sono complessi DNA-proteine che giocano un ruolo importante nel mantenimento dell'integrità genomica. La telomerasi è l'enzima che agisce da template per l'addizione di unità ripetitive telomeriche; quest'addizione è essenziale per il mantenimento del potenziale proliferativo di diverse popolazioni cellulari. La telomerasi e le proteine associate risultano fondamentali nella risposta al danno genomico. Inoltre proteine associate ai telomeri come TRF2 sono coinvolte in tutti i pathway di trasduzione del segnale che dirigono la proliferazione e il differenziamento cellulare. Nelle cellule somatiche l'accorciamento dei telomeri contribuisce all'insorgenza di patologie legate alla senescenza e all'apoptosi; i tessuti che richiedono un rinnovamento cellulare esprimono l'attività telomerasica che compensa il progressivo accorciamento telomerico. L'attività telomerasica rimane rilevabile nelle popolazioni staminali adulte e nelle cellule che hanno un alto potenziale proliferativo. La riattivazione dell'attività telomerasica può anche essere una caratteristica patogenetica di popolazioni cellulari neoplastiche, favorendo la proliferazione e progressione tumorale.

PAROLE CHIAVE: telomerasi, telomere, cellule staminali, apoptosi, senescenza, cellule tumorali.

Introduction to the telomere biology

Telomeres are DNA-protein complexes located at the ends of eukaryotic chromosomes that play an important role in maintaining the integrity of the genome. They are characterized by guanine-rich repetitive DNA and associated proteins. During cell division, telomeric DNA (30-100 base pairs) is lost because of the end-replication problem. Therefore, when normal cells reach a critical telomere length, they exit the cell cycle, enter M2 (mortality stage 2) crisis and undergo senescence (1). This phenomenon renders telomere length as a mitotic clock for cellular life span.

Highly dynamic telomeres play a critical role in the maintenance of chromosomal integrity, their length as well as their dynamics are heterogeneous in human cellular populations, but every cell division is accompanied by a loss of 30-100 base pairs of telomere repeats.

Telomerase is a ribonucleoprotein reverse transcriptase. It has a RNA component (human telomerase RNA component) called hTERC (gene *tTERC*, 5p15.33) which acts as a template for addition of new telomeric repeats, and a catalytic subunit (human telomerase reverse transcriptase) called hTERT (gene *hTERC*, 3q26). Many cellular populations (as germ and stem cells) continue dividing throughout their life, therefore requiring the addition of new telomeres to their chromosomes to replace sequences lost during cell divisions (2).

Each chromosome needs to be capped at its ends by a minimum number of telomere repeats to prevent activation of a DNA damage response, leading to genome instability or cell death. This capped structure consists of a T-loop, in which the single-stranded 3'-end of the chromosome folds back into double-stranded telomere repeats (3).

In normal somatic cells, mean telomere length is 10 kilobases (kb), stem cells of tissues undergoing cyclic renewal have an average telomere length of 12 kb, while germ cells and cells from fetal tissues have an average length of 15-20 kb and maintain their telomeres; cancer cells have a mean telomere length of about 5 kb (range 2-9kb) (4).

Mechanisms of telomeric ends maintenance in cellular physiology and pathology

Cancer cells, which have acquired a high proliferative potential, go beyond replicative senescence by activating the enzyme telomerase, which reactivates synthesis of TTAGGG hexanucleotide repeats onto shortened telomeres, hence stabilizing their length.

All human tumor cell lines and 85% of human cancer tissues have been shown to possess own telomerase activity; by contrast normal tis-

sues nearby tumor and human somatic cells, other than stem cells, do not possess detectable levels of telomerase. Accordingly, tumor growth depends on the acquisition of the immortal phenotype by the malignant cells (2).

Telomere protection depends on several factors, including the precise composition of telomere-associated proteins, the level of telomerase activity and telomere length itself. When the cells have long telomeres, telomerase activity is not requested, but when the cells reach a critically short telomere length, restoration of the telomerase activity becomes essential to avoid chromosomal end-to-end fusions, replicative senescence and apoptosis (5).

The synthesis of telomeric DNA requires the activity of specialized telomere-associated proteins (TRF1 and TRF2, telomeric binding factors 1 and 2) together with the telomerase activity compensates telomere shortening, stabilizing chromosomal length. In contrast to somatic cells, germ, stem and tumor cells, as well as immortalized cell lines, maintain high levels of telomerase activity. As a result, these cells have longer telomeres and preserve a relative proliferative potential. Telomerase-dependent transcriptional regulation of genes involved in cell growth has been recently suggested as an additional mechanism by which telomerase promotes cell proliferation independently of telomere length maintenance (6).

Regardless of transcriptional regulation of hTERT expression, TERT and TRF2 have a key role in response to genomic damage in differentiation and maturation processes. So telomere associated proteins, like TRF2, are involved in transduction pathways that direct cellular proliferation and differentiation. As a general rule, we observe greater level of telomerase activity during embryonic development and low or undetectable levels soon after birth (7).

Human telomerase activity (hTERT) remains detectable in adult stem cell populations, and in cells with high proliferative potential, such as activated lymphocytes. TRF2 binds directly to double-stranded telomeric DNA and facilitates T-loop formation, thus avoiding cellular senescence and apoptosis by protecting telomeres and/or inhibiting telomere-associated DNA damage response pathways.

Telomere damage can trigger apoptosis by activating a DNA damage response pathway involving ATM and p53, with subsequent mitochondrial changes resulting in the release of cytochrome C and caspase activation; apoptosis related to telomere damage may or may not require release of cytochrome C from mitochondria and caspase activation. An interesting study showed that newly generated neurons

(NGNs) are highly sensitive to telomere damage compared with neural progenitor cells (NPCs) and mature neurons (MNs). While the overexpression of TRF2 in NGNs suppressed DNA damage response and protected NGNs against apoptosis, knock-out of TERT sensitized NPCs to DNA damage. This study suggested that telomere damage-induced cell death of NGNs require PARP1 activation but is independent of caspase activation (8). The upregulation of TRF2 during brain development indicates that there is an evolution of telomere structures from a dynamic state (NPC stage) to a stable state and TRF-dependent T-loop structure in postmitotic neurons, indicating TRF2 as an important protein involved in cell differentiation and survival.

In telomere checkpoint response, p53, a tumor suppressor, has a key place. For example it has been shown that p53 inactivation enhances survival of cells with short and dysfunctional telomeres leading to neoplastic process (9). Moreover, p53 deficiency accelerates tumorigenesis in vivo (10). In human colon and pancreatic cancer it has been observed that genetic instability during carcinogenesis should be linked to telomere dysfunction (as shortening) as early event in tumorigenesis (11). Therefore, telomere length can be used as a predictor of benign-to-malignant progression, and its use as a diagnostic marker for cancer diagnosis or prognosis has been proposed (12). In support of this evidence there is the finding that shortened telomeric DNA results in nonhomologous end joining of telomeric DNA, leading to loss of telomere function and genomic instability (13). Telomere shortening in somatic cells is thought to contribute to aging and associated disorders, therefore when normal tissue function maintenance requires cellular renewal, telomerase allows cells overcoming one of the fundamental limitations to mammalian cell immortality, the progressive loss of telomeric DNA (4).

Many studies have shown that telomere length of peripheral blood lymphocytes (PBL) is linked with the risk of developing atherosclerosis, premature myocardial infarctions and coronary disease. Further evidences link telomere states with Alzheimer's disease progression and with overall mortality. In particular, for neoplastic diseases, this progressive shortening appear statistically significantly associated with an increased risk to develop human carcinomas of the head, neck, kidney, bladder, lung and renal cells (14).

There are other possibilities by which telomere length influence tumorigenesis, since further shortening processes, genetic differences in telomere degradation kinetics or in cell turnover should be connected with greater risk for can-

cer. Environmental stresses (as smoking) may accelerate likely the shortening process and finally immune-cells senescence derived from shortened telomeres should lead to decreased immune surveillance of emerging cancer (15). DNA damage in the form of telomere shortening can be linked to either apoptosis or senescence, depending on a functional p53-dependent DNA arrest pathway; a relation between telomerase and apoptosis is clear, in the sense of nuclear fragmentation events observed in apoptosis influenced by telomerase, however telomerase activation itself is important in preventing, for example, neoplastic transformation of large vessel human endothelial cells (16).

Telomeres and stem cells

Organism homeostasis requires for several organs a continuous process of cellular loss and renewal. When cellular loss exceeds proliferation, there is a decline and failure in organ function. This process leads to progressive functional compromise that clinically means frailty, accelerated aging and death. The maintenance of a proliferative cell reservoir, namely adult stem cells, allows tissue renewal and organ function.

Since stem cells have extended proliferative capacity, they should bear a mechanism that preserves telomere length for many cell divisions. Multiple evidences showed low but detectable levels of telomerase activity in human adult stem cells, haematopoietic (HSC) and non-haematopoietic stem cells (NHSC), such as neuronal, skin, intestinal crypt, mammary epithelial, pancreas, adrenal cortex, kidney and mesenchymal stem cells (17) and consequently the telomeres of these cell types slowly shorten.

Human mesenchymal stem cells (MSCs), as example of NHSC, can replicate around 40-50 population doublings and they don't exhibit high level of telomerase activity, but they have significant proliferative and differentiative ability even at early passages. Moreover overexpression of telomerase, in hMSCs, result in the elongation of telomeres, so the maintenance of a minimum level of telomerase activity preserves regenerative capacity and differentiation potential. MSCs show a telomere profile similar to lymphocytes, they can be grown until senescence (18), but most importantly they have a low degree of random fluctuation in the telomere dynamics, and in addition telomerase activity, while elongating telomeres, maintains a telomere profile similar to that of lymphocytes (19). There are many characteristics of stem cells that could diminish telomere dynamics during proliferation, as asymmetric cell division

and immortal strand segregation, telomere elongation by regulation of telomerase activity and furthermore alternative lengthening pathway (ALT) based on replicative mechanisms or both the last two.

Embryonic stem cells are likely to be potentially immortal and capable of indefinite self-renewal, with the ability to differentiate and contribute to the germ line. Embryonic stem cells and undifferentiated embryonal carcinoma (EC) cell display high levels of telomerase activity and hTERT expression that are downregulated during differentiation (20); the maintenance of telomerase activity during differentiation of ESCs give several advantages like proliferation, resistance to apoptosis and oxidative stress, and enhanced differentiation by expansion of the progenitor cellular population.

On the other hand, the high proliferative rate of ESC should cause the formation of tumors *in vivo*, and tumorigenesis is one of the major non-ethical obstacles to ESC use in regenerative medicine.

Another point that should be focused is the possibility that somatic stem cells, during the adult life, should accumulate mutations, due for example to the prolonged exposition of the parental DNA strand to mutagenic injuries. Some of these mutations may target cancer relevant genes, and several literature reports suggested that cancers may arise from the malignant transformation of normal stem cells, generating the so-called "cancer stem cells" (21). When telomeric maintenance systems are involved in this transformation process, several evidences demonstrated that tissue stem cells with telomere dysfunction can react physiologically in two ways: first of all, cells can undergo apoptosis or enter in a senescence pathway. Otherwise, cells can maintain their proliferative activity with subsequent generation of genomic instability.

In most cases, the response is the progressive loss of stem cells, and accordingly loss of tissue regenerative ability and aging. Apoptotic loss of progenitor cells has been showed in some models, for example as an increase of apoptosis of germ cells of testes and crypt cells of the intestine in response to shortened and dysfunctional telomeres (22).

Conclusions

Telomeres and telomerase represent sophisticated cellular homeostatic systems, by which telomere length and integrity are tightly supervised. Telomere dysfunction may be one of the molecular causes of genetic instability because on the other side telomere function could be pictured as regulating and channelling the active and sensitive surveillance of DNA damage

response, detecting a single break and modulating an appropriate cellular response. Shortening of telomeres is associated with telomerase activity for the reason that high telomerase activity results in increased proliferation of cells with DNA damage. Telomeric integrity is essential for the stability of chromosomes and so telomerase is a target for therapeutic approaches, with telomerase inhibitors for cancer treatment being developed (23). Research on telomere-telomerase dynamics in stem cells can show the way to the knowledge on therapies in ageing-related diseases and cancers, giving important cues for clinical transplantation approaches.

References

1. Chan SRWL, Blackburn EH: Telomeres and telomerase. *Phil Trans R Soc Lond* 2003;359:109-121.
2. Shay JW, Bacchetti S: A survey of telomerase activity in human cancer. *Eur J Cancer* 1997;33:787-791.
3. Lansdorp PM: Telomeres, stem cells, and haematology. *Blood* 2008;111:1759-1766.
4. Phatak P, Burger AM: Telomerase and its potential for therapeutic intervention. *Br J Pharmacol* 2007;152:1003-1011.
5. Edo MD, Andrès V: Aging, telomeres, and atherosclerosis. *Cardiovasc Res* 2005;66:213-221.
6. Fuster JJ, Andrès V: Telomere biology and cardiovascular disease. *Circ Res* 2006;99:1167-1180.
7. Prowse KR, Greider CW: Developmental and tissue-specific regulation of mouse telomerase and telomere length. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995;92:4818-4822.
8. Cheng A, Shin-ya K, Wan R, Tang S, Miura T, Tang H, Khatri R, Gleichman M, Ouyang X, Park DLH, Chiang JY, Mattson MP: Telomere protection mechanisms change during neurogenesis and neuronal maturation: newly generated neurons are hypersensitive to telomere and DNA damage. *J Neurosci* 2007;27:3722-3733.
9. Wong KK, Maser RS, Bachoo RM, Menon J, Carrasco DR, Gu Y: Telomere dysfunction and ATM deficiency compromises organ homeostasis and accelerates ageing. *Nature* 2003;421:643-648.
10. Hackett JA, Feldser DM, Greider CW: Telomere dysfunction increases mutation rate and genomic instability. *Cell* 2001;106:275-286.
11. Takagi S, Kinouchi Y, Hiwataishi N, Chida M, Nagashima F, Takahashi S: Telomere shortening and the clinicopathologic characteristics of human colorectal carcinomas. *Cancer* 1999;86:1431-1436.
12. Hiyama E, Hiyama K: Telomerase as tumor

- marker. *Cancer Lett* 2003; 194:221-233.
13. Chan SW, Blackburn EH. Telomerase and ATM/Tel1p protect telomeres from nonhomologous end joining. *Mol Cell* 2003;11:1379-1387.
 14. Wu X, Amos CI, Zhu Y, Zhao H, Grossman BH, Shay JW, Luo S, Hong WK, Spitz MR. Telomere dysfunction: a potential cancer predisposition factor. *J Nat Cancer Inst* 2003;95:1211-1218.
 15. Wong KK, De Pinho R: Walking the Telomere Plank Into Cancer. *J Nat Cancer Inst* 2003; 95:1184-1186.
 16. Yang J, Chang E, Cherry AM, Bangs CD, Oei Y, Bodnar A, Bronstein A, Chiu CP, Herron S: Human endothelial cell life extension by telomerase expression. *J Biol Chem* 1999;274:26141-26148.
 17. Hiyama E, Hiyama K: Telomere and telomerase in stem cells. *Br J Cancer* 2007;96:1020-1024.
 18. Graakjaer J, Christensen R, Kolvraa S, Serakinci N: Mesenchymal stem cells with high telomerase expression do not actively restore their chromosome arm specific telomere length pattern after exposure to ionizing radiation. *BMC Mol Biol* 2007;8:49.
 19. Serakinci N, Graakjaer J, Kolvraa S: Telomere stability and telomerase in mesenchymal stem cells. *Biochimie* 2008;90:33-40.
 20. Armstrong L, Saretzki G, Peters H, Wappler I, Evans J, Hole N, von Zglinicki T, Lako M: Overexpression of telomerase confers growth advantage, stress resistance, and enhanced differentiation of ESCs toward the haematopoietic lineage. *Stem Cells* 2005;23:516-529.
 21. McEachern MJ, Krauskopf A, Blackburn EH. Telomeres and their control. *Annu Rev Genet* 2000;34:331-358.
 22. Sharpless NE, DePinho RA: Telomeres, stem cells, senescence, and cancer. *J Clin Invest*, 2004;113:160-168.
 23. Mu J, Wei LX: Telomere and telomerase in oncology. *Cell Res* 2002;12:1-7.

MR IMAGING IN ACUTE MARCHIAFAVA-BIGNAMI DISEASE: A CASE REPORT

IMAGING IN RISONANZA MAGNETICA NELLA MALATTIA DI MARCHIAFAVA-BIGNAMI IN FORMA ACUTA: CASE REPORT

Giovan Battista Lo Piparo¹, Alessandro Schiavello², Dario Altieri¹, Domenico Grisafi², Corrado Reina²

CAPSULA EBURNEA, 3(18):1-3, 2008.

1- DI.BI.MEL. - Sezione di Scienze Radiologiche - A.O.U.P. Paolo Giaccone, Palermo, Italy;
2 - Ospedale Buccheri La Ferla, Palermo.

The Authors contributed equally to this draft.

Correspondence:

Dr. Giovan Battista Lo Piparo:
gloliparo1979@libero.it

Received: November 24th, 2008
Revised: November 29th, 2008
Accepted: November 30th, 2008

No conflicts of interest were declared.

CASE REPORT

Language of the Article: English.

Case Report

Here we describe the clinical case of a 57-year-old male patient, with a 30-year history of alcohol (wine). On examination, the patient was confused. He showed gait disturbance and lack of motor coordination. The patient was examined by a 1.5 T superconducting MR scanner (Toshiba ExcelArt™). The MRI protocol included axial fast spin-echo T2-weighted sequences (TR/TE range, 4,000-4,900/90-120); field of view [FOV], 18-22 × 22 cm; matrix, 160-192 × 256-384; number of excitations [NEX], 1-2; axial contrast-enhanced spin-echo T1-weighted sequences (450-540/10-15; FOV, 18-22 × 22 cm; matrix, 160-176 × 258-384; NEX, 1-

Abstract.

Marchiafava-Bignami disease (MBD) is a rare complication of chronic alcoholism. MBD is characterized by primary demyelination of the corpus callosum. We report one case of MBD in which MR imaging showed high T2 FLAIR and diffusion-weighted signal intensity of the corpus callosum and in the deep and shallow white matter, in particular, of the temporo-occipital and fronto-parietal lobes. Here we describe the clinical case of a 57-year-old male patient, with a 30-year history of alcohol (wine) brought to us in a state of mental confusion. He showed gait disturbance and lack of motor coordination.

KEYWORDS: Marchiafava-Bignami disease, Diffusion MRI, Corpus Callosum.

Riassunto.

La malattia di Marchiafava-Bignami (MBD), è una rara complicanza dell'alcolismo cronico. La MBD è caratterizzata dalla demielinizzazione primaria del corpo calloso. Riportiamo un caso di MBD in cui le immagini di risonanza magnetica mostrano iperintensità di segnale in T2 FLAIR (fluid-attenuated inversion recovery) e in diffusione del corpo calloso e della sostanza bianca, profonda e superficiale, dei lobi occipito-temporale e fronto-parietale. Descriviamo un caso clinico di un paziente di 57 anni, alcolista da 30 anni (vino), giunto alla nostra attenzione in stato di confusione mentale. Presenta disturbi della coordinazione motoria e del linguaggio.

PAROLE CHIAVE: Malattia di Marchiafava-Bignami, Sequenze RM pesate in diffusione, Corpo Calloso.

