

**ISSN: 1970-5492**

# **Capsula Eburnea**

**Rivista di formazione e cultura dei giovani medici**

**Vol. 1, Anno 2006**

**Capsula Eburnea**  
**Vol. 1, 2006**  
**Indice—Index**

1. **Perché una nuova Rivista Scientifica**  
Walter Mazzucco, Giuseppe Puccio, Francesco Cappello
2. **La malattia celiaca: nuove implicazioni in una antica condizione**  
**Celiac disease: new implications in an old condition**  
Salvatore Accomando , Claudia Albino
3. **L'apparato del Golgi: nuovi ruoli per un vecchio attore**  
**The Golgi apparatus: new roles for an old starring**  
Tiziana Apuzzo
4. **Malpighi, la Iatromeccanica e la Nuova Medicina Sperimentale**  
Francesco Cappello
5. **Dopo ventisette anni: grazie legge 180**  
Rossana Messina
6. **Anatomia della malasanità e prospettive di cura**  
Francesco Cappello
7. **La Disfunzione Cerebrale Minima: basi biologiche della diagnosi e del trattamento**  
**Minimal Brain Dysfunction: biological bases of diagnosis and treatment**  
Giulia Civitenga
8. **Le cellule staminali adulte cardiache: mito o realtà?**  
**Cardiac adult stem cells: myth or reality?**  
Fabrizio Minervini
9. **La diagnosi molecolare del carcinoma vescicale: un aiuto per la prognosi e la terapia.**  
**Molecular diagnosis of vesical cancer: a help for prognosis and therapy**  
Silvana Virgilio
10. **Quale tipo di allenamento fa bene al cuore?**  
**Which kind of exercise is helpful for the heart?**  
Giuseppe Battaglia
11. **La protesi d'anca: quando, perché e come farla**  
**The Hip Prosthesis: know-how**  
Alessandro Geraci
12. **Malattia di Ménière monolaterale: successo del trattamento con Gentamicina intra-timpanica.**  
**Unilateral Meniere's disease: efficacy of intratympanic gentamicin treatment**  
Francesco Dispenza
13. **“Eccelso mattone della vita” - Da Nippur all’embrione della “Scuola di Ĝundaysābūr”  
al “Poema della Medicina”**  
Aldo Gerbino

## PERCHÉ UNA NUOVA RIVISTA SCIENTIFICA?

Walter Mazzucco, Presidente nazionale S.I.M.S.  
Giuseppe Puccio, Direttore Editoriale  
Francesco Cappello, Responsabile Scientifico

CAPSULA EBURNEA, 1,1:1, 2006.

Il contesto e gli scopi della nostra nuova iniziativa sul web.

Questa è la prima domanda alla quale, chi si propone come promotore della creazione di una nuova rivista scientifica, deve rispondere. E lo facciamo innanzitutto precisando che questa nostra, esclusivamente elettronica, vuol essere, per usare due termini molto in voga nel pianeta informatico, un forum e un blog assieme. Gli articoli, preparati da colleghi esperti nei vari settori, saranno il punto di partenza per discussioni sugli argomenti trattati, perché in medicina nulla dev'essere considerato stabile, immutabile, non passibile di revisione critica in ogni momento e da parte di qualunque studioso che decida di impiegare la propria esperienza per trasmettere le proprie idee e le proprie riflessioni. Chi scrive quindi si mette in discussione e si apre ai commenti e alle critiche dei colleghi, certi che dal confronto e dal dibattito nascono nuove idee che portano al chiarimento, laddove non al superamento delle precedenti. Perché dunque una nuova rivista scientifica, se non per creare uno spazio che sia un accessibile strumento di crescita e di confronto per giovani medici in formazione? E, considerato che un medico non deve mai smettere di studiare, di maturare, di aggiornarsi, c'è da giurare che il termine "giovane" alla fine si riferirà più ad una condizione dell'animo di chi collaborerà a questa avventura che ad una limitazione meramente anagrafica.

Pertanto, questa rivista vuole non solo colmare un attuale vuoto nel panorama editoriale scientifico del nostro Paese, ma anche perseguire uno dei più importanti punti statutari del S.I.M.S., di cui questo giornale si appresta ad essere l'organo ufficiale.

Perché "Capsula Eburnea"? Un periodo travagliato della storia della medicina occidentale è quello dei primi secoli del Cristianesimo. Il misticismo pervadeva le coscienze e da parte dei medici vi era la convinzione che soltanto con l'aiuto di Dio si potesse raggiungere la conoscenza; molti furono i medici in quel periodo che scrissero libri e opuscoli che si aprivano con una dicitura del genere: << Io sono un medico, non sape-

vo, non ero capace ..... quando ho avuto un sogno, mi è apparso Dio che mi ha detto: " ..... va al monte ... troverai una caverna ove ..... troverai una capsula eburnea che contiene il segreto di tutti i segreti, la scienza per debellare ogni malattia" >>. Pertanto, gli scritti di quei secoli vengono indicati col termine di Capsule Eburnee; anche se l'intendimento dell'autore era quello di rendere gli altri partecipi della propria rivelazione divina, molto spesso però non faceva altro che riportare in questi scritti brani della dottrina ippocratica, aristotelica e galenina; a volte, egli perfino li personalizzava e li stravolgeva, rendendoli oscuri e incomprensibili! Siamo ancora molto lontani dalla "rivoluzione Copernicana" della medicina, operata da Malpighi e dai suoi coevi, con l'introduzione del "metodo sperimentale" e, con esso, del pensiero scientifico moderno. Ciononostante, l'importanza storica delle Capsule Eburnee è indiscussa, in quanto contribuirono a combattere le dilaganti superstizioni e magie, ridonando agli uomini (e ai medici) fiducia in se stessi e nelle loro virtù. Vogliamo con questo titolo mandare due messaggi ai colleghi: è giusto impegnarsi per apprendere, fare nuove scoperte e trasmettere le proprie conoscenze, ma non bisogna perdere l'umiltà e la modestia nel farlo né chiudersi ai mutamenti del sapere che inevitabilmente interverranno.

Sebbene si parli con articoli in italiano (questo consente anche il raggiungimento di una audience ampia sul territorio nazionale), l'obiettivo è riuscire nel più breve tempo possibile a farne una rivista esclusivamente in lingua inglese, in quanto questa attualmente è la lingua scientifica internazionale, indispensabile da conoscere per potersi aggiornare liberamente, senza dipendere da altri. Non vi sarà una limitazione nei contenuti che spazieranno in tutti i settori della medicina, compresi la politica sanitaria, la bioetica, le biotecnologie, le biofarmacologie, eccetera.

Nella speranza di ottenere al più presto la conferma che abbiamo raggiunto gli obiettivi che ci siamo prefissi, partiamo quindi per questa nuova avventura!

**REVIEW****LA MALATTIA CELIACA: NUOVE IMPLICAZIONI IN UNA ANTICA CONDIZIONE  
CELIAC DISEASE: NEW IMPLICATIONS IN AN OLD CONDITION**

Salvatore Accomando\* e Claudia Albino

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

Corrispondenza: salvoaccomando@hotmail.com

\* Componente Comitato Scientifico Associazione Italiana Celiachia, Sezione Regionale Siciliana.

**ABSTRACT:** La malattia celiaca è una enteropatia autoimmune permanente scatenata dall'ingestione del glutine contenuto in vari alimenti in soggetti geneticamente predisposti. Essa è ad oggi il modello di patologia autoimmune più studiata e forse meglio conosciuta. Alla sua patogenesi contribuiscono almeno due tipi di fattori differenti, quelli genetici e quelli ambientali. Il glutine, fattore ambientale responsabile, è la componente proteica della farina di frumento, orzo, segale e avena. I fattori genetici anch'essi molto importanti nel determinismo della malattia possono essere ascrivibili a geni HLA dipendenti ed HLA indipendenti. Oggi la prevalenza della malattia celiaca sia in Europa che negli USA si attesta in maniera variabile da 1:100 a 1:180. Lo spettro clinico della malattia è ampio: varia a seconda dell'età del paziente, della dieta, della durata e dell'estensione della stessa. A seconda delle caratteristiche cliniche e delle alterazioni istologiche ed immunologiche al momento della diagnosi, distinguiamo la forma classica, atipica, silente e potenziale. La maggior parte dei casi di celiachia si esprime infatti nella forma paucisintomatica dal punto di vista gastroenterologico, mentre sempre più frequenti sono i casi assolutamente asintomatici che sottendono un'intolleranza al glutine, o che si manifestano con sintomi extraintestinali. Dal punto di vista istologico possiamo osservare tre distinte fasi anatomopatologiche che rispecchiano l'evolutivezza del processo patogenetico. L'unica terapia attualmente disponibile consiste nel regime dietetico privo di glutine (GFD), che assieme al vantaggio di una assoluta efficacia nel recupero del danno istologico presenta quello aggiuntivo della mancanza di qualsiasi tipo di effetto collaterale.

CAPSULA EBURNEA, 1,2:1-5, 2006.

**KEYWORDS:** Celiac Disease, GFD, Histological Classification**PAROLE CHIAVE:** Malattia Celiaca, GFD, Classificazione Istologica**Introduzione**

La malattia celiaca è una enteropatia autoimmune permanente scatenata dall'ingestione del glutine, contenuto in numerosi alimenti, in soggetti con una predisposizione genetica [1].

La presenza del glutine nella dieta di questi soggetti determina una lesione al livello della mucosa duodenoduodenale. Il quadro istologico della lesione nella sua manifestazione tipica è dato dalla atrofia dei villi intestinali con iperplasia delle cripte e da un incremento dell'infiltrato linfocitario intraepiteliale. Tale quadro regredisce allorché il soggetto segue una dieta priva di glutine [1,2].

**Patogenesi**

La malattia celiaca è ad oggi il modello di patologia autoimmune più studiata e forse meglio conosciuta. Alla sua patogenesi contribuiscono almeno due tipi di fattori differenti, quelli genetici e quelli ambientali [3]. Il fattore ambientale che in assoluto svolge un ruolo di primo piano è il glutine, che nella sua veste di antigene non self, è responsabile del "triggering" della risposta immunitaria. Il glutine è la componente proteica della farina di frumento, orzo, segale e avena; in particolare la frazione tossica del glutine di frumento è rappresentata dalla sua prolamina alcool solubile: la gliadina. Tra le proteine contenute nella farina di frumento, in base

alle proprietà fisico-chimiche e alla mobilità elettroforetica, è possibile distinguere le seguenti sottoclassi: le albumine e le globuline, solubili in soluzioni idrosaline, le prolamine solubili in etanolo e le glutamine insolubili, queste ultime distinte in glutamine ad alto e a basso peso molecolare. La prolamina della farina di frumento è detta gliadina e può essere distinta in quattro frazioni elettroforetiche: Alfa, Beta, Gamma e Omega gliadina. Le gliadine sono costituite da singole catene polipeptidiche di peso molecolare compreso tra i 35000 e 75000 Dalton e sono caratterizzate da un alto contenuto di glutamina e prolina [4]. Molto simili alla gliadina sono le prolamine di orzo e segale, rispettivamente definite Ordilina e Secalina. Anche le prolamine contenute in cereali tassonomicamente affini al frumento, simili alle gliadine per alcool solubilità e alto contenuto in glutamina e prolina risultano tossiche per l'intestino dei celiaci. Discorso a parte merita la prolamina dell'avena detta Avenina per il suo scarso contenuto in prolina e glutamina e per la presenza effimera di frammenti polipeptidici analoghi a quelli presenti nella gliadina di frumento in grado di provocare tossicità a livello della mucosa duodenale dei soggetti celiaci. Alla base di tali differenze strutturali sta la scarsa tossicità da più parti dimostrata dell'avenina nei confronti degli stessi soggetti geneticamente predisposti [2,3].

I fattori genetici anch'essi molto importanti nel determinismo della malattia possono essere ascrivibili a geni HLA dipendenti ed HLA indipendenti. A riprova del fatto che la componente genetica giochi un ruolo importante ma non esclusivo nel determinismo della malattia è l'aumentata prevalenza della patologia stessa nei familiari di primo grado dei soggetti affetti (fino al 10%) e la diversa concordanza nella suscettibilità ad ammalare di celiachia tra fratelli HLA identici (fino al 40%) e tra gemelli monozigoti (pertanto genotipicamente uguali) che non va oltre l'80% [3]. Nel 90% dei casi la malattia celiaca si riscontra in soggetti presentanti l'aplotipo HLA di classe II DQ2 o in alternativa, in un minor numero di casi (5%), DQ8 [5]. La regione HLA che codifica per i tre gruppi antigenici di classe II è sita sul braccio corto del cromosoma 6. La presenza dell'eterodimero  $\alpha$ - $\beta$ 0501-0201 per l'antigene DQ prende il nome di DQ2, mentre la presenza dell'eterodimero  $\alpha$ - $\beta$ 0301-0302 costituisce il DQ8 [5].

Il glutine o i suoi frammenti immunogeneticamente attivi ricchi in residui di prolina, lisina e glutamina giungendo alla lamina propria della mucosa per via trans-epiteliale fungono da ottimi substrati per l'attività enzimatica transglutaminasica tissutale (tTG) che, ubiquitariamente diffusa, altro non fa che deaminare o transaminare i residui aminoterminali dei suddetti amminoacidi. Tale transaminazione modificando la carica elettrica di alcuni oligo-peptidi, da una situazione di neutralità verso una carica negativa, elicitava una risposta HLA II ristretta da parte del linfocita T Helper CD4+ al cui T Cell Receptor la cellula APC della lamina propria presenta l'antigene solidamente legato ai propri solchi della tasca MHC. Il pathway che segue l'attivazione del linfocita TCD4+ è un pathway citochinico di tipo T helper I in cui dominano i danni causati dall'interferone gamma, dal TNFalfa e dal continuo recruitment linfocitario. Dall'interazione tra il braccio T e quello B del sistema immunitario scaturisce la differenziazione a plasmacellula dei linfociti B e la produzione di anticorpi anti-gliadina, anti-endomisio e anti-tTG (6). Queste classi anticorpali (AGA, EMA, tTG) rappresentano l'epifenomeno dell'attività di malattia e possono pertanto essere impiegati a scopo diagnostico (screening sierologico) e di monitoraggio (follow-up del GFD) [1,2]. Gli anticorpi anti-endomisio e quelli anti-tTG riconoscono lo stesso autoantigene (la transglutaminasi tissutale umana) e contro esso sono entrambi diretti, come se il sistema immunitario associato alla mucosa intestinale (GALT), resosi conto della responsabilità del danno, tentasse strenuamente di porvi rimedio. Gli stessi epitelociti del brush-border sottoposti all'azione dei mediatori proflogistici della risposta Th1 mediata sono in grado di comportarsi come cellule APC e di presentare l'antigene incriminato a quella quota di linfociti T CD8+ che nella malattia celiaca infiltrano diffusamente e caratteristicamente lo stesso epitelio.

La presentazione antigenica a questo livello sembrerebbe essere mediata dall'espressione di molecole aberranti appartenenti all'MHC di classe I, tramite un

meccanismo stressogeno simile a quello delle Heat Shock Proteins [7,8]. Le cellule della serie monocito-macrofagica e le cellule NK costituenti l'immunità innata giocano infine un ruolo importante nella produzione di IL-15 e IFN-alfa, citochine che vanno ulteriormente ad incrementare la cascata dell'immunità adattativa [9,10].

### Epidemiologia

Fino a pochi anni fa c'era la generale consapevolezza che la malattia celiaca fosse una malattia tipica delle popolazioni Europee. Grazie ai diversi studi epidemiologici condotti nelle ultime decadi, sappiamo invece che la malattia celiaca è la più comune intolleranza alimentare presente anche nel Nord e nel Sud America e in Nord Africa. La distribuzione geografica della celiachia nel mondo sembra aver seguito, nel corso della storia dell'umanità, la diffusione del consumo del grano ed il maggiore uso dei cereali contenente glutine. L'uomo, infatti, non era originariamente un consumatore di glutine, lo divenne solo quando, circa 10.000 anni fa, i primi insediamenti umani divennero stabili. Nella regione della mesopotamia chiamata "Semiluna Fertile" iniziarono ad insediarsi le prime tribù di agricoltori; la caccia e la pesca, che fino a quel momento avevano costituito la maggiore fonte di apporto alimentare del cacciatore nomade, vennero sostituite dalla coltivazione dei cereali [11]. I primi cereali ad essere coltivati dall'uomo per impiego alimentare furono l'*hordeum spontaneum* ed il *triticum dicoccoides*, rispettivamente i precursori dell'orzo e del grano. Questi cereali primordiali non avevano le stesse caratteristiche agrobiologiche dei loro moderni discendenti; infatti davano un raccolto povero a causa di una precoce caduta dei semi ma soprattutto avevano uno scarso contenuto di glutine. Invece, il moderno *triticum aestivum* è un grano esaploide che a differenza del suo avo diploide possiede un quantitativo di glutine che può costituire fin oltre il 50% del corredo proteico di questo cereale. La capacità di panificare e di creare un amalgama dalla farina di frumento è diretta funzione del quantitativo di glutine in essa contenuto. Per questo motivo durante gli anni sono stati selezionati *cultivars* di grani con un quantitativo di glutine sempre crescente [11,12].

Nelle ultime decadi, diversi studi epidemiologici sono stati condotti in Europa per stabilire la reale incidenza della malattia celiaca. Uno dei primi studi, effettuato nel 1950, mise in evidenza che l'incidenza in Inghilterra e nel Galles era di 1:8000 mentre in Scozia era di 1:4000. All'epoca, la diagnosi era basata esclusivamente sulla ricerca di sintomi tipici e confermata attraverso test laboriosi e non specifici. Con l'introduzione della biopsia perorale in età pediatrica e, in seguito, di test più specifici su base immunologica, è stato possibile valutare in maniera più accurata la reale frequenza di questa condizione. Grazie all'avvento dei nuovi test di screening sierologici dotati di alta specificità e sensibilità, quali la determinazione di anticorpi anti-EMA e anti-tTG, oggi la prevalenza della malattia celiaca sia

in Europa che negli USA si attesta in maniera variabile da 1:100 a 1:180. Queste indagini di screening hanno rilevato che la malattia celiaca è una delle più frequenti tra quelle con una forte componente genetica [12]. Ciò ha permesso di ridurre considerevolmente la parte sommersa dell'iceberg di Anne Ferguson [3]. Inoltre, mentre in passato si riteneva che la celiachia fosse appannaggio esclusivo delle popolazioni europee, è emerso che questa patologia ha una distribuzione su scala mondiale, e che in presenza di fattori genetici permissivi la insorgenza della patologia sembra dipendere esclusivamente dal quantitativo e dall'età di introduzione del glutine nella dieta [3,13].

### Quadri clinici

I nuovi test di screening sierologici hanno permesso di evidenziare la eterogeneità della malattia da un punto di vista clinico. Infatti, lo spettro clinico della malattia celiaca è ampio: varia a seconda dell'età del paziente, della dieta, della durata e dell'estensione della malattia. A seconda delle caratteristiche cliniche e delle alterazioni istologiche ed immunologiche al momento della

diagnosi, distinguiamo la forma classica, atipica, silente e potenziale. La malattia può insorgere in qualsiasi periodo della vita; molto spesso la forma classica si manifesta tra il sesto e il ventiquattresimo mese, a seguito del svezzamento quando il bambino passa da una alimentazione esclusivamente latte ad un'alimentazione includente cibi contenenti glutine [12].

Il quadro clinico classico della celiachia, dato da diarrea cronica, arresto della crescita, distensione addominale fino alla distrofia di grado estremo, è una presentazione oggi relativamente rara [3].

La maggior parte dei casi di celiachia si esprime infatti nella forma paucisintomatica dal punto di vista gastroenterologico (forme "fruste"), mentre sempre più frequenti sono i casi assolutamente asintomatici che sottendono un'intolleranza al glutine (celiachia "silente"), o che si manifestano con sintomi extraintestinali quali: anemia sideropenica, arresto della crescita, osteopenia, displasia dello smalto dentario, dermatite erpetiforme (tabella 1). Inoltre sono state descritte in associazione alla celiachia, diverse alterazioni neurologiche quali:

FORMA CLASSICA	FORMA ATIPICA
<ul style="list-style-type: none"> <li>- Diarrea cronica</li> <li>- Scarso Accrescimento</li> <li>- Distensione addominale</li> <li>- Arresto della crescita</li> <li>- Distrofia estrema</li> <li>- Crisi celiaca</li> <li>- Ipotrofia Glutea</li> <li>- Vomito ripetuto</li> <li>- Malassorbimento</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Anemia sideropenica</li> <li>- Bassa statura</li> <li>- Osteopenia</li> <li>- Dermatite Erpetiforme</li> <li>- Aborti ricorrenti / Difficoltà a concepire</li> <li>- Alopecia</li> <li>- Epilessia / Cefalea</li> <li>- Epatite autoimmune</li> <li>- Ipertransaminasemia</li> <li>- Tiroidite autoimmune</li> <li>- Diabete mellito</li> <li>- Alterazioni dello smalto dentario</li> </ul>

depressione, autismo, epilessia con o senza calcificazioni endocraniche [3, 13].

La definizione di celiachia silente comprende quei casi con lesioni tipiche della mucosa intestinale che regrediscono con una dieta priva di glutine, in assenza di una evidente sintomatologia clinica. La maggior parte dei pazienti che rientrano in questa categoria sono stati diagnosticati nell'ambito di screening di gruppi a rischio quali i familiari di primo grado. Una accurata anamnesi rivela che la maggior parte di questi casi silenti sono in realtà paucisintomatici. Spesso infatti riferiscono alterazioni psicofisiche quali irritabilità e stanchezza e la generica sensazione di "non stare bene" che migliorano dopo l'inizio della dieta senza glutine. Nella forma potenziale o latente rientrano quei soggetti che a dieta libera presentano positività dei markers sierologici, con una normale architettura istologica alla biopsia intestinale. La gran parte di tali pazienti sono destinati a sviluppare la tipica enteropatia celiaca e spesso si trovano in una fase di danno istologico di tipo infiltrativo [2,12]. Inoltre è stato evidenziato che gli adolescenti celiaci hanno una maggiore prevalenza di

malattie autoimmuni quali il diabete mellito insulino-dipendente (6-9%), la tiroidite autoimmune (6-13%), il deficit di IgA (0.5%), rispetto alla popolazione generale della stessa età. Questa aumentata prevalenza sembra essere in relazione al tempo di esposizione al fattore ambientale e quindi alla durata della malattia non osservandosi nei soggetti esposti al glutine per meno di due anni [1]; quindi la prolungata esposizione al glutine come fattore di innesco della reazione di tipo autoimmunitario.

### Anatomia Clinica

Prima della disponibilità dei test sierologici su menzionati la diagnosi di celiachia si fondava soltanto su di un criterio istologico (Gradi III-IV-V di Marsh, oggi IIIa-IIIb-IIIc-di Oberhuber) [14]. Il campionamento bioptico, effettuato a livello del legamento sospensore di Treitz in corrispondenza della regione duodeno-digiunale, avveniva in base al sospetto clinico di una patologia classicamente manifesta. Dal punto di vista istologico possiamo osservare tre distinte fasi anatomo-

mopatologiche che rispecchiano l'evoluitività del processo patogenetico [14,15].

La prima fase detta "infiltrativa" corrispondente agli stadi I-II di Marsh caratterizzata dall' incremento di un infiltrato linfocitario intraepiteliale, una seconda fase "iperplastica rigenerativa" caratterizzata da un iperplasia delle cripte mucosali e da un attivo rimodellamento della matrice extracellulare ad opera delle metalloproteinasi (III stadio di Marsh); infine una terza fase "distruittiva" caratterizzata dalla progressiva riduzione dell'altezza e del numero dei villi (stadi IV-V di Marsh). Sempre maggiore importanza, si tende a dare agli stadi I-II di Marsh in quanto espressione di danno precoce.

#### **Approccio terapeutico attuale e prospettive**

In atto, l'unica terapia internazionalmente codificata consiste nel regime dietetico privo di glutine (GFD), che assieme al vantaggio di una assoluta efficacia nel recupero del danno istologico presenta quello aggiuntivo della mancanza di qualsiasi tipo di effetto collaterale. Studi in vivo volti a valutare la tossicità delle tracce di glutine negli alimenti hanno dimostrato che una quantità pari a 10-15 mg/die risulta essere in grado di determinare un aumento della quota linfocitaria in soggetti celiaci già in remissione clinica. Poichè molti pazienti celiaci trovano la dieta priva di glutine poco gradevole e limitativa è insorta la necessità di sviluppare nuovi preparati, specialmente tra i prodotti da forno, per stimolare una più stretta osservanza dell'unica modalità terapeutica per questa malattia. La selezione di un frumento privo di peptici allergenici sarebbe una buona alternativa al GFD ma, nonostante i numerosi tentativi eseguiti con il miglioramento genetico e la modifica genetica del frumento, non si è giunti a risultati pratici. Questo insuccesso dipende dalla complessità del genoma del frumento; come detto, il moderno *Triticum Aestivum* è un grano esaploide che a differenza del suo avo diploide possiede un quantitativo in glutine che può costituire fin oltre il 50% del corredo proteico di questo cereale. L'utilizzo di frumenti con un patrimonio genetico poliploide e quindi con un elevato numero di geni gliadinici ha impedito nel tempo la selezione di frumenti ipoallergenici. Pertanto il carattere restrittivo della dieta che i soggetti celiaci sono così costretti ad osservare ha fatto sì che da più parti, anche tramite le associazioni dei pazienti, la ricerca abbia ricevuto impulso verso strategie terapeutiche alternative. Un campo di ricerca estremamente stimolante dal punto di vista scientifico e carico di interesse per l'opinione pubblica è rappresentato dagli esperimenti volti a individuare un mezzo per ridurre o annullare la tossicità del glutine, eliminando così la necessità di una dieta priva di questo. Negli scorsi anni sono stati identificati i due principali epitopi immunodominanti dell'alfa-gliadina, responsabili della proliferazione T-linfocitaria intestinale e periferica caratteristica dei soggetti celiaci [4,6]. Questi due epitopi sono esposti da diversi peptidi originatisi dalla gliadina e sono molto ricchi in residui di prolina e glutamina.

Successive indagini hanno identificato un peptide denominato 33-mer con le seguenti caratteristiche: resistente alla digestione da parte delle proteasi gastriche, pancreatiche e intestinali; ricco in prolina e glutamina inoltre si lega e reagisce con la transglutaminasi tissutale ed è capace di stimolare la proliferazione dei linfociti T dei soggetti celiaci [4,6]. Questo peptide rappresenta appunto un substrato della transglutaminasi tissutale, il principale autoantigene riconosciuto nella celiachia, con una selettività molto superiore rispetto ad altri substrati naturali di questo enzima extracellulare perché molto ricco di glutamina. Omologhi di questo peptide sono stati riconosciuti nei cereali e nei loro derivati in grado di produrre tossicità ai celiaci mentre erano assenti negli alimenti senza glutine. Il peptide 33-mer può essere detossificato esponendolo a una prolilendopeptidasi batterica. Quest'ultima evidenza potrebbe fornire la base per una strategia di detossificazione del glutine mediante supplementazione orale con endopeptidasi nei celiaci; con l'obiettivo di eliminare lo stimolo rappresentato dal glutine senza necessariamente escluderlo dalla dieta. Evidenze in vitro e studi in vivo ancora in corso dimostrerebbero che la digestione con endopeptidasi del principale peptide-gliadinico, che scatena la risposta auto-anticorpale nel soggetto celiaco, può controllare ed evitare i fenomeni immuno patologici alla base della malattia [5].

Altri studi si svolgono intorno ad una proteina, chiamata zonulina [3], della classe delle tight junction, chiave di apertura e chiusura dei passaggi tra le cellule intestinali. I celiaci che ingeriscono glutine hanno un aumento della permeabilità intestinale: la loro barriera intestinale si apre più facilmente al passaggio di nutrienti di diverse dimensioni. Quindi la speranza dei ricercatori è che, bloccando l'azione della zonulina, si possa bloccare il passaggio dei peptici tossici del glutine dal lume intestinale verso le cellule che scatenano la risposta immunitaria nella lamina propria. La "pillola" in questo caso è un inibitore dell'azione della zonulina. Ma certamente le speranze concrete sono lontanissime: non si può attualmente bloccare solo il glutine e non gli altri nutrienti, e non si conoscono ancora i meccanismi molecolari e le strutture di questo complesso di proteine che controllano la permeabilità. In ogni caso questa pillola andrebbe data insieme al glutine e non potrebbe controllarne gli effetti sulla superficie cellulare degli enterociti. E' infatti stato dimostrato che la maggior parte dei peptidi tossici del glutine passano direttamente per la superficie dell'enterocita e solo in piccolissima parte passano per la giunzione tra le cellule, quindi una doppia via di transito: transcellulare e paracellulare [2,3]. Si è anche parlato di una "pillola" che contenga gli speciali enzimi digestivi capaci di attaccare, nello stomaco del paziente celiaco, i peptici tossici del glutine in modo da ridurre la tossicità. Ma questa è ancora una soluzione fantasiosa che non ha sbocchi pratici.

### Conclusioni

Il recente incremento di incidenza della MC dovuto da una parte ad una migliorata sensibilità e specificità diagnostica per la messa a punto di nuovi strumenti sierologici e genetici e dall'altra alla migliore conoscenza della fisiopatologia e delle manifestazioni cliniche di esordio anche delle forme atipiche, ha fatto sì che l'intolleranza al glutine divenisse la più frequente delle intolleranze alimentari ad oggi conosciute. Il processo autoimmunitario coinvolto nella patogenesi e nel successivo "spread out" di tale patologia è tra i meglio conosciuti. La predisposizione genetica, il fattore ambientale ed il sistema immunitario in un complesso "interplay" si scambiano quelle informazioni necessarie al diffondersi di un quadro clinico via, via sempre più eterogeneo e per tanti versi lontano da quella estrinsecazione classica che costituiva l'apice dell'iceberg di Anne Ferguson. Il continuo impulso dato alla ricerca, anche per tramite delle associazioni dei pazienti, volto all'individuazione di nuove prospettive terapeutiche, non ha tuttavia, ancora, sostituito l'unica certezza rappresentata dal regime dietetico privo di glutine.