2); axial FLAIR sequences (8,000-10,000/105-120; FOV, 18 × 22; matrix, 160-192 × 256-320; NEX, 1-2; inversion time, 2,300-2,600 msec); and axial single-shot spin-echo echo-planar diffusion-weighted sequences with b values of 0 and 1,000 s/mm² along all three orthogonal axes (4,000-8,000/95-120; FOV, 22-25 × 26-30 cm; matrix, 128 × 128; NEX, 1). FLAIR images showed abnormal hyperintensity in the corpus callosum (Fig. 1) and weak hyperintensity of the temporo-occipital cortices (Fig. 2), while diffusion-weighted images showed symmetrical hyperintense lesions with relatively reduced ADC symmetrical hyperintense lesions in the fronto-parietal (Fig. 3) and in the temporo-parietal

cerebral cortices (Fig. 4). The patient was admitted and given intravenous vitamin B complex, which resulted in a nearly complete settlement of the clinical manifestations of the disease.

Discussion

MB disease or syndrome is a primary degeneration of the corpus callosum associated with chronic alcohol consumption, but is occasionally seen in non-alcoholic patients (1, 2). The main pathologic change associated with Marchiafava-Bignami disease is a degeneration of the corpus callosum with different degrees of damage, from demyelination with preservation of axons to necrosis accompanied in few cases by bleeding during the subacute phase. The genu of the corpus callosum is more frequently involved, but the degeneration can extend to the entire corpus callosum, preferentially involving fibers of the central portion. Necrosis produces cystic lesions within the corpus callosum, mainly in the genu and splenium with gliotic walls and content of foamy macrophages (3). It is generally accepted that the disease is mainly due to a deficiency in the vitamin B complex, and although many patients improve following administration of these compounds, others do not, and some die from the disease (1, 4). At first, MB was thought to be particular to individuals living in the central region of Italy and consuming large amounts of inexpensively manufactured Chianti red wine. It is now known that MB occurs worldwide and that all alcoholic

beverages are implicated. Most patients are male, between 40 and 60 years of age, and have a history of chronic alcoholism and malnutrition (1, 5, 6). Other white matter tracts such as the anterior and posterior commissures and the cortico-spinal tracts may be involved. Lesions may be also found in the hemispheric white matter and in the middle cerebellar peduncles. Diagnosis is made on the basis of clinical findings in combination with imaging features (7, 8). Patients present acutely with mental confusion, disorientation, neurocognitive deficits, and seizures. Muscle rigidity and facial trismus may be severe. Most patients presenting with the acute type of MB will go into coma and eventually die, although as illustrated in this report, some survive. Acute MB may be difficult to distinguish from Wernicke encephalopathy and may occur together with it. Patients with Wernicke encephalopathy have ataxia, ophthalmoplegia, nystagmus, and confusion. Patients with MB may also present with hyponatremia. It is well known that rapid correction of the hyponatremia may lead to osmotic myelinolysis, and because 10% of all patients with pontine myelinolysis will have extrapontine lesions, some have suggested that MB may be yet another manifestation of the osmotic myelinolysis syndromes (5, 7, 8).

Conclusions

Acute MB is a disorder found in chronic alcoholics that should be differentiated from other alcohol-induced lesions. Increased T2 signal inten-

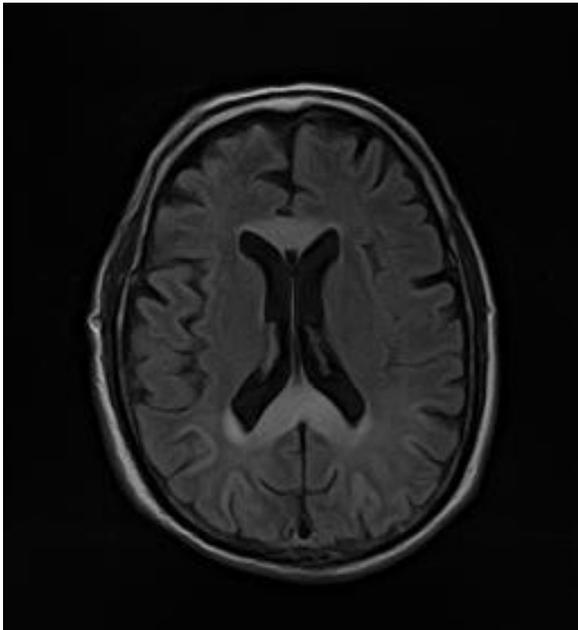


Fig. 1: Axial T2 FLAIR (fluid attenuation inversion recovery) MR image. Axial T2 weighted MR image shows hyperintense signal in the corpus callosum.

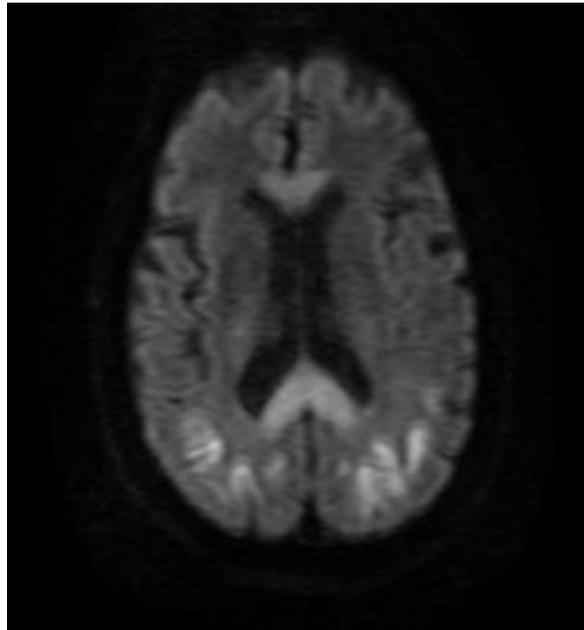


Fig. 2: Axial DWI MR image. The diffusion-weighted imaging (DWI) sequence shows a hyperintense signal in the temporo-occipital regions and in the corpus callosum.

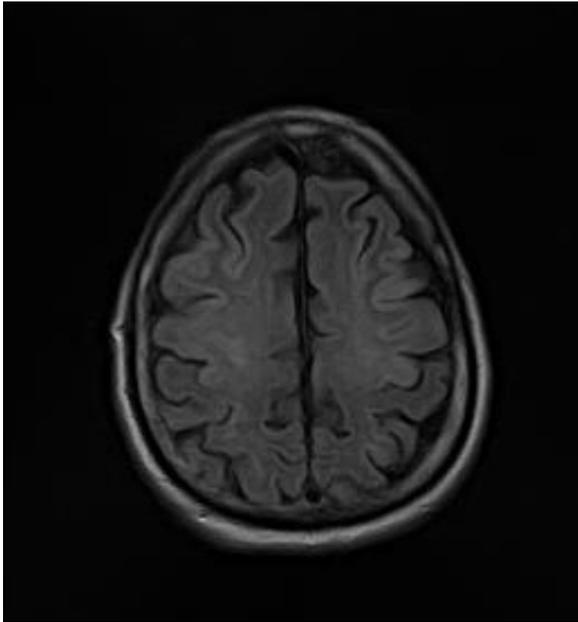


Fig. 3: Axial T2 FLAIR (fluid attenuation inversion recovery) MR image. Axial T2 weighted MR image shows weak and faded symmetrical hyperintense lesions in the fronto-parietal white matter.

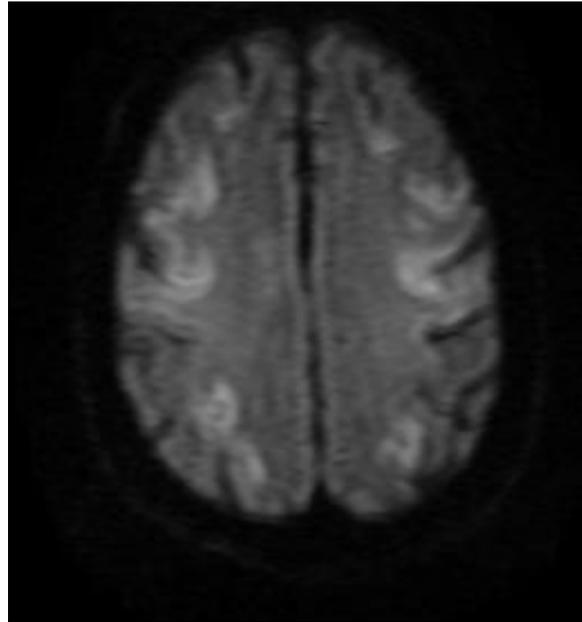


Fig. 4: Axial DWI MR image. The diffusion-weighted imaging (DWI) sequence shows abnormal increased signal intensity in the fronto-parietal white matter.

sity involving the body of the corpus callosum is present, and when identified in the correct clinical setting, the diagnosis of acute MB disease can be made. Prompt therapy may result in survival of these patients. This study confirms that during the course of acute Marchiafava-Bignami disease, MR imaging is the appropriate technique to evaluate morphologic and metabolic changes of the corpus callosum, including their evolution over time and after treatment. DWI sequences may support the pathogenetic theory. The resonance base-sequences may reveal a pathological condition only when this is associated to structural tissue damage. In our experience, DWI MR may integrate standard brain RM testing, with reduced timing, making it possible to detect alterations, which would remain unexposed/unidentified by means of standard base-sequences.

References

1. Navarro JF, Noriega S: Marchiafava Bignami disease. *Rev Neurol* 1999;28:519-523.
2. Victor M.: Persistent altered mentation due to ethanol. *Neurol Clin* 1993;11:639-661.
3. Marjama J, Yoshino MT, Reese C: Marchiafava-Bignami disease: premortem diagnosis of an acute case utilizing magnetic resonance imaging. *J Neuroimaging* 1994;4:106-109.
4. Ishii K, Ikerjiri Y, Sasaki M: Regional cerebral glucose metabolism and blood flow in a patient with Marchiafava Bignami disease. *Am J Neu-*

roradiol 1999;20:1249-1251.

5. Girault JM, Armand JP, Dousset V, Daubé X, Schoenenberger P, Carlier P, Caillé JM: Acute Marchiafava-Bignami disease: a case. *J Radiol* 1996;77:675-677.
6. Fortman BJ, Kuszyk BS: Incidentally diagnosed Marchiafava-Bignami disease. *Am J Roentgenol* 1999;173: 1713-1714.
7. Friese SA, Bitzer M, Freudenstein D, Voigt K, Küker W: Classification of acquired lesions of the corpus callosum with MRI. *Neuroradiology* 2000;42:795-802.
8. Bourekas EC, Varakis K, Bruns D, Christoforidis GA, Baujan M, Slone HW, Kehagias D: Lesions of the corpus callosum: MR imaging and differential considerations in adults and children. *Am J Roentgenol* 2002;179:251-257.

THE FROZEN SHOULDER: UNKNOWN AND KNOWN KNOWNS.

LA "FROZEN SHOULDER": COSA E' NOTO E COSA NO

Felicia Soviero ¹, Simona Gucciardi ², Alessandro Geraci ³

CAPSULA EBURNEA, 3(19):1-14, 2008.

1. C.T.O. di Firenze, Italy.
2. Policlinico Universitario "P. Giaccone" di Palermo, Italy.
3. Clinica Ortopedica e Traumatologica Policlinico Universitario di Palermo, Italy.

Correspondence:

Dr. Alessandro Geraci:
geracialessandro@libero.it

Received: October 26th, 2008
Revised: December 4th, 2008
Accepted: December 9th, 2008.

No conflicts of interest were declared.

Category of paper: REVIEW

Language of the Article: Italian.

Abstract

The "*frozen shoulder*", also known as adhesive capsulitis, is the most peculiar among the pathologies that can interest the shoulder. It has been described as a process that involves thickening and contracture of the capsule surrounding the shoulder joint. *Frozen shoulder* causes stiffness and pain in the shoulder, which reduces normal movement in the joint. In some cases, it can prevent movement in the shoulder altogether. Usually, only one shoulder is affected, although in approximately one in five cases the condition spreads to the other shoulder. The pain makes it very difficult to carry out the full range of normal shoulder movements; in fact Codman coined the term of "*frozen shoulder*" because this disease "freezes" the functionality of the shoulder limiting the ROM joint in the active and passive excursion of the joint with pain. The purpose of this review is that to illustrate the various proposals that are present on literature to explain and to take care of this disease, that is entirely not still known.

KEYWORDS: idiopathic pain shoulder, adhesive capsulitis, manipulation of shoulder.

Riassunto

La *frozen shoulder*, chiamata anche "capsulite adesiva", è la più peculiare tra le patologie che possono interessare la spalla per la complessità del meccanismo patogenetico che la determina e per la sintomatologia ad essa correlata. La *frozen shoulder* è descritta come una fibrosi capsulare con le specifiche caratteristiche anatomo-patologiche di una membrana sinoviale ispessita, contratta, autoaderente. Essa è causa di dolore e limitazione funzionale. La sintomatologia e le alterazioni istopatologiche ad essa correlata rendono difficile il ROM articolare della spalla, tanto che Codman coniò il termine di *frozen shoulder* appunto per sottolineare come questa malattia "congeli" la funzionalità dell'articolazione scapolo-omerale. Lo scopo di questo lavoro è quello di illustrare le varie proposte che sono presenti in letteratura al fine di fare luce sulla patogenesi e cura di questa malattia, non ancora ben conosciuta.

PAROLE CHIAVE: spalla rigida idiopatica, capsulite adesiva, manipolazione di spalla.

Introduzione

La "*frozen shoulder*" (o *spalla rigida idiopatica*) è la più peculiare tra le patologie che possono interessare la spalla per la complessità del meccanismo patogenetico che la determina e per la sintomatologia ad essa correlata. Tra le articolazioni mobili la spalla è sicuramente

quella dotata di maggiore libertà di movimento. Un qualsiasi evento morboso che causa limitazione del ROM provoca discomfort e disagio anche per le più comuni attività quotidiane. Codman (1) coniò il termine di *frozen shoulder* per quadri clinici caratterizzati da dolore e perdita di mobilità. Successivamente Zuckerman

(2) la definì come una condizione di incerta causa caratterizzata da dolore e da una più o meno importante diminuzione della mobilità attiva e passiva della spalla che subentra in assenza di chiare anomalie sia intrinseche che estrinseche all'articolazione. La *frozen shoulder* "congela" la funzionalità della spalla, limitando in maniera significativa l'escursione articolare sia attiva che passiva nei vari piani. Viene annullata così la funzione articolare, rappresentando un importante problema clinico, che l'ortopedico deve conoscere e saper affrontare poiché provoca al paziente deficit alle più comuni attività quotidiane.

Molteplici sono i nomi con i quali viene identificata questa patologia: capsulite retrattile, capsulite adesiva, spalla rigida, spalla contratta, spalla congelata; alcuni autori continuano a battersi per una nomenclatura migliore e più specifica per distinguere le varie condizioni della rigidità di spalla.

Cenni di anatomia e biomeccanica dell'articolazione gleno-omerale

La spalla, è l'articolazione prossimale dell'arto superiore; essa è una enartrosi, le cui superfici articolari sono, da una parte, la testa dell'omero e dall'altra la cavità glenoidea della scapola.

La capsula articolare, che racchiude i capi articolari, è un manicotto fibroso che si inserisce sulla scapola in corrispondenza del contorno della cavità glenoidea e si impianta sull'omero lungo il collo anatomico scendendo medialmente fino al collo chirurgico. Nel suo insieme la capsula articolare è di considerevole spessore e resistenza e funge da valido mezzo di connessione fra l'omero e la scapola; inoltre è rivestita quasi interamente da una membrana sinoviale. La capsula articolare presenta alcune zone rinforzate da legamenti e solo in alcuni punti è di estrema sottigliezza; superiormente la capsula è rinforzata dal legamento coraco-omerale.

Anteriormente la capsula articolare è rinforzata dal:

- legamento gleno-omerale superiore
- legamento gleno-omerale medio
- legamento gleno-omerale inferiore (banda anteriore).

Il contatto delle superfici articolari della scapolo-omerale sono assicurati dai muscoli periarticolari a direzione trasversale, veri legamenti attivi dell'articolazione; questi muscoli sono (fig. 1):

- a. *sovraspinoso*
- b. *sottoscapolare*
- c. *sottospinoso*
- d. *piccolo rotondo*
- e. *tendine del capo lungo del bicipite*, la cui

inserzione al cerchione glenoideo è intracapsulare.

Fisiologicamente la spalla possiede più gradi di libertà, che permettono di orientare l'arto superiore nei tre piani dello spazio e di eseguire diversi movimenti, frutto di un equilibrio biomeccanico tra componenti ossee, tendinee e muscolari. Si possono infatti eseguire movimenti di flessione ed estensione, di abduzione ed adduzione, di rotazione interna ed esterna, di circumduzione.

Epidemiologia

La frequenza della *frozen shoulder* è del 2-5% (3) della popolazione generale; colpisce tre volte più frequentemente le donne rispetto agli uomini; l'età media è di circa 40 anni nelle donne, di 55 negli uomini; nel 10% dei casi l'affezione è presente in tutte e due le spalle. È rara, tanto che Bunker (4), in 1324 pazienti con patologie della spalla ha rilevato che soltanto 70 presentavano criteri clinico-strumentali per la diagnosi di capsulite adesiva, quindi secondo l'autore l'incidenza si aggirerebbe intorno al 5%. Sono prevalentemente colpiti individui impegnati in attività lavorative o sportive che determinano ipersollecitazione reiterata dell'articolazione della spalla. È stata osservata una più elevata associazione in pazienti con diabete (10-20%), nel 42% di questi pazienti la *frozen shoulder* è bilaterale (5).

Eziopatogenesi

La *frozen shoulder* è caratterizzata da una flogosi sinoviale che determina formazione di aderenze fra i due foglietti della capsula articolare. La capsula risulta contratta, ispessita, attaccata strettamente alla testa dell'omero con relativa assenza di liquido sinoviale (fig. 2).

Tante e varie sono state le teorie che si sono



Fig. 1: Disegno anatomico della spalla con i suoi muscoli (dal sito www.benessere.com).

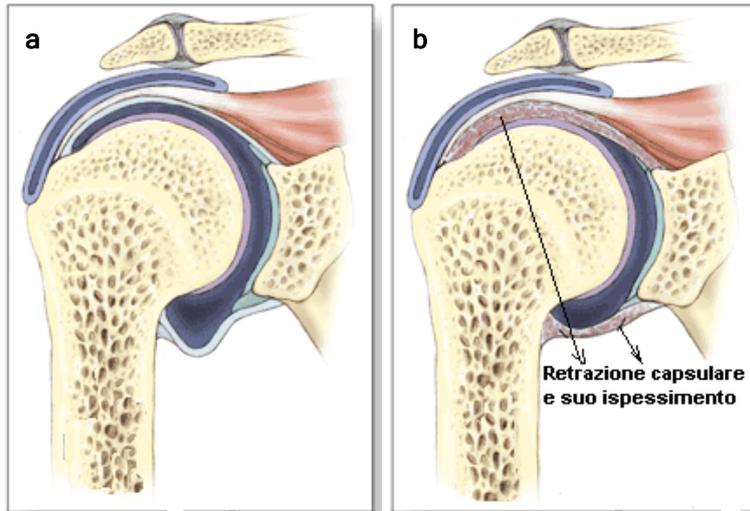


Fig. 2: Disegno schematico di spalla normale (a) ed adesiva (b). Si noti la retrazione ed ispessimento capsulare con conseguente diminuzione dello spazio intra-articolare (dal sito www.adultjointreconstruction.com).

succedute nel tempo al fine di dare chiarezza sull'eziopatogenesi di questa condizione clinica invalidante.