Il complesso management e follow up per le più disparate situazioni che possano presentarsi in organi ed apparati diversi impone che il paziente celiaco debba necessariamente afferire ad un centro di diagnosi e cura specializzato ed ufficialmente riconosciuto.

Homeostasis and Lymphomagenesis in Celiac Disease. *Gastroenterology* 2003; 125:730-745.

10. Verkarre V, Romana SP, Cellier C et al. Recurrent Partial Trisomy 1922-944 in Clonal Intreepithelial Lymphocytes in Refractory Celiac Sprue. *Gastroenterology* 2003; 125:10-16.

11. Accomando S, Cataldo F. The Global village of Celiac Disease. *Digestive and liver Disease* 2003.

12. Catassi C, Fasano A, Fornaroli F et al. La celiachia: un mondo in esplorazione. *Minerva Pediatr* 2003; 55:23-31.

13. Catassi C, Ratch IM, Fabian E et al. Celiac Disease in the year 2000: exploring the iceberg. *Lancet* 1994; 343:200-203.

14. Oberhuber G et al. The histopathology of coeliac disease : time for a standardized report scheme for pathologists. *European Journal Gastroenterology Hepatology* Oct 1999; 11(10) 1185-1194.

15. Marsh MN. Gluten, major histocompatibility complex and the small intestine: a molecular and immunobiological approach to the spectrum of gluten sensitivity. *Gastroenterology* 1992; 102:330-54.

### BIBLIOGRAFIA

1. Fasano A, Catassi C: Current Approaches to Diagnosis and treatment of Celiac Disease: An Evolving Spectrum. *Gastroenterology* 2001; 120:636-651.

2. Green P , Jabri B: Coeliac Disease. *The Lancet* Vol.362. August 2, 2003.

3. Bensussan NC, Cellier C, Heyman M et al: Coeliac Disease: An Update on fact and Questions on the 10 International Symposium on Coeliac Disease. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition* Oct 2003; 37; 412-421.

4. Molberg O, Flaete NS, Jensen T et al. Intestinal T-Cell Responses to High-Molecular Weight Glutenins in Celiac Disease. *Gastroenterology* 2003; 125:337-344.

5. Maiuri L, Ciacci G, Ricciardelli I et al. Association between innate response to gliadin and activation of pathogenic T cells in Celiac Disease. *Lancet* 2003; 362: 30-37.

6. HJ Ellis, Pollock EL, Engel W et al. Investigation of the putative immunodominant T cell epitopes in coeliac disease. *GUT* 2003; 52:212-217.

7. Matysiak –Budnik T, Candalh C, Dugave C et al. Alteration of the Intestinal Transport and Processing of Gliadin Peptides in Celiac Disease. *Gastroenterology* 2003; 125:696-707.

8. Clemente MG, De Virgiliis S, Kang JS et al. Early effects of gliadin on enterocyte intracellular signalling involved in intestinal barrier function. *GUT* 2003; 58:218-223.

9. Mention JJ, Ahmed M, Bègue B et al. Interleukin 15 : A key to Disrupted Intraepithelial Lymphocyte

**REVIEW****L'APPARATO DEL GOLGI: NUOVI RUOLI PER UN VECCHIO ATTORE  
THE GOLGI APPARATUS: NEW ROLES FOR AN OLD STARRING**

Tiziana Apuzzo  
Institute for Research in Biomedicine, Bellinzona (Switzerland)  
Corrispondenza: Tizi7@hotmail.it

**ABSTRACT:** L'Apparato del Golgi viene generalmente considerato come deputato alla secrezione, all'impacchettamento e alla condensazione dei prodotti di secrezione. Tuttavia negli ultimi 15 anni, numerose osservazioni sperimentali oltre a confermare questo ruolo, hanno suggerito altre funzioni più complesse. Sembra interessante il comportamento del Golgi e di altre proteine ad esso associate durante i processi di divisione cellulare. GRASP65 una proteina dinamicamente associata al Golgi, sembra essere coinvolta nel processo di disassemblamento dell'organulo durante la mitosi.

Le diverse funzioni che GRASP65 è in grado di svolgere durante la varie fasi del ciclo cellulare sostengono la nostra ipotesi che vedono GRASP65 determinante nella regolazione del destino differenziativo della cellula. Tutto questo porta ad un concetto nuovo che vede il Golgi come un'importante centro di smistamento delle informazioni tra nucleo e la superficie cellulare nonché ipoteticamente coinvolto in ruoli diversi da quelli ormai noti.

CAPSULA EBURNEA, 1,3:1-5, 2006.

Keywords: GRASP65, Golgi, Mitosis

Parole chiave: GRASP65, Golgi, Mitosi

**Introduzione**

Come è ben noto già dalla prima metà del secolo scorso, l'osservazione al microscopio ottico mostra come l'intero volume cellulare sia occupato da un nucleo circondato da una zona più o meno estesa di citoplasma. Questo è costituito da un mezzo strutturato, amorfo, detto matrice ialoplasmatica o citosol, nel quale sono contenuti un numero variabile di organelli e numerose inclusioni. Gli organelli sono strutture presenti in tutte le cellule e possono essere considerati come componenti cellulari adibiti a funzioni specifiche. Nonostante le nozioni consolidate attribuiscono specifiche attività a ciascuno di questi organelli, nuove e approfondite ricerche hanno determinato l'affacciarsi di nuove ipotesi su loro funzioni alternative.

In particolare, l'apparato del Golgi (AG) è stato tradizionalmente considerato deputato alla secrezione, all'impacchettamento e alla condensazione dei prodotti di secrezione. Tuttavia, negli ultimi 15 anni, numerose osservazioni sperimentali oltre a confermare questa idea, hanno suggerito anche funzioni più complesse.

L'AG è un sistema di membrane e vescicole, solitamente localizzato nella regione centrale del citoplasma delle cellule metabolicamente attive (fig. 1). Dal punto di vista ultrastrutturale è costituito da tre tipi di componenti: 1) *cisterne appiattite impilate le une sulle altre*; 2) *microvescicole o vescicole transfer*; 3) *macrovescicole o vescicole secernenti*. L'AG presenta inoltre una sua intrinseca polarità che gli viene conferita non soltanto dalla forma delle singole cisterne ma anche da specifiche attività enzimatiche ad esse correlate; distinguiamo quindi una *faccia prossimale*, detta anche *cis*, ed una *faccia distale* detta *trans*. La faccia *cis* guarda generalmente verso l'involucro nucleare o alternativamente è orientata verso porzioni di Reticolo

Endoplasmatico (RE). Si ritiene che questa faccia rappresenti la "camera di ingresso" che accoglie le vescicole di trasporto smistate dalle regioni di sintesi delle cellule all'AG. La faccia *trans* è generalmente orientata verso la periferia cellulare; essa presenta nella porzione esterna numerose vescicole di gemmazione che si distaccano portando all'interno un materiale più o meno denso agli elettroni [1].

Lo spessore delle membrane golgiane è caratteristico e costante. Esse risultano più spesse rispetto a quelle del RE ma meno spesse della membrana citoplasmatica; tale ispessimento è generalmente progressivo estendendosi dalla porzione prossimale a quella distale. È interessante verificare come queste osservazioni morfologiche siano correlate con specifiche valutazioni biochimiche; infatti la composizione biochimica delle cisterne è diversa: la quantità delle sfingomieline e di steroli aumenta spostandosi progressivamente dalle cisterne prossimali a quelle distali, le lectine invece mostrano un andamento inverso.

Più recentemente, si è convenuti a considerare ogni pila di cisterne costituita da almeno tre compartimenti differenti (*cis-mediano-trans*), ciascuno dotato di particolari enzimi ed adibito da una determinata fase dell'elaborazione delle glicoproteine giunte dal RE. Infatti l'AG è implicato nei processi di modificazione delle catene oligosaccaridiche di membrana, delle glicoproteine di membrana e di altre proteine con legami N-glicosilici e O-glicosidici.

Forma, dimensioni e posizione sono estremamente variabili a seconda dei diversi citotipi. Per esempio nei distretti ghiandolari esocrini ed in particolare nel Sistema Nervoso, l'AG presenta un volume considerevole, mentre è modesto nelle cellule scarsamente attive o quiescenti. Circa la sua posizione, si osserva che gene-

ralmente nelle popolazioni cellulari di origine ectodermica l'AG si mostra polarizzato disponendosi tra il nucleo e la periferia della porzione apicale della cellula; al contrario nella cellule costituenti le ghiandole endocrine, dove la sua posizione è variabile, un tipico esempio è dato dalla diversa posizione che può assumere nei tireociti, dove oscilla in concomitanza con lo stato funzionale del follicolo [2]. Il REL, il RER e l'AG formano quindi un sistema collegato strutturalmente e funzionalmente in modo sinergico: per questo motivo essi vengono considerati come elementi dell'apparato vacuolare interno.

I componenti di questo sistema trasportano proteine ed altri materiali tra loro e la membrana plasmatica, attraverso vescicole e vacuoli di trasporto, mediante meccanismi diretti e indiretti. In generale, le proteine appena sintetizzate sui poliribosomi legati alla membrana del RE vengono trasportate fuori del reticolo attraverso elementi liberi da ribosomi; tali proteine attraversano i vari compartimenti dell'AG fino a raggiungere la faccia trans dell'organulo. Qui le proteine destinate alla membrana plasmatica o quelle secrete in maniera costitutiva vengono trasportate sulla superficie della cellula attraverso endosomi precoci o tardivi, altre ancora penetrano nei prelisosomi e vengono poi selettivamente trasferiti nei lisosomi [3]. Inoltre alcune proteine possono attraversare l'AG ma ritornano attraverso un trasporto vescicolare retrogrado al RE, il quale rappresenta la loro destinazione finale (fig. 2).

### Il trasporto vescicolare

In questi ultimi anni si è iniziato a far luce sugli eventi implicati nella formazione e nel trasporto delle vescicole. Secondo il modello proposto da Rotman e colle-

ghi [4], il trasporto anterogrado delle vescicole può essere diviso in 8 tappe principali. Alla base di questo modello sta il concetto che ogni vescicola di trasporto contiene un unico specifico marcatore che fornisce l'indirizzo rappresentato da una o più proteine v-SNARE (vescicola contenente il recettore di SNAP), mentre nelle membrane bersaglio sono presenti una o più proteine complementari t-SNARE (bersaglio di SNARE) che interagiscono con le prime; le tappe sono:

1. formazione del rivestimento che ha inizio quando il fattore di ADP-ribosilazione (ARF) viene attivato mediante lo scambio GDP-GTP portando all'associazione del complesso ARF-GTP con il suo recettore presente sulla membrana del RE;
2. ARF associato alla membrana recluta dal citoplasma le proteine di rivestimento che vanno a costituire le pareti delle gemme;
3. estrusione della gemma;
4. distacco del rivestimento;
5. le proteine v-SNARE si legano alle proteine complementari t-SNARE presenti sulla membrana ricevente per ancorare su di essa le vescicole;
6. organizzazione del complesso molecolare di fusione sulle proteine SNARE includendo un ATP-asi, NSF (Fattore Sensibile al NEM) e le proteine SNAP (Fattore solubile di Attacco al NEM).

Le SNAP si legano alle SNARE (recettori di SNAP) rendendo possibile l'idrolisi dell'ATP da parte di NSF, essenziale per la fusione [5].

Interessante per capire la relazione tra struttura e funzione dell'AG sembra essere l'azione del metabolita fungineo *Brefeldina* che impedisce il legame del GTP alla proteina ARF, inibendo così l'intero processo [6]. In sua presenza il Golgi sembra disgregarsi probabil-

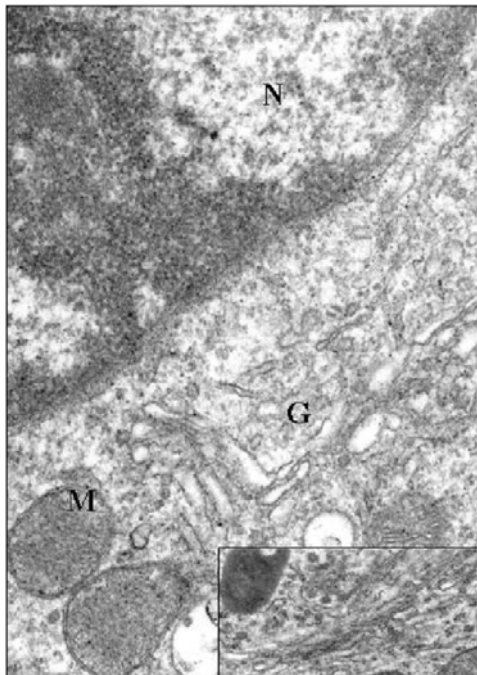


Fig.1: Immagine al microscopio elettronico a trasmissione di una cellula del tubulo renale dove si evidenzia l'AG in posizione perinucleare. L'inset mette in evidenza le cisterne golgiane impilate le une sulle altre.

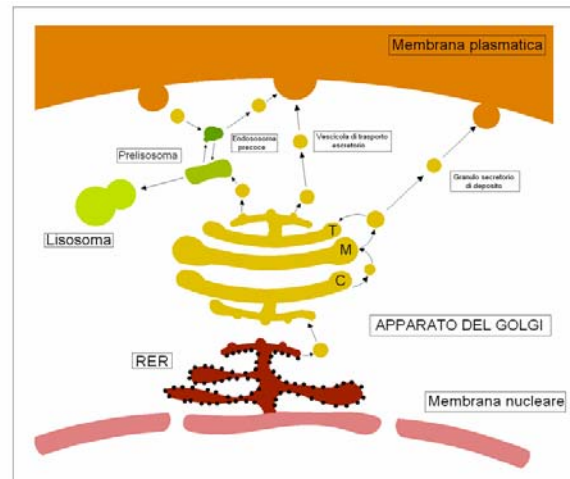


Fig.2: Schema del processo di trasferimento delle proteine sintetizzate nel reticolo endoplasmatico rugoso (RER). Le proteine appena sintetizzate sui ribosomi legati alla membrana del reticolo sono trasportate fuori attraverso elementi di trasporto liberi da ribosomi. Tali proteine attraversano i vari subcompartimenti del Golgi fino a raggiungere la parte più esterna dell'apparato, dove vengono segregate in vescicole e smistate (C: faccia cis; M: compartimento mediale; T: faccia trans).

mente in seguito agli effetti inibitori delle brefeldina sugli scambiatori di nucleotidi guaninici. A questo proposito sembra interessante il comportamento dell'AG e di alcune proteine ad esso associate durante i processi di divisione cellulare. La mitosi comprende diversi processi altamente conservati come la condensazione della cromatina, la formazione del fuso, l'allineamento e la segregazione dei cromosomi [7]. Gli organelli dotati di membrana come il RE e i mitocondri rimangono intatti durante la mitosi; tuttavia l'AG si disassembla in maniera reversibile [8]. Una ipotesi plausibile è che probabilmente questo serve a distribuire in maniera equa tra le cellule figlie il sistema di membrane del Golgi [9]. Una diversa spiegazione prevede questo possa essere un potenziale meccanismo di regolazione delle attività e della localizzazione di diverse molecole segnale ed effettori che si trovano associate alla membrana del Golgi [10].

### Il Golgi nella mitosi e la GRASP65

La GRASP65 (Golgi Reassembly Stacking Protein of 65 kDa), una proteina dinamicamente associata al AG, sembra essere coinvolta nel processo di disassemblamento dell'organulo durante la divisione cellulare [11]. GRASP65 è localizzata sulla membrana della faccia cis del Golgi e rappresenta uno dei due membri della famiglia di proteine GRASP (GRASP65, GRASP55), la cui localizzazione ha permesso di ipotizzare il loro coinvolgimento nell'impilamento delle cisterne dell'apparato del Golgi [12].

Entrambe le GRASP sono in grado di legarsi ad alcuni membri della famiglia delle *golgine*; in particolare GRASP65 si lega al dominio C-terminale di GM130 la quale è coinvolta nell'ancoraggio delle vescicole COP-I alla membrana del Golgi [13].

Infatti, GM130 agisce come recettore della proteina P115 [14], un fattore coinvolto nel riconoscimento delle vescicole di trasporto al Golgi prima della loro fusione [15, 16]. GM130 viene fosforilata durante la mitosi e non può più legare p115 bloccando, come è stato osservato, il trasporto delle vescicole durante la divisione cellulare [17]. È ipotizzabile che questo possa essere correlato con il fatto che anche GRASP65 viene fosforilata ed inattivata durante la mitosi.

Le proteine GRASP sono target di diverse chinasi che agiscono durante la mitosi. GRASP65 in particolare viene fosforilata, sia in vivo che in vitro, dal complesso cdc2/ciclica B1 e da una polo-like chinasi (PKL). Non sono ancora noti gli eventi conseguenti alla fosforilazione [18]. Diversi studi hanno dimostrato la stabilità del legame tra GRASP65-GM130 tale da formare un complesso di circa 1,2 MDa [19, 20]. Resta ancora da chiarire in che modo GRASP65 e GM130 sono correlate oltre che nel trasporto vescicolare, anche nel mantenimento, come vedremo, della struttura dell'AG. Infatti, sembra che il complesso GRASP65-GM130 contribuisca al riconoscimento delle cisterne che devono impilarsi.

GRASP65 è stata una delle prime proteine ad essere stata identificata sulle membrane del Golgi, e la sua

funzione è risultata essere sensibile al NEM (N-ethylmaleimide), un agente alchilante, ma solo dopo l'avvenuto disassemblamento delle cisterne del Golgi durante la mitosi [21], in seguito a questo trattamento queste non riescono più a riassemblarsi, suggerendo che GRASP65 potrebbe essere coinvolta nella organizzazione delle cisterne golgiane [22].

In seguito, ulteriori studi hanno identificato la proteina GRASP65 come una proteina strutturale avente un ruolo chiave nel mantenimento dell'integrità del AG; inoltre il clivaggio di GRASP65 mediato dalle caspasi è richiesto per la frammentazione del Golgi durante l'apoptosi [23]. Strutturalmente, GRASP65 si presenta sotto forma di omodimero; tuttavia, durante l'interfase è capace di formare eterodimeri con altre molecole, cosa che non accade durante la mitosi quando la formazione di questi eterodimeri viene impedita da eventi di fosforilazione da parte del complesso cdc2/B1 e dalla PKL [13].

Questi cicli di fosforilazione e defosforilazione risultano essere correlati con l'organizzazione delle cisterne del Golgi. Studi sul rapporto struttura-funzione tra GRASP65, AG e mitosi hanno dimostrato la presenza di anomalie nell'organizzazione del fuso mitotico in cellule che presentavano deplezione di GRASP65, con l'insorgenza anche di eventi di morte cellulare. Durante l'interfase, infatti, il centrosoma subisce una riorganizzazione per la formazione del fuso e diversi fattori contribuiscono in questo processo soprattutto durante il reclutamento del complesso  $\gamma$ -tubulina citosolico attorno al centrosoma [24]. È stato infatti scoperto che la proteina GRASP65 gioca un ruolo chiave nella formazione del fuso, regolando il reclutamento di questo complesso [11]. Benché l'esatta funzione di GRASP65 nella riorganizzazione del centrosoma non è stata ancora chiarita, è stato così dimostrato che l'AG e il centrosoma sono strettamente legati non solo spazialmente ma anche funzionalmente. Alcune recenti evidenze supportano questa ipotesi, come la scoperta che ZW10, un componente del check point che interviene durante la formazione del fuso, e RIN1, il quale partecipa al check point durante il passaggio da G2 a M, sono capaci di interagire con alcune proteine coinvolte nel traffico anterogrado dal RE al AG come le proteine t-SNARE [25] (fig.3).

Abbiamo già accennato al possibile coinvolgimento di GRASP65 nel pathway apoptotico e come il clivaggio da parte delle caspasi sia necessario per la frammentazione dell'AG; tuttavia è stato scoperto un altro ruolo della GRASP65 nel processo apoptotico, suggerendo un probabile ruolo regolatorio nell'induzione della morte cellulare. Lo studio della patofisiologia di alcune delle maggiori cause di morte come le coronariopatie ischemiche, il cancro e alcune patologie polmonari, hanno dimostrato che i gravi eventi di ipossia che si verificano in questi casi sono responsabili di alcuni cambiamenti nell'espressione di diversi geni che contribuiscono alla patogenesi della malattia [26]. In particolare, è stato dimostrato essere rilevante l'over espressione di Bcl-XL, un fattore anti-apoptotico della

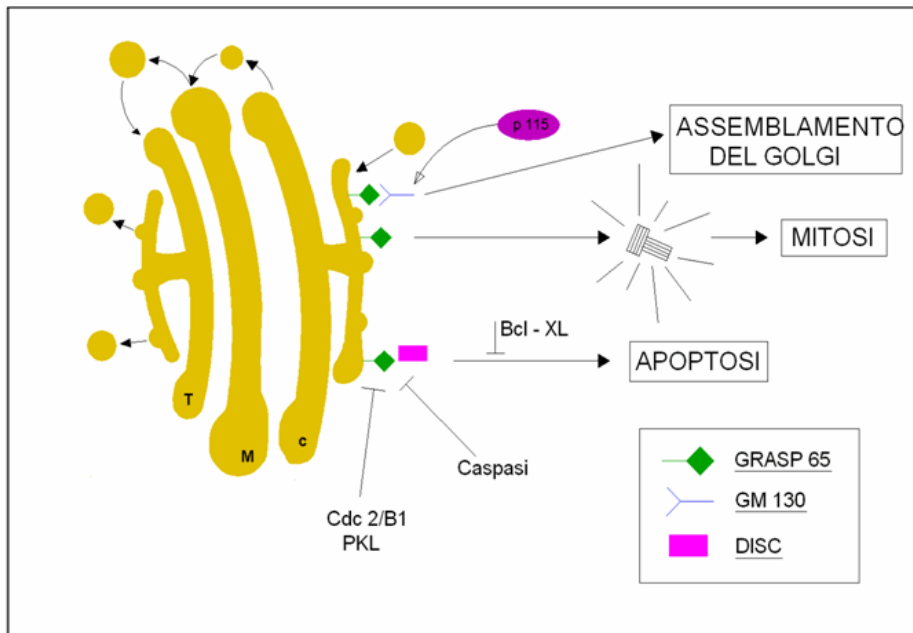


Fig.3: Modello che illustra le diverse potenziali funzioni di GRASP65, nonché il coinvolgimento dell'apparato del golgi in diversi processi cellulari come la proliferazione e la morte cellulare.

famiglia di BCL.2. In questo caso, GRASP65 sembra essere coinvolto nell'induzione della morte cellulare, in particolare sembra essere capace di complessarsi con la caspasi 8 e FAS, determinandone lo spostamento alla membrana e la loro successiva attivazione. La formazione di questo complesso viene inibita dall'azione di Bcl-XL [26]. Quindi è ipotizzabile che la diversa regolazione di GRASP65 in alcuni processi chiave del ciclo cellulare possa determinare una variazione nel destino differenziativo della cellula. Ad esempio nel caso precedente Bcl-XL agendo su GRASP65 blocca l'induzione dell'apoptosi, ma se si verifica una modifica strutturale o funzionale a carico di GRASP65 tale da impedirgli il riconoscimento da parte di Bcl-XL, non è chiaro cosa succederebbe alla cellula, né in che modo l'alterazione di GRASP65 si ripercuoterebbe nel mantenimento della struttura dell'AG e nel suo coinvolgimento nella mitosi.

Quest'ultimo quesito ci riporta ad un concetto nuovo già accennato precedentemente: essendo GRASP65 una proteina associata al Golgi, davvero può l'AG svolgere ruoli diversi da quelli che abitualmente gli vengono attribuiti all'interno della cellula?

Oggi l'AG viene a proporsi non solo come un centro importante nello scambio di informazioni tra il nucleo e la superficie cellulare, ma anche in alcuni eventi chiave del ciclo cellulare, come la mitosi e la morte. Questo ci permette di fare delle ipotesi che sarà nostro interesse verificare nell'immediato futuro.

#### BIBLIOGRAFIA

1. Neutra M and Leblonde CP: The Golgi Apparatus. *Sci Am* 1969; 200:100
2. Dalton AJ, Felix MD: A comparative study of the Golgi complex. *J Biophys Biochem Cytol* 1956; 2:79
3. Jamieson JD in F Clementi and B ceccarelli: Role of the Golgi complex in the intracellular transport of secretory proteins. Roven Books, Abelard-Schuman ,

limited (eds) 1971; 1:83

4. Rotman JE: Mechanism of intracellular protein transport. *Natur* 1994; 372-375

5. Rotman JE, Wieland Ft. *Science* (1996) 272, 227

6. Lippincott-Schwartz J, Donaldson JG, Schweizer A, Berger E G, Hauri HP, Yuan LC, Klausner RD. *Cell* (1990) 821-836

7. Nasmyth K, Peterson JM, Uhlmann F. *Science* (2000) 288: 1379-1384

8. Marsh BJ, Howell KE: *Nat. Rev. Mol. Cell. BIOL.* (2000) 3:789-795

9. Shorter J, Warren G: A role for the vesicle tethering protein, p115 in the post-mitotic staking of reassembling Golgi cisterne in a cell-free system. *Annu Rev Cell Dev Biol* 2002; 18:379-420

10. Altan-Bonnet N., Phair DR, Polishchuk RS, Weigert R, Lippincott-Schwartz J: A role for Arf1 in mitotic Golgi disassembly, chromosome segregation, and cytokinesis. *PNAS* 2003, 100:13314-13319

11. Sütterlin C, Polishchuk R, Pecot M, Malhotra V: The Golgi-associated protein GRASP65 regulates spindle dynamics and is essential for cell division. *Mol Biol Cell* 2005; 16:3211-3222

12. Shorter J, Watson R, Giannakoli ME, Clarke M, Warren G, Barr FA. *EMBO J* (1999) 18: 4949-4960

13. Barr FA, Nakamura N, Warren G: Mapping the interaction between GRASP65 and GM130, components of a protein complex involved in the staking of Golgi cisterne. *EMBO J* 1998; 17:3258-3268

14. Nakamura N, Lowe M, Levine TM, Rabouille C and Warren G: The vesicle docking protein p115 binds GM130, a cis-Golgi matrix protein, in a mitotically regulated manner. *Cell* 1997; 89:445-455

15. Waters MG, Clary DO, and Rotman JE: A novel 115-kD peripheral membrane protein is required for intracisternal protein transport in the Golgi stack. *J Cell Biol* 1992; 118:1015-1026

16. Saperstain SK, Walter DM, Grosvenor AR,

- Heuser JE, Waters MG: p115 is a general vesicular transport factor related to the Yeast endoplasmic reticulum to golgi transport factor Uso 1p. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995; 92:522-526
17. Levine TM, Rabouille C, Kieckbusch RH, Warren G: Binding of the vesicle docking protein p115 to Golgi membranes is inhibited under mitotic conduction. *J Biol Chem* 1996 271: 17304-1740
18. Lin CY, Madsen ML, Farm FR, Jang YJ, Lin X, Erikson RL: Peripheral Golgi protein GRASP65 is a target of mitotic polo-like kinase (PLK) and Cdc2. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000; 97:12589-12594
19. Moremen KW, Touster O, Robbins PW: Novel purification of the catalytic domain of Golgi  $\alpha$ -mannosidase. *J Biol. Chem* 1991; 266: 16876-16885
20. Nakamura N, Rabouille C, Watson R, Nilson T, Hui N, Slusarewicz P, Kreis TE and Warren G: Characterization of cis-golgi matrix protein, GM130. *J. Cell Biol.* 1995; 131: 1715-1726
21. Barr FA, Puyepe M, Vandekerckhove J, Warren G: GRASP65 a protein involved in the staking of Golgi cisterne. *Cell* 1997;91:253-262
22. Rabouille C, Levine TP, Peters JM, Warren G: An NSF-like ATPase, p97 and NSF mediate cisternal re-growth from mitotic Golgi fragments. *Cell* 1995a; 82:905-914
23. Lane JD, Lucocq J, Pryde J, Barr FA, Woodmon PJ, Allan VJ, Lowe M: Caspase-mediated cleavage of the staking protein GRASP65 is required for Golgi fragmentation during apoptosis. *J. Cell Biol* 2002; 156: 495-509
24. Khodjakov A, Reider CL. *Cell J. Biol. (1999) 146: 585-596*
25. Hirose K, Arosoli K, Dohmae N, Takio K, Hatazawa K, Nagohama M, Toni K, Yamamoto A, Tohyama, Togaya m. *EMBO J. (2004) 23. 1267-1778*
26. Wang X, Zhang J, Pyo Kim H, Wang Y, Choi A M K, Ryter SW: a direct role for GRASP65 as mitotically regulated Golgi staking factor. *FASEB J* 2004; 18:1826-1833.

**Malpighi, la Iatromeccanica e la Nuova Medicina Sperimentale**

Francesco Cappello, Responsabile Scientifico "Capsula Eburnea"

CAPSULA EBURNEA, 1,4:1, 2006.

Malpighi nacque a Crevalcore il 10 marzo 1628; nacque e visse quindi in un periodo storico di grande fermento religioso e culturale: siamo subito dopo la Controriforma e il Concilio di Trento, Galileo nel 1630 scrive il "Dialogo sui due massimi sistemi del mondo", mettendo a confronto le teorie copernicana e tolemaica, ma soprattutto segnando una svolta nella storia dell'Umanità: l'uomo adesso è libero di pensare, libero da vincoli dottrinali e da pregiudizi, la mente umana può aprirsi; con Galileo inizia quindi il percorso (forse ancora non terminato) del pensiero scientifico moderno. Malpighi è da molti considerato il "Galileo della medicina", e l'analogia non deriva da presunte persecuzioni da parte della Chiesa (chi conosce un po' la biografia del celebre anatomista può solo sorridere davanti a simili affermazioni), quanto piuttosto per la svolta che seppe segnare nell'ambito della acquisizione e della divulgazione delle conoscenze scientifiche. Siamo in un'epoca di grande fermento vissuta anche dalle scienze mediche. Siamo in un momento in cui l'impostazione della medicina "ippocratico-aristotelico-galenica" inizia a scricchiolare sotto i colpi della "nuova medicina sperimentale": essa nasce col ritorno in auge dell'esecuzione delle autopsie sull'uomo e, quindi, della ricerca anatomica, che raggiunge nel XV e XVI secolo le sue vette con Paracelso e, soprattutto con Vesalio. La spiegazione della funzione degli organi non avvenne improvvisamente, per l'opera di geni, ma avvenne gradatamente grazie all'acquisizione di conoscenze successive da parte, soprattutto, di anatomisti. Basti ricordare che fino al XVI secolo, per i medici galenici il sangue si originava nel fegato e da qui si distribuiva a tutto il corpo, mentre i polmoni avevano il compito di "catturare il prezioso pneuma" da portare al cuore "ove si mescola col sangue". Fu Harvey, tra mille contrasti, nel 1628 ad ipotizzare per primo l'esistenza di una circolazione del sangue così come la conosciamo ora; il sangue viene pompato dal cuore nelle arterie, e ad esso ritorna tramite le vene, ma si dovette aspettare la scoperta dei capillari da parte di Malpighi per fugare ogni dubbio da parte dei suoi più "vivaci" de-

trattori. Con Harvey prima e, soprattutto, con Malpighi dopo, nasce e si consolida pertanto una nuova metodologia di indagine del corpo umano, la "iatromeccanica"; essa interpreta l'organismo umano come un insieme di "macchine diverse" (gli apparati), ciascuna con struttura e funzione diverse, soprattutto inizia ad imporsi la convinzione (attraverso il Borelli, Maestro di Malpighi) che a ciascun dettaglio morfologico debba corrispondere una spiegazione funzionale. Questo è un colpo tremendo agli "umori" di Ippocrate e agli "spiriti" aristotelico-galenici, è un radicale cambiamento delle basi teorico-pratiche della ricerca scientifica, improvvisamente illuminata dal metodo galileiano e, per quanto riguarda la medicina, dalle scoperte di Malpighi e dei suoi contemporanei.

Ad esempio, gli studi del Malpighi sulla funzione respiratoria del polmone vennero accolte con grande entusiasmo dagli iatromeccanici e con forte polemica dai galenici. Anche il Borelli ebbe difficoltà ad accettare la teoria del suo allievo, convinto com'era che nel polmone si mescolassero, attraverso i suoi movimenti, il sangue venoso, la linfa ed il chilo tuttavia non contrastò questa ipotesi anzi, spinse l'allievo a pubblicarla il più rapidamente possibile.

Malpighi fece numerose altre scoperte pionieristiche durante il corso della sua vita e dei suoi studi, ma vogliamo chiudere questo breve elzeviro riportando un paragrafo tratto dalla sua più fedele biografia, scritta da Gaetano Atti (1847): "Morì adunque di anni 66, mesi 3 e giorni 19. Ebbe sottile ingegno, chiarezza di intendimento, fu di natura mite, non facile all'ira, non intemperante nei desideri. Niuno scorcio di passione si vide in lui. Amò la gloria e cercò negli studi la pace dell'animo, e la consolazione del viver suo. L'altezza e la fecondità della sua mente non lo levò in superbia e fu moderato nella prosperità. Perché fu di cuore tenero oltre misura (...) sobrio, frugale, di costume incolpabile, di modi semplici e dolci, di una lealtà, di una schiettezza impareggiabile".

**Dopo ventisette anni: grazie legge 180**

Dr.ssa Rossana Messina, Psichiatra

Email: rossanamessina@hotmail.com

**CAPSULA EBURNEA, 1,5:1-3, 2006.**

Ho conosciuto Gerico,  
ho avuto anch'io la mia Palestina,  
le mure del manicomio  
erano le mure di Gerico  
e un pozza di acqua infettata  
ci ha battezzati tutti.  
Lì dentro eravamo ebrei  
E i farisei erano in alto  
E c'er anche il Messia  
Confuso dentro la folla:  
un pazzo che urlava al Cielo  
tutto il suo amore in Dio.  
Noi tutti branco di asceti  
eravamo come gli uccelli  
e ogni tanto una rete  
oscuraci imprigionava  
ma andavamo verso la messe,  
la messe di nostro Signore  
e Cristo il Salvatore.  
Fummo lavati e sepolti,  
odoravamo di incenso.  
E dopo quando amavamo,  
ci facevano gli elettrochoc  
perché, dicevano, un pazzo  
non può amare nessuno.  
Ma un giorno da dentro l'avello  
anch'io mi sono ridestata  
e anch'io come Gesù  
ho avuto la mia resurrezione,  
ma non sono salita ai cieli  
sono discesa all'inferno  
da dove riguardo stupita  
le mura di Gerico antica.  
Alda Merini  
da Terra Santa

La legge 180, meglio conosciuta come "Legge Basaglia", è passata alla storia come la legge che ha chiuso i manicomi in Italia.

Il 16 maggio 1978 viene pubblicata dalla Gazzetta Ufficiale della Repubblica il testo della legge 180, datata 13/5/1978, una legge questa per molti versi straordinaria che dettava le norme della riforma psichiatrica. Essa, in effetti, rimase in vigore, come tale sino al dicembre dello stesso anno, allorché decadde perché le

sue norme essenziali furono inserite, con modificazioni negli art. 33, 34, 35 della legge 833/78, istitutiva del Servizio Sanitario Nazionale, nota come "riforma sanitaria", che regola la sanità italiana, ricomprendendovi, ed era ora, anche la psichiatria.

La legge 180/78 resta uno dei testi più noti della nostra storia legislativa che a ventisette anni dalla sua attuazione, proprio per il suo carattere radicalmente innovativo è oggetto di dibattiti e di studi, è il punto di riferimento per coloro che af-

frontano il problema della deistituzionalizzazione psichiatrica.

Nell'immaginario collettivo il manicomio evoca un "lager", luogo nel quale si consumavano spesso maltrattamenti a carico dei ricoverati, rievocando a sua volta i campi di stermini utilizzati nella seconda guerra mondiale.

Troviamo così da una parte i manicomi, veri ghetti, creati sulla base delle conoscenze scientifiche, mediche, antropologiche del loro tempo che corrispondevano allo stato di evoluzione culturale della popolazione e dall'altra il malato, che, nella concezione del tempo, era un uomo senza le sue facoltà caratteristicamente umane, senza l'intelligenza, senza la volontà, senza gli affetti e senza valore, incapace di autoregolarsi, di controllarsi e quindi potenzialmente pericoloso per gli altri e per se stesso e come conseguenza doveva essere custodito e curato, ma anche metaforicamente "ucciso e annullato" in quanto persona persa che andavano solo seduta ed emarginata, per il bene della società.

Ma la funzione del manicomio come "lager" si avvicina anche (più che a quello dell'ultima guerra mondiale) al suo significato originale ovvero di "deposito, magazzino, luogo di raccolta di persone e di cose" e proprio così è stato utilizzato il manicomio: i degenti si alzavano la mattina presto, spesso non avevano indumenti propri, indossavano casacche anonime e scarpe di misura diversa dalla propria, la giornata scorreva senza attività organizzate, senza alcuna iniziativa alla socializzazione, alla ricerca di mozziconi di sigarette e scorreva via in ambienti del tutto privi di qualsiasi stimolo, visivo, uditivo, tattile e immersi nella sporcizia.

E'così venuto meno il senso positivo del "depositare", infatti il magazzino di tutte le nostre case non è solo il luogo di raccolta degli oggetti non più utilizzati ed utilizzabili, ma è anche luogo dove si raccolgono e si conservano cose che valgono, cercando di evitarne il loro deterioramento.

Il magazzino dal suo significato originario si è trasformato in "fondo di magazzino", in "scarto" e il manicomio si è trasformato in "residuo psichiatrico", come è stata definita la popolazione rimasta negli ospedali psichiatrici dopo la politica della dismissione.

Però nei manicomi si è avuto a che fare con i malati, con le persone e non cose ed ecco l'errore e le debolezze delle amministrazioni e del personale che operava negli istituti. In questo contesto si sviluppa un maltrattamento "attivo ed intenzionale" operato su malati ricoverati, che vivevano in condizioni spaventose, non era quindi il lager inerente alla natura dell'istituzione in se ma attuato talora da persone sadiche, rozze e perverse che ebbero modo di scaricare su malati indifesi la propria aggressività, la propria insoddisfazione così come può avvenire in altra istituzione, in caserma, in carcere, a scuola, o nelle stesse famiglie. Soltanto che "quel matto" con il suo peccato originale e la sua malattia mentale, non era di nessuno, per cui nessuno ne richiamava la dignità personale, la individualità, la libertà e il valore umano.

In questo contesto si è inserita la legge 180/78 che ha trovato terreno fertile grazie all'introduzione di psicofarmaci e l'evoluzione culturale che condussero al passaggio dal "manicomio come luogo chiuso ad uno spazio nuovo e aperto", in cui ritrovi la possibilità di muoversi liberamente e ritrovi un luogo dove i pregiudizi, l'insensibilità e l'ignoranza lasciano posto allo scambio e al prendersi cura e accudire qualcuno, in altri termini il malato non è solo un malato ma un uomo". . In conclusione la legge 180/78 è una legge di grande civiltà e di principio, è una legge attenta ai bisogni e alle richieste delle persone con sofferenza psichica, ridando dignità non solo al malato ma anche agli psichiatri, rendendo la disciplina psichiatrica non più una pseudoscienza di chiusura e contenimento ma una vera e propria scienza medica alla pari delle altre.

Se bisogna modificarla serve solo migliorarla dal punto di vista qualitativo, inutile parlare di una nuova legge che sostituisca l'attuale, dopo anni si è riusciti a superare la logica manicomiale e per questo non è possibile che si ritorni indietro.

"Noi vogliamo essere psichiatri,  
ma vogliamo soprattutto essere  
delle persone impegnate, dei militanti.  
O meglio, vogliamo trasformare,  
cambiare il mondo attraverso il nostro specifico,  
attraverso la miseria dei nostri pazienti  
che sono parte della miseria del mondo.  
Quando diciamo no al manicomio,  
noi diciamo no alla miseria del mondo  
e ci uniamo a tutte le persone che nel mondo  
lottano per una situazione di emancipazione".

Franco Basaglia

Lecture consigliate:

Basaglia, Franco, *L'istituzione negata*, G. Einaudi, 1968.

Merini, Alda, *La Terra santa*, Scheiwiller, 1984.

Merini, Alda, *L'altra verità: diario di una diversa*, Scheiwiller, 1992.

Merini, Alda, *La pazza della porta accanto*. Bompiani, 1995.

Tobino Mario, *Le libere donne di Magliano*. Legge 14 Febbraio 1904, n 36. Disposizioni sui manicomi e sugli alienati. Custodia e cura degli alienati, in G.U. 22 febbraio 1904, n 5.

Legge 18 Marzo 1968, n 431. Disposizioni concernenti l'assistenza sanitaria e la vigilanza igienica, in G.U. 20 Aprile 1968, n 101.

Legge 13 Maggio 1978, n 180. Accertamenti sanitari e obbligatori in G.U. 16 Maggio 1978, n 133.

**Anatomia della malasanità e prospettive di cura**

Francesco Cappello, Responsabile Scientifico "Capsula Eburnea"

**CAPSULA EBURNEA**, 1,6:1-2, 2006.

Correspondence: francapp@hotmail.com

Le polemiche sulla malasanità siciliana che sono infuriate negli scorsi mesi si sono parzialmente placate, ma forse sono servite a far emergere alcune delle carenze del "Sistema salute" in Sicilia, nonché a far proporre importanti suggerimenti per il suo miglioramento. Le pagine dei più prestigiosi giornali italiani sono infatti state riempite di possibili spiegazioni dei casi di mala-sanità, sia a livello locale che nazionale; c'è chi ha invocato il federalismo, chi il razionamento delle prestazioni sanitarie, le carenze strutturali del territorio, il peso della burocrazia e, soprattutto, gli errori dei medici. Solo nelle ultime settimane sono usciti a distanza di pochi giorni l'uno dall'altro due editoriali in altrettanti prestigiosi quotidiani nazionali che invocavano potenziali panacee per il sistema sanitario: equità di accesso alle prestazioni sanitarie, maggiore promozione dell'utilizzo dei farmaci generici, aumento dei finanziamenti per la ricerca biomedica, nonché gratuità delle cure, separazione delle carriere dei medici pubblici e privati, prenotazioni degli esami on-line. Seppure i rimedi sembrano potenzialmente validi, è difficile stabilire su due piedi quali di queste proposte siano realmente attuabili e quali invece siano destinate a rimanere pure utopie.

A nostro avviso tra le principali pecche organizzative della realtà medica siciliana vi sono i reali squilibri tra i pochi centri di eccellenza attualmente presenti nel territorio siciliano e una realtà ospedaliera di provincia molto spesso incapace di poter attendere alle richieste dei cittadini. Inoltre, un altro obiettivo a volte trascurato è offrire un contributo al processo di riavvicinamento tra medico e cittadino: dev'essere ben chiaro per tutti, infatti, che la medicina non è una scienza esatta e il medico non è uno stregone che ha in mano i rimedi per il mantenimento o il ripristino della salute del malato. Da morfologo, mi piace ricordare frequentemente che il corpo umano è un insieme di organi, costituiti da tessuti, a loro volta fatti da cellule, che vivono in un delicato equilibrio. Quando

questo equilibrio viene alterato, il tessuto si disorganizza, l'organo non funziona più bene e l'organismo si ammala.

La ricerca scientifica ci ha consentito soprattutto negli ultimi anni di capire un po' di più sul rapporto forma funzione-disfunzione a livello cellulare nel corpo umano e queste conoscenze ci hanno consentito di rivedere l'inquadramento nosologico di molte malattie e di progettare moderne strategie terapeutiche. Ma moltissimo ancora è il lavoro da fare da parte dei ricercatori in ambito biomedico.

Pertanto, la medicina ancora oggi molto spesso può essere definita una scienza "per tentativi", sia per quanto riguarda la diagnostica che soprattutto per quanto riguarda la terapia. Compito del medico è far tendere verso uno stato di benessere il suo paziente, nel miglior modo e nel più breve tempo possibile. Compito del paziente è seguire ed apprezzare lo sforzo e le attenzioni del medico, anche quando questo sforzo, per ragioni estranee alla volontà degli individui, non va a buon fine.

Infatti, la "medicina difensiva", termine coniato dagli americani ad indicare una serie di pratiche medico-legali che il medico dovrebbe compiere concomitantemente alle pratiche più strettamente sanitarie per cautelarsi le spalle (e il portafoglio) da una eventuale azione legale del paziente, è la peggiore medicina a cui i nostri tempi potevano relegarci, perché distrae l'attenzione del medico (e del paramedico) dai reali disturbi del paziente, nonché gli impedisce di empatizzare col malato, il quale diventa soltanto una minaccia da allontanare nel più breve tempo possibile.

Dovremmo forse tenere tutti più spesso a mente una delle frasi più celebri di Gandhi:

"Il valore di un essere umano non si riconosce dal suo stato sociale, culturale o razziale ma da quanto egli si prodiga per gli altri".

E questa affermazione dovrebbe valere anche, se non soprattutto, quando l'"essere umano" in questione è il medico.

Oggi il riscatto della medicina, e in particolare di quella siciliana, nasce sì dalla ristrutturazione e dall'ammmodernamento degli ospedali, ma a mio modesto avviso passa anche, se non soprattutto, dalla formazione del personale sanitario, oltre che dalla ricerca scientifica in ambito biomedico. C'è da chiedersi ad esempio perché molti dei nostri medici specializzandi chiedano di andare a svolgere periodi di formazione all'estero e perché molti di questi, soprattutto chi fuori ci rimane per più tempo, alla fine stenti a ritornare, preferisca rimanere fuori e, paradossale nel paradossale, chi alla fine, dopo tanti sacrifici e accumulato un grosso bagaglio culturale e di esperienze, decide di farlo, di tornare indietro, faticosi a reinserirsi nella realtà sanitaria, sia pubblica che privata, della nostra regione! Tanti pertanto sono i progetti che devono essere messi in cantiere nel prossimo futuro. Sarà necessario affrontare tra gli argomenti la pianificazione degli interventi di promozione dell'assistenza sanitaria, nonché i progetti di sviluppo delle risorse umane. Sarebbe altresì utile stimolare l'apprendimento organizzativo nei servizi sanitari da parte di tutto il personale sanitario e amministrativo, ma anche migliorare la comunicazione e le relazioni interpersonali tra medici e pazienti.

Inoltre, bisognerebbe monitorare costantemente gli indicatori per la valutazione della qualità delle prestazioni sanitarie ma anche analizzare i costi di produzione delle prestazioni ai fini di individuare i margini di miglioramento, aumentando l'efficienza e riducendo gli sprechi. Ma molti di questi obiettivi, dietro i titoli eleganti, celano spesso oscure problematiche di difficile risoluzione, senza una volontà precisa, forte e coesa della classe politica e di quella medica dirigente.

Sicuramente, infine, il riscatto della medicina passa anche da una nuova visione del medico in una moderna organizzazione del sistema sanitario. Il medico sarà sempre più lontano dal letto del malato, divenendo la diagnosi sempre più compito del "biomedico", un operatore specializzato nella diagnostica genetica e molecolare delle malattie. A contatto del paziente sarà l'infermiere e il "riabilitatore" (che potrà essere il fisioterapista, il logopedista, il neuropsicoriabilitatore, etc.) e il medico sarà sempre più un manager dietro una scrivania che dovrà far tendere verso l'equilibrio

il bilancio tra i costi del malato e la sua guarigione. I tempi cambiano, e la vera sfida è stare a passo coi tempi.

**REVIEW****La Disfunzione Cerebrale Minima: basi biologiche della diagnosi e del trattamento****Minimal Brain Dysfunction: biological bases of diagnosis and treatment**

Giulia Civitenga, Specialista in neuropsichiatria infantile, Dottorando di ricerca in disturbi del comportamento e dei processi di apprendimento presso la Seconda Università degli studi di Napoli, Specialista ambulatoriale e medico prescrittore presso il DBS 84 Azienda sanitaria Locale NA5.

E-mail docgiuger@inwind.it

**ABSTRACT:** Scopo del presente articolo è valutare la possibilità di definire nosograficamente la disfunzione cerebrale minima. I dati e le informazioni della letteratura saranno interpretati in un'ottica abilitativa; si parla di abilitazione e non riabilitazione in quanto in età evolutiva il trattamento terapeutico mira a far emergere abilità non ancora acquisite e non a riabilitare funzioni perse come per gli adulti.

L'intervento terapeutico può modificare la prognosi, ma di quali patologie? E quali sono le basi biologiche?

CAPSULA EBURNEA, 1,7:1-4, 2006.

**KEYWORDS:** **Disfunzione Cerebrale Minima, Disprassia, Goffaggine motoria, Prematurità.**

**PAROLE CHIAVE:** **Minimal Brain Dysfunction, Dyspraxia, Clumsy, Prematurity.**

**Introduzione**

Nella pratica clinica quotidiana sempre più afferiscono ai centri di riabilitazione soggetti di età compresa tra i 18 mesi ed i 9 anni, con prescrizioni di trattamento abilitativo, diagnosticati come pazienti affetti da disturbo della regolazione, disturbo dell'apprendimento NAS, disturbi del comportamento, ritardo del linguaggio, disprassia, disturbo della coordinazione motoria, impaccio motorio, deficit di coordinazione visuomotoria, deficit di integrazione percettiva, deficit di attenzione, instabilità psicomotoria, ADHD, immaturità affettiva, deficit della coordinazione motoria fine, deficit cognitivo-prestazionale, e altri disturbi [1,2]. Tali diagnosi risultano essere descrittive e/o funzionali; esse forniscono indicazioni fondamentali ai riabilitatori, ma non sempre inquadrano la sintomatologia in una categoria diagnostica definita.

Sul piano anamnestico di frequente esiste un comune denominatore: gravidanza a rischio (minacce di aborto, gestosi), prematurità, neonati piccoli per età gestazionale (SGA). Quanto detto è in accordo con gli studi di follow-up neurologico, effettuati sui pazienti dimessi dai reparti di TIN. Tali studi dimostrano infatti quanto i neonati di basso peso ed i prematuri presentino una serie di svantaggi biologici e relazionali tanto più numerosi e gravi quanto più bassi siano l'età gestazionale e il peso alla nascita ( $\leq 1500$  VLBW e  $\leq 1000$  ELBW). I suddetti svantaggi si traducono in sequele neurocomportamentali e neuroevolutive [3].

Dal momento del concepimento, il patrimonio genetico biologico costituisce il pacemaker dell'incontro con il mondo esterno per cui l'embrione (dalla fecondazione al III mese di gravidanza/periodo formativo) e succes-

sivamente il feto (dal III mese di gravidanza al parto/ periodo di perfezionamento) hanno già una ben definita sensibilità al mondo-mamma di cui colgono in modo specifico i cambiamenti biochimici e fisiologici e tra questi, già in utero, quelli affettivo-emozionali attraverso circuiti ancora allo studio. Pertanto lo sviluppo non è esclusivamente ontogenetico ma epigenetico.

Lo sviluppo epigenetico definisce tutta l'organizzazione progressiva somatica e comportamentale dell'individuo come percorso che dipende sia dal programma genetico, sia dagli stimoli messi a sua disposizione dall'ambiente entro il quale si trova. Il concetto di epigenesi spiega la stretta connessione tra gli aspetti genetici innati e l'apporto dell'ambiente acquisito nell'influenzare le diverse fasi dello sviluppo umano [4].

Gomez nel 1967 scriveva disfunzioni cerebrali minime: Confusione neurologica massima, tale affermazione dimostrava la difficoltà nell'individuare un unico fenotipo clinico che corrispondesse alla DCM, inoltre sul piano morfologico non esistono lesioni patologiche della DCM [5].

Rutter nell'1982 [6] proponeva due teorie miranti a spiegare il concetto di DCM: "Continuum notion" che potremmo rendere in italiano come teoria della continuità in cui la DMC è la variante minore di un danno cerebrale secondario ad un insulto (anossico-ischemico, ipossico, infettivo, traumatico, esposizione ad agenti teratogeni etc); e "Sindrome notion" (teoria sindromica) nella quale la DCM costituisce un disturbo geneticamente determinato più che la risposta a qualsiasi forma di insulto. La teoria sindromica allo stato non dispone di sufficienti dati che ne supportino l'ipotesi. La Continuum notion ci offre informazioni circa l'etiologia della DCM. La variabilità della sintomatologia

**Tabella I: Alcune delle etichette applicate ai disturbi dell'apprendimento e comportamento (Walzer e Richmond 1973)**

Danno cerebrale minimo	Sindrome ipercinetica
Disfunzione cerebrale minima	Disabilità specifica della lettura
Sindrome del bambino goffo	Cecità congenita della parola
Disabilità visuo-motoria	Handicap percettivo motori
Problemi di apprendimento di produzione o acquisizione	Dislessia

rimane il punto cruciale, potrebbe essere spiegata da differenze nel grado di compromissione cerebrale (disturbo biochimico, ritardi maturativi), tuttavia è evidente che per la determinazione del fenotipo clinico entrano in gioco variabili quali l'epoca dell'insulto, la regione cerebrale interessata, l'intelligenza di base, l'ambiente e altro.

La tabella I illustra le possibili variabilità fenotipiche della DCM [7-8]. E' noto che la prematurità grave è fattore di rischio per disabilità di grado diverso. La letteratura è concorde nel suddividere le anomalie dello sviluppo in *major* e *minor*. Tali anomalie hanno, come già accennato, una comune etiologia (patologie del SNC; esposizione precoce ad un ambiente fisico, psichico e sociale non ottimale per promuovere lo sviluppo del SNC; interruzione della relazione tra madre-famiglia bambino) [9].

Le sequele neurologiche maggiori sono rappresentate da PCI, ritardo mentale, CVI, idrocefalo secondario, manifestazioni comiziali.

Vengono considerate disfunzioni minori le sequele neurocomportamentali e neuroevolutive.

- Deficit neuroevolutivi: ritardo cognitivo, difficoltà di apprendimento, disordini del linguaggio, anomalie neuromotorie (deficit di equilibrio e coordinazione statica e dinamica), deficit percettivi.

Deficit neurocomportamentali: disturbi a carico di temperamento, maturità emozionale, competenze sociali, attenzione selettiva [3].

Valutando i suddetti deficit comprendiamo che tre sono le aree di interesse delle suddette sequele:

1. motoria (clumsy child)
2. apprendimento (learning disabilities) comportamentale (behavioural disturbances)

Nel presente articolo tratteremo esclusivamente dei disturbi dell'area motoria.

### I disturbi dell'area motoria

I Clumsy child sono bambini che presentano difficoltà nella sfera motoria, con coordinazione deficitaria. E' opportuno che il clinico ponga Diagnosi Differenziale con le P.C.I. very mild, problema emotivo, problema funzionale. Tale disturbo attualmente nel DSM-IV Tr viene classificato come disturbo evolutivo della coordinazione motoria (tab II) e nel ICD 10 come Disturbo evolutivo specifico della funzione motoria (tab.III), si tratta di un disturbo di apprendimento non verbale.

Dal punto di vista epidemiologico tale disturbo ha una prevalenza del 6% con un rapporto M/F di 4:1. Eziopatogeneticamente vengono ipotizzate alterazioni dei processi di informazioni del sistema neuronale a livello sinaptico, dovute a fattori sia genetici che epigenetici: condizioni di immaturità delle interconnessioni neurali, alterazioni minime encefaliche verificatesi nel corso della gravidanza o durante il parto, gene patologico del cromosoma X.

**Tabella II: Disturbo evolutivo della coordinazione motoria (DSM-IV tr)**

Le prestazioni nelle attività quotidiane che richiedono coordinazione motoria sono sostanzialmente inferiori rispetto a quanto previsto in base all'età cronologica del soggetto ed alla valutazione psicomotria della sua intelligenza. Ciò può manifestarsi con un notevole ritardo delle tappe motorie fondamentali (es camminare, gattonare, star seduti, col far cadere gli oggetti, con goffaggine, con scadenti prestazioni sportive o con calligrafia deficitaria

L'anomalia descritta al punto A interferisce in modo significativo con l'apprendimento scolastico e con le attività della vita quotidiana.

L'anomalia non è dovuta ad una condizione medica generale (PC, emiplegia, distrofia muscolare) e non soddisfa i criteri per un disturbo generalizzato dello sviluppo

Se è presente ritardo mentale, le difficoltà motorie vanno al di là di quelle di solito associate ad esso.

La clinica del Disturbo della coordinazione motoria è quella di una sindrome comportamentale comprendente un'ampia gamma di disturbi e di disfunzioni motorie. Le varie manifestazioni cliniche che possono essere tra loro variamente associate e modificarsi nel corso dello sviluppo, sono costituite da:

Goffaggine: caratterizzata da movimenti impacciati, alterati nelle sequenze temporali, maldestri e poco o affatto efficaci.

Posture inadeguate, dipendenti da scarsa consapevolezza del proprio corpo, le quali interferiscono sia sul mantenimento di un buon equilibrio sia sulla coordinazione del movimento;

Confusione della lateralità con difficoltà ad orientarsi nello spazio e di trovare il proprio posto in una situazione nuova;

Problemi di consapevolezza del tempo con difficoltà nel rispettare gli orari e nel ricordare i compiti nella giornata

Ipersensibilità al contatto fisico e problemi a portare vestiti in modo confortevole

Problemi nell'eseguire attività fisiche come correre, prendere ed usare attrezzi, tenere la penna e scrivere

Ridotto sviluppo delle capacità di organizzazione, con conseguenti evidenti difficoltà nell'eseguire attività che richiedono sequenze precise

Facile stancabilità

Scarsissima consapevolezza dei pericoli

Comportamenti fobici, compulsivi ed immaturi

A seconda delle caratteristiche della fenomenologia semiologica vengono distinte da alcuni autori 1) la "sindrome del bambino goffo o goffaggine" e 2) la Disprassia evolutiva che hanno sul piano pratico e descrittivo una certa autonomia clinica e che sono rappresentativi di un continuum patologico.

Goffaggine: essa consiste in una difficoltà di esecuzione di atti motori molto semplici (come flettere un dito o ruotare il polso) che vengono effettuati con notevole lentezza ed imprecisione. I movimenti sono immaturi, disorganizzati, frammentari, lenti, irregolari sia per quanto riguarda la motricità grossolana che quella fine. Nella goffaggine è alterata la motilità primaria non in termini di forza e tono muscolare, ma in termini di velocità e di destrezza. Le abilità motorie sono imprecise piuttosto che grossolanamente compromesse e

l'esame neurologico non mostra significative anomalie. Disprassia: essa consiste in una difficoltà o una incapacità ad effettuare le appropriate sequenze evolutive dei movimenti volontari, nonostante siano integre le funzioni volitive, la forza muscolare, la coordinazione e la disposizione a collaborare.

L'aspetto caratterizzante della disprassia è la non corretta esecuzione di una sequenza motoria che risulta alterata nei requisiti spaziali e temporali e spesso associata a movimenti non richiesti (paraprassie) con la conseguenza che l'attività motoria anche se eseguita con rapidità ed in modo apparentemente abile, può essere del tutto inefficace e scorretta. La disprassia può essere associata spesso a problemi di linguaggio, di percezione e di elaborazione del pensiero. Il linguaggio può essere semplificato nella struttura sintattico-grammaticale ed alterato negli aspetti articolatori, la percezione inadeguata nell'integrare le informazioni periferiche e nel correlarle all'azione, il pensiero scarsamente organizzato nei vari contenuti [10].