Codman, coniando il termine "*frozen shoulder*", affermava che tale patologia era "*Difficile da definire, difficile da trattare e difficile da spiegare dal punto di vista dell'eziopatogenesi e anatomopatologicamente quando si parla soprattutto di rigidità idiopatica*"

Secondo Neviaser e Neviaser (6) il termine "*frozen shoulder*" è spesso usato in modo inappropriato, infatti, esistono due entità cliniche che vanno necessariamente differenziate:

- a) la spalla dolorosa-rigida
- b) la capsulite adesiva

Queste sono patologie diverse che necessitano di trattamenti differenti, per cui l'imperativo primario è quello di una corretta diagnosi differenziale. Nel primo gruppo (spalla dolorosa-rigida) vengono incluse tutte quelle condizioni di dolore cronico di spalla con apparente limitazione del ROM, senza compromissione capsulare. Tendiniti calcifiche, tenosinoviti del capo lungo del bicipite, patologie di cuffia, *Slap-lesion*, patologie gleno-omerali ed acromio-clavicolari sono solo alcuni esempi di condizioni responsabili di dolore e limitazione funzionale. Viceversa, la capsulite adesiva è una patologia enigmatica la cui essenza, ancora oggi, non è perfettamente chiarita anche se le moderne tecniche strumentali prima, come la RMN, e soprattutto l'avvento dell'artroscopia poi, hanno molto contribuito a far luce su questa patologia.

Rivisitando la letteratura scientifica, l'eziopatogenesi rivela zone oscure e varie teorie. Si può distinguere una eziologia:

1. *Primaria (idiopatica):*

- Autoimmune: Bulgen (7) nel 1976 ha trovato un'associazione con HLA B27.
- Disfunzione neurologica (8)
- Predisposizione genetica

- Microtraumatica

2. *Secondaria sistemica*

- Iperiparatiroidismo-ipotiparatiroidismi (9)
- Iperadrenalismo
- Malattia di Dupuytren
- Aumento dei trigliceridi
- Diabete: La relazione tra diabete e spalla congelata è ampiamente documentata nella letteratura (10-12). Nei pazienti diabetici che sono stati insulino-dipendenti per molti anni, la frequenza della spalla congelata è notevolmente maggiore. I pazienti con diabete ad esordio nell'infanzia possono presentare sintomi di rigidità nella quarta decade di vita; nei pazienti con diabete ad esordio adulto, l'età di presentazione è analoga a quella della popolazione generale. Gli elevati livelli ematici di glucosio possono di fatto accelerare l'invecchiamento di certe proteine del corpo scatenando una serie di reazioni chimiche che formano e accumulano legami crociati irreversibili fra molecole proteiche adiacenti. Questa via metabolica, che porta ad un'artrofibrosi diffusa, è chiamata glicosilazione non enzimatica. Va detto, inoltre, che maggiore è il tempo di assunzione dell'insulina, tanto più elevato sarà il rischio di sviluppare una rigidità di spalla e maggiore sarà la refrattarietà a qualsiasi modalità terapeutica. Il clinico accorto, dunque, deve indagare sull'anamnesi familiare di tutti i pazienti a cui è stata recentemente diagnosticata una spalla congelata e deve prendere in considerazione un test orale di intolleranza al glucosio. A causa della natura refrattaria della rigidità della spalla nel diabetico, da lungo tempo insulino-dipendente, è stato considerato adatto, un intervento precoce tale da prevenire una disabilità progressiva (13).

3. *Secondaria da cause estrinseche*

- Un periodo di forzata immobilità dovuta ad un trauma, ad un abuso o ad un intervento chirur-

gico.

- Esiti intervento al seno.
- Artrosi rachide cervicale.
- Disturbi cardiaci.
- Farmaci: Isoniazide, inibitori delle metalloproteasi della matrice, inibitori della proteasi, antisecretori gastrici, antivirali (HIV). Nel caso specifico del fenobarbital (14, 15) è riferito in letteratura che l'utilizzo prolungato di questo farmaco, come avviene usualmente nella profilassi delle sindromi epilettiformi ed epilettiformi da trauma cranico o da tumore cerebrale, può dare a livello della spalla tre tipi di effetti indesiderati: sindrome oligodistrofica, fibromialgia e spalla congelata.

4. Secondaria da cause intrinseche:

- Tendinopatia della cuffia dei rotatori.
- Artrosi scapolo-omeroale ed acromion-clavicolare.
- Iatrogene (radiofrequenze, laser)

Malgrado i molti studi e le numerose ipotesi, l'eziologia di questa affezione rimane ancora oggi purtroppo non chiara. Secondo Sandor (16), le cause della *frozen shoulder* permangono essenzialmente sconosciute. I raggi X, solitamente, mostrano giunture regolari o cambiamenti degenerativi davvero minimi; i segni ed i sintomi clinici di un disordine infiammatorio sistematico sono assenti e le altre articolazioni rimangono inalterate. Studi di laboratorio non rivelano un aumento del tasso di sedimentazione o dei livelli di proteina C-reattiva e mostrano livelli normali di circolazione delle immunoglobuline. Gli elementi immunologici conosciuti quali RF, gli anticorpi antinucleo e gli autoanticorpi contro la muscolatura liscia, il collagene o la cartilagine sono assenti fra i pazienti con *frozen shoulder*. Nessun agente infettivo conosciuto è riscontrato negli esami. Sandor, alla fine dei suoi studi, nel tentativo di non far cadere in errore diagnostico e terapeutico il clinico, differenzia la spalla congelata idiopatica dalla spalla rigida post-traumatica. La *spalla congelata idiopatica* è una limitazione globale del movimento omero-scopale, risultato della retrazione e della perdita di adattabilità della capsula dell'articolazione gleno-omeroale. La *spalla rigida post-traumatica* è una limitazione del movimento omero-scapolare che si manifesta dopo una lesione, un trauma ripetitivo a bassa energia o come parte di una patologia di accompagnamento ed esita in una retrazione delle strutture che fanno parte delle interfacce del movimento gleno-omeroale od omero-scapolare.

La definizione della rigidità in gruppi definiti

aiuta a commisurare un trattamento individuale nel contesto di uno schema logico. In molte spalle rigide, infatti, affrontare solo la rigidità equivale a travisarne la patogenesi e ad aumentare le possibilità di insuccesso.

Fisiopatologia

La *frozen shoulder* è descritta come una fibrosi capsulare caratterizzata da una membrana sinoviale ispessita, contratta, auto-aderente, associata a contrattura ed a dolorosità indotta da spasmo protettivo muscolare.

La catena di eventi che porta a questa alterazione anatomica a cui consegue il deficit funzionale non è ancora chiara. I primi ricercatori (17, 18) affermano che la fibrosi capsulare, che retrae e ispessisce la capsula, facendola aderire alla testa omerale è di origine infiammatoria. Neviasser (19), alla biopsia e all'esame istologico della membrana sinoviale e delle regioni capsulari sottosinoviali dei pazienti con rigidità dolorosa della spalla, individua la presenza di infiltrazione perivascolare, di ispessimento capsulare, di retrazione e di fibrosi. Egli identifica 4 fasi di evoluzione istopatologica:

- La *Fase n°1* della spalla congelata, è stata identificata come la fase pre-adesiva in cui vi è una reazione infiammatoria sinoviale fibrotica dimostrabile soltanto con l'artroscopia.
- La *Fase n°2*, è contraddistinta da sinovite adesiva acuta con una sinovite proliferativa e una formazione iniziale di adesione.
- La *Fase n°3* è caratterizzata da un'attenuazione della sinovite con perdita della cavità ascellare.
- La *Fase n°4*, è considerata la fase cronica in cui l'adesione nella cavità ascellare è completamente matura e può, in effetti, cancellare questa struttura.

Dai suoi numerosi studi Neveasier è pervenuto alla conclusione che la capsula è adesa all'omero e che le adesioni capsulari provocano l'incapacità motoria. Successivamente, Lundedberg (20) riscontra alterazioni patologiche nelle cellule sinoviali delimitanti l'articolazione, identificando un incremento della densità del collagene capsulare ed una modalità di distribuzione dei glicosaminoglicani tipiche di un processo cicatriziale-riparativo. Egli afferma che un processo infiammatorio periarticolare è alla base del processo proliferativo fibrotico, che provoca adesione fra le pliche capsulari e tra capsula e testa omerale. Ozaki (21) sottolinea che l'elemento anatomopatologico che contraddistingue tale quadro morboso è una contrattura delle strutture capsulo-legamentose anteriori della spalla, in particolare delle formazioni

anatomiche situate all'intervallo dei rotatori: il legamento coraco-omerale ed il legamento gleno-omerale superiore.

Negli ultimi decenni numerosi sono stati gli studi per svelare l'enigmaticità di questa patologia; a Rodeo e Hannif (22) spetta il contributo di aver identificato nelle sinoviali alcune citochine TGF-B (transforming growth factor), PDGF(platelet-derived growth factor) e HGF(hepatocyte growth factor) che sono implicate nelle fasi infiammatorie iniziali della capsulite adesiva senza relazione con cause primitive o secondarie. Il PDGF è un agente mitogeno che causa la proliferazione della cellula fibroblastica e il TGF-B incrementa la matrice extracellulare portando a fibrosi. Questi hanno il ruolo di stimolare i fibroblasti e quindi la proliferazione del collagene, responsabile della fibrosità della capsula. Bunker (23, 24), ed altri hanno paragonato questa retrazione alla malattia di Dupuytren. Recenti studi hanno osservato valori simili nei risultati degli esami istologici ed immunocitologici tra la *frozen shoulder* e la Malattia di Dupuytren. Mettendo a confronto i tessuti di pazienti con capsulite, con quelli di pazienti con spalla non patologica ma con contratture del Dupuytren, si sono notate in entrambe le stesse citochine e gli stessi fattori di sviluppo. Il tessuto delle spalle nei pazienti affetti da capsulite ha presentato una presenza più alta di citochine, la sola differenza era l'assenza nella malattia di Dupuytren delle metalloproteinasi richieste per attivare la gelatinasi MMP-14. I campioni di tessuto hanno rilevato un'attiva proliferazione fibroblastica frammentata a spesse bande nodulari di collagene. Questi tratti istologici di fibroplasia sono molto simili a quelli rilevabili nella malattia di Dupuytren della mano.

Un altro importante studio è quello eseguito dal Miller (25) che ha verificato l'ipotesi secondo cui la sindrome di *frozen shoulder* possa essere una distrofia simpatica riflessa. Miller ha palesato l'esistenza di parecchie somiglianze fra la *frozen shoulder* e un processo algoneurodistrofico, quali: la progressiva perdita di densità minerale dell'omero del lato affetto, un assorbimento maggiore nelle aree affette del radioisotopo durante la scansione ossea, dolore notturno acuto, cause idiomatiche o post-traumatiche e la riduzione della temperatura cutanea nelle aree affette.

In ogni caso è importante ricordare che esiste una certa polemica riguardo la natura della distrofia simpatica riflessa e cioè se è un disordine organico primario o un disordine psicogenetico primario connesso ad una causa secondaria.

I recenti studi artroscopici (26) hanno evidenziato che l'elemento anatomopatologico

della capsulite rigida idiopatica è una contrattura delle strutture capsulo-legamentose anteriori della spalla. L'artro-rm ci offre un concreto aiuto sul piano diagnostico, in quanto ci mostra una particolare riduzione fino all'obliterazione dei recessi anteriori e capsulari della camera capsulare. È, infatti, il "constrained" anteriore della spalla, che sul piano clinico si traduce in perdita della rotazione esterna, l'elemento che caratterizza la *frozen shoulder*.

Tramite l'utilizzo dell'artroscopio e di esami bioptici, Hannafin (27) ha individuato tre fasi istopatologiche della fibroplasia correlate ad una specifica clinica. Durante la *prima fase* (fase del dolore) l'artroscopia ha rivelato: sinovite gleno-omerale diffusa, ipertrofia sinoviale, sinovite ipervascolare, qualche rara cellula infiammatoria infiltrata e una capsula basilare normale. La *seconda fase* (rigidezza) ha mostrato: diffusa sinovite pedunculata, la capsula stretta come gommosa sull'inserzione dell'artroscopio, sinovite ipertrofica e ipervascolare con cicatrice perivascolare e subsinoviale, significativa fibroplasia e formazione della cicatrice nella capsula basilare. Durante la *terza fase* (fase di recupero) non vi è nessuna ipervascolarità, si osservano i resti di un processo fibrotico a carico della membrana sinoviale, un ispessimento e una retrazione della capsula a carattere diffuso. La capsula diventa estremamente densa e spessa sull'inserzione dell'artroscopio, mentre il volume capsulare diminuisce.

Si è riscontrato, quindi, una superficie articolare priva di aderenze capsulari, raramente si sono identificate delle aderenze nei recessi o nelle relative pliche. Queste osservazioni istologiche e cliniche, quindi, hanno oggi tolto qualcosa alla natura "adesiva" del processo capsulare e danno credito alla fibrosi proliferativa che porta alle retrazioni capsulolegamentose.

Clinica

Dal punto di vista clinico, la *frozen shoulder* primaria viene suddivisa in tre stadi:

- 1) Fase dolorosa (*freezing*)
- 2) Fase di irrigidimento progressivo (*frozen*)
- 3) Fase di risoluzione (*thawing*)

La *fase dolorosa* ha inizio quando il paziente nota l'insorgere di un dolore continuo, che spesso inizia di notte e persiste durante il giorno. Ha una durata di due-nove mesi. Propriamente, non vi sono fatti precipitanti, anche se occasionalmente il paziente ricorda un evento specifico come un trauma banale, lavoro pesante effettuato con l'arto superiore interessato, un colpo di freddo. Con l'evolvere

dei sintomi, sempre meno posizioni rimangono confortevoli e quelle che sono tollerabili lasciano tipicamente il braccio pendente al fianco in una posizione intraruotata di riposo. Il dolore non è legato all'attività e può peggiorare a riposo; specialmente di notte, il decubito o il voltarsi sulla spalla affetta impedisce il sonno o risveglia immediatamente il paziente. I pazienti mantengono spesso la spalla in una posizione di adduzione e intrarotazione omerotoracica, perché questa è la posizione neutra isometrica che rilascia la tensione nella capsula, il bicipite e la cuffia dei rotatori infiammati. Inoltre, a causa del dolore aspecifico, i pazienti vengono spesso trattati con un periodo di immobilizzazione, ponendo ulteriormente il braccio in una posizione addotta e intraruotata. La riduzione del movimento, tuttavia, peggiora ulteriormente il processo di irrigidimento di tutte le unità mobili.

La *fase della rigidità progressiva* è caratterizzata da un aumento graduale della rigidità articolare sino al punto che il movimento della spalla diviene limitato in tutti i piani. Di solito, il dolore è meno intenso che nell'iniziale fase infiammatoria, ma di certo le normali attività quotidiane sono gravemente limitate; il paziente lamenta incapacità di infilare una camicia, di allacciarsi il reggiseno, di grattarsi la schiena, di toccare la punta della spalla opposta, di raggiungere con il braccio omolaterale posizioni lontane dal corpo o al di sopra della testa. L'impossibilità di dormire comodamente sul fianco è un disturbo universale, legato probabilmente ad una ridotta lassità gleno-omeroale. Durante questa fase il grado di rigidità raggiunge un tetto massimo, si instaura una fase stazionaria durante la quale il paziente peggiora né migliora, in una parola è congelato! Sebbene si dica che questa fase duri all'incirca dai tre mesi ai dodici, essa può divenire refrattaria e durare molto più a lungo.

La *fase finale della rigidità idiopatica* di spalla è la fase della risoluzione o di scongelamento, caratterizzata da un lento ripristino del movimento e del benessere. Questa fase può durare meno di quattro settimane, specialmente con un trattamento chirurgico aggressivo. Tuttavia, nei pazienti trattati non chirurgicamente, possono occorrere da mesi ad anni per riacquistare il movimento funzionale e il benessere.

Diagnosi

La diagnosi della *frozen shoulder* è solitamente clinica. Il paziente viene all'osservazione del medico accusando dolore con limitazione funzionale alla spalla. Un quadro di questo genere è molto generico ed aspecifico perché

tante e varie sono le patologie che interessano il cingolo scapolare e che possono manifestarsi con questo quadro. Come criteri diagnostici vengono presi in considerazione i seguenti:

1. Una storia di movimento limitato della spalla senza precedenti traumi importanti o interventi chirurgici ricostruttivi.
2. Un esame obiettivo che evidenzia una rigidità globale: movimento limitato in tutte le direzioni non accompagnato da deficit di forza, stabilità o regolarità articolare.
3. Radiogrammi convenzionali con spazio cartilagineo articolare nella norma e assenza di anomalie periarticolari focali.

Nella valutazione del paziente, un'attenta anamnesi è di sicura utilità nel differenziare le varie patologie che possono mimare una capsulite retrattile; Bisognerà, pertanto, verificare le patologie intrinseche della spalla come le patologie della cuffia dei rotatori (calcificazioni, rotture) e del complesso capsulo-legematoso (instabilità). La valutazione globale del complesso articolare della spalla, comprese le varie patologie che lo possono colpire o che su di esso si possono riflettere, risulta di fondamentale importanza. Un'età compresa tra 40 e 60 anni, il sesso femminile, una personalità depressivo-ansiosa, la mancanza di traumi depongono per una forma primaria. Fattori legati a forme dismetaboliche o endocrine generalmente coinvolgono entrambe le spalle. Il lato non dominante spesso presenta gradi di rigidità più marcata rispetto al lato dominante, che, invece, è più spesso colpito da forme secondarie come tendinopatie della cuffia dei rotatori. Per quanto riguarda l'esame obiettivo, si valuterà innanzitutto lo stato cutaneo, considerando la presenza di cicatrici chirurgiche, di deformità o di retrazioni sottocutanee. Si esamina l'allineamento delle spalle, eventuali contratture o ipo/atrofie muscolari; si testa la motilità attiva ("*shrug sign*") e la motilità passiva evidenziando eventuali scrosci articolari, senza dimenticare un accurato esame del rachide cervicale. Particolare attenzione merita il movimento attivo di elevazione, nel quale, a causa della retrazione di lunghezza della capsula, si può notare uno scompenso scapolo-toracico: l'omero trascina la scapola in alto e in fuori causando una cinematica scorretta. È utile soffermarsi, anche, sulla funzionalità della scapola e sulla presenza di eventuali discinesie di origine articolare, muscolare o posturale, utilizzando semplici valutazioni come il *lateral scapular glide*. Si valuta sia anteriormente che posteriormente l'arco attivo di movimento e si registrano sei archi standard di movimento: elevazione anteriore (piano sagittale), extrarotazione al fianco, extrarotazione in

abduzione nel piano frontale, intarotazione in abduzione nel piano frontale, adduzione crociata, intrarotazione al dorso. Si consiglia di visitare il paziente sul lettino in posizione supina per evitare che la rotazione scapolare possa falsare in qualche modo l'esame.

Nella maggior parte dei casi, ci si trova di fronte ad una spalla in piena fase *frozen*. L'articolari  t      limitata in adduzione, talvolta con il gomito in flessione antalgica, l'elevazione si attesta sugli 80  , l'abduzione sui 30  , l'estensione intorno ai 20  . Si evidenzia sempre un'importante riduzione delle rotazioni, che si aggira intorno al 50-60% del valore normale.