### Discussione

Sul piano neurobiologico la DCM è la conseguenza di una diffusa disregolazione cerebrale condizionata da un ritardo di maturazione di alcune connessioni tra differenti regioni del SNC.

Studi di prevalenza mostrano che le disabilità maggiori sono più elevate tra i bambini di EG molto bassa e con peso adeguato, mentre le disabilità minori si presentano nei soggetti con EG più avanzata e con rallentata crescita intrauterina. Pertanto se il grado di prematurità è fattore determinante la prevalenza delle disabilità maggiori, il ritardo di crescita intrauterino sembra influenzare la comparsa delle anomalie minori nella sviluppo psicomotorio. Se per le PCI il quadro è definito intorno ai 18 mesi, le anomalie minori si incrementano nel tempo ed una più precisa definizione richiede un follow up a lungo termine almeno fino all'età scolare. L'età più predittiva per definire e identificare le anomalie minori sembra essere il secondo anno.

### Conclusioni

In conclusione è opportuno considerare alcuni elementi di neurofisiopatologia maturazionale concernenti i fenomeni riparativi precoci del SNC:

I fenomeni di compenso e recupero funzionale

**Tabella III: Disturbo evolutivo specifico della funzione motoria (ICD-10)**

Il punteggio ad un test standardizzato di coordinazione fine e grossolana è almeno di due deviazioni standard al di sotto del livello atteso in base all'età cronologica del bambino.

Il disturbo descritto nel criterio A interferisce significativamente con il profitto scolastico e con le attività della vita quotidiana

No vi è condizione neurologica sottostante

Criterio di esclusione frequentemente utilizzato un Q.I. inferiore a 70, valutato con un test standardizzato somministrato individualmente

hanno strette analogie con i fenomeni che sottendono lo sviluppo

Tali fenomeni di compenso sono assai maggiori e determinanti nelle epoche precoci dello sviluppo, pertanto la possibilità di recupero funzionale è tanto maggiore quanto è più precoce l'età in cui avviene la lesione.

Sia la organizzazione che la riorganizzazione neuronale, soprattutto corticale, è fortemente stimolata e condizionata dall'attivarsi della funzione e dai connessi inputs esterni ed interni; e pertanto il programma riabilitativo non ha solo uno scopo sostitutivo della specifica funzione perduta ma anche la stimolazione dei sistemi sofferenti, con riferimento sia alle aree direttamente lesionate, sia a quelle ad esse funzionalmente correlate (11)

I suddetti elementi risultano determinanti nel supportare la validità di una diagnosi ed un intervento abilitativo precoce.

Il termine DCM non può essere utilizzato come categoria diagnostica. Esso risulta limitato rispetto alla variabilità fenomenologia che tale disfunzione sottende, tuttavia indica la necessità di approfondimenti sul piano neurologico, neuropsicologico e comportamentale, che consentono di giungere ad una diagnosi specifica.

E' evidente l'importanza della diagnosi precoce con strumenti adeguati anche per le anomalie minori, è fondamentale attuare con fini preventivi, interventi di care abilitativi e riabilitativi precoci per facilitare un equilibrio di crescita nel bambino. La precocità dell'intervento che trova la sua ragione negli elementi di neurofisiopatologia maturazionale concernenti i fenomeni riparativi precoci del SNC aumenta la probabilità di un adeguato sviluppo neuropsicomotorio.

#### **Sigle:**

ADHD = Attention Deficit Hyperactivity Disorder

CVI = Cerebral visual impairment

DCM= Disfunzione cerebrale minima

DSM= Diagnostic and statistical manual of mental disorders

EG= età gestazionale

ELBW= Extremely Low Birth Weight

ICD= International Classification of Disease

Nas= non altrimenti specificato

PCI = Paralisi cerebrali infantili

SGA = Small for gestational age

TIN= terapia intensive neonatale

VLBW= Very Low birth Weight

#### **Bibliografia:**

1. Toddlers and Families, Diagnostic classification:0-3, Zero-to-three/National Center for clinical Infant Programs,1994.

2. APA, Diagnostic and statistical manual of mental disorders, 4<sup>th</sup> ed. Washington, DC,1994.

3. Maria Federica Rovereti, Fabrizio Ferrari: Fattori di rischio pre, perie neonatali e la "care" del neonato pretermine ricoverato in terapia intensiva neonatale, Riabilitazione Oggi 1998;8:7-14

4. Graziella Fava Vizziello: Psicopatologia della Sviluppo, cap.3, Ed il Mulino, 2003

5. M. Rutter, Syndromes attributed to "minimal brain dysfunction" in childhood Am J Psychiatry 1982; 139:21-33

6. M Rutter, Psychological sequelae of brain damage in children, Am J Psychiatry 1981; 138:1533-1544.

7. Bert C. L. Touwen, L'esame del bambino con disfunzione neurological minore, cap.1, casa editrice ambrosiana Milano,1997.

8. Hadders-Algra M, Touwen BC, Olinga AA, Huisjes HJ. Minor neurological dysfunction and behavioural development. A report from the Groningen Perinatal Project. Early Hum. 1985 Sep; 11 (3-4):221-9

9. O. Piccolini, C.Vwgni, L. Pardon, S. Gangi, G De Bon; P. Gallia, Prematurità e nuove disabilità: caratteristiche e possibilità di intervento, Riabilitazione Oggi1998;8: 36-46

10. P.Vertucci, G Scuccimarra, I disturbi specifici di apprendimento, cap.2, Edizioni Centro studi Antoniano 2001.

11. Maurizio De Negri, Neuropsichiatria dell'età evolutiva, cap. 6, Piccin 2004.

**Le cellule staminali adulte cardiache: mito o realtà?  
Cardiac adult stem cells: myth or reality?**

Fabrizio Minervini

Servizio di Cardiocirurgia, Cardiocentro Ticino, Lugano, Svizzera

E-mail: fabriziominervini@hotmail.com

**ABSTRACT:**

Negli ultimi anni si è registrato l'interesse di molti gruppi di studio nell'utilizzo di cellule staminali per il trapianto cellulare come una delle possibili strategie terapeutiche nell'ambito della patologia cardiovascolare. In tal senso, le cellule staminali rappresenterebbero una risorsa fondamentale qualora si avessero maggiori conoscenze sui meccanismi che regolano la differenziazione in cardiomiociti. In questo lavoro, vengono riviste le più attuali ricerche sulle cellule staminali cardiache e sul loro possibile ruolo terapeutico nella riparazione del cuore affetto da patologia.

PAROLE CHIAVE: cellule progenitrici, cardiomiociti, rigenerazione miocardica.

KEYWORDS: progenitor cells, cardiomyocytes, myocardial regeneration.

CAPSULA EBURNEA, 1,8: 1-5, 2006.

**Introduzione**

Analogamente ai vasi sanguigni, con cui condivide l'origine a partire dalle *isole sanguigne*, ossia ammassi di cellule mesenchimali presenti tra l'entoderma e la splancnopleura nella parte laterale del sacco vitellino dell'embrione di circa venti giorni, il cuore risulta costituito da tre tuniche: l'epicardio, il miocardio e l'endocardio. L'elemento cardine della funzionalità cardiaca è la tunica media, o *miocardio* che, rispetto agli strati precedenti, risulta più cospicuo e complesso nella sua eterogeneità. Addirittura Vesalio nel 1544 aveva già intuito questa mancanza di omogeneità dello strato intermedio della parete cardiaca. Nella sua opera "De Humani corporis fabrica" infatti scriveva: "La sostanza propria del cuore è costituita dalla carne, un poco meno rossa della carne dei muscoli e da questa molto diversa per consistenza e densità delle fibre e per la sua architettura. Infatti, la carne del cuore appare molto più dura e più densa ed anche più resistente ai danni e fornita di fibre robustissime di *vario genere*, mentre la carne di un muscolo contiene *un solo tipo di fibre* che appaiono abbastanza sparse qua e là". Il miocardio effettivamente è composto da fibrocellule eterogenee, oggi sappiamo per forma, dimensioni, distribuzione di organuli, capacità secrete, contenuto miofibrillare. Le fibrocellule muscolari cardiache costituiscono peraltro la popolazione cellulare maggiormente rappresentata ma,

è necessario sottolineare, non l'unica.

Già da tempo tra le cellule muscolari cardiache si riconoscono quelle comuni di lavoro (tra cui si riconoscono anche le cosiddette cellule mioendocrine) e altre facenti parte del miocardio specifico (miocardiociti nodali, di conduzione, cellule del Purkinje). Interposto tra le cellule descritte si trova lo *stroma miocardico*, ricco in fibre elastiche (negli atri), collagene (nei ventricoli), fibroblasti, ma anche cellule di incerta origine (mioblasti? angioblasti?) e vasi sanguigni. Il connettivo elastico e quello fibroso sono i due elementi che, dal punto di vista meccanico, hanno notevole importanza nella gestione della plasticità della parete cardiaca. Il connettivo elastico, infatti, coadiuva la contrazione cardiaca impedendo nello stesso tempo lo stress delle membrane cellulari mentre quello fibroso previene l'eccessiva dilatazione della parete cardiaca.

Evidente è anche una ricca rete vascolare sanguifera. La parete cardiaca, infatti, per il suo spessore e per le importanti funzioni svolte non può nutrirsi semplicemente per diffusione dal sangue circolante ma necessita di un apporto specifico fornito dal sistema coronarico. I vasi sanguigni in questione sono di tipo terminale, incapaci, pertanto, di formare reti anastomotiche se non in condizione di insulti cronici. Il loro numero è così ampio che molti lavori scientifici, anche datati, dimostrano che esiste un rapporto 1:1 tra capillari e cellule cardiache.

### **Il rimodellamento della parete cardiaca**

Aspetto singolare delle cellule muscolari cardiache è la mancanza di turn-over. Se coltivate in vitro non presentano caratteri suggestivi di mitosi e pertanto possono essere definite come cellule terminali che possono incrementare la massa miocardica in condizioni fisiologiche e patologiche solo attraverso l'ipertrofia cellulare (1). In realtà, a partire dalla fine degli anni '90 alcuni studiosi hanno cominciato ad avanzare dubbi sulla veridicità di tali assunti ipotizzando un'eterogenità più complessa, che comprendesse non solo cellule differenziate ma anche cellule indifferenziate. Studi immunostochimici hanno evidenziato che una piccola percentuale di cellule (0.0014%) nel cuore umano, in condizioni fisiologiche, va incontro a mitosi e che tale percentuale sale al 4% nelle zone peri-infartuate (2). Inoltre, il gruppo di Anversa, che per primo ha descritto eventi mitotici nel miocardio normale adulto umano, è andato oltre, calcolando che in un cuore adulto sono presenti  $5,8 \times 10^9$  miocardiociti e che una mitosi, normalmente, avviene in un'ora. Se l'indice mitotico è di 14 miocardiociti per un milione, ne risulta che ogni ora 81.000 miocardiociti vanno in mitosi e, in un anno, il cuore rigenererebbe  $7.1 \times 10^8$  miocardiociti. Un miocardio sotto stress, ovviamente, ne produrrebbe di più e si era arrivati a stimare che un miocardio ischemico potesse rigenerare completamente l'intera massa ventricolare in un anno! Sfortunatamente, ciò non corrisponde alla realtà perché, come dimostrato sempre dal gruppo di Anversa, lo stimolo ipossico non induce solo proliferazione dei miocardiociti ma anche fenomeni di morte cellulare (apoptosi e necrosi).

### **Le cellule staminali**

Le cellule staminali sono un gruppo di cellule non differenziate responsabili del rimaneggiamento, dell'omeostasi e della plasticità tissutale. Un'alterazione del differenziamento delle cellule staminali sta alla base di molti processi fisiopatologici nonché di quelli di invecchiamento. Probabilmente non esiste una cellula staminale ma diverse cellule non differenziate dotate di potenzialità differenziative uniche o plurime. In molti tessuti del corpo umano adulto sono

presenti cellule staminali che danno origine a cellule staminali-figlie e a cellule differenziate necessarie per il turn-over tissutale, specie in tessuti danneggiati. Grazie alla loro plasticità, esse potrebbero rappresentare il soggetto privilegiato di nuove strategie terapeutiche per indurre la rigenerazione dei miocardiociti e, di conseguenza, il miglioramento della performance cardiaca nel cuore danneggiato.

Le cellule staminali embrionali possono differenziarsi in miocardiociti e potrebbero rappresentare una risorsa illimitata di cellule trapiantabili per la riparazione miocardiocitaria. Queste cellule, però, sono tumorigeniche per definizione e, inoltre, data la loro origine allogenica, potrebbero causare fenomeni di rigetto nel soggetto ricevente. A queste problematiche di carattere scientifico, bisogna anche aggiungere i problemi etici che l'uso delle cellule embrionali comporterebbe. Un diverso approccio è stato utilizzato da altri gruppi di studio che hanno trapiantato cellule staminali residenti nel tessuto muscolare scheletrico. Alcuni studi hanno mostrato una differenziazione di tali cellule in miocardiociti (3) e un miglioramento della performance cardiaca quando essi sono iniettati in pazienti con insufficienza cardiaca (4). Comunque non è chiaro se l'aumento di contrattilità osservata è diretta conseguenza della contrazione dei mioblasti inoculati oppure delle procedure di rivascolarizzazione effettuate contestualmente al trapianto cellulare. Un problema cruciale è rappresentato dal fatto che i mioblasti poiché non sviluppano la connessina 43 e le gap junctions, pur contraendosi, rimangono indipendenti dai miocardiociti vicini. Questo fenomeno potrebbe potenzialmente essere causa di aritmie e infatti tutti i pazienti dello studio condotto da Menasche erano stati sottoposti a impianto di (Implantable Cardioverter Defibrillator).

Altri autori hanno descritto la formazione di miocardiociti a partire da cellule staminali originate dal midollo osseo. In realtà non è ancora chiaro quale frazione cellulare sia responsabile del fenomeno. Indipendentemente dal tipo cellulare utilizzato, comunque, la maggior parte degli studi ha mostrato un miglioramento della funzione cardiaca nel periodo post-infarto nei gruppi trattati rispetto ai controlli non trattati.

Non è ancora chiaro quanto questi risultati preliminari dipendano dal trapianto di cellule staminali ma lo studio AMI-REPAIR e il più recente TOPCARE-CHF trial dovrebbero chiarire l'importanza di tale approccio terapeutico nell'infarto del miocardio e nell'insufficienza cardiaca rispettivamente.

Lo studio AMI-REPAIR (Reinfusion of Enriched Progenitor Cells And Infarct Remodelling in Acute Myocardial Infarction) ha valutato gli effetti del trasporto intracoronarico delle cellule progenitrici dopo intervento coronarico percutaneo (PCI) per infarto miocardico con soprasslivellamento ST. Lo studio ha riguardato 204 pazienti di 17 centri in Germania ed in Svizzera. Dopo prelievo del midollo osseo, i pazienti sono stati assegnati in modo casuale a ricevere un'infusione intracoronarica, nell'arteria associata all'infarto, di cellule progenitrici mononucleari autologhe (gruppo Bone Marrow Cells) oppure placebo, 3-6 giorni dopo l'infarto miocardico acuto. L'end point primario era rappresentato dall'aumento assoluto della frazione di eiezione ventricolare sinistra. La frazione d'eiezione è risultata più alta in entrambi i gruppi a 4 mesi rispetto al basale, ma l'aumento è risultato più alto nel gruppo BMC rispetto al gruppo placebo (5.5% versus 3%;  $p = 0.014$ ). Inoltre, i pazienti trattati entro 5 giorni dal loro infarto miocardico acuto non hanno mostrato alcun beneficio con l'infusione di cellule del midollo osseo rispetto al placebo, mentre i pazienti trattati dopo 5 giorni hanno mostrato un significativo aumento della frazione d'eiezione (7% versus 1.9%;  $p = 0.004$ ). Sebbene lo studio non abbia il potere statistico per individuare una differenza negli end point clinici, un trend verso una riduzione dell'end point composito di morte, infarto miocardico, o rivascolarizzazione ripetuta è stata osservata nel gruppo BMC (21% versus 30%;  $p = 0.17$ ).

Lo studio AMI-REPAIR, pertanto, ha dimostrato che l'infusione intracoronarica delle cellule mononucleari del midollo osseo nei pazienti dopo infarto miocardico acuto ha migliorato la funzione ventricolare sinistra a 4 mesi. Il miglioramento della funzione ventricolare sinistra è risultato maggiore nei pazienti con minore frazione d'eiezione ventricolare sinistra al basale ed in quelli trattati 5

giorni dopo l'infarto miocardico. Il trattamento con cellule del midollo osseo è stato considerato sicuro ed associato ad un trend verso una riduzione degli eventi cardiovascolari maggiori (5).

Il TOPCARE-CHF non ha ancora fornito risultati definitivi sull'utilità delle cellule staminali nell'insufficienza cardiaca anche se i risultati preliminari sembrerebbero dimostrare un lieve miglioramento nei pazienti arruolati con conseguente riattribuzione degli stessi a una nuova classe della classificazione New York Heart Association (NYHA).

Uno studio pubblicato su Herz nel 2002 (6) avanzava l'ipotesi di un contributo positivo nell'attenuazione dell'ischemia miocardica da parte di un altro tipo di cellula staminale, le progenitrici di cellule endoteliali (EPC). Queste non solo sono coinvolte nella riendotelizzazione di lesioni vascolari (meccanismo potenziato dall'azione delle statine) ma è possibile che, attraverso un processo di transdifferenziazione, possano contribuire alla rigenerazione miocardica. Quest'ultima è però soltanto una supposizione dato che tale transdifferenziazione, in vivo, non è stata mai dimostrata e di conseguenza è, al momento, impossibile stabilire se il suddetto contributo positivo da parte delle EPC sia soltanto causato dalla riendotelizzazione delle lesioni coronariche. Il filone di ricerca più recente, sulla scia dei lavori di Anversa, Beltrami e altri co-Autori focalizza l'attenzione sull'esistenza di cellule staminali residenti nel cuore adulto e capaci di proliferare e differenziarsi in miocardiociti.

In particolare, il gruppo di studio del Prof. G. Zummo del Dipartimento di Medicina Sperimentale dell'Università di Palermo ha isolato cellule dall'aspetto simile a fibroblasti da cuore di ratto adulto (7). Lo studio immunocitochimico ha dimostrato che tali cellule, tutte c-Kit positive, non presentano le caratteristiche morfologiche dei miocardiociti adulti. L'espressione dell' $\alpha$ -actina del muscolo liscio e del GATA4 suggeriscono l'ipotesi di precursori, cioè cellule indifferenziate con orientamento cardiaco in uno stato di differenziazione intermedio. Una volta inserita in coltura questa popolazione cellulare in un gel di collagene di tipo I, già dopo 72 ore era visibile una piccola massa omogenea. Tale popolazione c-Kit positiva ha altresì

mostrato un interessante potenziale angiogenetico. Queste cellule mostrano alcuni markers comuni ad altre cellule staminali isolate in precedenza dal miocardio adulto (8-13). Oltre i suddetti c-Kit e GATA-4, sono espressi alcuni markers cardiospecifici come la Connexina 43 e la troponina T. Sono anche rilevabili alti livelli di CD9, Nestina, Taubenuss, Nanog e Oct-4, proteine e fattori di regolazione altamente espressi in cellule staminali. In ultima analisi, è stata messa a confronto la suddetta popolazione di cellule staminali cardiache (CSC) c-Kit positive con precursori di cellule endoteliali e con cellule staminali mesenchimali. Queste ultime due popolazioni sono state studiate e caratterizzate per la capacità di modificare l'efficienza del miocardio dopo un infarto indotto in modelli sperimentali e per la somiglianza fenotipica con le CSC c-Kit pos. Le CSC e le MSC differiscono dalle EPC per la presenza di due antigeni di superficie, CD31 e CD34. In realtà, questi due antigeni, come dimostrano alcuni studi, sono presenti in colture di CSC solo nelle prime tre settimane mentre le EPC isolate dal midollo o dal sangue periferico li esprimono anche dopo cinque settimane (14).

I dati in possesso del gruppo di ricerca di Palermo, invece, evidenziano una stretta somiglianza tra le CSC e le MSC ossia quelle rare cellule presenti nel midollo osseo e capaci di differenziarsi, in vivo e in vitro, in osso, cartilagine, muscolo scheletrico e cardiaco, tessuto adiposo e connettivo (15). L'unica differenza tra le due popolazioni che emerge dai nostri studi è la densità al Percoll (maggiore di 1,073 g/ml per le MSC e compresa tra 1,030 e 1,040 g/ml per le CSC).

### Conclusioni

Nonostante i progressi nella terapia delle malattie cardiache, quali ad esempio l'infarto del miocardio, l'insufficienza cardiaca e le cardiomiopatie, l'incidenza di morbilità e mortalità rimane purtroppo ancora troppo alta. In particolare, la disfunzione ventricolare sinistra post-infartuale rimane un problema che condiziona fortemente la qualità della vita dei soggetti infartuati.

Pertanto, l'individuazione e l'isolamento di precursori indifferenziati di cellule muscolari cardiache potrebbe

rappresentare il primo passo per nuove strategie terapeutiche per le malattie cardiovascolari. Infatti, la possibilità di indurre un rimodellamento della parete cardiaca a partire da cellule staminali residenti nel miocardio, grazie all'utilizzo di vettori che ne inducano il differenziamento, è il target attuale di numerosi gruppi di ricerca nel mondo e oggi il progresso delle conoscenze scientifiche e tecniche lasciano intravedere il raggiungimento di questo obiettivo in tempi non lontani. Altro fondamentale target da perseguire è l'individuazione di segnali di "spegnimento" della proliferazione delle cellule staminali perché senza questi l'unico risultato sarebbe la proliferazione incontrollata con formazione di masse tumorali.

### BIBLIOGRAFIA

1. Schluter KD, Piper HM: Regulation of growth in the adult cardiomyocytes. *FASEB J* 1999; 13:S17-22.
2. Beltrami AP, Urbanek K, Kajstura J, Yan SM, Finato M, Bussani R, Nadal-Ginard B, Silvestri F, Leri A, Beltrami CA, Anversa P: Evidence that human cardiac myocytes divide after myocardial infarction. *N Engl J Med* 2001; 344:1750-7.
3. Iijima Y, Nagai T, Mizukami M, Matsuura K, Ogura T, Wada H, et al: Beating is necessary for transdifferentiation of skeletal muscle-derived cells into cardiomyocytes. *FASEB J* 2003; 17:1361-3
4. Menasche P, Hagege AA, Scorsin M, Pouzet B, Desnos M, Duboc D, Schwartz K, Vilquin JT, Marolleau JP: Myoblast transplantation for heart failure. *Lancet* 2001; 357:279-80.
5. Mocini D, Staibano M, Mele L, Giannantoni P, Menichella G, Colivicchi F, Sordini P, Salera P, Tubaro M, Santini M: Autologous bone marrow mononuclear cell transplantation in patients undergoing coronary artery bypass grafting. *Clinical investigation. Am Heart Journal* 2006; 151:192-197
6. Walter DH, Dimmeler S: Endothelial progenitor cells: regulation and contribution to adult neovascularization. *Herz* 2002; 27:579-88.
7. Di Felice V, Ardizzone NM, Montalbano A, De Luca A, Minervini F, De Luca A, Cappello F, Zummo G: Characterization of c-kit positive cardiac stem cells subpopulations obtained from adult rat myocardium. *Proceedings of "EuroStemCell International Conference: Advances in Stem Cell Research" 8-10 September 2006, Ecole Polytechnique Fédérale de Lausanne, Switzerland, in press 2006*
8. Beltrami AP, Barlucchi L, Torella D, Baker

- M, Limana F, Chimenti S, Kasahara H, Rota M, Musso E, Urbanek K, Leri A, Kajstura J, Nadal-Ginard B, Anversa P : Adult cardiac stem cells are multipotent and support myocardial regeneration. *Cell* 2003; 114:763-776.
9. Martin CM, Meeson AP, Robertson SM, Hawke TJ, Richardson JA, Bates S, Goetsch SC, Gallardo TD, Garry DJ: Persistent expression of the ATP-binding cassette transporter, *Abcg2*, identifies cardiac SP cells in the developing and adult heart. *Dev Biol* 2004; 265:262-275.
10. Matsuura K, Nagai T, Nishigaki N, Oyama T, Nishi J, Wada H, Sano M, Toko H, Akazawa H, Sato T, Nakaya H, Kasanuki H, Komuro I: Adult cardiac Sca-1-positive cells differentiate into beating cardiomyocytes. *J Biol Chem* 2004; 279:11384-11391.
11. Dawn B, Stein AB, Urbanek K, Rota M, Whang B, Rastaldo R, Torella D, Tang XL, Rezazadeh A, Kajstura J, Leri A, Hunt G, Varma J, Prabhu SD, Anversa P, Bolli R: Cardiac stem cells delivered intravascularly traverse the vessel barrier, regenerate infarcted myocardium, and improve cardiac function. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2005; 102:3766-3771.
12. Laugwitz KL, Moretti A, Lam J, Gruber P, Chen Y, Woodard S, Lin LZ, Cai CL, Lu MM, Reth M, Platoshyn O, Yuan JX, Evans S, Chien KR: Postnatal *isl1*<sup>+</sup> cardioblasts enter fully differentiated cardiomyocyte lineages. *Nature* 2005; 433:647-653.
13. Messina E, De Angelis L, Frati G, Morrone S, Chimenti S, Fiordaliso F, Salio M, Battaglia M, Latronico MV, Coletta M, Vivarelli E, Frati L, Cossu G, Giacomello A: Isolation and expansion of adult cardiac stem cells from human and murine heart. *Circ Res* 2004; 95:911-921.
14. Wagner SJ, Myrup AC: Toward closed-system culture of blood origin endothelial cells. *Transfusion* 2005; 45:1201-1207.
15. Sotiropoulou PA, Perez SA, Salagianni M, Baxevanis CN, Papamichail M: Characterization of the optimal culture conditions for clinical scale production of human mesenchymal stem cells. *Stem Cells* 2006; 24:462-471.

**La diagnosi molecolare del carcinoma vescicale: un aiuto per la prognosi e la terapia.****Molecular diagnosis of Vesical Cancer: a help for prognosis and therapy**

Dr. Silvana Virgilio, Biologa ad indirizzo fisiopatologico, Trapani  
E-mail: silvi.virgilio@libero.it

**Abstract**

L'avanzamento delle conoscenze della biologia molecolare dei tumori ha portato all'individuazione di marcatori bio-molecolari utili per la diagnosi, la prognosi e la terapia degli stessi. Il presente articolo evidenzia in particolare i markers coinvolti nella cancerogenesi vescicale. Il carcinoma alla vescica è il quarto tra i tumori più comuni nell'uomo seguito da quello alla prostata, al polmone, e al colon; la sua insorgenza dipende da una combinazione di fattori genetici e ambientali tra cui il fumo di sigaretta e gli elementi chimici usati nelle industrie. Il carcinoma a cellule transizionali, conosciuto anche come uroteliale, rappresenta il 90% di tutti i tumori primitivi di quest'organo. Il suo sviluppo può essere esofitico, endofitico o una combinazione di entrambi. Inoltre l'Organizzazione Mondiale della Sanità e la Società Internazionale di Urologia hanno stilato una classificazione di tale carcinoma in base ai diversi gradi e stadi di invasività tumorale. Nel presente lavoro si riassumono tutti i markers del carcinoma alla vescica che predicano la ricorrenza del tumore, la progressione e lo sviluppo di metastasi. The International Consensus Panel ha stilato una classifica di tali markers raggruppandoli in 6 classi: 1) markers associati ai microsatelliti, 2) proto-oncogeni/oncogeni, 3) geni soppressori di tumori, 4) regolatori del ciclo cellulare, 5) fattori relativi all'angiogenesi e 6) molecole di adesione della matrice extracellulare. A questo elenco si potrebbe oggi aggiungere un'altra classe di markers che svolge un importante ruolo nella diagnosi e nella prognosi dei carcinomi: le heat shock proteins.

**Parole chiave: carcinoma vescicale, diagnosi molecolare, proteine da shock termico**  
**Keywords: bladder cancer, molecular diagnosis, heat shock proteins**

CAPSULA EBURNEA, 1,9: 1-9, 2006.

**Introduzione.**

I notevoli progressi della biologia molecolare ci consentono di scrutare in modo sempre più dettagliato l'interno della cellula, di analizzarne i meccanismi che ne regolano la vita e che se sregolati possono essere alla base dello sviluppo del cancro. Di quest'ultimo, attualmente, si conoscono geni che se alterati producono proteine modificate (come il gene Rb o quello per la p53) le quali portano alla perdita dei normali meccanismi di regolazione del ciclo cellulare e alla proliferazione incontrollata della crescita cellulare. Tali geni alterati sono considerati markers utili per la diagnosi, la prognosi e la terapia tumorale. L'individuazione di tali markers è possibile tramite le nuove tecniche di biologia molecolare quale la metodica del microarray che ci consente di ottenere il profilo molecolare del tumore. Infatti, tramite tale tecnica, è possibile analizzare il trascrittoma di una cellula o di un tessuto al fine di conoscere quali sono i geni che vengono alterati nella loro progressione dal normale al tumorale. Nel presente lavoro esamineremo in particolare i nuovi markers coinvolti

nella cancerogenesi vescicale

**Anatomia clinica della vescica**

La vescica è un organo cavo, appartenente alle vie urinarie che si trova nella pelvi; fa seguito agli ureteri, che vi riversano l'urina prodotta dal rene e si continua con l'uretra. La parete della vescica è costituita da tre strati dall'interno all'esterno: la mucosa, la muscolare propria e l'avventizia o sierosa. In particolare, nella mucosa l'epitelio di rivestimento è un epitelio di transizione che poggia sulla lamina propria (fig. 1).

L'urotelio è un epitelio pavimentoso stratificato particolare, caratteristico delle vie urinarie, costituito da elementi cellulari la cui forma e la cui altezza varia al variare del grado di distensione della parete, grazie alla plasticità che li caratterizza. In condizioni di riposo, esso appare costituito da cellule dello strato profondo, di forma ovale, da cellule dello strato intermedio, di forma "a clava", per il sottile e lungo prolungamento di cui sono provviste che si insinua tra le cellule sottostanti e cellule superficiali, a volte binucleate, voluminose

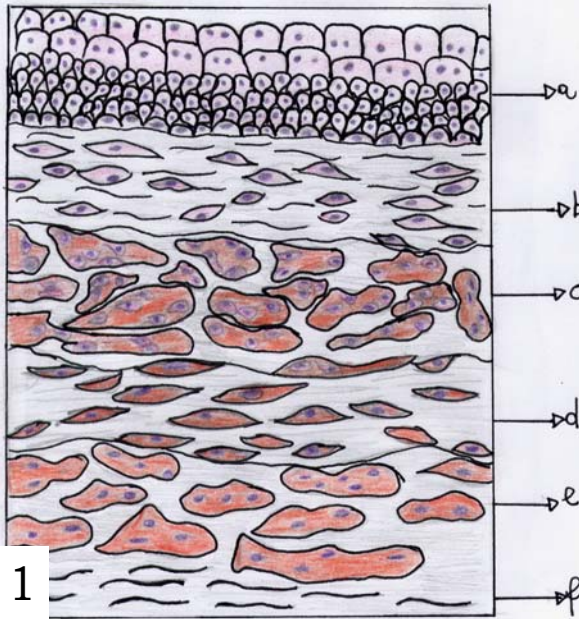
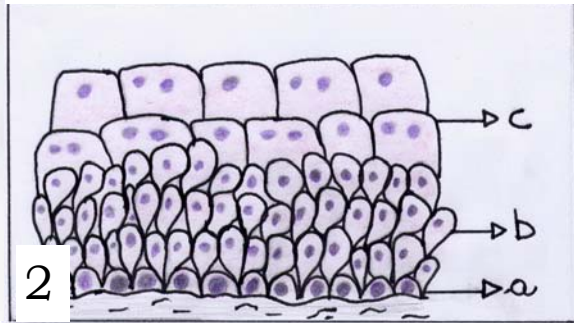


Figura 1: Parete della vescica; a) epitelio, b) lamina propria, c) muscolare interna, d) muscolare intermedia, e) muscolare esterna, f) sierosa.

Figura 2: Tipi di cellule presenti nell'epitelio vescicale; a) cellule di forma ovoidale, b) cellule a clava, c) cellule ad ombrello.



e appiattite, anche definite cellule “ad ombrello” (fig. 2).

**Carcinoma vescicale: incidenza e mortalità**

Il carcinoma alla vescica è il quarto tra i tumori più comuni nell'uomo seguito da quello alla prostata, al polmone e al colon. La maggior parte dei casi di tale carcinoma si riscontra in pazienti di età compresa tra i 65 e i 70 anni, anche se raramente può insorgere in giovani e in bambini. Inoltre, si è riscontrata una maggiore incidenza di tale patologia negli uomini, piuttosto che nelle donne, infatti il rischio di sviluppo del tumore alla vescica in età minore di 75 anni è del 2 al 4% negli uomini e del 0.5 al 1% nelle donne (1) (fig 3)

Non è stato ancora ben chiarito il motivo di tale differenza, ma da esperimenti condotti su ratti si è visto che gli androgeni, a differenza degli estrogeni, contribuiscono positivamente allo sviluppo del carcinoma alla vescica (2). Inoltre, nelle donne in gravidanza la percentuale di rischio diminuisce a causa dei cambiamenti ormonali tipici di tale periodo (3). Infatti nelle donne Afro-Americane il rischio di sviluppo del tumore è pari a metà di quello delle donne Occidentali ma di contro queste hanno un indice di sopravvivenza minore (4).

**Fattori di rischio:**

Come avviene solitamente in tutti i tumori, lo sviluppo del carcinoma alla vescica dipende da una combinazione di fattori genetici e ambientali. Il primo tra i fattori di rischio è il fumo da sigaretta che è la cau-

sa del 30%-50% di tutti i tumori di questo organo e porta ad un aumento della percentuale di rischio dal 2 al 4% (5). Inoltre, si pensa che alcuni fattori chimici utilizzati nelle industrie, come il 4-amminofenile, la benzidina e l'ortotoluidene giochino un ruolo di fondamentale importanza nello sviluppo del carcinoma alla vescica tanto da essere banditi dal mercato industriale. Anche la radioterapia è considerata come un fattore di rischio e confrontando pazienti sottoposti a radio o chemioterapia con pazienti che avevano subito un trattamento chirurgico si è visto che i primi avevano una maggiore probabilità nel contrarre il tumore rispetto ai secondi e che questa aumentava se i pazienti erano sottoposti ad entrambi (6).

Sono stati fatti degli studi per verificare l'ipotesi di una relazione tra il caffè (7,8) e i dolcificanti artificiali, le tinture per capelli (9) e l'aumento del tasso di mortalità per carcinoma alla vescica ma non si dimostrò nessuna associazione positiva. Inoltre, considerando che il tumore alla vescica è anche legato a fattori genetici, si è visto che il rischio di contrarre tale patologia raddoppia in presenza di casi familiari (10).

**Classificazione del carcinoma a cellule transizionali (TCC) o carcinoma uroteliale:**

Il carcinoma a cellule transizionali, conosciuto anche come carcinoma uroteliale, rappresenta circa il 90% di tutti i tumori primitivi di quest'organo. Il suo sviluppo

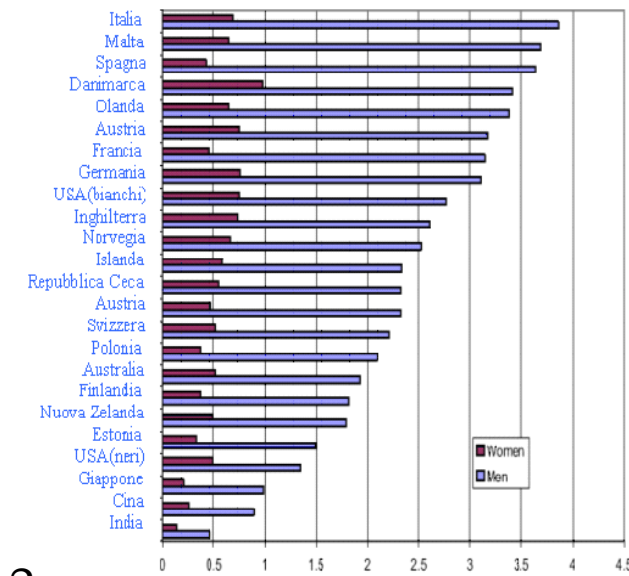
**TABELLA 1: Classificazione del carcinoma uroteliale secondo l'Organizzazione Mondiale della Sanità e la Società Internazionale di Urologia**

- Normale
- Normale\*
- Iperplasia
- Iperplasia piatta
- Iperplasia papillare
- Lesioni piatte con atypia
- Reactive (infiammatorie) atypia
- Displasia
- Carcinoma in situ<sup>^</sup>
- Neoplasia papillare (Ta)
- Papilloma
- PUNLMP
- Carcinoma papillare di basso grado (NILGC)
- Carcinoma papillare di alto grado (NIHGC)

PUNLMP = neoplasie uroteliali papillari di basso potenziale maligno

\* Includere casi diagnosticati nel passato come leggere displasie

<sup>^</sup> Includere casi diagnosticati nel passato come gravi displasie



3

Figura 3: Rischio cumulativo di carcinoma alla vescica in pazienti di età minore ai 75 anni.

può essere esofitico, endofitico o una combinazione di entrambi. Quando è esofitico assume una configurazione papillare o apparentemente solida, quando è endofitico forma dei clusters di cellule nella mucosa. Con il termine "carcinoma in situ" (CIS) si intendono quelle lesioni tumorali di alto grado mostranti evidenti caratteristiche citologiche atipiche non aventi capacità invasiva nello stroma; queste si definiscono T0. Negli anni sono state proposte diverse classificazioni del carcinoma uroteliale che cercavano di raggruppare i diversi gradi e i particolari disordini citologici di tale patologia; quella più recente è stata proposta nel 1998 dall'Organizzazione Mondiale della Sanità e dalla Società Internazionale di Urologia. (tab. 1).

Secondo tale classificazione le lesioni neoplastiche in situ vengono suddivise in piatte (Tis) e papillari (Ta); e inoltre vengono suddivise in gradi G1, G2, e G3 (grado di differenziazione cellulare) e in tipi o livelli di invasività T0, T1, T2, T3, T4 (11). L'invasione tumorale procede in diverse direzioni: invasione della lamina propria (T1), quindi invasione della muscolare propria (T2), quest'ultima rivestendo un ruolo di primaria importanza per la scelta della terapia e per la prognosi. Quindi la neoplasia procede con l'invasione della sierosa (T3) e degli organi circostanti (T4) (fig. 4).

#### Nuovi markers coinvolti nel tumore alla

#### vescica

Consensus International d'esperti di citologia e di markers tumorali della vescica ha valutato quei markers che hanno la capacità di predire la ricorrenza tumorale, la progressione e lo sviluppo di metastasi classificandoli nei seguenti gruppi: 1) markers associati ai microsatelliti, 2) proto-oncogeni/oncogeni, 3) geni soppressori di tumori, 4) regolatori del ciclo cellulare, 5) fattori relativi all'angiogenesi e 6) molecole di adesione della matrice extracellulare (12).

#### Markers associati ai microsatelliti

Tramite recenti metodologie di genetica molecolare, come l'analisi della perdita di eterozigosità e l'ibridazione in situ fluorescente (FISH), si è visto che nel carcinoma alla vescica è possibile identificare la perdita di diversi geni soppressori di tumori. Per esempio studi sulla scomparsa di eterozigosità hanno dimostrato che la perdita di porzioni cromosomiche come 17p, 3p, 13q, 18q o 10q è presente più frequentemente in carcinomi vescicali di alto grado e stadio (13). Tuttavia ancora non sono stati condotti studi talmente vasti tali da poter attribuire a questo tipo di analisi un valore prognostico.

#### Proto-oncogeni/oncogeni.

A questa categoria di markers appartengono: 1) il recettore per il fattore di crescita

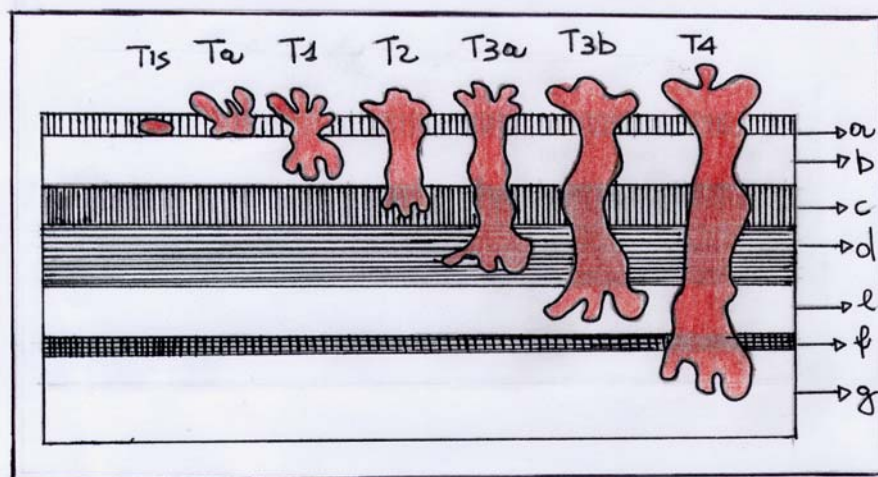


Figura 4: Diversi livelli di invasività tumorale.

- a) urotelio
- b) lamina propria
- c) porzione superficiale della muscolare propria
- d) porzione profonda della muscolare propria
- e) sierosa
- f) capsula
- g) invasione extra-cellulare.

epidermico (*EGFR*), 2) *HER-2*, 3) *H-Ras*, 4) *bcl-2*, 5) *mdm-2*, 6) *FGFR3* e 7) *c-myc*.

Diversi lavori hanno dimostrato un'associazione positiva tra l'iperespressione di *EGFR* e carcinomi vescicali di alto grado e stadio, ma tramite studi di immunistochemica si è visto che l'espressione di *EGFR* è un fattore prognostico indipendente in pazienti con carcinoma alla vescica avanzato (14,15).

Sono stati svolti diversi studi per valutare il livello d'espressione e il significato prognostico della proteina *HER-2* nel carcinoma uroteliale e si è visto che questo era variabile; infatti in alcuni l'*HER-2* sembra avere un rilevante valore prognostico, in altri no (16).

Inoltre, si è visto che mutazioni a livello dei codoni 12 e 61 del gene *H-ras* sono implicate nello sviluppo e nella progressione in più del 10% di carcinoma alla vescica ma nessuno studio ha mostrato un valore prognostico nella presenza di tali mutazioni (17).

Pollack e collaboratori(18) dimostrarono che l'iperespressione di *bcl-2* era significativamente associata con la progressione della malattia e gli stadi tumorali avanzati durante la radioterapia ma in pasienti trattati con TUR, *bcl-2* non offriva alcuna informazione prognostica utile a predire la ricorrenza o la progressione del tumore (19). Inoltre, nel carcinoma alla vescica si osserva spesso una amplificazione del gene *mdm-2* (20) ma il valore prognostico di questo è ancora dubbio.

Analisi di genetica molecolare hanno mostrato la frequente presenza di mutazioni puntiformi di *FGFR3* nel carcinoma alla vescica, in particolare in quelli di alto grado e stadio (21,22). La presenza di tali mutazioni potrebbe avere un valore prognosti-

co variabile ma ancora non è stato svolto nessuno studio che accerti tale teoria. Inoltre, sono stati svolti dei lavori che dimostravano un'iperespressione di *c-myc* in casi tumorali di alto grado e stadio ma non è stata osservata alcuna correlazione tra questa e la ricorrenza, la progressione e la sopravvivenza del tumore (23,24).

#### Geni tumore-soppressori

Mutazioni del gene per la *p53* sono tra i più comuni difetti genetici che si ritrovano nei carcinomi umani. Recenti studi svolti su tumori del tratto urinario superiore (25) e sulla vescica (26,27) mostrarono che l'aumento dell'espressione della *p53* è significativamente associata con l'avanzare degli stadi tumorali e con una prognosi insufficiente. Infatti si è mostrata l'espressione della *p53* in PUNLMP (neoplasia uroteliale papillare di basso potenziale maligno) e in NILGC (carcinoma uroteliale papillare non invasivo di basso grado) rispettivamente nel 31 e nel 38% dei casi mentre in NIHGC (carcinoma papillare non invasivo di alto grado) e in pT1 l'espressione della *p53* era evidente rispettivamente nel 75 e nell'84% dei casi (28).

La *p63* è un membro della famiglia della *p53* il cui gene è localizzato sul cromosoma 3q27-28, se ne conoscono due isoforme le quali svolgono funzioni diverse: TAp63 e  $\Delta$ Np63. Da recenti studi si è visto che la prima isoforma è coinvolta nella stratificazione iniziale dell'epitelio e contribuisce alla proliferazione delle cellule basali, mentre  $\Delta$ Np63 fa sì che le cellule possano rispondere ai segnali di maturazione. Nella vescica normale TAp63 è espressa nelle cellule dello strato basale mentre  $\Delta$ Np63 risulta essere assente (29,30); nella vescica con carcinoma si è osservata un'elevata

espressione di  $\Delta Np63$  e una diminuzione d'espressione di TAp63. Questi risultati suggerirono che  $\Delta Np63$  potrebbe contribuire alla progressione del carcinoma alla vescica e che quindi la p63 potrebbe essere un marker prognostico ma ancora il ruolo chiave della p63 rimane controverso. Per quanto riguarda la possibile correlazione tra la p63 e la p53 si è visto che queste nel carcinoma alla vescica svolgono ruoli diversi e che quindi non esiste alcuna connessione tra le due infatti la p63 non mostra alcuna differenza significativa d'espressione nei diversi gradi tumorali.

Cordon-Cardo e Logothetis con i loro rispettivi collaboratori condussero degli studi sul tumore alla vescica di tipo T2 per valutare il ruolo della proteina Rb (31,32). Da questi si evidenziò che in pazienti con pRb normale il tumore mostrava un indice di sopravvivenza maggiore rispetto a quelli con pRb alterata. Inoltre, Grossman e collaboratori, in uno studio di immunohistochimica su 45 pazienti con tumore alla vescica di tipo T1, verificarono che la perdita dell'espressione della proteina Rb combinata con l'espressione della p53 alterata era associata con una minore sopravvivenza tumorale (33).

### Regolatori del ciclo cellulare

A questo gruppo di markers appartengono la proteina p21, la p27, la Ki-67(MIB-1) e le cicline D1 ed E. Il ruolo della p21 come variabile prognostica è dubbio a causa dei pareri discordi ottenuti dai vari studi condotti (34) mentre per la p27 si è trovata una significativa correlazione tra la bassa espressione immunohistochimica della stessa e la ricorrenza in 86 pazienti con carcinoma superficiale (Ta o T1) (35). Quindi, la diminuzione dell'espressione della p27 nel carcinoma alla vescica appare avere un rilevante valore prognostico.

Ki-67 e MIB-1 sono proteine che si accumulano nei nuclei di proliferazione cellulare dalla fase G1 alla mitosi ma non in quelli delle cellule quiescenti o a riposo (36). Un vasto numero di studi definirono la Ki-67 come un promettente marker per la progressione e la ricorrenza del carcinoma alla vescica superficiale mentre rimane dubbio il suo ruolo come marker prognostico in pazienti con tumore localmente avanzato e metastasi. Per quanto riguarda l'espressione di MIB-1 al carcinoma alla vescica non si è osservata nessuna immunoreattività nei casi di vescica normale, men-

**TABELLA 2: Classificazione dei più studiati markers tumorali della vescica, con riferimento alle relative note bibliografiche.**

Markers associati ai microsatelliti	Proto-oncogeni/ oncogeni	Geni soppressori di tumori	Regolatori del ciclo cellulare	Fattori relativi alla angiogenesi	Molecole di adesione della matrice extracellulare	HSP
17p <sup>13</sup>	EGFR <sup>14,15</sup>	p-53 <sup>25,28</sup>	p21 <sup>34</sup>	VEGF <sup>41,42</sup>	MMP-1 <sup>45,46</sup>	Hsp27 <sup>69,71,73</sup>
3p <sup>13</sup>	HER-2 <sup>16</sup>	p-63 <sup>29,30</sup>	p27 <sup>35</sup>	TSP-1 <sup>43</sup>	MMP-2 <sup>45,46</sup>	Hsp90 <sup>70,71,73</sup>
13q <sup>13</sup>	H-Ras <sup>17</sup>	Rb <sup>31-33</sup>	Ki-67 (MIB-1) <sup>36-38</sup>	Ciclo-ossigenasi <sup>244</sup>	TIMP-2 <sup>45</sup>	Hsp60 <sup>71,73</sup>
18q <sup>13</sup>	bcl-2 <sup>18,19</sup>		CiclinaD1 <sup>39</sup>		Caderina-E <sup>47,48</sup>	Hsp70 <sup>71-73</sup>
10q <sup>13</sup>	mdm-2 <sup>20</sup>		CiclinaE <sup>40</sup>		CD44 <sup>49</sup>	Hsp10 <sup>73</sup>
	FGFR3 <sup>21,22</sup>				u-Pa <sup>50</sup>	
	c-myc <sup>23,24</sup>				mRRF <sup>51</sup>	

tre questa era presente nel 47% dei casi tumorali. Santos e collaboratori (37) hanno dimostrato che la positività di MIB-1 nel tumore alla vescica porta a un peggiore decorso della malattia e inoltre Yan e collaboratori (38) osservarono che MIB-1 potrebbe essere usato per identificare pazienti con alto rischio di ricorrenza.

La ciclina D1 è un regolatore positivo del ciclo cellulare. Sgambato e collaboratori (39) nei loro studi di immunoistochimica evidenziarono che in pazienti con tumore alla vescica superficiale (Ta o T1) e con una bassa espressione di ciclina D1 il tasso di ricorrenza tumorale è elevato ma non evidenziarono alcuna informazione prognostica sulla progressione della malattia. Inoltre, furono fatti degli studi su campioni di vescica tumorale di stadio variabile da Ta a T3 i quali dimostrarono che una bassa espressione di ciclina E è associata con un basso indice di sopravvivenza del paziente ma non si osservò alcun valore prognostico della stessa, indipendentemente dagli stadi tumorali (40).

#### **Fattori relativi all'angiogenesi**

Studi condotti sul *fattore di crescita dell'endotelio vascolare (VEGF)*, sulla *trombospondina-1* e sulla *cicloossigenasi-2* hanno dimostrato il loro coinvolgimento nel tumore alla vescica anche se rimane ancora incerto il loro ruolo.

Crew e collaboratori (41) hanno osservato che in pazienti con carcinoma alla vescica Ta o T1 la concentrazione del *VEGF* aumentava rispetto ai casi normali dimostrando così una possibile correlazione tra tale fattore e il tasso di ricorrenza tumorale. Tuttavia, tramite uno studio di immunoistochimica svolto su 185 pazienti con tumore alla vescica di tipo Ta o T1 non si osservò alcuna correlazione tra *VEGF* e il tasso di ricorrenza o sopravvivenza del carcinoma (42), quindi il significato prognostico di tale fattore è ancora dubbio.

La *trombospondina-1 (TSP-1)* è una glicoproteina della matrice extracellulare ed è un potente inibitore angiogenetico. Sono state condotte diverse analisi di immunoistochimica per verificare il coinvolgimento di tale fattore nel tumore alla vescica (43) ma tuttavia non si è ancora in grado di trarre delle conclusioni sul significato prognostico della stessa.

Il ruolo che la *cicloossigenasi-2* svolge nel tumore alla vescica è stato esaminato tramite analisi di immunoistochimica. Shirahama e collaboratori (44) osservarono che in

uno studio condotto su 108 pazienti trattati con cistectomia radicale l'espressione della *cicloossigenasi-2* era presente nel 31% dei casi ed era correlata con l'invasione localizzata, linfovaskolare e la ricorrenza, tuttavia la sua espressione non era un marker prognostico indipendente per la sopravvivenza. Molti altri studi sono stati condotti per analizzare il ruolo della *cicloossigenasi-2* nel carcinoma alla vescica ma tuttavia questa è ancora oggetto di ricerca.

#### **Molecole di adesione della matrice extracellulare**

Studi condotti sull'espressione delle *metalloproteinasi-2 (MMP-2)* della matrice extracellulare, sui loro *inibitori (TIMP-2)* e sulle *MMP-1* nel tumore alla vescica indicarono che il loro elevato livello d'espressione rispetto alla vescica normale è associato a una diminuzione della sopravvivenza (45). Inoltre, uno studio condotto su 97 pazienti con carcinoma uroteliale indicò che il rapporto nel siero tra *MMP-2* e *TIMP-2* era un significativo e indipendente indicatore di ricorrenza nei pazienti con carcinoma uroteliale avanzato (46), tuttavia rimane ancora sconosciuto come tale rapporto possa provvedere a informazioni distinte sulla progressione del carcinoma.

Un'altra molecola di adesione della matrice extracellulare analizzata è la *caderina-E*. Studi condotti da Bringuier e collaboratori (47) sul tumore alla vescica dimostrarono che la diminuzione dell'espressione della *caderina -E* in tale tumore è generalmente correlata con la progressione dello stesso nella muscolare propria e con metastasi distanti nel caso di tumore di alto grado e stadio. Inoltre, in uno studio condotto su 77 pazienti sottoposti a cistectomia radicale, si è visto, tramite analisi immunoistochimica, che l'espressione della *caderina -E* nel tumore alla vescica è associata con la progressione e la sopravvivenza del tumore e che questa è un predittore indipendente per la progressione della malattia (48).

Altri markers analizzati, appartenenti a tale categoria sono stati il *CD44*(49), le *urokinase-type plasminogen Activator (u-Pa)* (50) e le *multidrug Resistance-Related Proteins (mRRP)* (51) ma ancora il loro ruolo effettivo nel carcinoma alla vescica è oggetto di studio.

#### **Altri markers analizzati nel tumore alla vescica: ruolo delle HSP**

Le heat shock proteins (HSP) sono una famiglia di proteine indotte da vari tipi di stress

come il calore, l'alcool e le radiazioni UV. Alcune di queste intervengono come chaperons molecolari per il corretto folding delle proteine cellulari immature sia eucariotiche che procariotiche affinché queste possano essere biologicamente attive, altre intervengono nella degradazione delle proteine non correttamente ripiegate. Recentemente si è andando sempre più delineando il coinvolgimento delle HSP nella patogenesi tumorale. In particolare si è visto che l'HSP70 è maggiormente espressa in tumori della mammella (52), dell'endometrio (53), nell'osteosarcoma (54) e nei tumori renali (55), l'HSP90 è stata principalmente evidenziata in tumori del polmone (56), nelle leucemie (57) e nella patologia tumorale di Hodgkin (58), l'HSP27 è coinvolta nello sviluppo tumorale della ghiandola mammaria (59) e inoltre facilita la crescita, la differenziazione e la motilità di cellule tumorali ovariche. Infine l'HSP60 è stata riscontrata in lesioni pre-maligne della cavità orale (60), nel carcinoma della mammella (61), nel carcinoma ovarico (62), nel carcinoma pancreatico (63) e nella leucemia mieloide (64). Inoltre, una iperespressione delle HSP60 e 10 è stata evidenziata fin dalle tappe precoci della carcinogenesi della esocervice uterina umana (65,66), del colon (67) e della prostata (68). Uno dei primi lavori relativi alla ricerca dell'espressione delle HSP nel tumore vescicale, era teso a ricercare e valutare dal punto di vista diagnostico e prognostico, l'espressione dell'HSP27. Questo lavoro ha escluso ogni possibile relazione tra la stessa e il grado di differenziazione cellulare, gli stadi T, il coinvolgimento linfonodale, la ricorrenza locale, la metastasi e la sopravvivenza cellulare; quindi si arrivò alla conclusione che l'espressione dell'HSP27 non aveva un significato rilevante né da un punto di vista diagnostico né prognostico nel carcinoma alla vescica (69).

Studi più recenti hanno valutato l'espressione dell'HSP90 in campioni con carcinoma vescicale superficiale ed invasivo evidenziando una maggiore espressione di questa proteina nei secondi (70). Questo risultato è stato confermato da Lebret e i suoi collaboratori (71), i quali si occuparono di valutare la correlazione tra le HSPs 60, 90, 27, 70, il grado G e lo stadio T. Da ciò si osservò una correlazione tra l'HSP60 e 90 ed il carcinoma superficiale (T0), mentre nessuna correlazione era presente tra HSP27 e 60 con gli stadi T avanzati. Syrigos evidenziò una iperespressione dell'HSP70 in relazione al grado G (72).

Infine, uno studio più recente (73) si occupò di valutare, tramite indagine immunohistochimica, l'espressione e la presenza dell'HSP60, dell'HSP10, dell'HSP90, dell'HSP70 e dell'HSP27 su campioni di vescica provenienti da pazienti normali e con TCC con differente grado di differenziazione cellulare e di invasione tumorale al fine di verificare il valore di queste molecole come markers biologici, nel carcinoma a cellule transizionali della vescica. Alcuni risultati ottenuti furono in accordo con dati riportati nei precedenti lavori altri in contrasto e precisamente: in accordo con i risultati di Syrigos, il numero di casi positivi all'HSP70 aumentava nei TCC con G=3; In accordo con i dati di Lebret, il numero di casi positivi all'HSP60 si riduceva nei TCC con T>1; In accordo con i dati di Storm, non si ritrovò alcuna correlazione tra l'espressione dell'HSP27 e il crescere del grado di differenziazione tumorale; In contrasto con i dati di Storm, si ritrovò una correlazione tra la percentuale di cellule tumorali positive all'HSP27 e la crescita del grado G. Inoltre, in questo studio venne evidenziato che: l'HSP10 aumentava significativamente nei casi di TCC rispetto ai casi di vescica normale; l'HSP10 e l'HSP90 aumentavano significativamente nei casi di TCC con G≥2, rispetto ai casi di vescica normale; l'HSP70 aumentava significativamente nei casi di TCC T>1, rispetto ai casi di vescica normale; la percentuale di cellule positive alle HSP10-90/70 aumentava significativamente nei casi di TCC con G≥2, rispetto ai casi di vescica normale. Da ciò si ipotizzò che l'aumento dell'espressione delle HSP90-70/10/27 al crescere del grado G sia correlata alla aumentata velocità di crescita tumorale.

### Conclusioni

Nonostante i vari studi condotti sui markers biologici del carcinoma alla vescica ancora non siamo in grado di dare delle risposte certe sul ruolo predittivo che molti di questi svolgono nel carcinoma alla vescica, a causa dei pareri contrastanti ottenuti. Tuttavia, i recenti progressi delle conoscenze nel campo della diagnostica molecolare lasciano ben sperare che un futuro in cui queste tecniche possano permettere una diagnosi più precoce e una terapia più mirata sia non lontano.