Nonostante la maggior parte delle forme colpisca la capsula in toto, alcune forme iniziali o fruste possono coinvolgere solo alcuni settori della capsula articolare, per esempio la parte posteriore. La normale lassit   della parte posteriore della capsula permette, infatti, alla testa omerale di rimanere centrata nella cavita   glenoidea durante l'anteposizione della spalla. Se tale struttura    retratta, il movimento di flessione anteriore porter   la testa omerale contro la porzione anteroinferiore dell'acromion, causando o peggiorando una sindrome da attrito sottoacromiale.

Le indagini strumentali non invasive sono utili per la definizione dell'eziologia, per la documentazione delle lesioni concomitanti e per l'inquadramento della morfologia delle strutture intra- ed extra-articolari. Le singole metodiche strumentali hanno livelli di accuratezza differenti tra loro in relazione ai danni anatomici da definire.

Vengono in aiuto:

- L'esame Rx standard
- L'artrografia.
- La Risonanza Magnetica.

L'esame radiografico standard non consente di fare diagnosi di capsulite adesiva primaria o secondaria; esso serve ad identificare le possibili condizioni associate al quadro clinico di rigidit   di spalla, quali fratture e lussazioni omerali misconosciute, presenza di osteofiti, corpi mobili endoarticolari, depositi calcifici e ossificazioni ectopiche; non pu  , per  , fornire informazioni dirette sullo stato delle parti molli, per cui solitamente nella *frozen shoulder* il referto    del tutto normale. La serie di screening per la spalla consiste in:

1. Un radiogramma anteroposteriore perpendicolare al piano della scapola con l'omero posizionato a 35 gradi di extrarotazione (rispetto al piano della scapola) (fig. 3).
2. La stessa proiezione con intrarotazione rispetto al corpo.
3. Una proiezione ascellare vera.

Combinare con l'anamnesi e l'esame obiettivo,



Fig. 3: Rx antero-posteriore della spalla. In tale radiografia eseguita su paziente con frozen shoulder non si evidenziano alterazioni ossee degne di nota; questo dato dimostra che il tessuto osseo non risulta intaccato dalla malattia e la non specificit   diagnostica di questo esame strumentale. L'esame rx serve ad escludere la presenza di altre importanti patologie della spalla.

queste tre proiezioni forniscono tutte le informazioni necessarie per classificare una rigidit   di spalla. Nei pazienti con rigidit   di spalla i radiogrammi convenzionali sono tipicamente nella norma (28). Tuttavia, una ridotta densit   ossea della testa omerale    un segno abbastanza frequente sui radiogrammi dei pazienti con sindrome della spalla congelata e pu   essere legato al prolungato non uso. Lundberg (29) ha rilevato una perdita ossea del 50% circa insorta in un breve periodo di tempo in 74 casi di spalla congelata. Egli attribuiva questa perdita di massa ossea ad un processo infiammatorio perch   di tale entit   non poteva essere spiegata solo dal non uso e dall'immobilizzazione.

L'artrografia tradizionale (fig. 4)    un esame di routine per la diagnosi di Capsulite ed    adottata sia ai fini diagnostici che ai fini terapeutici (30). I rilievi caratteristici che si ritrovano nella capsulite adesiva sono una riduzione del volume intra-articolare, una minore elasticit   della capsula, l'obliterazione della tasca ascellare e del recesso sottoscapolare, la mancanza di contrasto nella guaina del capo luogo del bicipite, mancata opacizzazione dei recessi anteriore ed inferiore.

Fig. 4: Artrografia tradizionale (dal sito www.laspalla.org). Questo esame evidenzia mostrano una riduzione dell'ampiezza delle tasche (recessi) capsulari.



La distensione a fini terapeutici della capsula si fa introducendo forzatamente un mezzo di contrasto (oppure soluzione fisiologica o anestetici locali) all'interno della cavità gleno-omerale in quantità sufficiente a generare una distensione in grado di causare il cedimento della capsula, rivelato da una riduzione della forza necessaria per continuare l'introduzione. La procedura è eseguita insufflando l'articolazione gleno-omerale con iniezioni crescenti di liquido, incrementando la pressione intra-articolare per portarla oltre 800 mmHg e sino ad un massimo di 1500 mmHg (31). Alcuni autori instillano un volume di 60-100ml circa seguito da manipolazione allo scopo di distendere idrostaticamente la capsula articolare; la rottura avviene nel punto più debole della capsula, ossia a livello della borsa sottocoracoidea o della guaina del tendine del bicipite.

L' *Arthro-RM* oggi è considerata una metodica per immagini molto affidabile nella diagnosi della spalla rigida se comparata prospetticamente con i reperti artroscopici e chirurgici (fig. 5). Questa indagine è effettivamente superiore rispetto alla valutazione RM o TC dirette, ovvero eseguite senza somministrazione di mezzo di contrasto. Nei pazienti a cui è stata diagnosticata una spalla congelata, è presente uno spessore combinato superiore a 4 mm della capsula e della sinoviale articolare e la capsula ispessita porta ad una mancata illuminazione del capo lungo del bicipite e del recesso ascellare.

Trattamento

Molti autori sono dibattuti sul carattere della benignità della malattia e sul suo decorso autolimitante. Codman riteneva che il decorso della spalla di *frozen shoulder* fosse benigno con il recupero completo del ROM e scomparsa del dolore entro due anni dall'inizio dei sintomi. Ogilvie-Harris (32) e altri nel 1995 hanno affermato che a lungo termine circa il 50% dei pazienti lamenta ancora impotenza funzionale della spalla da tre a undici anni. Questo è il motivo principale dei tanti diversi approcci

terapeutici.

Uno degli scopi dell'ortopedico è, quindi, capire se sia possibile modificare il decorso di tale patologia, accorciando il periodo di infermità, valutato intorno ai 6 mesi-1 anno. Obiettivo finale del trattamento del paziente con spalla di *frozen shoulder* è il sollievo dal dolore e il recupero dell'articolarietà e della funzione della spalla. La *frozen shoulder* solitamente risponde bene a un approccio incruento consistente in un programma adeguato e ben condotto di terapia fisica riabilitativa; se questa non ha successo, per recuperare la motilità è necessario ricorrere alla mobilizzazione in narcosi. La rigidità post-traumatica o post-chirurgica è spesso resistente agli approcci non cruenti e di conseguenza può richiedere un intervento artroscopico o chirurgico a cielo aperto. La formulazione di un adeguato programma di trattamento deve sempre essere secondaria all'accurata indagine delle cause all'origine della rigidità, condotta caso per caso. Il primo obiettivo della terapia è l'eliminazione del dolore, indispensabile perché consente al paziente di partecipare prontamente al programma di esercizi destinato al recupero del *range of motion* (ROM).

Il medico può utilizzare:

- Terapia incruenta (medica, fisiochinesica, infiltrativa).
- Terapia chirurgica (a cielo aperto, artroscopica).

Terapia medica

La terapia medica ha lo scopo di diminuire la sintomatologia algica. A questo scopo gli anti-infiammatori e gli analgesici sono spesso prescritti ed auto somministrati. Si dice che i FANS, i salicilati ed anche gli analgesici non salicilati come l'acetaminofene siano efficaci



Fig. 4: Immagine artroscopica. Questa fotografia ritrae la pulizia con fresa motorizzata aspirante (*shaver*) della sinovite capsulare.

nell'alleviare l'afflizione dolorosa della rigidità di spalla. Il grado di sollievo da condizioni di rigidità di spalla è stato frequentemente utilizzato per testare e comparare un'ampia gamma di FANS. Binder (33) ha notato che i pazienti provavano una maggiore attenuazione del dolore usando analgesici non salicilati piuttosto che agenti non steroidei.

Infiltrazioni peri ed intra-articolari

Le infiltrazioni farmacologiche di anestetici ed idrocortisone in sede intra-articolare o extra-articolare peritendinee vengono spesso proposte come un tentativo di sopprimere direttamente o eliminare potenzialmente la fonte irritativa del dolore. La letteratura è estremamente controversa in merito ai benefici di questo trattamento. Secondo alcuni autori (34) le iniezioni intraarticolari provocherebbero modifiche nel collagene del tutto sovrapponibili a quelle osservate nei pazienti affetti da malattia di Dupuytren. Le iniezioni periarticolari con lidocaina o la bupivacaina mescolati con idrocortisone sono state effettuate nei punti di massima dolenzia intorno alla spalla e alla regione periarticolare ma i risultati sono stati deludenti. Gli stessi risultati deludenti si sono avuti con le iniezioni per il rilascio di un anestetico locale e di uno steroide contemporaneamente nella borsa sotto-acromiale e all'interno dell'articolazione. Alcuni ricercatori sono fautori delle iniezioni intra-articolari di steroidi per la rigidità di spalla; Hollingworth e coll. (35) sono stati in grado di dimostrare che le iniezioni intra-articolari di steroidi idrocortisone erano molto vantaggiose rispetto alle iniezioni periarticolari. Essi riportavano che un quarto dei pazienti con spalla congelata ricevevano giovamento da un'iniezione intra-articolare, mentre in nessuno degli altri pazienti in cui era stato somministrato l'altro trattamento si aveva un'attenuazione del dolore. Thomas e coll. (36) hanno dimostrato un miglioramento del 50% nei punteggi del dolore dopo un'iniezione intra-articolare e solo un incremento del 13% dell'arco di movimento. Se l'iniezione di uno steroide sembra indicata, bisogna ricordare che l'uso di steroidi in pazienti diabetici causa delle fluttuazioni della glicemia e può comportare un maggiore rischio di infezione.

Trattamento riabilitativo

Il trattamento riabilitativo è molto efficace ed è soprattutto un complemento ad altre terapie (37). Il trattamento incruento fisico riabilitativo associato o meno a corticosteroidi sistemici o intraarticolari oppure a FANS, permette la

remissione della patologia nel 60-90% dei casi; esso migliora principalmente la gamma di movimento nella rotazione esterna. I pazienti iniziano un programma di esercizi con l'obiettivo di mantenere e recuperare il ROM della spalla con movimenti attivi e attivi-assistiti di mobilizzazione in tutte le direzioni (elevazione anteriore, intrarotazione, extrarotazione, adduzione), associati a esercizi gradualmente e delicati di stretching della capsula, sotto la guida del fisioterapista. In generale, la *frozen shoulder* risponde molto bene alla terapia fisica riabilitativa. L'approccio riabilitativo è fortemente condizionato dallo stadio della malattia. Nella prima fase il problema è rappresentato dal dolore (sinovite infiammatoria), nella seconda fase dalla rigidità (fibrosità). Molto controverso è il suo ruolo nelle fasi precoci quando la sintomatologia dolorosa è imponente. Dierks (38) ha incluso 77 pazienti con spalla congelata in uno studio prospettico trattati nella fase dolorosa con trattamento riabilitativo fisioterapico intensivo. I risultati a 24 mesi hanno indicato che 89% dei pazienti ha raggiunto una funzionalità dalla spalla normale o vicino al normale (costant score > 80).

La fase dolorosa è meno tollerata rispetto quella rigida, ma più ferma è la spalla e più la sinovite "lega" l'articolazione, rendendola fibrosa e quindi più rigida. L'obiettivo del movimento è quello di limitare la connettivizzazione della capsula che è favorita dall'intensa attività fibroblastica. La fisioterapia viene attuata sotto forma di delicati e decisi esercizi di allungamento in vari piani di movimento; il movimento ciclico e ritmico ottiene un risultato migliore ad uno sforzo massimale. Il programma predefinito di allungamento consiste di quattro esercizi base di allungamento passivo od attivo-assistito effettuati dal paziente, ogni esercizio viene completato per cinque volte durante cinque sedute al giorno con ciascuna seduta di cinque minuti. Spesso, prima dell'allungamento è utile applicare del calore sulla spalla rigida per aumentare l'elasticità e rilasciare la muscolatura contratta.

Molti autori consigliano che, se il dolore diviene insopportabile e gli esercizi non sono tollerati o se la rigidità dolorosa aumenta, è spesso utile infiltrare l'articolazione gleno omerale con anestetico e steroide. Lo steroide intra-articolare si usa spesso per mettere in grado il paziente di effettuare più comodamente il regime di allungamento.

Nei pazienti, affetti da spalla congelata resistente, si rendono necessari interventi più cruenti.

Manipolazione

In letteratura sono descritti numerose metodiche per favorire la detensione della capsula articolare nella spalla congelata recalcitrante. Vari metodi sono stati proposti per eseguire un'artrolisi:

- Effetto idraulico di distensione durante l'artrografia.
- Manipolazioni ed esercizi di stretching capsulare, che devono essere precoci per prevenire rigidità più gravi.

La manipolazione articolare in anestesia è stata, in passato, tra le procedure più in voga per risolvere ed accorciare i tempi per ristabilire una normale escursione articolare. Certamente l'operatore, quando effettua un simile atto terapeutico, può andare incontro a complicanze; infatti agli indubbi vantaggi apportati da questa tecnica, si contrappongono svariate a causa del presentarsi di alcune complicanze quali le lesioni della cuffia dei rotatori, le lussazioni e fratture dell'omero. La manipolazione in narcosi (generale o con blocco interscalenico) si rende necessaria nei pazienti che non hanno avuto miglioramenti dal trattamento incruento, dopo un tempo variabile da 4 a 12 mesi e ha riportato risultati positivi nel 50-90% dei casi (39). La mobilizzazione articolare è un valido strumento per la risoluzione di una patologia che ancora oggi non dispone di un iter ben preciso e strutturato. Lo scopo della mobilizzazione è di effettuare una lisi traumatica delle aderenze capsulari ed extra-articolari; essa viene attuata esercitando una forza controllata costante sull'omero prossimale stabilizzando nel contempo la scapola per ridurre il braccio di leva; con una pressione costante, questo allungamento determina solitamente un distacco palpabile e udibile delle aderenze associato alla rottura della capsula inferiore (40). Una distensione preventiva della capsula, ottenuta pazientemente con aria e carbocaina, ci permette di eseguire una mobilizzazione sicura ed indolore, sempre che venga eseguita in maniera dolce e privilegiando il recupero della rotazione esterna. Se si riesce a raggiungere una completa elevazione in avanti, si procede con la mobilizzazione: con il braccio elevato a livello della spalla si adduce l'omero, per detendere la capsula posteroinferiore; poi si abduce il braccio, nel piano frontale; in questa posizione, si applica un'introrotazione per allungare le parti molli e la capsula posteriore; si prosegue con l'introrotazione della spalla ed una successiva extrarotazione simmetrica in abduzione per detendere la capsula anteroinferiore.

Presso la I Divisione di Ortopedia della II Università di Napoli, dal 1999 al 2006 (41) si è praticato un protocollo terapeutico consistente nel-

la distensione capsulare con ripristino del ROM della spalla. Si è dimostrato che una distensione preventiva della capsula, ottenuta pazientemente con aria e carbocaina, permette di eseguire una mobilizzazione sicura ed indolore, sempre che venga eseguita in maniera dolce e privilegiando il recupero della rotazione esterna. Sono stati trattati 18 pazienti di cui 15 di sesso femminile ed un range di età compreso tra 36 e 52 anni. In dieci pazienti l'arto interessato era il dominante e tutti praticavano attività lavorativa sedentaria. L'articolazione veniva dolcemente distesa con carbocaina ed aria, fino ad un massimo di 10 cc. di carbocaina e 20 ml di aria; la procedura terminava con l'introduzione in articolazione di 1 cc. di cortisone. Successivamente l'articolazione veniva dolcemente mobilizzata in rotazione esterna, quindi in elevazione anteriore e laterale. Dopo tale procedura si otteneva estemporaneamente il pressoché totale ripristino del ROM. In tutti i casi faceva seguito un programma riabilitativo di rieducazione motoria e stretching dei muscoli per almeno due mesi; controlli ambulatoriali venivano effettuati sistematicamente per quattro mesi. Tutti i pazienti hanno avuto un ripristino completo del ROM ed una scomparsa totale del dolore senza far ricorso ad una nuova procedura di distensione capsulare.

Di recentemente è stato introdotto l'uso dell'artroscopia con lo scopo di verificare quali strutture venissero lacerate durante la manipolazione (42), consentendo di individuare nella retrazione fibrotica della struttura dell'intervallo dei rotatori, nella retrazione capsulare antero-inferiore e nelle aderenze peritendinee le cause della rigidità glenoumerale.

Trattamento chirurgico

La lisi chirurgica è una metodica da riservare in casi drammatici, dove nessun'altra procedura abbia dato risultati favorevoli. Oggi giorno si è dell'avviso che il trattamento chirurgico "a cielo aperto" sia un intervento poco perseguibile, mentre la lisi artroscopica, intervento sicuramente meno invasivo, molto spesso deve essere preceduto da una mobilizzazione in narcosi, poiché senza questo preventivo "sblocco" può risultare difficile l'ingresso dell'artroscopio in articolazione.

La chirurgia "aperta" ha ancora un importante ruolo nella *frozen shoulder* idiopatica, soprattutto, quando il chirurgo vuole risolvere la normale escursione in extrarotazione, allungando il sottoscapolare. Nelle forme secondarie, invece, nelle rigidità periarticolari, post-chirurgiche e nelle recidive, la chirurgia "aperta" viene penalizzata nel postoperatorio dal dolore, sicuramente maggiore rispetto alle altre tecniche, e dalla sutura delle parti molli (per esempio del

sottoscapolare) che limita la mobilitazione precoce. L'indicazione primaria per l'artroscopia è un precedente fallimento delle manipolazioni.

Le tecniche chirurgiche essenzialmente prevedono due soluzioni:

1) *il release dell'intervallo dei rotatori* (debridement sinoviale, sezione dei legamenti coraco-omerale e gleno-omerale superiore), associato a gentili manipolazioni (83% di risultati soddisfacenti e *Constant* medio postoperatorio di 90 punti) (43),

2) *il release capsulare antero-posteriore completo* (93% di motilità finale rispetto all'arto controlaterale) (44).

I vantaggi maggiori della tecnica a cielo aperto sono la possibilità di trattare in modo risolutivo tanto la patologia distale del recesso ascellare a prevalente componente intraarticolare, quanto la componente prossimale prevalentemente extra-articolare, bursale. Vi è anche l'opportunità di localizzare precisamente le contratture e di intervenire su di esse sotto la visione diretta; gli svantaggi sono rappresentati dalla maggiore invasività, dal dolore postoperatorio e dalla necessità di proteggere il tendine sottoscapolare. L'approccio è deltoideo-pettorale e le aderenze vengono eliminate a mano a mano che la dissezione si approfondisce verso l'articolazione gleno-omerale; si praticano il release del legamento coraco-omerale e dell'intervallo dei rotatori, un allungamento a "Z" del tendine del sottoscapolare e della capsula, facendo grande attenzione a rispettare il nervo ascellare. Il periodo postoperatorio prevede esercizi di mobilitazione passiva e attiva-assistita, con limitazione nell'extrarotazione e nell'intrarotazione durante le prime 4-6 settimane dopo l'intervento per proteggere il tendine del muscolo sottoscapolare.