### Bibliografia:

1. Parkin DM, Whelan SL, Felay J, et al: Cancer Incidence in Five Continents, Volume VIII (No. 155). Lyon,

- France, IARC Publications, 2002.
2. Reid LM, Leav I, Kwan PW, et al: Characterization of a human, sex steroid-responsive transitional cell carcinoma maintained as a tumor line (R198) in athymic nude mice. *Cancer Res* 44: 4560-4573, 1984.
  3. Cantor KP, Lynch CF, and Johnson D: Bladder cancer, parity, and age at first birth. *Cancer Causes Control* 3: 57-62, 1992.
  4. Ries LAG, Eisner MP, Kosary CL, et al (Eds): SEER: Cancer Statistics Review, 1975-2002. Bethesda, MD, National Cancer Institute, 2004. Available at: <http://www.seer.cancer.gov/csr/1975-2002>. Accessed December 12, 2005.
  5. Kirkali Z, Chan T, Manoharan M, Algaba F, Busch C, et al: Bladder Cancer: Epidemiology, staging and grading, and diagnosis. 2005.
  6. Kaldor JM, Day NE, Kittelmann B, et al: Bladder tumors following chemotherapy and radiotherapy for ovarian cancer: a case-control study. *Int J Cancer* 63: 1-6, 1995.
  7. Hartge P, Hoover R, West DW, et al: Coffee drinking and risk of bladder cancer. *J Natl Cancer Inst* 70: 102-1-1026, 1983.
  8. Sala M, Cordier S, Chang-Claude J, et al: Coffee consumption and bladder cancer in nonsmokers: a pooled analysis of case-control studies in European countries. *Cancer Causes Control* 11: 925-931, 2000.
  9. Gago-Dominguez M, Castela JE, Yuan JM, et al: Use of permanent hair dyes and bladder-cancer risk. *Int J Cancer* 91: 575-579, 2001.
  10. Kiemeny LA, and Schoenberg M: Familial transitional cell carcinoma. *J Urol* 156: 867-872, 1996.
  11. Epstein JI, Amin MB, Reuter VR, et al, for the Bladder Consensus Conference Committee: The World Health Organization/International Society of Urological Pathology consensus classification of urothelial (transitional cell) neoplasms of the urinary bladder. *Am J Surg Pathol* 22: 1435-1448, 1998.
  12. Habuchi T, Marberger M, Droller MJ, et al: Prognostic markers for bladder cancer: international Consensus Panel on bladder tumor markers: 2005.
  13. Knowles MA: What we could do now: molecular pathology of bladder cancer. *Mol Pathol* 54: 215-221, 2001.
  14. Neal DE, Marsh C, Bennett MK, et al: Epidermal-growth-factor receptors in human bladder cancer: comparison of invasive and superficial tumors. *Lancet* 1:366-368, 1985.
  15. Lipponen P, and Eskelinen M: Expression of epidermal growth factor receptor in bladder cancer as related to established prognostic factors, oncoprotein (c-erbB-2, p53) expression and long-term prognosis. *Br J Cancer* 69: 1120-1125, 1994.
  16. Gandaur-Edwards R, Lara PN Jr, Folkins AK, et al: Does HER2/neu expression provide prognostic information in patients with advanced urothelial carcinoma? *Cancer* 95: 1009-1015, 2002.
  17. Knowles MA, and Williamson M: Mutation of H-ras is infrequent in bladder cancer: confirmation by single-strand conformation polymorphism analysis, designed restriction fragment length polymorphisms, and direct sequencing. *Cancer Res* 53: 133-139, 1993.
  18. Pollack A, Wu CS, Czerniak B, et al: Abnormal bcl-2 and p-RB expression are independent correlates of radiation response in muscle-invasive bladder cancer. *Clin Cancer Res* 3: 1823-1829, 1997.
  19. Stavropoulos NE, Filiadis I, Ioachim E, et al: Prognostic significance of p53, bcl-2 and Ki-67 in high risk superficial bladder cancer. *Anticancer Res* 22: 3759-3764, 2002.
  20. Habuchi T, Kinoshita H, Yamada H, et al: Oncogene amplification in urothelial cancers with p53 gene mutation or MDM2 amplification. *J Natl Cancer Inst* 86: 1331-1335, 1994.
  21. Cappellen D, De Oliveira C, Ricol D, et al: Frequent activating mutations of FGFR3 in human bladder and cervix carcinomas, *Nat Genet* 23: 18-20, 1999.
  22. van Rhijn BW, Lurkin I, Radvanyi F, et al: The fibroblast growth factor receptor 3 (FGFR3) mutation is a strong indicator of superficial bladder cancer with low recurrence rate. *Cancer Res* 61: 1265-1268, 2001.
  23. Kotake T, Saiki S, Kinouchi T, et al: Detection of the c-myc gene product in urinary bladder cancer. *Jpn J Cancer Res* 81: 1198-1201, 1990.
  24. Schmitz-Drager BJ, Schulz WA, Jurgens B, et al: c-myc in bladder cancer: clinical findings and analysis of mechanism. *Urol Res* 25 (suppl 1): S45-S49, 1997.
  25. Zigeuner R, Tsybrovskyy O, Ratscheck M, Rehak P, Lipsky K, Langner C: Prognostic impact of p63 and p53 expression in upper urinary tract transitional cell carcinomas. *Urology* 63: 1079-1083, 2004.
  26. Lu ML, Wikman F, Orntoft T, Charytonowicz E, Rabbani F, Zhang Z, Dalbagni G, Pohar KS, Yu G, Cordon-Cardo C: Impact of alterations affecting the p53 pathway in bladder cancer on clinical outcome assessed by conventional and array-based methods. *Clin Cancer Res* 8: 171-179, 2002.
  27. San Miguel Fraile P, Anton Badiola I, Ortiz Rey JA, Alvarez Alvarez C, Fernandez Costas A, Lago Fernandez M, Pelaez Boismorand E, Zungri Telo E, De La Fuente Buceta A: Comparative study of the expression of p53, Ki-67, bcl-2 and CK20 in superficial transitional carcinoma of the bladder: correlation with recurrence, histological grade, and clinical stage. *Actas Urol Esp* 2-7:587-593, 2003.
  28. Eva Comperat, Philippe Camparo, Rachel Haus, Emmanuel Chartier-Kastler, Stephane Bart, Annick Delcourt, Alain Houlgatte, Richard Francois, Frederique Capron, Annick Viellefond: Immunohistochemical expression of p63, p53 and MIB-1 in urinary bladder carcinoma. A tissue microarray study of 158 cases: 2005.
  29. DiComo CJ, Urist MJ, Babayan I, Drobnjak M, Hevdvat CV, Teruya-Feldstein J, Pohar K, Hoos A, Cordon-Cardo C p63 expression profiles in human normal and tumor tissue. *Clin Cancer Res* 8: 494-501, 2002.
  30. Park BJ, Lee SJ, Lee KSJ, Lee CH, Chang SG, Park JH et al: Frequent alteration of p63 expression in human primary bladder carcinomas. *Cancer Res* 60: 337-0-3374, 2000.
  31. Cordon-Cardo C, Wartinger D, Petrylak D, et al: Altered expression of the retinoblastoma gene product prognostic indicator in bladder cancer. *J Natl Cancer Inst* 84: 1251-1256, 1992.
  32. Logothetis CJ, Xu HJ, Ro JY, et al: Altered expression of retinoblastoma protein and known prognostic variables in locally advanced bladder cancer. *J Natl Cancer Inst* 84:1256-1261, 1992.
  33. Grossman HB, Liebert M, Antelo M, et al: p53 and Rb expression predict progression in T1 bladder cancer. *Clin Cancer Res* 4: 829-834, 1998.
  34. Liukkonen T, Lipponen P, Raitanen M, et al, for the Finbladder Group: Evaluation of p21 WAF1/CIP1 and cyclin D1 expression in the progression of superficial bladder cancer. *Urol Res* 28: 285-292, 2000.
  35. Kamai T, Takagi K, Asami H, et al: Decreasing of p27 (Kip1) and cyclin E protein levels is associated with progression from superficial into invasive bladder cancer. *Br J Cancer* 84: 1242-1251, 2001.
  36. Gerdes J, Lemke H, Baisch H, et al: Cell cycle analysis of a cell proliferation-associated human nuclear antigen defined by the monoclonal antibody Ki-67. *J Immunol* 133: 1710-1715, 1984.
  37. Santos L, Amaro T, Costa C, et al: Ki-67 index enhances the prognostic accuracy of the urothelial superficial bladder carcinoma risk group classification. *Int J Cancer* 105: 267-272, 2003.
  38. Yan Y, Andriole GL, Humphrey PA, Kibel AS: Pat-

- terns of multiple recurrences of superficial (Ta/T1) transitional cell carcinoma of bladder and effects of clinicopathologic and biochemical factors. *Cancer* 95: 1239-1246, 2002.
39. Sgambato A, Migaldi M, Faraglia B, et al: Cyclin D1 expression in papillary superficial bladder cancer: its association with other cell cycle associated proteins, cell proliferation and clinical outcome. *Int J Cancer* 97: 671-678, 2002.
40. Richter J, Wagner U, Kononen J, et al: High-through-put tissue microarray analysis of cyclin E gene amplification and overexpression in urinary bladder cancer. *Am J Pathol* 157: 787-794, 2000.
41. Crew JP, O'Brien T, Bicknell R, et al: Urinary vascular endothelial growth factor and its correlation with bladder cancer recurrence rates. *J Urol* 161: 799-804, 1999.
42. Chow NH, Liu HS, Chan SH, et al: Expression of vascular endothelial growth factor in primary superficial bladder cancer. *Anticancer Res* 19: 4593-4597, 1999.
43. Grossfeld GD, Ginsberg DA, Stein JP, et al: Thrombospondin-1 expression in bladder cancer association with p53 alterations, tumor angiogenesis, and tumor progression. *J Natl Cancer Inst* 89: 219-227, 1997.
44. Shirahama T, Arima J, Akiba S, et al: Relation between cyclooxygenase-2 expression and tumor invasiveness and patient survival in transitional cell carcinoma of the urinary bladder. *Cancer* 92: 188-193, 2001.
45. Kanayama H, Yokota K, Kurakawa Y, et al: Prognostic values of matrix metalloproteinase-2 and tissue inhibitor of metalloproteinase-2 expression in bladder cancer. *Cancer* 82: 1359-1366, 1998.
46. Gohji K, Fujimoto N, Ohkawa J, et al: Imbalance between serum matrix metalloproteinase-2 and its inhibitor as a predictor of recurrence of urothelial cancer. *Br J Cancer* 77: 650-655, 1998.
47. Binguier PP, Umbas R, Schafas HE, et al: Decreased E-cadherin immunoreactivity correlates with poor survival in patients with bladder tumor. *Cancer Res* 53: 3241-3245, 1993.
48. Byrne RR, Shariat SF, Brown R, et al: E-cadherin immunostaining of bladder transitional cell carcinoma, carcinoma in situ and lymph node metastases with long-term followup. *J Urol* 165:1473-1479, 2001.
49. Matsumura Y, Sugiyama M, Matsumura S, et al: Unusual retention of introns in CD44 gene transcripts in bladder cancer provides new diagnostic and clinical oncological opportunities. *J Pathol* 177:11-20, 1995.
50. Hasui Y, Marutsuka K, Asada Y, et al: Prognostic value of urokinase-type plasminogen activator in patients with superficial bladder cancer. *Urology* 47: 34-37, 1996.
51. Natio S, Sakamoto N, Kotoh S, et al: Correlation between the expression of P-glycoprotein and multidrug-resistant phenotype in transitional cell carcinoma of the urinary tract. *Eur Urol* 22: 158-162, 1992.
52. Jameel A, Skilton RA, Campbell TA, Chander SK, Coombes R, Luqmani YA: Clinical and biological significance of HSP89 alpha in human breast cancer. *Int. J. Cancer*. 50: 409-415, 1992.
53. Nanbu K, Konishi I, Mandai M, Kuroda H, Hamid AA, Komatsu T, Mori T: Prognostic significance of heat shock proteins HSP70 and HSP90 in endometrial carcinomas. *Cancer detect. Prev.*22: 549-555, 1998.
54. Trieb K, Lechleinter T, Lang S, Windhager R, Kotz R and Dirnhofer S: Heat shock protein 72 expression in osteosarcomas correlates with good response to neoadjuvant chemotherapy. *Hum. Pathol.* 29: 1050-1055, 1998.
55. Santarosa M, Favaro D, Quaià M, Galligioni E: Expression of Heat shock protein 72 in renal cell carcinoma: possible role and prognostic implications in cancer patients. *Eur. J. Cancer* 33: 873-877, 1997.
56. Wong HR, Wispe JR: The stress response and lung. *Am J. Physiol* 273: L1-L9, 1997.
57. Yufu Y, Nishimura J, Nawata H: High constitutive expression of heat shock protein 90 alpha in human acute leukemia cells. *Leuk. Res* 16: 597-605, 1992.
58. Hsu PL, Hsu SM: Abundance of heat shock proteins in malignant cells of Hodgkin's disease. *Cancer Res* 58: 5507-5513, 1998.
59. Piotrowicz R: Hsp27 regulation of breast tumor blood vessel growth. *1 fb-0367*, 1995.
60. Castelli M, Cianfriglia F, Manieri A, Palma L, Pezzato RW, Falasco G, and Delpino: anti-p53 and anti-heat shock proteins in patients with malignant or preneoplastic lesions of the oral cavity. *Anticancer Res.* 21:753-758, 2001.
61. Yano M, Naito Z, Yokoyama M, Shiraki Y, Ishiwata T, Inokuki M, Asano G: Expression of HSP90 and cyclin D1 in human breast cancer. *Cancer Lett.* 137: 45-51, 1999.
62. Yamamoto K, Okamoto A, Isonishi S, Ochiai K, Ohtake Y: Heat shock protein 27 was up-regulated in cisplatin resistant human ovarian tumor cell line and associated with the cisplatin resistance. *Cancer Lett.* 168: 173-181, 2001.
63. Vendetti S, Cicconi R, Piselli P, Vismara D, Cassol M and Delpino A: Induction and membrane expression of heat shock proteins in heat treated HPC-4 cells in correlated with increased resistance to Lak-mediated lysis. *J. Exp. Clin. Cancer Res.* 19:329-334, 2000.
64. Lu X and Seligy VLL: HSP60/Chaperonin gene expression and differentiation of human colon adenocarcinoma and multipotent leukemic cells. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 186: 371-377, 1992.
65. Cappello F, Bellafiore M, Palma A, Marcianò V, Martorana G, Belfiore P, Martorana A, Farina F, Zummo G, Bucchieri F: 60Kda Heat Shock Protein (HSP60) expression increases during carcinogenesis of uterine exocervix. *Pathobiology* 70: 83-88, 2002.
66. Cappello F, Bellafiore M, David S, Anzalone R and Zummo G: Ten-kilodalton Heat shock protein is overexpressed during carcinogenesis of large bowel and uterine exocervix. *Cancer Lett.* 196(1): 35-41, 2003.
67. Cappello F, Bellafiore M, Palma A, David S, Marcianò V, Bartolotta T, Modica G, Farina F, Zummo G, Bucchieri F: 60KDa chaperonin (HSP60) is over-expressed during colorectal carcinogenesis. *Eur J Histochem.* 47 (2): 105-110, 2003.
68. Cappello F, Rappa F, David S, Anzalone R and Zummo G: Immunohistochemical evaluation of PCNA, p53, HSP60, HSP10, and MUC-2 presence and expression in prostate carcinogenesis. *Anticancer Res.* 23(2B): 1325-31, 2003.
69. Storm FK, Mahvi DM, Gilchrist KV: Hsp27 has no diagnostic or prognostic significance in prostate or bladder cancers. *Urology*, 42: 379, 1993.
70. Cardillo MR, Sale P, Di Silverio F: Heat shock protein-90, IL-6 and IL10 in bladder cancer. *Anticancer Res.* 20: 4579, 2000.
71. Lebreton T, Watson R.W, Molin V, O'Neill A, Gabriel C, Fitzpatrick J.M, and Botto H: Heat Shock proteins HSP27, HSP60, HSP70, and HSP90: expression in bladder carcinoma. *Cancer*, 98: 970, 2003.
72. Syrigos KN, Harrington KJ, Karayiannakis AJ, Sekara E, Chatziyianni E, Syrigou EI, and Waxman J: Clinical significance of heat shock protein-70 expression in bladder cancer. *Urology*, 61: 677, 2003.
73. Cappello F, David S, Ardizzone N, Rappa F, Marasà L, Bucchieri F, Zummo G: Expression of Heat Shock Proteins Hsp10, Hsp27, Hsp60, Hsp70 and Hsp90 in Urothelial Carcinoma of Urinary Bladder. *J Cancer Molec.* 2:73-77, 2006.

## Quale tipo di allenamento fa bene al cuore? Which kind of exercise is helpful for the heart?

Dr. Giuseppe Battaglia  
Dottore in Scienze Motorie, Dottorando in Scienze delle Attività Motorie,  
Università degli Studi di Palermo.  
E-mail: peppe.bat@virgilio.it

### ABSTRACT

L'antica evidenza che i cuori dei così detti animali "atletici" (lepri, ratti selvaggi) abbiano una più alta densità capillare rispetto a quelli di specie più sedentarie con un simile peso corporeo (conigli, ratti di laboratorio) supporta l'ipotesi che sedute di allenamento ripetute nel tempo siano in grado di aumentare la vascolarizzazione del miocardio.

Il rimodellamento vascolare capillare del cuore in risposta all'esercizio fisico è noto dipendere dalla sezione e dall'allocazione dei vasi lungo l'albero coronarico, dai fattori molecolari e meccanici, dall'età dei soggetti e dal tipo di programma di allenamento. Un lungo allenamento di endurance, in particolare, sembra essere il modello elettivo di esercizio in grado di indurre adattamenti cardiovascolari tali da promuovere il fitness in soggetti sani di diverse età.

PAROLE CHIAVE: angiogenesi, endurance, cuore, rimodellamento vascolare.

KEYWORDS: angiogenesis, endurance training, heart, vascular remodelling.

CAPSULA EBURNEA, 1,10: 1-9, 2006.

### Introduzione

L'ipotesi che programmi di attività fisica siano benefici per il muscolo cardiaco è basata sull'antica evidenza che i cuori dei così detti animali "atletici" (lepri, ratti selvaggi) hanno una più alta densità capillare rispetto a quelli di specie più sedentarie con un simile peso corporeo (conigli, ratti di laboratorio) [1]. Sedute di allenamento ripetute nel tempo, infatti, sembrano essere in grado di aumentare la vascolarizzazione del miocardio [2].

In letteratura sono presenti, però, dati discordanti su come e quanto l'attività fisica sia in grado di mediare tale benefico effetto.

Un incremento della densità capillare (numero di capillari/mm<sup>2</sup>, CD) viene descritto da Tomanek [3] in giovani ratti sottoposti ad attività di corsa e da Unge [4], che mostrano proliferazione capillare in ratti sia giovani che adulti allenati con il nuoto. Invece, Hakkila [5] trova un decremento della CD in maiali della guinea allenati con un treadmill. Inoltre, Breisch [6] e Lauglin e Tomanek, [7] non evidenziano cambiamenti per ratti adulti, cani o maiali allenati per alcune settimane o mesi.

Anche le informazioni sulle relazioni esistenti tra crescita capillare e intensità di allenamento sono poco chiare. Qualche lavoro [8] riporta una relazione diretta tra l'incremento della capillarizzazione e la distanza totale e/o la velocità di corsa. Di

contro, Tharp e Wagner [9] dimostrarono una bassa CD e una riduzione del rapporto capillare-fibra (C/F) in ratti allenanti vigorosamente. In questo articolo, dopo una revisione dei principali lavori in tema di neoangiogenesi, abbiamo centrato la nostra attenzione su come il muscolo cardiaco possa avvalersi dell'allenamento, sia nel soggetto giovane quanto nell'anziano, ai fini anche di intravedere che tipo di attività motoria possa essere suggerita, a seconda dell'età, a soggetti sani, per mantenerne/migliorarne lo stato di benessere e/o prevenire l'invecchiamento.

### Il rimodellamento vascolare coronarico e l'angiogenesi

Il processo di rimodellamento vascolare include almeno quattro distinti modi attraverso cui i vasi aumentano di numero o di sezione a differenti livelli dell'albero coronarico. Il processo di ampliamento di preesistenti piccole arterie (diametro, 300-1000 µm) e anastomosi in arteriole collaterali è definito come *arteriogenesi*. Questo permette di ristabilire la perfusione tissutale quando il lume primario per il flusso di sangue è stato ostruito [10]. Si pensa che lo stimolo primario per l'arteriogenesi sia l'aumentato stress subito dall'endotelio in seguito all'occlusione di un'arteria maggiore [11].

*Il rimodellamento delle arterie*, invece, è un processo attraverso cui, piccole arterie di

resistenza (diametro, 150-500  $\mu\text{m}$ ) e grandi arterie di conduzione (diametro, > 1000  $\mu\text{m}$ ) incrementano o decrementano il diametro e lo spessore della loro parete attraverso un'alterazione della composizione cellulare (muscolatura liscia dei vasi ed endotelio) e dei costituenti della matrice extracellulare [10]. L'*arteriolarizzazione*, inoltre, è un ulteriore processo di rimodellamento a cui vanno incontro alcuni capillari, soggetti ad angiogenesi, che trasformano e ampliano le loro porzioni terminali al fine di costituire arteriole (diametro, 50-150  $\mu\text{m}$ ) o piccole arterie (diametro, 300-1000  $\mu\text{m}$ ) [12].

Il termine **angiogenesi** è stato adottato per la prima volta da Herting nel 1935 per indicare la crescita di vasi sanguigni nella placenta. Fu riusato da Folkman nel 1972 per descrivere il processo di neovascolarizzazione durante la progressione di un tumore solido. Oggi invece è utilizzato per circoscrivere quell'insieme di processi morfo-funzionali di formazione di nuovi capillari a partire da vasi preesistenti [13]. In assenza di patologie (es. tumori, retinopatia diabetica) le circostanze fisiologiche promuoventi la neocapillarizzazione sono: il ciclo ovarico, lo sviluppo placentare e l'esercizio fisico [14]. I principali meccanismi attraverso cui è possibile promuovere l'angiogenesi sono: l'intussusception e lo

sprouting.

L'*intussusception capillare* (Fig.1) è un processo che prevede la formazione di una struttura interna e longitudinale al capillare primitivo tale da dividerlo in due. Questo sembra essere un efficiente processo di neocapillarizzazione poiché richiede una bassa proliferazione delle cellule endoteliali e uno scarso rimodellamento della matrice extracellulare [15]. Recenti lavori hanno suggerito che l'intussusception può essere il metodo principale di capillarizzazione durante lo sviluppo [15; 16] e che le forze da taglio possono essere i loro principali stimoli [17].

Lo *sprouting angiogenico* (Fig.2), a differenza dell'intussusception, richiede un forte coinvolgimento delle cellule endoteliali ed una importante destabilizzazione della matrice extracellulare. È, infatti, un processo in cui le cellule endoteliali attivate proliferano dal capillare primitivo verso la matrice extracellulare circostante così da costituire un ramo sanguigno nuovo. Sembra essere, inoltre, la modalità elettiva attraverso cui l'esercizio fisico induce angiogenesi [18]. Affinché il nuovo vaso sia funzionale è necessario, però, che si integri pienamente con la rete vascolare già esistente e si stabilizzi con l'aiuto dei periciti [14]. Le cellule peri-endoteliali, infatti, stabilizzano i vasi sanguigni nascenti attraverso

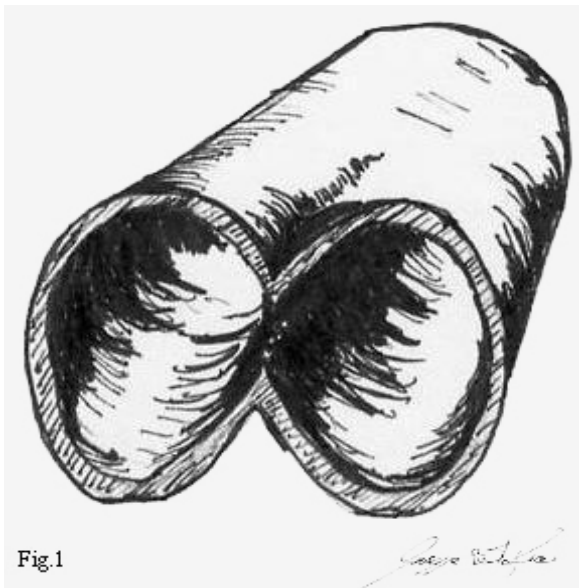


Fig.1

Fig. 1: Processo angiogenico, noto come intussusception capillare, che prevede la formazione di una struttura interna e longitudinale al capillare primitivo tale da dividerlo in due. Sembra essere un efficiente processo di neocapillarizzazione poiché richiede una bassa proliferazione delle cellule endoteliali e uno scarso rimodellamento della matrice extracellulare.

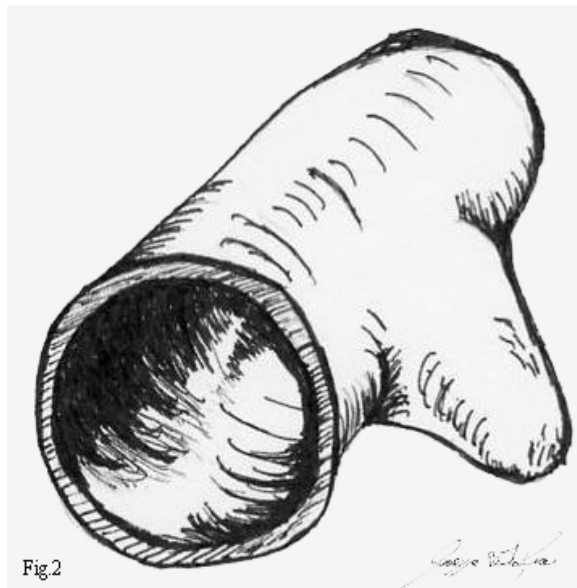


Fig.2

Fig. 2: Processo angiogenico, noto come sprouting angiogenico, in cui le cellule endoteliali attivate proliferano dal capillare primitivo verso la matrice extracellulare circostante così da costituire un ramo sanguigno nuovo. Sembra essere la modalità elettiva attraverso cui l'esercizio fisico induce angiogenesi.

l'inibizione della proliferazione e della migrazione delle cellule endoteliali e stimolano la produzione della matrice extracellulare e la formazione della membrana basale. In questo modo si ha la protezione dei vasi neoformati contro rotture traumatiche e regressioni [13].

Michael et al. [13] individuano delle tappe fondamentali del processo di proliferazione capillare (Fig.3):

- a) l'attivazione delle cellule endoteliali e il rilassamento della parete del vaso, ad esempio mediato dall'NO;
- b) la degradazione della membrana basale e della matrice extracellulare ad opera del sistema attivatore del plasminogeno e delle metalloproteasi di membrana;
- c) la migrazione delle cellule endoteliali attivate da fattori chemotattici liberati da fibroblasti, monociti e piastrine;
- d) la proliferazione delle cellule endoteliali;
- e) il re-differenziamento delle cellule endoteliali allo stato di quiescenza;
- f) il reclutamento dei periciti lungo il vaso neoformato;
- g) la formazione di una nuova membrana basale attraverso una riorganizzazione delle cellule endoteliali e dei periciti;
- h) il rimodellamento della rete vascolare neo-formata, con la maturazione e la stabilizzazione del flusso sanguigno.

### I fattori molecolari coinvolti nella regolazione dell'angiogenesi

La formazione di un vaso passa, quindi, attraverso diversi stadi ben definiti di mo-

dificazioni dell'endotelio e dell'ambiente extracellulare mediati da una coordinata interazione tra i sistemi di destabilizzazione della matrice e i diversi fattori di crescita vascolari e loro recettori [19]. L'attivazione esclusiva di alcuni fattori non è sufficiente a favorire un incremento della capillarità. L'inibizione delle metalloproteasi (MMPs), anche in presenza di fattori di crescita vascolari, ad esempio, limita la migrazione delle cellule endoteliali e la formazione del nuovo vaso [20].

Il vascular endothelial growth factor (VEGF) è un potente fattore di crescita vascolare che è stato visto essere implicato nella risposta angiogenica all'esercizio fisico. Sebbene sia ragionevole aspettarsi un suo importante coinvolgimento, insieme ad altri fattori pro-angiogenici, sia nello sprouting che nell'intussusception, le conoscenze sperimentali evidenziano una correlazione principalmente con il primo [21, 22]. Per esempio, la stimolazione con VEGF di cellule endoteliali in coltura su un gel di collagene induce una proliferazione e una migrazione di queste, tale da avere la formazione di un abbozzo di vaso sanguigno [21]. Inoltre, il VEGF ha una funzione chemotattica [23], che può assistere la migrazione delle cellule endoteliali e muscolari lisce [24].