La procedura artroscopica è tecnicamente complessa, ma le esperienze cliniche hanno fornito dati abbastanza soddisfacenti. L'artroscopia di spalla consente di definire in modo preciso la sede e la gravità della patologia e di effettuare una lisi selettiva delle strutture capsulo-legamentose retratte; inoltre permette di eseguire una lisi delle eventuali aderenze presenti nello spazio subacromiale. I risultati della lisi artroscopica nel trattamento della capsulite adesiva della spalla riportati in letteratura sono soddisfacenti. Pollock (45) ha riportato, su 30 casi, l'83% di risultati soddisfacenti. Ogilvie-Harris (46) ha riportato, su 20 casi, il 75% di risultati buoni o eccellenti. Segmuller et al. (47) hanno riportato, su 26 casi, l'88% di risultati soddisfacenti.

Attualmente, si è arrivati ad avere nelle mani una tecnica "standardizzata": I pazienti vengono sottoposti, previa anestesia generale asso-

ciata ad anestesia loco-regionale del plesso brachiale, a manovre di mobilitazione. Con la mobilitazione dell'articolazione scapolo-omerale si valuta la porzione della capsula maggiormente ispessita e retratta così da orientare la successiva fase di release artroscopico. Si passa quindi alla fase chirurgica artroscopica con paziente in decubito laterale. Dal portale posteriore e successivamente da quello antero-superiore si entra in articolazione scapolo-omerale e si procede a pulizia con fresa motorizzata aspirante (*shaver*) della sinovite capsulare che frequentemente si reperta. Dopo essere entrati a fatica in articolazione si rivolge l'artroscopio verso la cuffia e il capo lungo del bicipite (CLB), senza cercare di forzare le rime articolari poiché la testa omerale è incollata al piano glenoideo; senza ledere il CLB si introduce, con tecnica da dentro a fuori, una cannula anteriormente dove è localizzato il triangolo dei rotatori e tramite strumento motorizzato si cerca di aprire la capsula posteriore eseguendo con lo shaver un'artrolisi. Una volta eseguito questo gesto, in genere si possono apprezzare le strutture anteriori del triangolo dei rotatori, che risulta affetto frequentemente da una sinovite cronica e appare contratto; si porta, quindi, l'ottica anteriormente e si riprende mediante il portale posteriore l'artrolisi posteriore valutando inoltre la contrattura della capsula anteriore. Come ultimo passo si riporta l'ottica posteriormente e si esegue l'artrolisi per via anteriore con un basket. Ottenuta una buona visualizzazione della camera articolare si procede a release della capsula anteriore partendo dal legamento gleno-omerale inferiore e salendo lungo il gleno-omerale medio fino al legamento gleno-omerale superiore. Il tendine sottoscapolare è stato quindi liberato dalle sue aderenze con la capsula e con il legamento gleno-omerale medio. Il legamento gleno-omerale medio è stato sezionato a circa 1 cm dal margine della glenoide per salvaguardare il cercine glenoideo e di conseguenza la stabilità della spalla. Particolare attenzione si pone a non ledere il tendine del capo-lungo del bicipite e del sottoscapolare ed inferiormente il nervo ascellare. Come atto chirurgico conclusivo si valuta la mobilità della testa omerale, l'apertura della rima articolare e lo spazio subacromiale.

Dopo l'intervento non viene applicata alcuna immobilizzazione alla spalla ed il trattamento riabilitativo viene iniziato nell'immediato postoperatorio.

La fisioterapia post-operatoria, protratta per almeno tre mesi, è fondamentale per mantenere il *range* articolare ottenuto mediante l'intervento chirurgico e per ottenere il rinforzo della muscolatura del "complesso spalla". Già in prima giornata si inizia il trattamento con posture in abdu-

zione ed extrarotazione mediante ausili e si effettua una mobilizzazione passiva manuale progressiva, eseguita in trazione e decompressione per evitare contratture riflesse, così da raggiungere, su tutti i piani, l'escursione articolare consentita dal dolore. La prima fase della riabilitazione ha come obiettivo il mantenimento della distensione capsulare e di conseguenza del range articolare ottenuti con il release artroscopico e dura 30 gg con frequenza di cinque trattamenti a settimana. La seduta fisioterapica inizia con oscillazioni in arco non doloroso della spalla operata con movimento a pendolo per ottenere il rilassamento muscolare; segue la cauta mobilizzazione passiva assistita in arco non doloroso per passare gradualmente a quella attiva nei giorni successivi. A 30 giorni dall'intervento, ottenuto un buon recupero articolare, si procede alla seconda fase del trattamento riabilitativo il cui obiettivo è il potenziamento ed il riequilibrio della muscolatura del complesso "spalla". La durata di tale fase è circa di due mesi, con frequenza trisettimanale. Dall'inizio del quarto mese, una volta terminato il programma riabilitativo assistito, è consigliato al paziente di praticare lo sport del nuoto privilegiando lo stile libero e dorso.

Conclusioni

La spalla essendo l'articolazione del corpo umano più mobile fa sì che una rigidità di qualsiasi origine, idiopatica o secondaria ad altra patologia, che ne limita in maniera significativa l'escursione sia attiva che passiva rappresenta un importante problema clinico che l'ortopedico deve conoscere e saper affrontare.

Nello studio dell'ortopedia, il dibattito sulla spalla congelata è stato argomento di continue controversie fin dal 1934 quando Codman coniò il termine originale. Numerosi studi in letteratura hanno stabilito che l'elemento anatomopatologico, che contraddistingue tale quadro morboso, è una contrattura delle strutture capsulo-legamentose anteriori della spalla, in particolare delle formazioni anatomiche situate all'intervallo dei rotatori: il legamento coraco-omeroale ed il legamento gleno-omeroale superiore. Questa patologia è considerata una condizione benigna che può durare dai 18 ai 30 mesi, ma anche su questa caratteristica e sul suo decorso autolimitante qualche autore non è d'accordo.

Una diagnosi corretta è sicuramente alla base per potere iniziare un protocollo terapeutico. Svariati protocolli terapeutici, sia conservativi che chirurgici, hanno un unico obiettivo finale: la scomparsa del dolore ed il completo recupero del ROM. Il problema principale resta quello di capire quando cambiare il

trattamento conservativo e passare a quello più aggressivo. Molti studi prospettici intesi a dimostrare un particolare beneficio di un trattamento rispetto ad un altro, hanno suggerito che una presentazione e un trattamento precoce esitavano in una guarigione rapida, dopo il trattamento.

La *frozen shoulder* solitamente come primo approccio risponde bene ad una terapia incruenta, consistente in un programma adeguato e ben condotto di terapia fisica riabilitativa. La possibilità di trattamenti successivi consistono nella terapia fisica, le infiltrazioni di cortisone, la mobilizzazione in narcosi e la lisi chirurgica a cielo aperto o artroscopica. La mobilizzazione in narcosi è la metodica terapeutica, da sempre, più utilizzata, riporta risultati positivi nel 50-90% dei casi. Agli indubbi vantaggi apportati da questa tecnica, si contrappongono svariate critiche, come più volte riferite in letteratura, nonostante eminenti Autori hanno dimostrato il contrario. Solo i pazienti che hanno fallito un adeguato ciclo di trattamento non chirurgico e un tentativo di manipolazione (se non controindicata) devono essere considerati per un *release* chirurgico a cielo aperto o artroscopico. Il successo terapeutico in questa complessa patologia può essere ottenuto solo con la stretta collaborazione tra il chirurgo ortopedico, il medico fisiatra ed il paziente, e bisogna sempre informarlo, come afferma Charles Rockwood, di essere un *paziente "paziente"*.

Bibliografia

1. Codman EA, Akerson IB: The pathology associated with rupture of the supraspinatus tendon. *Ann Surg.* 1931;93:348-59.
2. Zuckerman JD, Mirabello SC, Newman D, Gallagher M, Cuomo F: The painful shoulder: Part I. Extrinsic disorders. *Am Fam Physician.* 1991;43:119-28.
3. Hannafin JA, Chiaia TA.: Adhesive capsulitis: a treatment approach. *Clin Orthop Relat Res.* 2000;372:95-109.
4. Bunker TD, Anthony PP. The pathology of frozen shoulder: a Dupuytren like disease. *J Bone Joint Surg* 1995;77:677-83.
5. Morén-Hybbinette I, Moritz U, Scherstén B: The painful diabetic shoulder. *Acta Med Scand.* 1986;219:507-14.
6. Neviasser R, Neviasser T: The frozen shoulder diagnosis and management. *Clin Orthop Rel Res* 1987;223:59-64.
7. Bulgen DY, Hazleman BL: Immunoglobulin-A, HLA-B27 and frozen shoulder. *Lancet* 1981;2:760.
8. Neveasier RJ: Painful condition affecting the shoulder. *Clin Orthop* 1975;173:62-72.
9. Summers GD, Gorman WP: Bilateral adhe-

- sive capsulitis and hashimoto thyroiditis. *Br J Rheumatol* 1989;28:451.
10. Bridgman JF: Periarthritis of the shoulder and diabetes mellitus. *Ann Rheum Dis*. 1972;31:69-71.
 11. Pal B, Anderson J, Dick WC, Griffiths ID: Limitation of joint mobility and shoulder capsulitis in insulin- and non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Br J Rheumatol* 1986;25:147-51.
 12. Lequesne M, Dang N, Bensasson M, Mery C: Increased association of diabetes mellitus with capsulitis of the shoulder and shoulder-hand syndrome. *Scand J Rheumatol* 1977;6:53-6.
 13. Sattay MA, Luqman WA: Periarthritis: another duration-related complication of diabetes mellitus. *Diabetes Care* 1985; 8:507-10.
 14. Goldman SI, Krings MS. Phenobarbital-induced fibromyalgia as the cause of bilateral shoulder pain. *J Am Osteopath Assoc*. 1995; 95:487-90.
 15. Porcellini G, Campi F, Paladini P: La spalla rigida indotta dall'uso di di farmaci antiepilettici. *Artroscopia* 2000;1:1.
 16. Sandor Rich: Adesive capsulitis: optimal treatment of frozen shoulder. *Physician and sportmedicine*; 2000;28:23-9.
 17. Simmonds FA: Shoulder pain: with particular reference to the frozen shoulder. *J Bone Joint Surg [Br]* 1949;31:426-32.
 18. DePalma AF: Loss of scapulohumeral motion (frozen shoulder). *Ann Surg* 1952;135:193-204.
 19. Neviasser RJ, Neviasser TJ: The frozen shoulder. Diagnosis and management. *Clin Orthop* 1987, 223:59-64.
 20. Lundberg J: The frozen shoulder. Clinical and radiographical observations. The effect of manipulation under general anesthesia. Structure and glycosaminoglycan content of the joint capsule. Local bone metabolism. *Acta Orthop Scand*. 1969;119:1-59.
 21. Ozaky J, Nakagava Y: Recalcitrant chronic adhesive capsulitis of the shoulder. Role of contracture of the coracohumeral ligament and rotator interval in pathogenesis and treatment. *J Bone Joint Surg* 1998;71:1511-5.
 22. Rodeo SA, Hannafin JA, Tom J, Warren RF, Wickiewicz TL: Immunolocalization of cytokines and their receptors in adhesive capsulitis of the shoulder. *J Orthop Res*. 1997; 15:427-36.
 23. Bunker T, Anthony P: The pathology of frozen shoulder: a Dupuytren-like disease. *J Bone Joint Surg* 1998;77:667-83.
 24. Bunker T, Reilly J, Baird K, Hamblen D: Expression of growth factors, cytokines and matrix metalloproteinases in frozen shoulder. *J Bone Joint Surg [Br]* 2000;82:768-73.
 25. Miller MD, Whirt Ma, Rockwood CA Jr: Thawing the frozen shoulder: the "patient" patient. *Orthopedics*. 1996; 19:849-53.
 26. Brue S, Valentin A, Forssblad M, Werner S, Mikkelsen C, Cerulli G.: Idiopathic adhesive capsulitis of the shoulder: a review. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc*. 2007;15:1048-54.
 27. Hannafin JA., Chiaia TA: Adesive capsulitis: a treatment approach. *Clin Orthop Relat Res* 2000;372:95-109.
 28. Leppälä J, Kannus P, Sievänen H, Järvinen M, Vuori I: Adhesive capsulitis of the shoulder (frozen shoulder) produces bone loss in the affected humerus, but long-term bony recovery is good. *Bone* 1998;22:691-4.
 29. Lundberg J: The frozen shoulder. Clinical and radiographical observations. The effect of manipulation under general anesthesia. Structure and glycosaminoglycan content of the joint capsule. Local bone metabolism. *Acta Orthop Scand*. 1969;119:1-59
 30. Vad VB, Sakalkale D, Warren RF: The role of capsular distention in adhesive capsulitis. *Arch Phys Med Rehabil* 2003;84:1290-2.
 31. Fouquet B, Griffoul I, Borie MJ, Roger R, Bonnin B, Metivier JC, Pellieux S: Adhesive capsulitis: evaluation of a treatment coupling capsular distension and intensive rehabilitation. *Ann Readapt Med Phys*. 2006;49:68-74.
 32. Olgivie-Harris DJ, Biggs DJ, Fitsialos DP, MacKay M: the resistant frozen shoulder. Manipulation versus arthroscopic release. *Clin Orthop*. 1995;319:238-48.
 33. Binder AI, Bulgen DY, Hazleman BL, Roberts S: Frozen Shoulder: a long-term prospective study. *Ann Rheum Dis*. 1984;43:361-4.
 34. Bunker TD, Esler CN: Frozen shoulder and lipids. *J Bone Joint Surg* 1995;77B:684-6.
 35. Hollingworth GR, Ellis RM, Hattersley TS: Comparison of injection techniques for shoulder pain: results of a double blind, randomised study. *Br Med J (Clin Res Ed)*. 1983;287:1339-41.
 36. Thomas T., Beaudreuil J: Non traumatic pathology of the shoulder: medical treatment. *Rev Prat*. 2006;56:1550-6.
 37. Alvado A, Pelissier J, Benaim C, Petiot S, Herisson C: Physical therapy of frozen shoulder: literature review. *Ann Readapt Med Phys* 2001;44:59-71.
 38. Dierks RL, Stevens M: Gentle thawing of frozen shoulder: a prospective study of supervised neglect versus intensive physical therapy in seventy-seven patients with frozen shoulder syndrome followed up for two years. *J Shoulder Elbow Surg*. 2004;13:499-502.
 39. Farrell CM, Sperling JW, Cofield RH: Manipulation for frozen shoulder: long-term results. *J Shoulder Elbow Surg*. 2005 Sep-Oct;14 (5):480-4.

40. Castellarin G, Ricci M, Vedovi E, Vecchini E, Sembenini P, Marangon A, Vangelista A: Manipulation and arthroscopy under general anesthesia and early rehabilitative treatment for frozen shoulders. *Arch Phys Med Rehabil.* 2004;85:1236-40.
41. Piscopo A, Sergio F, Zanchini F: La capsulite adesiva :nostro protocollo terapeutico. *Giornale Italiano di Ortopedia e Traumatologia* 2004; 30: 60-4.
42. Pollock RG, Duralde XA, Flatow EL, Bigliani LU: The use of arthroscopy in the treatment of resistant frozen shoulder. *Clin Orthop Relat Res.* 1994;304:30-6.
43. Beaufils P, Prevot N, Boyer T, Allard M, Dorfmann H, Frank A, Kelberine F, Kempf JF, Mole D, Walch G: Gleno-humeral arthroscopic arthrolysis for shoulder stiffness. Apropos of 26 cases. *Societe Francaise d'Arthroscopie. Arthroscopy.* 1999;15:49-5.
44. Gerber C, Espinosa N, Perren TG: Arthroscopic treatment of shoulder stiffness. *Clin Orthop* 2001;390:119-28
45. Pollock RG, Duralde XA, Flatow EL, Bigliani LU: The use of arthroscopy in the treatment of resistant frozen shoulder. *Clin Orthop Relat Res.* 1994;304:30-6.
46. Ogilvie-Harris DJ, Biggs DJ, Fitsialos DP, et al: The resistant frozen shoulder. Manipulation versus arthroscopic release. *Clin Orthop* 1995;319:238-48.
47. Segmuller HE, Taylor DE, Hogan CS, Saies AD, Hayes MG: Arthroscopic treatment of adhesive capsulitis. *J Shoulder Elbow Surg.* 1995;4:403-8.

**Atti del WORKSHOP
IL RUOLO DELLA RICERCA SCIENTIFICA
NELLA FORMAZIONE DEL GIOVANE MEDICO**

Palermo, Aula Magna Istituto Radiologia, 7 - 8 novembre 2008

CAPSULA EBURNEA, 3 (Suppl. 1):1-13, 2008.

Guest Editor: Francesco Dispenza, M.D.

Dipartimento di Discipline Chirurgiche ed Oncologiche, Università degli Studi di Palermo, Italy

Email: francesco-dispenza@libero.it

Soggetti Promotori:

Segretariato Italiano Medici Specializzandi
Segretariato Italiano Giovani Medici
Osservatorio per l'Accesso dei Giovani alla Ricerca
Rivista scientifica on line "Capsula Eburnea"

Patrocini:

Senato della Repubblica;
Ministero dell'Istruzione, dell'Università e della Ricerca
Ministero Lavoro, Salute e Politiche Sociali
Regione Siciliana
Assemblea Regionale Siciliana
Assessorato Regionale alla Sanità
Presidenza Assemblea Regionale Siciliana
Università degli Studi di Palermo
Ordine dei Medici della Provincia Palermo

Presentazione

La presente iniziativa è nata con l'auspicio di diffondere e stressare, sul territorio nazionale, il messaggio che nella formazione del giovane medico un ruolo non secondario dovrebbe essere rivestito dalla ricerca scientifica; infatti, durante il percorso formativo sia delle scuole di specializzazione che dei corsi di medicina generale sarebbe auspicabile, se non obbligatorio, che il giovane medico curasse aspetti e problematiche scientifiche attraverso l'utilizzo di tecniche di investigazione, ragionamento, raccolta e analisi di dati, la scelta delle modalità di presentazione e di esposizione dei risultati nonché l'apprendimento e il perfezionamento delle capacità di speculazione, propri delle metodologie scientifiche codificate e internazionalmente riconosciute come valide; questo consente non solo l'acquisizione di una maggiore capacità discriminatoria durante lo studio della letteratura, specie in lingua anglosassone, ma anche la capacità di trasformare un dilemma clinico in un problema scientifico da scomporre, analizzare

e risolvere, e di giungere ad un risultato (diagnostico o terapeutico) di migliore qualità, con conseguente beneficio sia per il paziente che per le economie del sistema sanitario. L'idea di mettere a confronto giovani medici di ambiti di ricerca e di lavoro differenti, unitamente alla rappresentazione dell'esperienza condotta da giovani ricercatori Italiani operanti in strutture di altri Paesi, trova fondamento nell'esigenza di avviare una profonda riflessione sull'opportunità di implementare le politiche sanitarie in tema di accesso alla Ricerca e finanziamento della stessa. Il Workshop rappresenterà inoltre un'importante occasione, innovativa nel suo genere, per presentare agli attori della Sanità (Rettori delle Università, Direttori Generali Aziende Ospedaliere e Sanitarie, Direttori IRCCS, Fondazioni, Aziende Farmaceutiche) il capitale umano, nonché le competenze e le qualità scientifiche, rappresentato dai giovani medici Italiani che nella Formazione e nella Ricerca hanno investito.