L'upregulation del VEGF è noto avvenire in muscoli di ratti in seguito a contrazioni [25, 26, 27] o a un periodo di corsa su treadmill a intensità moderata [28]. L'esercizio sembra essere in grado di up-

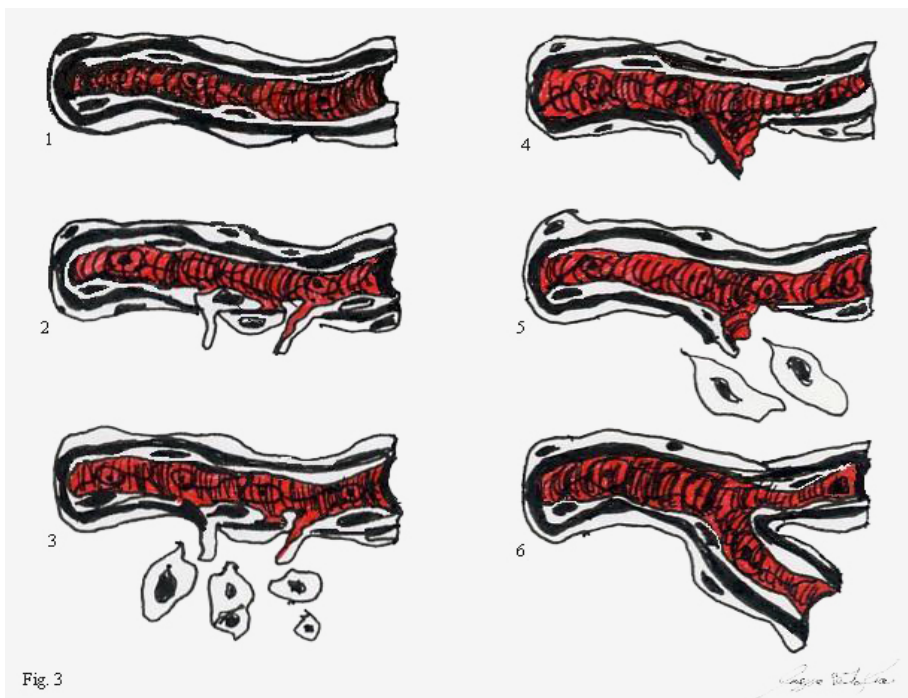


Fig. 3

Fig. 3: Tappe fondamentali del processo angiogenico. 1) La degradazione della membrana basale. 2) La migrazione delle cellule endoteliali attivate 3) La proliferazione delle cellule endoteliali 4) La formazione del nuovo vaso. 5) Il reclutamento dei periciti lungo il vaso neoformato. 6) La formazione di una nuova membrana basale attraverso una riorganizzazione e stabilizzazione delle cellule endoteliali e dei periciti.

regolare, sia in individui sani che infartuati, l'mRNA del VEGF di due-quattro volte alla fine della prova [29, 30, 31]. La concentrazione rimane elevata sino a 4 h successive all'attività fisica ma ritorna a livelli normali entro le 8 h dopo. Anche, la proteina del VEGF sembra aumentare in modo dipendente dall'incremento del suo mRNA dopo l'esercizio [30]. Comunque un decremento nel contenuto della proteina di VEGF è stato osservato nel muscolo durante l'esercizio fisico [32]. Il contenuto di VEGF muscolare può essere mobilizzato nell'interstizio [33] e rilasciato dal muscolo attivo [34]. È probabile che la mobilizzazione e l'upregulation di VEGF siano eventi importanti nell'aumentare la capillarità nel muscolo sottoposto ad attività fisica. Infatti, Armarel e colleghi dimostrano che l'angiogenesi muscolare indotta attraverso cronica stimolazione [25] o corsa su treadmill [25] è dipendente dalla disponibilità di VEGF.

Il VEGF è noto legare due recettori della famiglia della tirosin-chinasi presenti sulle cellule endoteliali: il VEGFR1 (Flt-1) e il VEGFR2 (Flk/kDR). Anche questi risultano essere regolati positivamente dall'esercizio fisico [35, 36, 37]. Un aumento delle proteine recettoriali, in particolare, può indurre un aumento della responsività del tessuto al VEGF e quindi amplificare le cascate angiogeniche [38]. Milkiewicz et al. (2003) osservano, infatti, un'alta correlazione tra la proteina del VEGFR2 e la proliferazione capillare indotta da attività muscolare [25]. L'attivazione del VEGFR-2, inoltre, porta alla produzione di ossido nitrico (NO) attraverso una mobilizzazione delle scorte intracellulari di  $CA^{2+}$  che attivano la forma endoteliale dell'enzima ossido nitrico sintetasi (eNOS) [39]. L'esercizio stesso è stato visto up-regolare sia l'mRNA [37] che la proteina [40] dell'eNOS.

L'NO, potente vasodilatatore e mediatore chimico, risulta essere implicato sia nell'arteriogenesi che nell'angiogenesi. Il legame molecolare/biochimico tra vasodilatazione e angiogenesi è dato da osservazioni in vivo che dimostrano che alcuni fattori angiogenici possiedono proprietà vasodilatatorie e dall'evidenza che sia la vasculatura tumorale che il processo di neocapillarizzazione, in generale, sono accompagnati da vasodilatazione [41]. In particolare, l'NO media il rimodellamento vascolare in risposta all'esercizio fisico, perché questo up-regola i fattori di crescita angiogeni-

ci che agiscono sul pathway dell'NO [11, 42]. L'NO, inoltre, è un importante elemento del pathway di segnalazione del VEGF [11, 43]. L'inibizione della produzione di NO sembra, però, non alterare l'angiogenesi nei muscoli sottoposti a corsa su treadmill [11] anche se topi transgenici che mancano della NOS mostrano ridotta capacità angiogenica in una varietà di situazioni [44]. Anche la forma inducibile della NOS sembra essere regolata positivamente dall'esercizio. Dati di laboratorio, infatti, riportano aumenti significativi nell'espressione sia del gene che della proteina di iNOS in cuori di topi sottoposti a un programma di allenamento di endurance con l'utilizzo di un treadmill [45].

Sebbene il VEGF risulti essere un essenziale fattore del processo di neocapillarizzazione, è noto che esistono altri fattori di crescita angiogenici e proangiogenici.

Ad esempio, il fibroblast growth factor-2 (FGF-2) è un potente mitogeno delle cellule endoteliali, muscolari lisce e fibroblasti con il potere di up-regolare il VEGF [46] e la produzione di NO [47]. Il suo coinvolgimento, però, nell'angiogenesi da esercizio non è chiara. Alcuni lavori mostrano che sia la forma acida che basica dell'FGF sono up-regolati nel muscolo scheletrico da una singola prova di esercizio [28]. Altri, invece, riportano che l'FGF-2 non sembra essere up-regolato dall'attività fisica [29, 31] e che il suo contenuto nei muscoli allenati non cambia sebbene ci sia un incremento della capillarità indotta dal programma di allenamento [48] o dal sovraccarico muscolare [49]. Anche il placental growth factor (PlGF), un membro della famiglia del VEGF, sembra non essere necessario per indurre l'angiogenesi da esercizio fisico [50]. Dopo l'esercizio, infatti, la densità dei vasi e il rapporto capillari/miociti risultava essere maggiore sia nei topi wild-type che in topi con una mutazione nulla per il PlGF.

Le angiopoietine (Ang1 e Ang2), inoltre, sono importanti citochine che non hanno un potere mitogeno sulle cellule endoteliali ma assistono lo sviluppo e il rimodellamento vascolare [51]. Ang1 promuove la maturazione e stabilizzazione mentre Ang2, essendo un antagonista naturale di Ang1, è responsabile della destabilizzazione dei vasi. Il platelet-derived growth factor (PDGF) e il transforming growth factor- $\beta$  (TGF- $\beta$ ), prodotti dalle cellule endoteliali attivate, sono in grado di reclutare i periciti e così aiuta-

re il completamento dei nuovi vasi formati [23].

Sebbene i fattori di crescita e di stabilizzazione vascolare siano importanti per promuovere la proliferazione capillare, la degradazione della matrice extracellulare rimane comunque una condizione indispensabile. La proteolisi della matrice extracellulare è realizzata da una coordinata interazione tra il sistema attivatore del plasminogeno (uPA e tPA), le metalloproteinasi di membrana (MMPs) e i loro inibitori (TIMPs). In particolare è stato visto che la segnalazione mediata dal VEGF up-regola l'attività di uPA e tPA e l'espressione del loro mRNA.

Tra i diversi tipi di MMPs la MMP2 e la MMP9 sembrano essere importanti negli eventi proteolitici angiogenici. Rivilis et al. [17] osservano un incremento nell'attività della MMP2 e un upregulation della MMP1 di membrana (MT1-MMP o MMP14) nei muscoli sottoposti a un sovraccarico. Inoltre la MMP14 è stata vista essere up-regolata in cellule endoteliali in coltura esposte a sforzo [52]. Ciò implica che l'allungamento fisico sviluppato durante la contrazione potrebbe essere di grande aiuto per promuovere l'angiogenesi.

### **Gli stimoli angiogenici**

L'ipossia è uno dei più potenti stimoli angiogenici noti in letteratura. Esercita il suo effetto principalmente attraverso un upregulation del VEGF. Bassi livelli di pressione di O<sub>2</sub> (PO<sub>2</sub>) nelle cellule endoteliali in coltura, infatti, stimolano la proliferazione e la migrazione cellulare mentre il ritorno a valori medio-alti di PO<sub>2</sub> riduce l'espressione di VEGF e l'attivazione degli endotelioцити. In presenza di ipossia c'è un marcato incremento sia dell' mRNA che della proteina del fattore di trascrizione indotto dall'ipossia (HIF-1 $\alpha$ ) che up-regola il gene per il VEGF. È noto, infatti, come l'ipossia aumenti l'espressione di VEGF indotta da esercizio fisico nei muscoli di ratti [53]. Molto più equivoci sono gli esperimenti relativi all'espressione di HIF-1 $\alpha$  negli uomini. Alcuni dati mostrano un aumento sia dell'mRNA che della proteina dell'HIF-1 $\alpha$  durante l'esercizio [29] altri invece non riportano significativi aumenti di VEGF in risposta a esercizio in condizioni ipossiche [29, 31]. Così, sebbene, i livelli di HIF-1 varino entro rilevanti range fisiologici di PO<sub>2</sub> nessuna relazione è stata stabilita tra PO<sub>2</sub> ed mRNA di VEGF nel muscolo at-

tivo.

L'HIF-1, inoltre, regola l'espressione di altre importanti proteine come quella del VEGFR-1 [54], dell'iNOS [55] o dell'eritropoietina [14]. Tra le diverse modalità di rimodellamento vascolare in risposta all'esercizio quella che risulta essere più sensibile a stimoli ipossici è l'angiogenesi. L'arteriogenesi, infatti, non sembra poter essere innescata dall'ipossia perché le arterie di conduzione sono perfuse da un'alta PO<sub>2</sub>.

In un cuore sano in allenamento, in particolare, esiste un potenziale rischio di ischemia-ipossia durante l'esercizio, nonostante lo stretto rapporto tra il metabolismo del miocardio e il flusso di sangue coronarico. Questo è plausibile, in particolare, quando si ha una riduzione del tempo di diastole e la contrattilità del miocardio e la compressione meccanica ostacolano il flusso coronarico. Dati in letteratura riportano che episodi transitori di ipossia in risposta a brevi occlusioni coronarie sono capaci di promuovere la crescita di vasi collaterali [10].

Sebbene molti studi dimostrino che gli stress meccanici, come le forze da taglio e/o l'allungamento meccanico, siano stimoli in grado di promuovere un rimodellamento vascolare, poco chiare sono le dinamiche su come ciò avvenga. Sembra, però, che le forze da taglio siano in grado di attivare il pathway del VEGFR-2 [55] e di indurre neocapillarizzazione prevalentemente attraverso l'intussusception angiogenica [19, 58]. L'allungamento meccanico, invece, di cellule in coltura ha mostrato un upregulation dell'mRNA e della proteina del VEGF, del Ang2, del Tie2 [58] e un aumento della attività della MT1-MMP [17, 52]. Tutte condizioni che, in genere, supportano lo sprouting angiogenico. Questo fenomeno è stato osservato in particolare in muscoli sovraccaricati dall'ablazione dei sinergisti e da contrazioni muscolari ripetute in risposta a stimolazione nervosa cronica intermittente [49, 57, 59].

Nel cuore, nella fattispecie, durante l'esercizio, la circolazione coronarica è soggetta a diverse forze fisiche come, ad esempio, un incrementato riempimento diastolico che allunga longitudinalmente le arterie che irrorano i tessuti circostanti. Allo stesso modo un incrementato flusso di sangue coronarico durante una vasodilatazione metabolica induce le forze emodinamiche relative ad un aumentato diametro dei vasi

e ad elevato stress da taglio. Lo stress da taglio dipende dalla velocità del flusso ematico, dalla viscosità e dal diametro dei vasi, e ha differenti effetti lungo l'albero vascolare. Un'aumentata pressione trasmurale durante un incremento della funzione cardiaca, insieme ad un aumento del diametro dei vasi, influenza la tensione parietale di questi. Questi fattori sono importanti nella regolazione dell'espressione genica e nell'attivazione delle proteine, sia nelle cellule endoteliali che in quelle muscolari lisce vasali inducendo proliferazione vascolare, migrazione o apoptosi e modificazioni della matrice extracellulare che, infine, rimodella il diametro dei vasi o lo spessore parietale. Inoltre, adattamenti cronici come l'ipertrofia dei miociti o la bradicardia a riposo, che si verificano in risposta all'esercizio fisico, possono modificare la funzione ventricolare e, così, le forze fisiche [10].

### **Esercizio e neoangiogenesi**

La questione su se il numero dei capillari del miocardio incrementino con l'esercizio è ed è stata oggetto di studio e discussione per diversi anni [59]. Le diverse metodologie adottate, infatti, seppure valide non hanno permesso di individuare delle linee guida in grado di supportare l'ideazione di efficaci programmi di allenamento.

Molti di questi lavori, purtroppo, risultavano essere carenti per il tipo di studio molecolare utilizzato e perché limitavano l'analisi del processo angiogenico esclusivamente al momento finale dell'allenamento [18]. L'angiogenesi, come del resto qualsiasi processo di rimodellamento vascolare, è un fenomeno in evoluzione, che necessita come tale di uno studio, per quanto possibile, dinamico. Cercare di focalizzare l'attenzione esclusivamente su un particolare momento evolutivo del fenomeno rischia di dare informazioni incomplete.

Nel 1998 White et al. [12] proposero, quindi, un nuovo approccio metodologico che esaminava in dettaglio diversi momenti adattativi della microvascolarizzazione coronarica all'esercizio. Lo studio fu condotto, infatti, su 30 maialini maschi dello Yucatan con un peso medio di circa  $34 \pm 1$  Kg e con un'età di 3-6 mesi durante lo studio. Gli animali furono divisi in 5 gruppi di 6 maialini ciascuno e sacrificati in momenti diversi della somministrazione del programma allenamento: C0 (gruppo controllo

0 gg. allenati), 1W (gruppo allenati per 1 settimana), 3W (gruppo allenato per 3 settimane), 8W (gruppo allenato per 8 settimane), 16W (gruppo allenato per 16 settimane). Tutti gli animali familiarizzarono con il treadmill running correndo per 5-10 minuti al giorno per 1 settimana prima di essere sottoposti al programma di allenamento. Successivamente i gruppi 1W, 3W, 8W e 16 W, relativamente al loro sacrificio, intrapresero il programma di allenamento che consisteva nel correre su un treadmill per 5 giorni alla settimana. Gli animali corsero durante la prima settimana per 30 minuti al 70-80% della loro Fc.max. Dalla seconda all'ottava il tempo di allenamento aumentava di 5 minuti a settimana. Dall'ottava alla sedicesima settimana la durata di corsa rimaneva costante a 70 minuti al giorno.

Il modello animale è stato scelto perché aveva delle caratteristiche comuni con l'uomo come: l'anatomia del sistema vascolare, lo sviluppo di vasi collaterali coronarici in risposta all'ischemia [60]. il consumo di ossigeno ( $VO_2$ ) e la distribuzione del flusso sanguigno durante l'esercizio [61]. L'angiogenesi è stata misurata attraverso la valutazione della frequenza di sprouting, dei cambiamenti del diametro dei vasi e attraverso la quantificazione del DNA marcato con timidina triziata delle cellule endoteliali e muscolari lisce. La crescita dei capillari fu provata dall'incremento della proliferazione delle cellule endoteliali, maggiore nella prima settimana di allenamento, e dall'aumento della densità capillare, evidente soltanto nella terza settimana. Anche le piccole arteriole pre-capillari con un diametro < di 20  $\mu$ m risultavano avere un incremento della loro densità nella terza settimana e una maggiore marcatura del DNA nella 1 e nella 3 settimana di allenamento. La densità di questi piccoli vasi, però, dopo i 21 gg. di attività fisica risultava subire una significativa riduzione a differenza delle arteriole con un diametro di 20-30 $\mu$ m, che all'ottava e alla sedicesima settimana aumentavano nel numero.

La crescita capillare, quindi, venne vista e interpretata come un prematuro e transitorio momento del rimodellamento vascolare. Il breve periodo in cui il numero dei capillari aumentava attraverso processi angiogenici (es. alla terza settimana nel modello sperimentale di White) poteva essere volto a favorire la formazioni di nuove arteriole nello stesso modo descritto da Skalak

nel muscolo scheletrico. Questi studiosi mostrano che la formazione di nuovi capillari nel muscolo scheletrico in risposta a trattamenti vasodilatatori cronici o ipossici [62] è accompagnata da un processo di arteriolarizzazione che trasforma i capillari neoforniti in vasi con cellule muscolari lisce.

Il contributo dell'angiogenesi all'aumento dell'area della sezione trasversale lumenale (CSA), evidenziato da White risultò essere, però, di scarsa entità. Secondo gli studiosi soltanto 1/5 dell'incrementata CSA risultava dipendere da processi angiogenici. I restanti 4/5 erano attribuiti all'aumento del diametro delle arteriole di grandi dimensioni.

### Conclusioni

Il rimodellamento vascolare del miocardio in risposta all'esercizio dipende, quindi, dalla sezione e dalla allocazione dei vasi lungo l'albero coronarico, dai fattori molecolari e meccanici, dall'età dei soggetti e dal tipo di programma di allenamento. Quest'ultimo, in particolare, se opportunamente strutturato sembra essere in grado di modulare gli adattamenti della circolazione coronarica.

Un programma di allenamento aerobico, che favorisce la riduzione della frequenza cardiaca a riposo, ad esempio, potrebbe essere in grado di promuovere neocapillarizzazione nello stesso modo in cui la bradicardia cronica da somministrazione dell'agente alinidina in ratti, è noto indurre crescita capillare mediante l'upregulation del VEGF e il blocco degli anticorpi per i fattori di crescita [63].

L'aumento del numero dei capillari rappresenta una importante condizione per migliorare e tutelare la capacità funzionale del cuore. È noto, infatti, come la microcircolazione coronarica sia sottoposta alla pressione extravasale esercitata dalla parete miocardica durante la sistole. Ne deriva che il flusso coronarico è fortemente dipendente dal ciclo cardiaco. In particolare è massimo durante la diastole e si riduce molto, fino ad invertirsi, nella sistole. L'incremento della densità capillare del miocardio, in seguito ad esercizio fisico, potrebbe rappresentare, quindi, un ulteriore modo per aumentare la capacità estrattiva di O<sub>2</sub> delle cellule cardiache quando queste accrescono il loro metabolismo.

Come una terapia farmacologica, però, un programma di allenamento mirato richiede

una prescrizione appropriata dell'intensità, della frequenza, della durata e del tipo di esercizi da somministrare. Tuttavia, al momento, le informazioni presenti in letteratura circa gli effetti dell'esercizio sulla microcircolazione coronarica non permettono di stilare un protocollo assoluto in grado di modulare la crescita capillare.

È noto comunque che l'allenamento di endurance lungo, che si protrae almeno oltre gli 8 minuti di attività, a differenza dell'endurance media (2-8 minuti) e breve (45 secondi - 2 minuti) [64], richiede un importante coinvolgimento e adattamento, nel tempo, del sistema esoergonico aerobico. Il lavoro di lunga durata nel tempo, infatti, risulta essere in grado di fornire i giusti stimoli per innescare favorevoli adattamenti sul sistema di trasporto-utilizzo di O<sub>2</sub> e in particolare sull'apparato cardiovascolare.

Shepard et al. [65] addirittura individuano delle linee guida per strutturare un programma di allenamento di endurance come una vera e propria terapia cardiovascolare. Nella fattispecie, infatti, gli studiosi prescrivono esercizi di corsa, di jogging, di cicloergometro a braccia, di nuoto con una frequenza di allenamento di 3-5 giorni alla settimana a un'intensità del 55%-90% della FCMax (220-età) e con una durata di 20-60 minuti a seduta [65].

L'allenamento di endurance lungo è noto, inoltre, promuovere angiogenesi e rilassamento vascolare [66] sia nei giovani [18] che negli anziani [67]. Nella fattispecie, infatti, la capacità angiogenica coronarica sembra conservarsi nel tempo anche se i giovani risultano avere una più intensa risposta angiopoietica [68].

Tale tipo di rimodellamento vascolare è stato visto, però, avere particolare rilevanza negli anziani, che a causa del processo di invecchiamento, dei fenomeni ipertensivi e dello stile di vita sedentario riportano in genere una riduzione dell'apporto di sangue ai muscoli [69]. Questi adattamenti sono particolarmente marcati nei soggetti sedentari anziani [67] in cui, solitamente, il letto capillare è ridotto [70].

Concludendo, quindi, la neocapillarizzazione in risposta ad esercizio fisico sembra essere un dato di fatto; come ciò avvenga, invece, risulta ancora poco chiaro. Molteplici e diverse sono le variabili e le dinamiche intercorrenti tra lo stimolo primario (esercizio fisico) e l'effetto ultimo (la formazione di un nuovo vaso). Ecco perché è ne-

cessario avvalersi di uno studio trasversale e di un approccio metodologico quanto più vicino ai processi analizzati.

#### Bibliografia

- [1] Poupá O, Rakusan K, Ostadal B: The effect of physical activity upon the heart of the vertebrates. *Med Sport* 1970;4:202-235;
- [2] Scheuer J: Effects of physical training on myocardial vascularity and perfusion. *Circulation* 1982;66:491-496;
- [3] Tomanek R J: Effects of age on the extent of the myocardial capillary bed. *Anat Rec* 1970;167:55-62;
- [4] Unge G, Carlsson S, Ljungqvist A, Tornling G, Adolfsson J: The proliferative activity of myocardial capillary wall cells in variously aged swimming exercised rats. *Acta Pathol Microbiol Scand Sect A Pathol* 1979;87:15-17;
- [5] Hakikila J: Studies on the myocardial capillary concentration in cardiac hypertrophy due to training. *Ann Med Exp Biol Fenn* 1955;10:1-82;
- [6] Breisch EA, White FC, Nimmo LE, Mikirnan MD, Bloor CM: Exercise-induced cardiac hypertrophy: a correlation of blood flow and microvasculature. *J Appl Physiol* 1986;60:1259-1267;
- [7] Lauglin MH, Tomanek RJ: Myocardial capillarity and maximal capillary diffusion capacity in exercise-trained dogs. *J Appl Physiol*. 1987;63:1481-1486;
- [8] Hudlicka O, Tyler KR: Angiogenesis. *The Growth of the vascular system*. London Academic 1986;
- [9] Tharp GD, Wagner CT: Chronic exercise and cardiac vascularisation. *Eur J Appl Physiol* 1982;48:97-104;
- [10] Brown MD: Exercise and coronary vascular remodeling in the healthy heart. *Exp Physiol* 2003;88:645-658;
- [11] Lloyd PG, Yang HT, Terjung RL: Arteriogenesis and angiogenesis in rat ischemic hindlimb: role of nitric oxide. *Am J Physiol HeartCirc Physiol* 2001;281:H2528-H2538;
- [12] White FC, Bloor CM, McKirnan MD, Carroll Susan M: Exercise training in swine promotes growth of arteriolar bed and capillary angiogenesis in heart. *J Appl Physiol* 1998;85:1160-8;
- [13] Michael JB Kutryk, Ducan J Stewart: Angiogenesis of heart. *Microscopy Research and Technique* 2003;60:138-158;
- [14] Prior BM, Yang HT, Terjung RL: What makes vessels grow with exercise training?. *J Appl Physiol* 2004;97:1119-28;
- [15] Djonov V, Baum O, and Burri PH: Vascular remodeling by intussusceptive angiogenesis. *Cell Tissue Res* 2003;314:107-117;
- [16] Hurz H, Burre PH, and Djonov V: Angiogenesis and vascular remodeling by intussusception: from form to function. *News Physiol Sci* 2003;18:65-70;
- [17] Rivilis I, Milkiewicz M, Boyd P, Goldstein J, Brown MD, Egginton S, Hansen FM, Hudlicka O, Haas TL: Differential involvement of MMP-2 and VEGF during muscle stretch- versus shear stress-induced angiogenesis. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2002;283(4):H1430-8;
- [18] Bloor CM: Angiogenesis during exercise and training. *Angiogenesis* 2005;8:263-271;
- [19] Egginton S, Zhou AL, Brown MD, Hudlicka O: Unorthodox angiogenesis in skeletal muscle. *Cardiovasc Res* 2001;49:634-646;
- [20] Haas TL, Milkiewicz M, Davis SJ, Zhou AL, Egginton S, Brown MD, Madri JA., Hudlicka O: Matrix metalloproteinase activity is required for activity-induced angiogenesis in rat skeletal muscle. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2000;279:H1540-H1547;
- [21] Goto F, Goto K, Weindel K, Folkman J: Synergistic effects of vascular endothelial growth factor and basic fibroblast growth factor on the proliferation and cord formation of bovine capillary endothelial cells within collagen gels. *Lab Invest* 1993;69:508-517;
- [22] Wu LW, Mayo LD, Dunbar JD, Kessler KM, Baerwald MR, Jaffe EA, Wang D, Warren RS, Donner DB: Utilization of distinct signaling pathways by receptors for vascular endothelial cell growth factor and other mitogens in the induction of endothelial cell proliferation. *J Biol Chem* 2000;275:5096-5103;
- [23] Matsumoto T and Claesson-Welsh L: VEGF receptor signal transduction. *Sci STKE* 2001;2001:RE21;
- [24] Cucina A, Borrelli V, Randone B, Coluccia P, Sapienza P, Cavallaro A: Vascular endothelial growth factor increases the migration and proliferation of smooth muscle cells through the mediation of growth factors released by endothelial cells. *J Surg Res* 2003;109:16-23;
- [25] Amaral SL, Linderman RJ, Morse MM, Greene AS: Angiogenesis induced by electrical stimulation is mediated by angiotensins II and VEGF. *Microcirculation* 2001;8:57-67;
- [26] Annex BH, Torgan CE, Lin P, Taylor DA, Thompson MA, Peters KG, Kraus WE: Induction and maintenance of increased VEGF protein by chronic motor nerve stimulation in skeletal muscle. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 1998;274:H860-H867;
- [27] Hang J, Kong L, Gu JW, and Adair TH: VEGF gene expression is upregulated in electrically stimulated rat skeletal muscle. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 1995;269:H1827-H1831;
- [28] Breen EC, Johnson EC, Wagner H, Tseng HM, Sung LA, Wagner PD: Angiogenic growth factor mRNA responses in muscle to a single bout of exercise. *J Appl Physiol* 1996;81:355-361;
- [29] Gustafsson T, Puntschart A, Kaijser L, Jansson E, Sundberg CJ: Exercise-induced expression of angiogenesis-related transcription and growth factors in human skeletal muscle. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 1999;276:H679-85;
- [30] Gustafsson T, Knutsson A, Puntschart A, Kaijser L, Nordqvist AC, Sundberg CJ, Jansson E: Increased expression of vascular endothelial growth factor in human skeletal muscle in response to short-term one-legged exercise training. *Pflügers Arch* 2002;444:752-759;
- [31] Richardson RS, Wagner H, Mudaliar SR, Henry R, Noyszewski EA, Wagner PD: Human VEGF gene expression in skeletal muscle: effect of acute normoxic and hypoxic exercise. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 1999;277:H2247-H2252;
- [32] Gavin TP, Robinson CB, Yeager RC, England JA, Nifong LW, Hickner RC: Angiogenic growth factor response to acute systemic exercise in human skeletal muscle. *J Appl Physiol* 2004;96:19-24;
- [33] Hoffner L, Nielsen JJ, Langberg H, Hellsten Y: Exercise but not prostanoids enhance levels of vascular endothelial growth factor and other proliferative agents in humans skeletal muscle interstitium. *J Physiol* 2003;550:217-225;
- [34] Hiscock N, Fischer CP, Pilegaard H et al.: Vascular endothelial growth mRNA expression and arteriovenous balance in response to prolonged, submaximal exercise in humans. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2003;285:H1759-63;
- [35] Gavin TP, Spector DA, Wagner H, Breen EC, Wagner PD: Effect of captopril on skeletal muscle angiogenic growth factor responses to exercise. *J Appl Physiol* 2000;88:1690-1697;
- [36] Gavin TP, Wagner PD: Attenuation of the exercise-induced increase in skeletal muscle Flt-1 mRNA