Presidente Onorario

Prof. Roberto Lagalla

Magnifico Rettore dell'Università degli Studi di Palermo

Comitato Organizzatore

Walter Mazzucco, Luca Dragotto, Giovanni Lo Piparo, Dario Altieri, Gianluca Albanese, Marco Oriolesi, Alfonso Lucia, Pierpaolo Alongi, Myriam Lo Presti, Giorgio Lo Iacono, Salvatore Moscardini, Calogero Rinoldo

Comitato Scientifico

Francesco Cappello, Salvatore Corrao, Cristoforo Di Bernardo, Francesco Dispenza, Antonio Lo Casto, Alessandro Geraci, Renato Malta, Domenico Merendino, Massimo Midiri, Riccardo Speciale

Elenco dei relatori e dei moderatori

Salvatore Accomando, Università degli Studi di Palermo
Gianluca Albanese, Università degli Studi di Catania
Filippo Alongi, Istituto S. Raffaele Milano
Sergio Bagnato, Istituto S. Raffaele - Giglio, Cefalù
Tommaso Bartolotta, Università degli Studi di Palermo
Giulia Bivona, Università degli Studi di Palermo
Vito Bongiorno, Università degli Studi di Grenoble, Francia
Francesco Cappello, Università degli Studi di Palermo
Giuseppe Cicero, Università degli Studi di Palermo
Alfredo Conti, Università degli Studi di Messina
Silvestro E. D'Anna, Istituto S. Raffaele - Giglio, Cefalù
Salvatore D'Arpa, Università degli Studi di Palermo
Alessandro De Stefano, Università "G. d'Annunzio", Chieti
Francesco Dispenza, Università degli Studi di Palermo
Alessandro Geraci, Università degli Studi di Palermo
Filippo Giambartino, Università degli Studi di Palermo
Giovanni Grasso, Università degli Studi di Palermo
Pierluigi Ingrassia, Università degli Studi del Piemonte Orientale
Chiara Intrivici, Università degli Studi di Palermo
Giovanni Li Volti, Università degli Studi di Catania
Maria Letizia Lo Spalluti, Università degli Studi di Palermo
Walter Mazzucco, Università degli Studi di Palermo
Domenico Merendino, Università degli Studi di Palermo
Sebastiano Nanè, Università degli Studi di Catania
Eva Polverino, Università degli Studi di Barcellona, Spagna
Cristoforo Pomara, Università degli Studi di Foggia
Antonio Puccio, Università degli Studi di Verona
Giuseppe Puccio, Università degli Studi di Palermo
Vito Rodolico, Università degli Studi di Palermo
Francesco Sanguedolce, Università degli Studi di Bologna
Agostino Serra, Università degli Studi di Catania
Gianfranco Spatola, Università degli Studi di Palermo
Giovanni Tomasello, Università degli Studi di Palermo
Claudio Tripodo, Università degli Studi di Palermo
Angelo Vetro, "Centro Medico Mantia", Palermo
Manlio Vinciguerra, Campus "A. Buzzati-Traverso," Monterotondo, Roma

ABSTRACTS

SIGNALING AND EPIGENETICS IN STRESSED HEARTS

Manlio Vinciguerra¹, Andreas Ladurner², Nadia Rosenthal¹

¹European Molecular Biology Laboratory Mouse Biology Unit, Campus "A. Buzzati-Traverso," Monterotondo-Scalo, Rome, Italy,

²European Molecular Biology Laboratory, Meyerhofstrasse 1, 69117 Heidelberg, Germany. Email: manlio.vinciguerra@embl.it

Oxidative stress is considered a mechanism of disease progression in the heart, leading in the long run to myocardial ischemia and heart failure (1). Insulin growth factor-1 (IGF-1) is a peptide hormone with several pleiotropic effects in target organs and with a complex regulation of its gene at the transcript level. Various IGF-1 isoforms display totally different effects on heart and skeletal muscle aging, regeneration and disease (2). Our laboratory has recently shown that a locally acting IGF-1 isoform (mIGF-1) helps the heart to recover from injury by upregulating the antiapoptotic and antioxidant response in a heart-specific transgenic mouse model (3).

Sirtuin 1 (SirT1) is the leading member of a family of cytoplasmic and nuclear (histones) nicotinamide adenine dinucleotide NAD-dependent protein deacetylases, the sirtuins, whose activation is strongly believed to be helpful to treat a variety of models of metabolic, neurodegenerative and inflammatory disease (4). SirT1 overactivation in the heart of mice and monkeys has been shown to protect the heart from oxidative stress (5). SirT1 enzymatic reaction, using an acetylated protein as a substrate and NAD as a co-factor, generates a deacetylated protein and an unusual small metabolite called O-acetyl-ADP-ribose (OAADPR), whose function remains elusive. SirT1 is activated by resveratrol, contained in red wine, and by caloric restriction (6), and its expression/activity is counteracted by the circulating form of IGF-1 (6). In addition, IGF-1 circulating levels are lowered upon caloric restriction (7). IGF-1 and SirT1 share common molecular downstream targets in the heart muscle, and this in turn may affect importantly cardiovascular function (8). Therefore, SirT1 and IGF-1 have been shown to play antagonizing biological roles but a detailed study of the impact of different IGF-1 isoforms, acting locally or systemically, on SirT1 activity in the heart, as well as in other organs, has

been lacking so far.

DNA is wrapped around octamers of histones H2A, H2B, H3 and H4, forming the nucleosome structure of the chromatin inside the nucleus of every cell. Chromatin compaction is regulated at several levels, such as chromatin remodeling complexes, post-translational modification of histones and replacement of canonical histones (H2A, H2B, H3 and H4) with histone variants. Such plastic structure of chromatin renders possible the controlled accession of transcription factors to the DNA in order for transcription to occur (9).

macroH2A1 is an histone variant of histone H2A believed to act a strong transcriptional repressor (10, 11). macroH2A1 is present in 2 isoforms, macroH2A1.1 and macroH2A1.2, which are generated from a common messenger RNA upon alternative exon splicing (12). We found that macroH2A1.1 is strongly expressed in the heart, and more in general in post-mitotic tissues, whereas macroH2A1.2 is not. Importantly, we have also recently shown that macroH2A1.1 binds with very tight affinity SirT1 metabolite OAADPR, whereas macroH2A1.2 does not (12). The functional significance of this binding specificity is not currently understood. Moreover, the role of macroH2A1 isoforms in the SirT1-dependent transcriptional program and during heart stress is not known. IGF/SirT1 signaling pathway and its interactions with epigenetic events such as chromatin remodeling by incorporation of histone variants such as macroH2A1 isoforms, may represent an important therapeutic target for drugs aiming at treating heart diseases, and its multi-faceted molecular features need to be elucidated in deep detail.

References

1. Mak S, Newton GE: The oxidative stress hypothesis of congestive heart failure: radical thoughts. *Chest* 2001; 120(6): 2035-46.
2. Winn N, Paul A, Musaró A, Rosenthal N: Insulin-like growth factor isoforms in skeletal muscle aging, regeneration, and disease. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol* 2002; 67: 507-18.
3. Santini MP, Tsao L, Monassier L, Theodoropoulos C, Carter J, Lara-Pezzi E, Slonimsky E, Salimova E, Delafontaine P, Song YH, Bergmann M, Freund C, Suzuki K, Rosenthal N: Enhancing repair of the mammalian heart. *Circ Res* 2007; 100(12): 1732-40.
4. Lavu S, Boss O, Elliott PJ, Lambert PD: Sirtuins--novel therapeutic targets to treat age-associated diseases. *Nat Rev Drug Discov* 2008; 7(10): 841-53.
5. Alcendor RR, Gao S, Zhai P, Zablocki D,

- Holle E, Yu X, Tian B, Wagner T, Vatner SF, Sadoshima J: Sirt1 regulates aging and resistance to oxidative stress in the heart. *Circ Res* 2007; 100(10): 1512-21.
6. Cohen HY, Miller C, Bitterman KJ, Wall NR, Hekking B, Kessler B, Howitz KT, Gorospe M, de Cabo R, Sinclair DA: Calorie restriction promotes mammalian cell survival by inducing the SIRT1 deacetylase. *Science* 2004; 305(5682): 390-2.
7. Huffman DM, Moellering DR, Grizzle WE, Stockard CR, Johnson MS, Nagy TR: Effect of exercise and calorie restriction on biomarkers of aging in mice. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2008; 294(5): R1618-27.
8. Ni YG, Wang N, Cao DJ, Sachan N, Morris DJ, Gerard RD, Kuro-O M, Rothermel BA, Hill JA: FoxO transcription factors activate Akt and attenuate insulin signaling in heart by inhibiting protein phosphatases. *Proc Natl Acad Sci U S A* 18; 104(51): 20517-22.
9. Goldberg AD, Allis CD, Bernstein E: Epigenetics: a landscape takes shape: *Cell* 2007; 128(4): 635-8.
10. Ladurner AG: Inactivating chromosomes: a macro domain that minimizes transcription: *Mol Cell* 2003; 12(1): 1-3.
11. Doyen CM, An W, Angelov D, Bondarenko V, Mietton F, Studitsky VM, Hamiche A, Roeder RG, Bouvet P, Dimitrov S: Mechanism of polymerase II transcription repression by the histone variant macroH2A. *Mol Cell Biol* 2006; 26(3): 1156-64.
12. Kustatscher G, Hothorn M, Pugieux C, Scheffzek K, Ladurner AG: Splicing regulates NAD metabolite binding to histone macroH2A. *Nat Struct Mol Biol* 2005; 12(7): 624-5.

RUOLO DELL'EME-OSSIGENASI-1 NELLA PREVENZIONE DELLE COMPLICANZE CARDIOVASCOLARI DELLE PATOLOGIE RENALI

Giovanni Li Volti

Dipartimento di Chimica Biologica, Chimica Medica e Biologia Molecolare, Università degli Studi di Catania, Viale Andrea Doria, 6 95125 Catania. Email: livolti@unict.it

Numerosi studi clinici hanno dimostrato come i pazienti affetti da nefropatie siano maggiormente suscettibili a contrarre patologie cardiovascolari (1). E' stato, infatti, rilevato come il numero di pazienti in dialisi, deceduti per complicanze cardiovascolari, sia di 230 per 1000 pazienti dializzati, rappresentando così il 23% delle cause di morte in questi pazienti (2). Sono state avanzate numerose ipotesi per

spiegare tale elevata incidenza di mortalità in questi pazienti. Secondo alcuni autori (2) le complicanze cardiovascolari sarebbero secondarie all'aumentata incidenza delle patologie coronariche occlusive associate ad una ridotta resistenza all'ischemia miocardica. Inoltre, è stato anche prospettato che l'aumentato rischio cardiovascolare in questi pazienti dipenderebbe da un alterato equilibrio idro-elettrolitico e/o da una alterata funzionalità del sistema parasimpatico responsabile dei meccanismi che regolano l'attività vascolare. Nonostante il dato clinico dell'incidenza di queste patologie nei pazienti affetti da nefropatie sia certo, i meccanismi biochimici e fisiopatologici che ne stanno alla base non sono stati ancora completamente chiariti.

Lo scopo della presente ricerca è stato quello di studiare i possibili meccanismi biochimici coinvolti nelle patologie cardiovascolari secondarie a nefropatie e come sia possibile intervenire su importanti target nel tentativo di prevenire e/o ridurre il rischio di tali complicanze mediante l'induzione farmacologica dell'eme-ossigenasi-1. Questo enzima catalizza la conversione dell'eme in monossido di carbonio e biliverdina, sostanze entrambe ad azione anti-ossidante ed anti-apoptotica (3-4). A tale scopo, abbiamo trattato (n = 12) ratti con SnCl₂ (10 mg/kg), un noto induttore dell'eme-ossigenasi-1 (5), o con salina e, successivamente, sottoposti a ischemia renale bilaterale per 45 minuti, seguita da riperfusione per 30 min, 1h e 3h. I ratti sono stati sacrificati ed i reni utilizzati per misurare l'espressione dell'ossido nitrico-sintetasi inducibile (iNOS), dell'eme-ossigenasi-1, della caspasi-3 attiva, dei gruppi tiolici totali e dei lipidi idro-perossidi. Campioni di sangue sono stati anche prelevati ai diversi tempi di riperfusione per la determinazione dei nitriti/nitrati, dei gruppi tiolici totali e dei lipidi idroperossidi.

I nostri risultati hanno dimostrato che l'ischemia/riperfusione causa un aumento tempo-dipendente dell'espressione della iNOS, della caspasi-3 attivata e della formazione di lipidi idro-perossidi e nitriti/nitrati. I valori di gruppi tiolici totali renali hanno subito, inoltre, una significativa riduzione tempo-dipendente. Parallelamente nel plasma abbiamo osservato un significativo aumento dei nitriti/nitrati e dei lipidi idroperossidi oltre ad una significativa riduzione dei gruppi tiolici totali. Quando i ratti sono stati pretrattati con l'induttore dell'HO-1, tutti i valori dei parametri da noi studiati sono rientrati entro i limiti della norma. Inoltre, l'induzione dell'eme-ossigenasi-1 ha prevenuto il rilascio di mediatori infiammatori come nitriti/nitrati, lipidi idroperossidi ed anche la riduzione

dei gruppi tiolici totali. Per dimostrare ulteriormente che i nostri risultati sono dipendenti dall'induzione farmacologica dell'attività enzimatica dell'eme ossigenasi-1, i ratti sono stati trattati con SnCl₂ ed SnMP, sostanza quest'ultima che è un noto inibitore competitivo dell'attività dell'eme-ossigenasi. Questo set di esperimenti ha permesso di dimostrare che l'SnMP abolisce l'effetto protettivo dell'SnCl₂, confermando ulteriormente che l'HO-1 gioca un ruolo fondamentale nei meccanismi di infiammazione e nell'apoptosi renale.

In conclusione, i nostri risultati dimostrano che l'induzione farmacologica dell'eme-ossigenasi-1 causa una riduzione dei mediatori dell'infiammazione che stanno alla base delle complicanze vascolari osservate nei pazienti affetti da patologie renali (i.e. pazienti trapiantati) e può essere considerata come strategia farmacologica nella prevenzione del danno d'organo.

Bibliografia

1. Wu-Wong JR. Endothelial dysfunction and chronic kidney disease: treatment options. *Curr Opin Investig Drugs* 2008; 9: 970-82.
2. Herzog CA, Mangrum JM, Passman R. Sudden cardiac death and dialysis patients. *Semin Dial* 2008; 21: 300-7.
3. Stocker R, Yamamoto Y, McDonagh AF, Glazer AN, Ames BN. Bilirubin is an antioxidant of possible physiological importance. *Science* 1987; 235: 1043-6.
4. Rytter SW, Alam J, Choi AM. Heme oxygenase-1/carbon monoxide: from basic science to therapeutic applications. *Physiol Rev* 2006; 86: 583-650.
5. Kappas A, Maines MD. Tin: a potent inducer of heme oxygenase in kidney. *Science* 1976; 192: 60-2.

LA CRISI DELL'AUTOPSIA DIDATTICA NEL PANORAMA NAZIONALE ED INTERNAZIONALE

Pomara Cristoforo, D'Errico Stefano

Sezione Dipartimentale di Medicina Legale Università degli Studi di Foggia
Ospedale Colonnello D'Avanzo, 71100 Foggia, Italy

Quanto attuale possa essere il discutere di "moderne" tecniche autoptiche all'interno del "sistema" medicina, è testimoniato dalla necessità di una riflessione sulla coerenza di corredare l'indagine settoria di accertamenti complementari che, attraverso l'indagine istopatologica

ed immunoistochimica si arricchisce delle più moderne indagini tossicologiche che, genetiche quando non anche biomolecolari. In questo senso, non sfugge l'attualità del dettato di cui all'art. 37 del Regolamento di Polizia Mortuaria (DPR 285/90), in rappresentanza della gran messe di disposizioni legislative riguardanti la morte nel nostro paese, che richiama a gran voce l'importanza della sezione cadaverica "...effettuata con finalità di controllo della diagnosi, ovvero con finalità di chiarimento di quesiti clinico-scientifici...". Nonostante il valore scientifico proprio dell'indagine autoptica, il numero dell'autopsie eseguite in Italia e all'estero è in netta diminuzione e questa tendenza al ribasso nelle indagini post mortem ha ben presto sollevato l'attenzione e la preoccupazione degli addetti ai lavori più lungimiranti. Appare di piana evidenza infatti che i divieti religiosi che disciplinano la "manomissione" del cadavere, seppur a fini diagnostico-terapeutici, non possono essere sufficienti a giustificare il progressivo declino della pratica autoptica, che, al contrario, è piuttosto da attribuire al timore delle aule giudiziarie (*malpractice*) e di un discredito professionale derivante da una diversa causa di morte accertata rispetto a quella presunta e non ultimo la scarsa cultura da parte della categoria medica sugli iter di richiesta di autopsia a fine di riscontro diagnostico. Ed allora ci si chiede: *the autopsy, do we still need it?* Piace riportare il quesito in inglese ancorché esso parafrasa per intero il titolo di un editoriale edito nel 1970 sulla prestigiosa rivista *Chest*, una critica review della letteratura scientifica nazionale ed internazionale fuga ogni possibile in merito, ribadendo il valore scientifico e didattico dell'autopsia, considerata a vario titolo non solo necessaria, ma assolutamente irrinunciabile.

Basti a testimoniare la bontà di tale assunto, da un lato una rapida scorsa a quanto riportato in letteratura circa l'enorme discrepanza tra il dato clinico relativo alla causa di morte e la reale causa di morte accertata mediante autopsia, dall'altro il riconosciuto valore didattico dell'esperimento settoria nella formazione dei giovani clinici e chirurghi. In questo contesto l'autopsia, lungi dall'esaurire gli accertamenti sul cadavere, non è che un momento di essi: non il primo, né tanto meno l'ultimo dei momenti di approccio al cadavere che prevede, tra l'altro, lo studio istologico di ogni singolo organo o frammenti di esso mediante colorazioni standard o speciali (immunoistochimica), l'indagine tossicologica e genetico-forense, ed i più specialistici esami di metabolomica e proteomica che scandiscono il corretto approccio ad una moderna indagine autoptica, troppo spesso vicariata, inopportuna, da seppur apprezzabile fredda iconografia documentale.

GAS EXCHANGE RESPONSE TO SHORT-ACTING BETA2-AGONISTS IN CHRONIC OBSTRUCTIVE PULMONARY DISEASE SEVERE EXACERBATIONS.

Polverino E, Gómez FP, Manrique H, Soler N, Roca J, Barberà JA, Rodríguez-Roisin R.

Servei de Pneumologia (Institut del Tòrax), Hospital Clínic, Institut d'Investigacions Biomèdiques August Pi i Sunyer, CIBER Enfermedades Respiratorias, Universitat de Barcelona, Barcelona, Spain. Email: evapo7-4@gmail.com

BACKGROUND: Short-acting beta(2)-agonists are one of the mainstays of bronchodilator strategy for exacerbations of chronic obstructive pulmonary disease (COPD). The assessment of pulmonary gas exchange after salbutamol in COPD severe exacerbations remains unknown. **OBJECTIVES:** We investigated whether the effects of nebulized salbutamol during COPD severe exacerbations are associated with further deterioration of pulmonary gas exchange. **METHODS:** We examined patients with severe COPD when hospitalized for exacerbation (n = 9), and while in stable convalescence. **MEASUREMENTS AND MAIN RESULTS:** We assessed spirometry, arterial blood gases, systemic hemodynamics, and V/Q relationships 30 and 90 minutes after administration of 5.0 mg salbutamol. At exacerbation, compared with baseline, 30 minutes after salbutamol administration, cardiac output (Q) increased (from 6.5 +/- [SEM] 0.4 to 7.3 +/- 0.5 L . min(-1)) (p < 0.03) alone, without inducing changes in gas exchange indices. When in convalescence, compared with baseline, 30 minutes after salbutamol, there was an increase in Q (from 5.7 +/- 0.5 to 7.0 +/- 0.6 L . min(-1)) and Vo(2) (from 211 +/- 12 to 232 +/- 11 ml . min(-1)) (p < 0.002 each), whereas Pa(O(2)) decreased (from 71 +/- 4 to 63 +/- 3 mm Hg) and alveolar-arterial Po(2) difference increased due to increased perfusion of low-V/Q-ratio regions (from 4.5 +/- 2.6 to 9.6 +/- 4.1% of Q) (p < 0.05); Sa(O(2)) (93 +/- 2%) and Pa(CO(2)) (43 +/- 2 mm Hg) remained unchanged. This deleterious gas exchange response persisted at 90 minutes. **CONCLUSIONS:** At exacerbation, salbutamol does not aggravate pulmonary gas exchange abnormalities. When in convalescence, however, baseline lung function improvement was associated with a detrimental gas exchange response to salbutamol, resulting in further V/Q imbalance and small decreases in Pa(O(2)) compounded by small increases in Q and

Vo(2).

VALUTAZIONE NEUROFISIOLOGICA NELLA DISFUNZIONE DEI MUSCOLI RESPIRATORI

Sergio Bagnato, Giuseppe Galardi

Unità Operativa di Riabilitazione e Servizio di Neurofisiologia, Fondazione Istituto San Raffaele - G. Giglio di Cefalù (PA). Email: sergiobagnato@virgilio.it

La disfunzione dei muscoli respiratori può essere causa di insufficienza respiratoria in numerose patologie di tipo neurologico. Lo studio neurofisiologico della muscolatura respiratoria va quindi effettuato in presenza di una insufficienza respiratoria in cui sia stata esclusa una eziologia cardio-polmonare e si sospetti una genesi "neurologica". Lo studio neurofisiologico è utile, in particolare modo, in presenza di patologie midollari o neuromuscolari e potrà fornire informazioni di tipo diagnostico, funzionale (gravità del danno) e prognostico. La valutazione della muscolatura respiratoria deve essere sempre preceduta da uno studio neurofisiologico dei quattro arti ed eventualmente del distretto cranico, effettuato con l'impiego di differenti metodiche. Le tecniche elettroencefalografiche (ENG) ed elettromiografiche (EMG) convenzionali, consentono di dimostrare la presenza di patologie a carico del secondo motoneurone (sclerosi laterale amiotrofica, atrofie muscolari spinali), dei nervi periferici (polineuropatie) o delle fibre muscolari (distrofie muscolari, malattie infiammatorie). La stimolazione ripetitiva e l'elettromiografia di singola fibra (SFEMG) sono le metodiche utilizzate per lo studio delle patologie della giunzione neuromuscolare responsabili di deficit della muscolatura respiratoria (miastenia, sindromi miasteniche, botulismo, avvelenamento da organofosfati). Infine le tecniche di stimolazione magnetica transcranica (TMS) consentono di determinare l'entità del coinvolgimento del primo motoneurone in patologie quali la sclerosi laterale amiotrofica e le mielopatie. Poiché il diaframma è il più importante dei muscoli respiratori, lo studio neurofisiologico del sistema nervo frenico - diaframma è essenziale qualora si voglia dimostrare la presenza di una disfunzione respiratoria a genesi neuro-muscolare. Esaminiamo, in breve, le metodiche di più comune impiego clinico nello studio del nervo frenico del diaframma.

Le tecniche ENG consentono di studiare la conduzione del nervo frenico dal punto di

stimolazione fino al diaframma. La stimolazione elettrica viene effettuata tra i punti di inserzione sternale e claveare del muscolo sternocleidomastoideo, la registrazione viene effettuata dal diaframma con elettrodi a coppetta o ad ago. La risposta ottenuta è generata dalle fibre muscolari, eccitate per mezzo della stimolazione elettrica degli assoni motori e derivata come differenza di potenziale. La risposta prende il nome di cMAP (compound muscle action potential) ed i parametri principali da valutare sono la latenza e l'ampiezza.

Le tecniche EMG consentono di studiare l'attivazione delle fibre muscolari del diaframma. L'ago-elettrodo va inserito nel diaframma a livello del VII o dell'VIII spazio intercostale, lungo la linea emiclaveare. I parametri da valutare sono rappresentati da: (a) presenza di attività patologiche a riposo (potenziali di fibrillazione, onde aguzze positive, potenziali di fascicolazione, scariche bizzarre ad alta frequenza, ecc); caratteristiche dei potenziali di unità motoria (PUM) e loro alterazione in senso neurogeno o miopatico; le caratteristiche del tracciato da sforzo (inspirazione profonda); la presenza di un pattern ritmico di attivazione.

La TMS consente di valutare in maniera non invasiva la conduzione delle vie motorie dirette la diaframma. La stimolazione viene effettuata mediante l'impiego di una bobina (coil) connessa ad uno stimolatore in grado di erogare campi magnetici ad alta intensità. La registrazione viene effettuata con elettrodi a coppetta posti sul diaframma. Se posizioniamo il coil sullo scalpo al vertice ed eroghiamo lo stimolo magnetico, otterremo una risposta che è espressione della conduzione lungo il sistema I-II motoneurone. Questa risposta prende il nome di MEP (motor evoked potential) ed i parametri principali da valutare sono l'ampiezza e la latenza. E' anche possibile posizionare il coil a livello cervicale (il nervo frenico origina da 3°, 4° e 5° nervo cervicale) per studiare la conduzione del nervo frenico lungo tutto il suo decorso, cosa non possibile con le metodiche ENG. Infine, se sottraiamo la latenza della risposta ottenuta per stimolazione periferica a quella ottenuta per stimolazione corticale, è possibile calcolare il tempo di conduzione centrale, espressione della conduzione lungo il I motoneurone. La TMS è pertanto l'unica metodica neurofisiologica che possa valutare il grado di coinvolgimento del I motoneurone in patologie causa di disfunzione respiratoria (ad es. nelle mielopatie e nella sclerosi laterale amiotrofica).

Infine, lo studio neurofisiologico di altri muscoli respiratori (sternocleidomastoideo, muscoli scaleni, muscoli intercostali interni ed esterni,

muscoli della parete addominale) è utile nei casi in cui venga meno l'attivazione "asincrona" dei muscoli respiratori e può essere effettuato nel contesto di registrazione EMG poligrafica di muscoli inspiratori (es. diaframma, intercostali esterni) ed espiratori (es. muscoli intercostali interni).

IL RACHIDE DEGENERATIVO: PROBLEMATICHE RIABILITATIVE.

Angelo Vetro

Dipartimento Studi, Centro Medico Mantia - Palermo. Email: a.vetro@centromedicomantia.it

La patologia degenerativa della colonna vertebrale costituisce una delle patologie più comuni dei nostri giorni. I tratti della colonna maggiormente colpiti sono quelli atteggiati in lordosi che hanno un prevalente ruolo nella genesi del movimento rachideo: il tratto cervicale ed il tratto lombare.

E' fondamentale l'inquadramento clinico e la diagnosi differenziale con patologie del rachide che hanno una diversa eziologia rispetto a quella degenerativa; questo faciliterà il successivo trattamento riabilitativo.

L'approccio terapeutico al paziente deve essere suddiviso in due momenti: uno sintomatico volto alla risoluzione della sintomatologia algica, l'altro eziologico atto a rimuovere la causa del sintomo principale rappresentato dal dolore.

Il programma rieducativo si propone di ottenere una rapida remissione della sintomatologia, di attuare una precoce ripresa dell'attività fisica evitando l'insorgenza delle recidive, mediante la riduzione del carico sulle strutture vertebrali, l'attenuazione del dolore, la mobilizzazione e la stabilizzazione vertebrale, il ripristino di una corretta biomeccanica articolare con una adeguata funzione muscolare, l'educazione posturale e comportamentale del paziente.

Bibliografia

Meigne R. - Douleurs d'épaule et rachis cervical. In : Simon L., Epaule et médecine de rééducation, pp.98-100. Paris, Masson, 1984

Kapandji I. A. - Physiologie articulaire. 3 vol., Paris. Maloine 1980.

Cowell I.M., Phillips D. R. - Effectiveness of manipulative physiotherapy for the treatment of a neurogenic cervicobrachial pain syndrome: a single case study—experimental design. Man. Ther. 2002 Feb.; 7 (1): 31-38

Allison G. T., Nagy B. M., Hall T. - A randomised clinical trial of manual therapy for

cervico-brachial pain syndrome- a pilot study. *Man. Ther.* 2002 May; 7 (2): 95-102.

Kjllman G., Oberg B. - A randomised clinical trial comparing general exercise, McKenzie treatment and a control group in patients with neck pain. *J. Rehabil. Med.* 2002 Jul; 34 (4):183-190.

Koes B. V., Bouter L. M., van Mameren H., et al. - The effectiveness of manual therapy, physiotherapy, and treatment by the general practitioner for non-specific beak and neck complaints. A randomised clinical trial. *Spine* 1992 Jan; 17 (1): 28-35.

RADIOTERAPIA ONCOLOGICA BASATA SULL'IMAGING BIO-MOLECOLARE ED IN FUNZIONE DEI NUOVI DATI RADIOBIOLOGICI

Filippo Alongi

Radioterapia, Istituto Scientifico H San Raffaele, Milano; Istituto di Bioimmagini e Fisiologia Molecolare-Consiglio Nazionale Delle Ricerche (IBFM-CNR)

Nel campo della radioterapia è in atto una continua evoluzione principalmente in due ambiti: l'avanzamento in tecnologia, e l'oncologia molecolare ed i suoi risvolti nell'imaging, quest'ultima con l'acquisizione di sempre più dettagliate informazioni predittive biologiche.

La Tomoterapia Elicale è una apparecchiatura innovativa, per l'esecuzione di una IMRT (radioterapia ad intensità modulata) rotazionale, costituita da una TC spirale accoppiata ad un acceleratore lineare. La tomoterapia consente, rispetto ad altre metodiche di radioterapia conformazionale tridimensionale o di IMRT seriale, una ottimizzazione della distribuzione di dose con ripidi gradienti di dose tra il volume di trattamento da irradiare e i tessuti sani circostanti da preservare. Inoltre le immagini della MVCT, ottenute prima di ogni seduta dallo stesso apparecchio di terapia, e sovrapposte alle immagini della KVCT di simulazione(matching), possono essere utilizzate per migliorare il posizionamento, con correzioni automatiche fornite dal software o manualmente dall'operatore. L'adeguata copertura del volume tumorale con dosi tumoricide e l'effettivo risparmio degli organi e tessuti sani richiede un'accurata valutazione delle incertezze presenti nelle varie fasi della procedura tomoterapica.

E' stato dimostrato che l'errore nella definizione del volume bersaglio può essere l'elemento più importante nel fallimento dell'intero trattamento radiante in molti distretti. Alcuni studi hanno dimostrato la superiorità della PET/TC rispetto

alla sola TC, alla sola PET e alla fusione sequenziale di immagini PET e TC ad esempio per la stadiazione del NSCLC(non small cell lung cancer) [Lardinois D 2003]. L'accuratezza della PET é risultata ad esempio pari al 95% per lesioni focali della pelvi e pari al 98% per metastasi epatiche, dimostrandosi in entrambi i casi superiore all'accuratezza della TC (65% e 93% rispettivamente) ed a quella dell'ecografia per quanto riguarda le sole lesioni metastatiche (93%).

Questi ed altri dati convergono su un ruolo chiave della PET/TC in gran parte delle neoplasie soggette a trattamento radiante e quindi a Tomoterapia. In particolare si definisce "Tomoterapia a guida metabolica" quel processo terapeutico che, in fase di pianificazione, utilizza le immagini PET per l'identificazione del BTV(Biological Target Volume), e in fase post trattamento per la valutazione della risposta al trattamento stesso. E' inoltre ancora oggetto di dibattito e di studio la tempistica adeguata per la valutazione della risposta con PET/TC in ordine al riscontro di reperti flogistici che possono mascherare la risposta metabolica al trattamento stesso. La PET/TC con FDG con le immagini acquisite in 4D permette inoltre di avere una stima del movimento d'organo(polmone, fegato, ecc.), restringendo il volume di trattamento e quindi la quota di tessuto sano compreso nelle aree ad alte dosi di prescrizione. A questa modalità di definizione del movimento d'organo con PET/TC in 4D potrebbe attribuirsi una riduzione delle complicanze previste.

In conclusione da tutti questi dati riportati emerge che la nuova acquisizione di dati in radioterapia moderna, grazie all'avanzamento tecnologico e all'integrazione con le metodiche di imaging più moderne, si traduce in una ottimizzazione delle procedure terapeutiche in termini di precisione e di accuratezza del trattamento.

LA GENTAMICINA INTRATIMPANICA NEL TRATTAMENTO DELLA MALATTIA DI MENIERE UNILATERALE: SPERIMENTAZIONE DEL PROTOCOLLO LOW-DOSE IN 24 ORE.

Alessandro De Stefano*, Carlo Baffa*, Adriano Castriotta*, Leonardo Citraro*, Giampiero Neri §

*Dipartimento di Scienze Chirurgiche, Sperimentali e Cliniche: Istituto di Otorinolaringoiatria, Università degli Studi "G. d'Annunzio" Chieti-Pescara; § Dipartimento di Scienze Biomediche ed Applicate, Università degli Studi "G. d'Annunzio" Chieti-Pescara. Email: a.destefano@unich.it

La Malattia di Meniere è caratterizzata da attacchi di vertigine episodici, ipoacusia fluttuante, tinnitus e/o fullness auricolare. Gli studi autoptici su pazienti affetti da Malattia di Meniere hanno dimostrato chiaramente un aumento di volume dell'endolinfa con distensione dell'intero sistema labirintico (1). Il succedersi delle idropi endolinfatiche comporta, alla fine, un danno permanente all'apparato vestibolare e cocleare con perdita della funzionalità uditiva (2). Il trattamento per la Malattia di Meniere è primariamente rivolto al controllo di quello che è il sintomo più disagiata per la qualità di vita del paziente: la vertigine. In molti casi questo risultato è raggiungibile con una terapia medica conservativa basata sull'utilizzo di diuretici o betaistina e/o con l'aiuto di una dieta iposodica e priva di sostanze quali ad esempio il tabacco e la caffeina (70%-90% di successo) (3,4). I pazienti che non rispondono a questo tipo di trattamento possono essere sottoposti ad alcune procedure, chirurgiche quali: la Decompressione del Sacco Endolinfatico, la Labirintectomia, e la Neurectomia Vestibolare oppure possono essere trattati con l'ablazione chimica vestibolare mediante somministrazione di Aminoglicosidi (Gentamicina Intratimpanica o Streptomycin per via sistemica). Tutte queste tecniche, pur accomunate da un controllo variabile sulla crisi vertiginosa (proporzionale all'atto stesso) non possono garantire in ugual modo un recupero uditivo. Infatti, la Neurectomia Vestibolare e la Gentamicina hanno un rischio sull'udito basso, non paragonabile alla Decompressione del Sacco Endolinfatico, di cui ancora si discute la reale utilità, e ovviamente alla labirintectomia (4). Schuknect nel 1956 fu il primo a descrivere in letteratura l'utilizzo degli aminoglicosidi nella Malattia di Meniere refrattaria a terapia medica conservativa (5), ma solo a partire dagli anni '90 la somministrazione di Gentamicina Intratimpanica è diventata un trattamento, standardizzato alla chirurgia, per il controllo della vertigine (3). Tra le tecniche ablative la Neurectomia Vestibolare e la Gentamicina Intratimpanica offrono, oggi, un buon controllo sulla vertigine nella Malattia di Meniere refrattaria a terapia medica (rispettivamente 90% e 84% di successo) tuttavia la prima è una tecnica chirurgica su cui gravano i rischi operatori connessi con una procedura intradurale e l'intervento stesso oltre che gli alti costi (6); mentre la seconda, pur avendo un risultato sensibilmente più basso nel controllo della vertigine, ha costi molto più contenuti e può essere praticata a pazienti anziani o con scadenti condizioni generali;

inoltre può essere ripetuta in caso di fallimento (2). Ci sono molti metodi per la somministrazione della Gentamicina Intratimpanica: multiple dosi giornaliere (multiple daily doses), dosi settimanali (weekly doses), piccole dosi (low-doses), somministrazione continua con microcatetere e la somministrazione frazionata (titration methods) (7,8). Nel nostro studio abbiamo voluto valutare il metodo di somministrazione low-dose sperimentando un nostro personale protocollo basato su tre iniezioni di Gentamicina Intratimpanica in 24 ore per ridurre al minimo l'ospedalizzazione del paziente, venendo incontro alle sue esigenze socio-lavorative, e contenere ancora di più i costi, pur mantenendo immutati gli attuali standard di sicurezza per quella che è la complicanza maggiore degli aminoglicosidi: il peggioramento della funzione uditiva.

Bibliografia

1. Schuknect HF, Ruther A. Blockage of longitudinal flow in endolymphatic hydrops. *Eur Arch Otolaryngol* 1991; 248: 209-217.
2. De Stefano A, Dispenza F, De Donato G, Caruso A, Taibah A, Sanna M. Intratympanic Gentamicin: 1-day protocol treatment for unilateral Meniere disease. *Am J Otolaryngol* 2007; 28: 289-293.
3. Kayle DM, Jackson GC, Gardner EK. Surgical management of Meniere's disease in the Era of gentamicin. *Otolaryngol Head Neck Surg* 2005; 132: 243-250.
4. Van De Heyning PH, Wuyts F, Boudewyns A. Surgical treatment of Meniere's disease. *Curr Opin Neurol* 2005; 18: 23-28.
5. Schuknect HF. Ablation therapy in the management of Meniere's disease. *Acta Otolaryngol* 1957; 132 (suppl):1-42.
6. Jackler RK, Whinney D. A century of eighth nerve surgery. *Otol Neurotol* 2001; 22: 401-416.
7. Chia SH, Ganst AC, Anderson JP, Harris JP. Intratympanic gentamicin therapy for Meniere's disease: a meta-analysis. *Otol Neurotol* 2004; 25:544-552.
8. Balyan FR, Taibah A, De Donato G et al. Titration streptomycin therapy in Meniere's Disease: long term results. *Otolaryngol Head Neck Surg* 1998; 118: 261-6.

LA CHIRURGIA ENDOSCOPICA NASO-SINUSALE

Agostino Serra

Università degli Studi di Catania, Dipartimento di Specialità Medico-Chirurgiche, Azienda Ospedaliero-Universitaria Policlinico, Clinica

Otorinolaringoiatrica.

L'approccio chirurgico alla patologia naso-sinusale ha subito negli ultimi anni radicali mutazioni metodologiche che hanno consentito di superare i limiti ed i rischi imposti dal carattere prettamente demolitivo della chirurgia tradizionale. Già intorno agli anni '50 grazie all'introduzione delle ottiche rigide nasali di Hopkins, si riuscirono ad ottenere sistemi strumentali che consentivano la visualizzazione sinusale, garantendo buona risoluzione, ampio campo di visione, elevato contrasto e fedeltà dei colori. Intorno agli anni 80, studi condotti da vari autori (Stammberger, Wigand, Kennedy) hanno permesso la traduzione applicativa di tali sistemi di immagine nell'ambito delle tecniche chirurgiche endoscopiche naso-sinusali. L'applicazione della FESS (Functional Endoscopic Sinus Surgery) nel trattamento chirurgico delle patologie infiammatorie naso-sinusali, è oramai tecnica consolidata che, rispetto alle metodiche tradizionali, possiede il vantaggio di rispettare l'assetto morfologico di tale distretto, favorendo il ripristino della funzionalità del complesso ostio-meatale. Molteplici sono i risvolti applicativi della FESS nel trattamento sia delle rinosinusiti acute - forme complicate- che di quelle ricorrenti e croniche. L'empima fronto-etmoido-mascellare o sfenoidale è una delle espressioni di rinosinusite acuta complicata che può trarre giovamento dalla chirurgia endoscopica, mediante, nel caso specifico, l'effettuazione di una etmoidosfenoidotomia con apertura endonasale del seno mascellare e del seno frontale o del seno sfenoidale. L'applicazione della FESS nel caso di complicanze orbitarie potrebbe, invece, richiedere, l'associazione dell'etmoidectomia con l'asportazione della lamina papiracea e con eventuali tecniche esterne per il drenaggio di formazioni ascessuali orbitarie od endocraniche. L'approccio delle rinosinusiti ricorrenti, forme nella cui patogenesi assume aspetto rilevante il fattore anatomico, legato ad alterazioni a carico del complesso ostio-meatale e/o del recesso sfeno-etmoidale, si avvale della cosiddetta chirurgia delle precamere, tecnica che si fonda sull'applicazione delle strutture anatomiche che ostruiscono la pervietà degli osti sinusali. La ventilazione ed il drenaggio del compartimento sinusale anteriore e del compartimento sinusale posteriore infatti sono rispettivamente garantiti dal complesso ostio-meatale e dal recesso sfeno-etmoidale e la loro alterazione può essere causa di disventilazione sinusale e di immobilizzazione del trasporto muco-ciliare. Questi fattori creano le condizioni ideali per la crescita di agenti patogeni causali dell'infezione

sinusale. La tecnica endoscopica, grazie al rispetto funzionale e alla precisione chirurgica garantita dall'utilizzo di strumenti di piccole dimensioni, di trapani e di strumenti motorizzati (microdebrider), consente di correggere le anomalie anatomiche responsabili del blocco dei sistemi di drenaggio, quali: concha bullosa, cellula di Haller, bulla etmoidale ampia, turbinato medio doppio, turbinato paradossale, deviazioni e speroni settali, iperpneumatizzazione della cellula dell'aggr nasi. Il trattamento chirurgico endoscopico presenta varianti procedurali in funzione della patologia di base, della sede ed estensione del processo patologico e quindi dei differenti quadri di compromissione delle strutture anatomiche rinosinusali potendo, a seconda dei casi, attuare una chirurgia funzionale o di tipo ablativo. La chirurgia endoscopica nasale, grazie all'ampia visione periferica, sia diretta che angolata, permette anche il controllo e la gestione di lesioni a sviluppo latero-sopra-intrasellare, un tempo trattabili solamente con aprcci invasivi o multipli. In tale ambito la FESS, trova anche applicazione nel trattamento di patologia neoplastiche benigne e maligne naso-sinusali, della base cranica, della regione sellare e pre-sellare, consentendo di associare ove possibile tecniche demolitive a metodiche ricostruttive. La nostra esperienza in campo di chirurgia endoscopica nasale conferma i vantaggi rispetto alla chirurgia tradizionale in termini di minore invasività, assenza di cicatrici esterne, ottimizzazione del campo operatorio, rispetto dei punti di repere chirurgici, migliore "compliance" del paziente, riduzione della morbilità e dei tempi di degenza. E' importante comunque sottolineare che anche la chirurgia endoscopica naso-sinusale non è esente da complicanze intra- e postoperatorie, (lesioni della lamina papiracea, emorragie orbitarie, lesioni del nervo ottico, fistole rino-liquorali, lesioni dei muscoli orbitari, infezioni postoperatorie, edemi palpebrali, lesioni del dotto naso-lacrimale, etc.).

ENDOSCOPIC SCREENING FOR COLORECTAL CANCER

Giovanni Tomasello, Antonio Ciulla, Donatella Damiani, Nicola Lo Biundo

AOUP "P. Giaccone" Palermo - U.O. Chirurgia Generale. Email: tomasello.giovanni@unipa.it

Family history of colorectal adenomatous polyps is a first risk factor for colorectal cancer (1). Colorectal cancer (CRC) is the third leading cause of cancer-related death in the US (2).

This malignancy is the end result of a complex multistep process in which the adenoma is an intermediate stage. Colorectal adenomas may evolve into carcinomas when they become larger and when they present villous histology; therefore, the main reason for excising adenomas is their malignant potential. The literature suggests that adenomas should be detected in approximately 25 percent of men and 15 percent of women older than age 50 years (3). Interruption (through the endoscopic polypectomy) of this adenoma-carcinoma sequence with colonoscopy and polypectomy reduces the incidence of CRC by as much as 90%. Polypectomy is recommended for patients in whom the sum of the diameter of all colonic polyps exceeds 10 mm (4).

References:

1. European Journal of Cancer 2000; 36:2111-2114.
2. Gastrointestinal Endoscopy 2006; 64: 614-626
3. Diseases of the colon & rectum 2008; 51:1217-1220.
4. Hepatogastroenterology. 2008; 55:936-939.

METODOLOGIA DI RICERCA IN CHIRURGIA PLASTICA

Salvatore D'Arpa

Cattedra di Chirurgia Plastica e Ricostruttiva, Dipartimento di Discipline Chirurgiche ed Oncologiche, Università degli Studi di Palermo. Email: turidarpa@hotmail.com

Lo scopo di questa relazione è quello di discutere i campi di ricerca della chirurgia plastica, da sempre ramo di ricerca e d'innovazione sia in campo anatomico che nel campo della rigenerazione tissutale. La necessità di riparare deformità acquisite o congenite in tutte le parti del corpo, ha spinto i chirurghi plastici ad orientare le proprie ricerche nel campo della vascolarizzazione e della rigenerazione tissutale, oltre che nel campo della biologia dei tumori solidi. L'attività di ricerca svolta presso la Cattedra di Chirurgia Plastica e Ricostruttiva dell'Università degli Studi di Palermo riguarda: l'anatomia vascolare e nervosa del corpo umano, per sviluppare e mettere a punto tecniche ricostruttive innovative; la biologia del melanoma; la rigenerazione dei nervi periferici; le cellule staminali derivate dal tessuto adiposo; i trapianti di tessuto adiposo; la lipolisi chimica; la fisiologia dei lembi liberi. Nel campo della chirurgia ricostruttiva, la ricerca si è

concentrata sulla ricostruzione post-oncologia del labbro inferiore con lembi innervati che sono stati descritti sulle riviste di riferimento di chirurgia plastica e della testa e del collo. Tecniche di ricostruzione originali sono state anche descritte per la ricostruzione vulvare post-oncologica e vaginale nel campo delle malformazioni. La ricerca nel campo del melanoma affianca l'attività clinica ed è focalizzata sulla biologia del vallo linfocitario peritumorale e sulla secrezione di fattori di crescita, locali e circolanti, da parte del tumore stesso.

Nel campo della rigenerazione dei nervi periferici viene studiata la potenzialità dell'utilizzo delle cellule staminali per migliorare la rigenerazione dei nervi periferici. Argomento di grande interesse in chirurgia plastica sono le cellule staminali pluripotenti derivate dal tessuto adiposo. Il tessuto adiposo è infatti una fonte facilmente accessibile di numeri elevatissimi di cellule staminali di derivazione mesenchimale. Oggetto di studio è anche il comportamento di queste cellule quando trapiantate in altre sedi dell'organismo e la loro interazione con gli adipociti maturi. La lipolisi chimica è la procedura che consente di sciogliere gli accumuli localizzati di tessuto adiposo attraverso l'iniezione di solventi dei lipidi, attualmente in corso di studio sperimentale. Nel campo della fisiologia dei lembi liberi, sono oggetto di studio la fenomenologia della trombosi e l'applicazione di tecniche di trombolisi farmacologica ai lembi liberi rivascolarizzati. In questo lavoro viene illustrato lo stato attuale della ricerca in chirurgia plastica presso il Policlinico di Palermo, unitamente alle potenzialità applicative ed ai risultati ottenuti.

LA PATOLOGIA MALFORMATIVA CRANIO FACCIALE IN ETA' PEDIATRICA.

Cassisi A., *Puccio A., *Nocini P.F.

Chirurgia Cranio Facciale Pediatrica, Ospedali Riuniti, Bergamo; *Chirurgia Maxillo Facciale, Università degli Studi di Verona. Email: drpuccio@yahoo.it

Le patologie mal formative cranio maxillo facciali pediatriche sono patologie complesse che necessitano della cooperazione di più specialisti in grado di assicurare a pazienti e parenti la migliore assistenza ed il miglior trattamento. Il chirurgo rappresenta quindi solo l'operatore finale di un progetto che nasce dalla diagnosi precoce e si sviluppa attraverso le caratterizzazioni della patologia. Il team

multidisciplinare deve possedere una speciale preparazione pediatrica in grado di diagnosticare le diverse anomalie, coordinare i vari interventi chirurgici e fare ricerca. È fondamentale il momento della diagnosi, in particolare l'indicazione all'intervento chirurgico deve essere posta qualora sia veramente necessario (diagnosi differenziale) e nei tempi corretti per evitare possibili danni. Il concetto di team regionali per la chirurgia cranio facciale fu espresso per la prima volta dal padre della chirurgia Cranio facciale (Paul Tessier) nel 1967 a Roma. Scopo dello studio è proporre un up to date della patologia mostrando la nostra esperienza, il nostro protocollo ed i nostri risultati.

consentono un'interpretazione chiara ed immediata del pattern metabolico tessuto-specifico; tuttavia, se il dato grezzo visualizzato in sede d'indagine non subisce un'accurata analisi consistente nella quantificazione assoluta e relativa del metabolita, il marcatore perde di affidabilità diagnostica e l'indagine non risulta proficua per il ricercatore e per il paziente. Per questa ragione, è di cruciale importanza individuare ed integrare le figure professionali dotate delle competenze specifiche richieste nell'ambito di un'equipe dedicata, in grado di utilizzare ed ottimizzare gli strumenti e le tecnologie che supportano un'indagine ed un sistema così complessi come la NMR- MRS.

NUOVE FRONTIERE NELLA DIAGNOSTICA MOLECOLARE IN VIVO

Giulia Bivona

Istituto di Biochimica Clinica - Università degli Studi di Palermo. Email: giulia.bivona@unipa.it

La Spettroscopia di Risonanza Magnetica del Protone è una tecnica di biochimica clinica in vivo che consente l'esplorazione di metaboliti intracellulari in modo non invasivo e direttamente sul paziente. L'indagine mediante Spettroscopia di Risonanza Magnetica è applicabile potenzialmente a tutti i tessuti e distretti in cui è rappresentato il nucleo dell'atomo in esame; così, la Spettroscopia del Protone è atta a valutare molteplici distretti dipendentemente dal fatto che l'idrogeno è grandemente rappresentato in tutto l'organismo biologico; analogamente, la Spettroscopia del Fosforo sfrutta la presenza dell'atomo nel distretto muscolare scheletrico e cardiaco, rendendo particolarmente utile l'indagine nella valutazione delle miopatie e delle affezioni neuromuscolari. Altri distretti agevolmente indagati mediante Spettroscopia di Risonanza Magnetica sono: la prostata, la mammella ed il fegato. Ciascun distretto, di norma, presenta un pattern spettroscopico differente, in conseguenza del diverso corredo biochimico tipico del tessuto in esame, cosicché, ad esempio, l'indagine del Sistema Nervoso Centrale mira a determinare metaboliti invariabilmente appannaggio esclusivo delle cellule cerebrali; ancora, nell'ambito di ciascuna popolazione cellulare del Sistema Nervoso Centrale, in specie quelle neuronale e gliale, è possibile individuare metaboliti specifici e indicativi dell'integrità anatomica e funzionale dell'uno o dell'altro citotipo. Sono questi i marcatori biochimico-clinici in vivo che

RMN DELLE PATOLOGIE NEOPLASTICHE DELLE VIE BILIARI

Giuseppe Lo Re

Istituto di Radiologia Università degli Studi di Palermo. Email: giuseppe.lore12@gmail.com

Nella diagnosi delle neoplasie delle vie biliari la Risonanza Magnetica (RM) svolge un ruolo di prim'ordine, permettendo da un lato la valutazione diretta dei dotti biliari e pancreatici mediante la colangiopancreatografia a RM, dall'altro la valutazione di eventuali processi espansivi ostruenti il drenaggio biliare e pancreatico. Nello studio delle neoplasie delle vie biliari, oltre che l'esecuzione di un esame standard senza infusione di mezzo di contrasto (mdc), un valido aiuto è fornito dalle sequenze ottenute dopo somministrazione endovenosa di mdc paramagnetico, al fine di individuare eventuali neoplasie delle vie biliari di tipo polipoide o esofitico, oppure eventuali neoplasie della regione cefalo-pancreatica coinvolgenti il dotto epatico principale e le vie biliari a monte.

CELIACHIA E SAHARAWI: ESPERIENZA CLINICA SU BAMBINI VENUTI IN ITALIA

Maria Letizia Lospalluti

U.O. I Pediatria - Gastroenterologia, Ospedale Pediatrico "G. Di Cristina" ARNAS Palermo. Email: ml.lospalluti@fastwebnet.it

Introduzione. Fino a qualche tempo fa si riteneva che la celiachia fosse appannaggio pressoché esclusivo dei popoli di origine europea. Di recente si sono moltiplicate le segnalazioni provenienti da Asia e Africa. Un

modello in questo senso è la popolazione Saharawi, popolo residente in Africa nord-occidentale, in cui l'incidenza del morbo celiaco è circa 10 volte più elevata rispetto a quella europea. In particolare sia nei bambini affetti che nella popolazione generale Saharawi, gli aplotipi HLA di predisposizione alla celiachia (DQ2) presentano un'elevata incidenza, verosimilmente in rapporto con l'alto grado di endogamia di questa popolazione. Studiando un gruppo di bambini saharawi, che hanno soggiornato per 45 giorni in Italia, si è evidenziato come una corretta dieta senza glutine determini un'impressionante crescita di recupero.

Materiali e metodi. Un gruppo di 40 saharawi celiaci, di età compresa tra i 10 e i 14 anni, ospitati a Palermo hanno continuato a osservare dieta senza glutine. All'arrivo e alla partenza sono stati sottoposti a controlli sanitari e a valutazione auxologica. Tali controlli sono stati ripetuti presso il loro paese d'origine dopo 45 giorni dal rientro.

Risultati. In tutti i 26 soggetti vi è stato un incremento ponderale e in 21/40 incremento della Hb ma nessun aumento dei valori di ferritina. Al proprio domicilio tutti hanno presentato calo ponderale e lieve calo della concentrazione di Hb.

Commenti. In un paese povero la cura del celiaco può presentare notevoli difficoltà (penuria di cibo, assenza di prodotti dietetici specifici, mancanza di informazione della classe medica ed arretratezza culturale della popolazione). Nella realtà africana è impensabile fare ricorso sistematicamente ai prodotti commerciali privi di glutine (non sempre di qualità ottimale), molto costosi e non sempre bene accettati mentre è più realistico promuovere il consumo di cereali in origine privi di glutine, quali il miglio od il riso, presenti nella dieta locale.

Conclusioni. Di tale situazione sarebbe auspicabile fossero informati adeguatamente gli organismi sanitari internazionali, al fine di evitare aiuti umanitari non consoni all'antropologia nutrizionale dei destinatari.

Capsula Eburnea

a multidisciplinary biomedical journal for young doctors

Editors

Francesco Cappello – Palermo, Anatomista
francapp@hotmail.com

Walter Mazzucco, Palermo, Igienista
waltermazzucco@libero.it

Giuseppe Puccio – Palermo, Neonatologo
gpuccio@neomedia.it

S.I.M.S. Editorial Board

Salvatore Accomando – Palermo, Pediatra
salvoaccomando@hotmail.com

Gianluca Albanese – Catania, Otorinolaringoiatra
gianlucaalba15@hotmail.com

Sergio Bagnato – Cefalù (PA), Neurofisiopatologo
sergiobagnato@virgilio.it

Tommaso Bartolotta – Palermo, Chirurgo Generale
enzobartolotta@unipa.it

Fabio Bucchieri – Palermo, Anatomista
fabibuk@hotmail.com

Emanuele Cannizzaro – Palermo, Farmacologo
manuc0@tin.it

Silvestro Ennio D'Anna – Cefalù (PA), Pneumologo
sdanna@hsrgiglio.it

Alessandro De Stefano - Chieti, Otorinolaringoiatra
a.destefano@unich

Francesco Dispenza – Palermo, Otorinolaringoiatra
francesco-dispenza@libero.it

Alessandro Geraci – Palermo, Ortopedico
geracialessandro@libero.it

Pierluigi Ingrassia – Novara, Anestesiologo
pingrass@fsb.it

Giovanni Li Volti – Catania, Biochimico
livolti@unict.it

Riccardo Mandracchia – Palermo, Radiologo
rimandr@tin.it

Anna Martorana – Palermo, Anatomopatologo
annaemme@hotmail.com

Rossana Messina – Marsala (TP), Psichiatra
rossanamessina@hotmail.com

Capsula Eburnea publishes original articles on medicine, biomedicine, biotechnology, motor sciences and medical psychology topics. The papers may be submitted as Original Reports, Reviews, Case Reports, Technical notes, Therapeutical Notes and New Technologies. The purpose is to promote the interest of young biomedical doctors towards research. Young medical doctors, specialist-in-training, PhD students, post-doc fellows, and researchers may submit original and interesting manuscripts in italian and english. Their work will be peer-reviewed from reviewers that will help the authors to improve their manuscripts. Capsula Eburnea is therefore both a scientific journal and a scientific learning tool for young researchers.

Rosaria Nardello – Palermo, Neuropsichiatra infantile
r.nardello@unipa.it

Salvo Pirri – Palermo, Anestesista
salvo.pirri@libero.it

Eva Polverino – Brescia, Pneumologo
evapo74@gmail.com

Francesco Sanguedolce – Bologna, Urologo
fsangue@hotmail.com

Gianfranco Spatola – Palermo, Istologo
gianspa@tin

Claudio Tripodo – Palermo, Anatomopatologo
tripodo@unipa.it

International Editorial Board

Anna M. Czarnecka – Warsazwa (Poland), Molecular Genetist
anna.czarnecka@gmail.com

Blanca Rubí Galobart – Barcelona (Spain), Pharmaceutical Chemist
blancarubi@hotmail.com

Wojtek Kukwa – Warsazwa (Poland), Otolaryngologist
wkukwa@yahoo.pl

Alexandra Rideau – Gif-sur-Yvette (France), Molecular Haematologist
alexandra.rideau@cea.fr

Keren Holzman Schweid – Tel Aviv (Israel), Gynaecology and Obstetric
kerenschweid@gmail.com

Gorana Gasljevic – Ljubjana (Slovenia), Pathologist
GGasljevic@onko-i.si

Manlio Vinciguerra – Genève (Switzerland), Molecular Biologist
Manlio.Vinciguerra@medecine.unige.ch

<http://www.sims.ms>

<http://www.capsulaeburnea.org>