- by nitric oxide synthase inhibition. *Acta Physiol Scand* 2002;175:201-209;
- [37] Lloyd PG, Prior BM, Yang HT, Terjung RL: Angiogenic growth factor expression in rat skeletal muscle in response to exercise training. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2003;284:H1668-H1678;
- [38] Milkiewicz M, Hudlicka O, Verhaeg J, Egginton S, Brown M D: Differential expression of Flk-1 and Flt-1 in rat skeletal muscle in response to chronic ischaemia: favourable effect of muscle activity. *Clin Sci (Lon)* 2003;105(4):473-82;
- [39] Cunningham SA, Tran TM, Arrate MP, Bjercke R, Brock TA: KDR activation is crucial for VEGF165-mediated Ca<sup>2+</sup> mobilization in human umbilical vein endothelial cells. *Am J Physiol Cell Physiol* 1999;276:C176-C181;
- [40] Vassilakopoulos T, Deckman G, Kebbewar M, Rallis G, Harfouche R, Hussain SN: Regulation of nitric oxide production in limb and ventilatory muscles during chronic exercise training. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2003;284:L452-L457;
- [41] Zinche M, Morbidelli L: Nitric oxide and angiogenesis. *Journal of Neuro-Oncology* 2000;50:139-148;
- [42] Papapetropoulos A, Garcia-Cardena G, Madri JA, Sessa Wc: Nitric oxide production contributes to the angiogenic properties of vascular endothelial growth factor in human endothelial cell *J Clin Invest* 1997;100(12):3131-9;
- [43] Morbidelli L, Chang C-H, Douglas JG, Granger HJ, Ledda F, Ziche M: Nitric oxide mediates the mitogenic effect of VEGF on coronary venular endothelium. *Am J Physiol* 1996;270(39):H411-H415;
- [44] Murohara T, Asahara T, Silver M, Bauters C, Masuda H, Kalka C, Kearney M, Donghui C, Dongfen C, Symes J, Fishman M C, Huang P L, Isner J M: Nitric Oxide Synthase Modulates Angiogenesis in Response to Tissue Ischemia. *J Clin Invest* 1998;101(11):2567-2578;
- [45] Bellafiore M, Battaglia G, Palumbo D, Macaluso F, Bianco A, Palma A, Farina F: Effetti dell'allenamento di endurance sulla microvascolarizzazione del miocardio di topo. XXII Congresso Nazionale Associazione Nazionale Specialisti in Medicina Dello Sport "G. D'Annunzio" 2006;
- [46] Stavri GT, Zachary IC, Baskerville PA, Martin JF, Erusalimsky JD: Basic fibroblast growth factor upregulates the expression of vascular endothelial growth factor in vascular smooth muscle cells: synergistic interaction with hypoxia. *Circulation* 1995;92:11-14;
- [47] Babaei S, Teichert-Kuliszewska K, Monge JC, Mohamed F, Bendeck MP, Stewart DJ: Role of nitric oxide in the angiogenic response in vitro to basic fibroblast growth factor. *Circ Res* 1998;82:1007-1015;
- [48] Deschenes MR, Ogilvie RW: Exercise stimulates neovascularization in occluded muscle without affecting bFGF content. *Med Sci Sports* 1999;31:1599-604;
- [49] Egginton S, Hudlicka O, Brown MD, Walter H, Weiss JB, Bate A: Capillary growth in relation blood flow and performance in overloaded rat skeletal muscle. *J Appl Physiol* 1998;85:2025-32;
- [50] Gigante B, Tarsitano M, Cimini V, De Falco S, Persico MG: Placenta growth factor is not required for exercise-induced angiogenesis. *Angiogenesis* 2004;7:277-84;
- [51] Gale NW and Yancopoulos GD: Growth factors acting via endothelial cell-specific receptor tyrosine kinases: VEGFs, angiopoietins, and ephrins in vascular development. *Genes Dev* 1999;13:1055-1066;
- [52] Yamaguchi M, Yatsuyanagi E, Yun SS, Nakajima N, Madri JA, Sumpio BE: Cyclic strain stimulates early growth response gene product 1-mediated expression of membrane type 1 matrix metalloproteinase in endothelium. *Lab Invest* 2002;82(7):949-56;
- [53] Shweiki D, Itin A, Soffer D, Keshet E: Vascular endothelial growth factor induced by hypoxia may mediate hypoxia-initiated angiogenesis. *Nature* 1992;359:843-845;
- [54] Gerber HP, Condorelli F, Park J, Ferrara N: Differential transcriptional regulation of the two vascular endothelial growth factor receptor genes. Flt-1, but not Flk-1/KDR, is upregulated by hypoxia. *J Biol Chem* 1997;272:23659-23667;
- [55] Frank J, Palmer L A, Zhou N, Johns R A: Hypoxic Regulation of Inducible Nitric Oxide Synthase via Hypoxia Inducible Factor-1 in Cardiac Myocytes. *Circ Res* 2000;86:319-325;
- [56] Wang Y, Chang JM, Li YC, Li YS, Shyy JY, Chien S: Shear stress and VEGF activate IKK via Flk-1/Cbl/Akt signaling pathway. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2004;286:H685-H692;
- [57] Zhou AL, Egginton S, Brown MD, Hudlicka O: Capillary growth in overloaded, hypertrophic adult rat skeletal muscle: an ultrastructural study. *Anat Rec* 1998;252:49-63;
- [58] Chang H, Wang BW, Kuan P, Shyu KG: Cyclic mechanical stretch enhances angiopoietin-2 and Tie2 receptor expression in cultured human umbilical vein endothelial cells. *Clin Sci (Lond)* 2003;104:421-428;
- [59] Hudlicka O, Brown M, Egginton S: Angiogenesis in skeletal and cardiac muscle. *Physiol Rev* 1992;72:369-417;
- [60] With FC, Carroll SL, Magnet A et al: Coronary collateral development in the swine after coronary artery occlusion. *Circ Res* 1992;71:1490-500
- [61] Hastings AB, White FC, Sanders TM, Bloor CM: Comparative physiological responses to exercise stress. *J Appl Physiol* 1982;52:1077-1083;
- [62] Skalak TC, Price RJ, Zeller PJ: Where do new arterioles come from? Mechanical forces and microvessel adaptation. *Microcirculation* 1998;5:91-100.
- [63] Zheng W, Brown MD, Brock TA, Bjercke RJ, Tomanek RJ: Bradycardia-induced coronary angiogenesis is dependent on vascular endothelial growth factor. *Circ Res* 1999;85(2):192-8;
- [64] Nilsen TS (NOR), Daigneault T (CAN), Smith M (USA): General Fitness Training;
- [65] Shephard RJ, MD, PhD, DPE, Balady GJ, MD: Exercise as Cardiovascular Therapy. *Circulation*. 1999;99:963-972;
- [66] Martin WH 3rd, Kohrt WM, Malley MT, Korte E, Stoltz S: Exercise training enhances leg vasodilatory capacity of 65-yr-old men and women. *J Appl Physiol* 1990;69:1804-1809;
- [67] Coggan AR, Spina RJ, King DS, Rogers MA, Brown M, Nemeth PM, Holloszy J O: Skeletal muscle adaptations to endurance training in 60- to 70-yr-old men and women. *J Appl Physiol* 1992;72:1780-1786;
- [68] Tomanek R J, PhD: Age as Modulator of Coronary Capillary Angiogenesis. Editorial Comment;
- [69] DeSouza CA, Shapiro LF, Clevenger CM, Dinunno FA, Monahan KD, Tanaka H, Seals DR: Regular aerobic exercise prevents and restores age-related declines in endothelium-dependent vasodilation in healthy men. *Circulation* 2000;102:1351-1357;
- [70] Charles MN, Charifi J, Verney V, Pichot L, Feasson F, Costes and C Denis: Effect of endurance training on muscle microvascular filtration capacity and vascular bed morphometry in the elderly. *Acta Physiol* 2006;187:399-406.

## **La protesi d'anca: quando, perché e come farla** **The Hip Prosthesis: know-how**

Dr. Alessandro Geraci  
Ortopedia e Traumatologia, Palermo.  
E-mail: geracialessandro@libero.it

### **ABSTRACT**

La sostituzione protesica dell'anca è il risultato di un connubio inscindibile tra ingegneria biomeccanica e chirurgia ortopedica; è, insomma, la espressione massima della evoluzione sia della tecnica chirurgica, sia della tribologia dei materiali. Oggi le protesi a disposizione dell'ortopedico sono molte e differenti per disegno, materiale, rivestimento, tipo di fissazione e meccanica. Questa varietà determina nella scelta esitazione e perplessità, da anni oggetto di dibattiti, discussioni, sperimentazioni. Lo scopo di questo lavoro è quello di illustrare le varie proposte che fino ad oggi si sono fatte e si fanno sul modo di concepire la protesi d'anca nella sua complessa costituzione meccanica e nella sua efficienza anatomica.

**PAROLE CHIAVE:** protesi d'anca, stelo femorale, coppa acetabolare, osteointegrazione.  
**KEYWORDS:** Hip Prosthesis, femoral stem, acetabular cup, osteointegration.

CAPSULA EBURNEA, 1,11: 1-11, 2006.

### **Introduzione**

L'intervento di artroprotesi totale d'anca rappresenta uno dei maggiori successi della moderna ortopedia in grado di rivoluzionare la progressione di numerose patologie invalidanti, garantendo il ripristino della funzionalità articolare, l'abolizione della sintomatologia dolorosa, e in ultimo, non certo per importanza, il miglioramento della qualità di vita dei pazienti.

Grazie al continuo miglioramento delle tecniche chirurgiche, delle caratteristiche degli impianti e della esperienza dei chirurghi, il numero di interventi è in continuo aumento nel nostro Paese come nel resto del mondo.

Protesizzare un'anca significa sostituire l'articolazione coxo-femorale naturale, formata dalla cavità acetabolare e dalla testa del femore, con una articolazione artificiale (fig. 1)

Esistono tre tipi di intervento di sostituzione protesica dell'anca:

1) la sostituzione totale (artroprotesi), che prevede di intervenire su entrambe le componenti articolari, acetabolare e femorale (fig. 2).

2) la sostituzione parziale (endoprotesi), che prevede di mantenere l'acetabolo naturale e di sostituire solo la componente femorale sia con uno stelo intramidollare, sia con una testa di grandezza simile alla testa femorale appena sostituita che si articola direttamente con il cotile anatomico

(fig. 3).

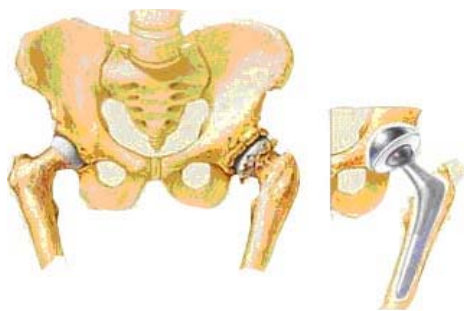
3) il reintervento (revisione) che prevede la sostituzione di una protesi precedentemente impiantata.

In passato le artroprotesi e le endoprotesi venivano fissate nel supporto osseo solo utilizzando un collante, il cosiddetto "cemento" (polimetilmetacrilato); oggi, invece, con lo sviluppo dei materiali e lo studio degli osteoconduttori, il dispositivo artificiale può essere impiantato senza utilizzare il cemento, ma sfruttando la capacità della protesi di far crescere osso sulla sua superficie e negli anfratti della sua forma (1).

### **Epidemiologia**

Ogni anno vengono effettuati in Italia circa 80.000 interventi di sostituzione protesica dell'anca. La tabella 1 riporta la loro suddivisione del tipo di intervento e del numero dei pazienti per anno in Italia (2).

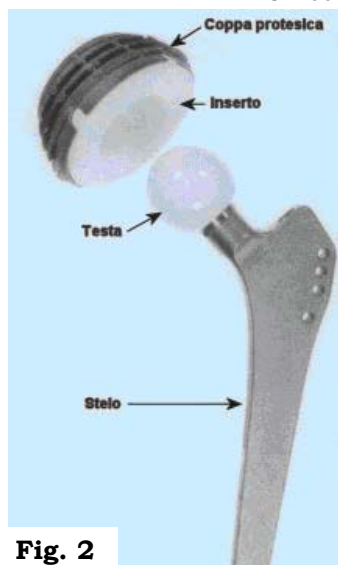
Come si può osservare nella tabella, si registra un andamento crescente del numero degli interventi effettuati annualmente, tendenza certamente dovuta una parte all'aumento dell'aspettativa di vita e alla stretta correlazione che esiste tra l'insorgenza delle patologie articolari dell'anca e l'avanzare dell'età, dall'altra ai continui miglioramenti apportati sia alla tecnica chirurgica, sia alle caratteristiche dei dispositivi impiantati che permettono di effettuare interventi su pazienti sempre



**Fig. 1**

Figura 1: Disegno di anca artrosica monolaterale sostituita con una protesi totale

Figura 2: componenti di una artroprotesi



**Fig. 2**



**Fig. 3**

Figura 3: Disegno di endoprotesi. La testa dello stelo femorale si articola direttamente con l'acetabolo

più giovani.

Nella tabella 2 vengono riportati i dati relativi alla regione Sicilia.

**Anatomia clinica dell'articolazione coxo-femorale**

L'articolazione coxo-femorale, detta anche articolazione dell'anca, è una diartrosi appartenente alla famiglia delle enartrosi (articolazione mobile a forma di sfera con le superfici articolari complementari, una concava e l'altra convessa) che ha per superficie articolare da una parte una superficie sferica e convessa, la testa del femore, dall'altra una superficie sferica e concava,

la cavità cotiloidea o acetabolo dell'osso iliaco.

Le superfici articolari non sono perfettamente corrispondenti; un cerchione fibrocartilagineo (detto labbro glenoideo o cerchione del cotile), disposto sul contorno della cavità cotiloidea a guisa di un anello, provvede ad ampliare la superficie della cavità ed a renderla atta a contenere la testa del femore (fig. 4)

I mezzi di unione tra i due capi articolari (cotile e testa del femore) sono rappresentati dalla capsula articolare, dai tre legamenti di rinforzo, dal legamento rotondo.

Altro importante elemento articolare è rap-

**Tabella 1: numero di interventi di protesizzazione d'anca effettuati in Italia dal 1999 al 2003 in base al tipo di intervento ( rapporti istisan 05/18 in base alle schede di dimissione ospedaliera)**

Denominazione	1999	2000	2001	2002	2003
sostituzione totale dell'anca	42.198	44.001	45.431	48.531	51.448
Sostituzione parziale dell'anca	19.167	20.267	20.643	21.328	21.030
Revisione di sostituzione dell'anca	5.010	5.421	5.517	5.918	5.951
totale	66.375	69.685	71.591	75.777	78.429

**Tabella 2: numero di interventi di protesizzazione d'anca effettuati Sicilia nel 2002 e 2003 in base al tipo di intervento ( rapporti istisan 05/18 in base alle schede di dimissione ospedaliera)**

Denominazione	2002	2003
sostituzione totale dell'anca	1.851	2.150
Sostituzione parziale dell'anca	1.641	1.630
Revisione di sostituzione dell'anca	197	252
<b>totale</b>	<b>3.689</b>	<b>4.032</b>

presentato dal legamento rotondo (o legamento della testa femorale); esso è una piccola benda fibrosa situata all'interno dell'articolazione; è lunga circa 3-3,5 cm ed è caratterizzato nel suo spessore da una arteriola che irrorava la testa del femore. Questo legamento ha origine dall'incisura acetabolare e dal margine inferiore del legamento trasverso dell'acetabolo e ha termine nella fossetta della testa del femore (fovea capitis).

#### Indicazioni alla protesizzazione d'anca

L'intervento elettivo di protesi d'anca viene praticato principalmente allo scopo di alleviare il dolore, la rigidità, la deformità, la limitazione funzionale causati dalle malattie che colpiscono l'articolazione dell'anca. Sir Charnley, negli anni 70, indicava come soggetto a cui impiantare selettivamente una artroprotesi d'anca il "paziente con età maggiore di 65 anni, sedentario ed affetto da coxartrosi primaria" (3). Da allora di strada se ne è certamente fatta tanta dal punto di vista sia del miglioramento delle tecniche chirurgiche sia dei materiali usati.

Oggi, come già affermato nel 1994 dal Consensus Conference (4) dell'Istituto Nazionale Americano della Sanità, l'indicazione ad una protesi d'anca è rappresentata da "dolore e limitazione funzionale moderati o gravi, associati all'evidenza radiografica di una compromissione articolare, e che non sono stati sostanzialmente modificati da un ciclo completo di tratta-

menti non chirurgici" (5).

Ormai, grazie alla evoluzione della tecnica di revisione, non si guarda al paziente anziano (maggiore di 65 anni) come unico soggetto a cui indicare una protesi d'anca, ma ad una fascia di età molto più larga visto che lo scopo di questa tecnica chirurgica è quello di migliorare la qualità di vita di ogni paziente di qualsiasi età (6).

L'età del paziente, secondo molti, rimane un parametro fondamentale da valutare nel porre l'indicazione all'impianto di artroprotesi d'anca. Infatti la durata delle protesi risulta tuttora limitata nel tempo per la usura dei materiali.

In letteratura si evidenzia come i dati del registro svedese, riferiti agli impianti eseguiti dal 1987 al 1997, abbiano portato alla luce come la percentuale di revisione a 10 anni nei pazienti con età inferiore a 55 anni sia nettamente superiore ai soggetti con una età maggiore. Ecco perché si ritiene che una protesi all'anca sia più indicata nei soggetti con una età maggiore di 60 anni, relativamente indicata nei soggetti tra 50-60anni, indicata in casi particolari in pazienti con età inferiore a 50 anni.

Attualmente le patologie che possono richiedere un artroprotesi di anca si distinguono in:

a) patologie con indicazioni elettive: artrosi primaria e secondaria (7) in stadio avanzato, artrite reumatoide, osteonecrosi asettica della testa del femore, spondilite anchilopoietica, artropatia psoriasica, frattura mediale collo femore in età superiore a 60 anni, lesioni tumorali metastatiche.

b) patologie con indicazioni relative: artrite reumatoide giovanile, malattia Paget, tumori ossei primitivi, frattura mediale collo femore in età minore di 60 anni, esiti artriti (tubercolosi ossea, osteomielite), esiti di artrodesi, displasia dell'anca, fratture dell'acetabolo (8).

Queste cause, sebbene diverse, alterano tutte la struttura morfofunzionale dell'articolazione dell'anca provocando invalidità con dolore, impotenza e zoppia.

Queste caratteristiche semeiologiche possono essere ponderate e quantificate tramite sistemi di valutazione a punteggio che uniscono i risultati di una buona anamnesi ad un corretto esame obiettivo del paziente. Tra queste scale valutative bisogna ricordare: la Womac, l'Harris hip score, la S-F 36 (9).

Alla semeiologia si associa la ricerca ra-

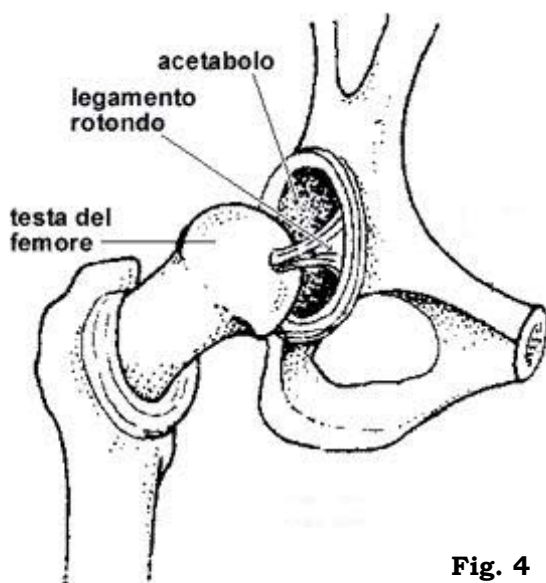


Fig. 4

Figura 4: schema della articolazione dell'anca

diografica dell'articolazione coxo-femorale, che visualizza e consente di studiare le patologie dell'articolazione, evidenziando eventuali alterazioni morfologiche. Per approfondire la ricerca diagnostica vengono in aiuto la TC spirale e la RM che riescono a svelare situazioni anatomiche e/o patologiche non ben distinguibili con la radiografia convenzionale. Per un esempio radiografico di paziente prima e dopo l'intervento, si veda la fig. 5)

### Controindicazioni

Allo stato attuale l'unica controindicazione assoluta all'intervento di artroprotesi d'anca è rappresentata dalla presenza di una infezione attiva sia locale che sistemica.

Le controindicazioni relative, nelle quali solo la presenza di un dolore severo, refrattario a qualsiasi terapia, può giustificare l'intervento sono: una artropatia neurogena (es: artropatia di Charcot) che provoca una atrofia irreversibile dei muscoli dell'anca; un paziente con aspettativa di vita inferiore ad un anno; un paziente con malattia psichiatrica che rende impossibile la collaborazione nel post-operatorio.

### Le protesi

Lo scopo di una articolazione artificiale è quello di realizzare un sistema che, in accordo con la cinetica fisiologica, consenta di sopportare i carichi, minimizzare l'usura e l'attrito, garantendo la necessaria stabilità ed evitando l'insorgere di reazioni dannose nell'organismo (10,11).

Nel progettare, realizzare ed impiantare una protesi d'anca, occorre tenere in considerazione le specifiche anatomiche, funzio-

nali e di biocompatibilità di un tale dispositivo (12). Quindi una protesi d'anca deve:

- a) consentire i gradi di libertà rotazionali permessi dall'articolazione naturale tra femore e bacino;
- b) resistere alla fatica meccanica derivante dall'applicazione ciclica del carico durante il passo. In genere si ritiene che l'articolazione dell'anca sia sottoposta a circa 10 milioni di cicli di carico in 10 anni da un soggetto che conduce una normale attività;
- c) avere delle superfici articolari resistenti all'usura o comunque tali per cui l'usura non produca danni funzionali né induca risposte indesiderate dei tessuti ospiti;
- d) essere fabbricata con materiali biocompatibili nel senso che non devono indurre alterazioni o reazioni indesiderate dei tessuti ospiti, o devono provocare una risposta biologica che favorisca la stabilità meccanica tra protesi e bacino;
- e) garantire la stabilità meccanica delle interfacce sia subito dopo l'impianto (stabilità primaria) sia nel tempo (stabilità secondaria);
- f) avere un corretto modulo elastico, cioè avere una elasticità simile a quella dell'osso ospite perché una elasticità inferiore tende a creare una microinstabilità, mentre una elasticità maggiore porta all'effetto opposto.

L'obiettivo è dunque tentare di ricostruire un'articolazione il più vicino possibile, dal punto di vista biofunzionale, all'acetabolo ed al femore anatomico (13); oggi si ha la possibilità di restituire una funzione articolare "parafisiologica" con una durata nel tempo ancora limitata.

L'intervento di protesizzazione d'anca viene effettuato dal 1960, lungo le vie e le metodiche chirurgiche segnate dal Prof. Sir. Charnley (14). Negli ultimi 40 anni sono stati sviluppati numerosi tipi di componenti acetabolari e femorali, sia per materiali che per forma.

### Componente acetabolare

La scelta della geometria della componente acetabolare deve tenere conto dell'analisi della forma e delle caratteristiche della struttura anatomica che deve ricevere l'impianto. La geometria dell'acetabolo protesico deve essere tale da inserirsi al meglio nell'acetabolo osseo, sia dal punto di vista anatomico, che fisiologico (15). Infatti qualsivoglia impianto protesico articolare

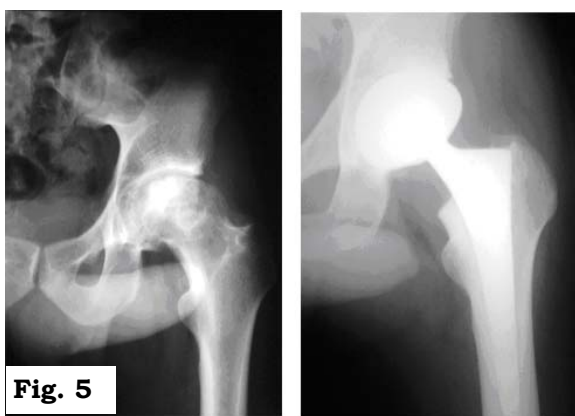


Fig. 5

Figura 5: radiografia di paziente (M 72a) con coxoartrosi avanzata, prima e dopo l'intervento.

altera la distribuzione dei carichi a cui il segmento osseo limitrofo era assoggettato prima dell'impianto stesso; questa alterazione genera processi di rimodellamento osseo ("stress shielding") fisiologicamente determinati a mantenere stabile la protesi e ad evitare la sua mobilizzazione.

Il cotile protesico, dovendosi adattare alla forma emisferica dell'acetabolo anatomico, può avere una forma emisferica, ellissoide o a tronco di cono, a cui si possono aggiungere delle armature di sostegno e delle viti o fitoni per garantire al massimo la stabilità del sistema (16).

Lo spessore della coppa cotiloidea può essere vario e a seconda dello spessore cambia l'angolo di movimento del femore; per esempio un diametro di 32mm implica un angolo di 106°, invece uno di 22mm un angolo di 90° (vedi fig. 6).

Attualmente i materiali più utilizzati sono: 1) il Polietilene Ad Alto Peso Molecolare (UHMWPE). L'UHMWPE è un materiale polimerico di sintesi che ha una elevata resistenza all'usura e all'urto, ha una ottima biocompatibilità e coefficiente di attrito (17). L'esperienza clinica ha tuttavia mostrato che il polietilene subisce in vivo fenomeni di usura (soprattutto quando la testa del femore è di metallo) dell'ordine degli 0,1-0,3 mm/anno in termini di usura lineare (sprofondamento della testa femorale all'interno della coppa acetabolare) o 50-100 mm<sup>3</sup> in termini di usura volumetrica. Nelle componenti protesiche in polietilene l'usura è essenzialmente di tipo abrasivo. L'usura abrasiva si verifica quando i materiali che scorrono l'uno sull'altro (come in una articolazione artificiale) hanno differente durezza, per cui il materiale più duro (es.: metallo e/o ceramica della testa femorale protesica) asporta per sfregamento particelle dell'altro (es.: polietilene

del cotile protesico) (18).

2) la Ceramica (l'alluminia ceramica o lo zircono ceramica). I materiali ceramici presentano aspetti positivi come: la biocompatibilità, la non corrosione, la stabilità (non degradabili nel tempo), la rigidità (sollecitati non sono soggetti a grossi cambiamenti dimensionali), la elevata resistenza all'abrasione. Esistono anche aspetti problematici; infatti le coppe acetabolari in materiale ceramico: sono fragili e possono andare incontro a rottura; tendono a mobilizzarsi se cementate direttamente all'osso del bacino; danno rigidità all'articolazione se accoppiati ad una testa femorale in ceramica. Per superare questi inconvenienti le coppe sono state dotate di un guscio metallico ed di un inserto in UHMWPE tra guscio e coppa.

3) i Metalli. Il metallo che veniva originariamente utilizzato era l'acciaio; questo è stato poi completamente sostituito dalle leghe cromo-cobalto (Co-Cr-Mo e Co-Ni-Cr-Mo) prima, e dal titanio e le sue leghe (es: Ti-Al-Va-64) dopo. Anche il tantalio e il niobio possono essere utilizzati per la realizzazione di impianti cotiloidei, anzi, negli ultimi cinque anni, si sono apprezzati le ottime caratteristiche di biocompatibilità del tantalio. Oggi la maggior parte dei cotili è in lega di titanio. I requisiti che qualsiasi metallo, destinato ad essere impiantato nel corpo umano, deve avere, sono: assenza di fenomeni infiammatori, stabilità dimensionale sotto carico, assenza di corrosione sotto stress, elevato modulo elastico, elevato carico di snervamento tale da sopportare grossi carichi senza grandi deformazioni elastiche e plastiche permanenti (19).

Le coppe acetabolari possono essere di 2 modelli (20): 1) coppe monoblocco (sono cotili costituiti da un'unica struttura o in metallo o in polietilene), 2) coppe modulari

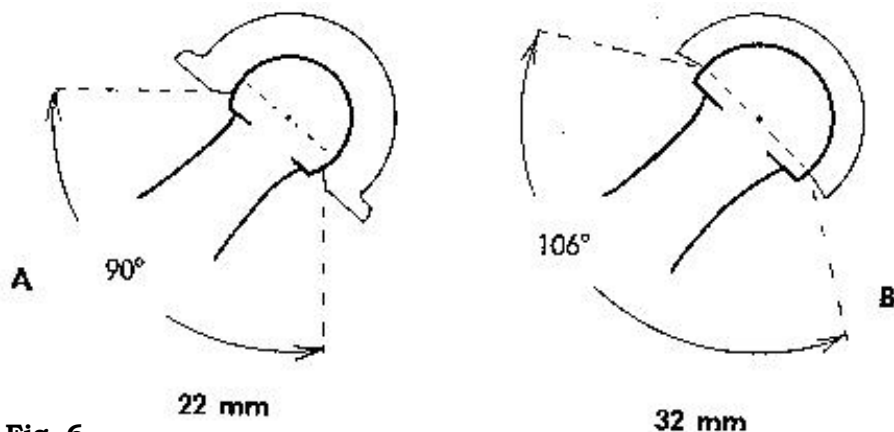


Fig. 6

Figura 6: questa immagine schematica mostra come a seconda dello spessore del cotile, possa cambiare il range dell'angolo dell'articolazione e pertanto del movimento del femore.

(sono cotili formati da due parti: una coppa con rinforzo metallico che si fissa all'osso e che accoglie una coppa interna in polietilene o di ceramica che si articolerà con la testa femorale artificiale).

Gli acetaboli protesici possono essere fissati al bacino tramite:

1) Cementazione: utilizzando come collante il polimetilmetacrilato che ha la doppia funzione di unire la protesi all'osso e di migliorare la distribuzione dei carichi durante gli sforzi che subisce la protesi durante il passo (21). Il vantaggio dell'utilizzo dei cotili cementati è rappresentato dalla stabilità immediata e perfetta dell'impianto; il paziente può, infatti, riprendere immediatamente l'appoggio e la marcia. Si usa la cementazione quando la qualità e quantità dell'osso sono insufficienti a garantire una adeguata stabilità primaria ad un impianto non cementato(es: nel caso dell'osteoporosi severa o dell'artrite reumatoide).

2) Non Cementazione: I cotili non cementati vengono fissati direttamente sulla struttura ossea senza interposizione di alcun materiale cementante. Il principio di questi cotili è quello di ottenere un ancoraggio dell'impianto per ricrescita ossea che avviene nelle anfrattuosità del rivestimento

della superficie della protesi. Il contatto diretto tra osso e protesi crea un legame biologico tra le due componenti in modo che l'osso, una volta accettato il corpo estraneo biocompatibile, lo ritenga parte di sé, lo invada ("bone ingrow") nella superficie esterna diventando così un tutt'uno con la protesi (22-24). Si parla in questo senso di "osteointegrazione" (25). questa modalità di fissazione può essere data tramite (26): o "PREESS-FIT" (cotile pressato con forza nell'acetabolo osseo previa fresatura dello stesso) (27,28); o ESPANSIONE (cotile aperto all'interno della cavità ossea e fissato ad esso tramite delle alette mobili che si infiggono nelle pareti dell'acetabolo); o AVVITAMENTO (il cotile è avvitato all'interno della cavità emisferica dell'acetabolo osseo) (29). Per esempi di cotili protesici, si veda la fig. 7.

#### Componente femorale

La maggior parte delle protesi femorali consiste in una testa femorale protesica e di uno stelo femorale protesico che occupa la cavità midollare della diafisi femorale anatomica.

Attualmente sono in uso solamente steli femorali in metallo (acciaio inossidabile,

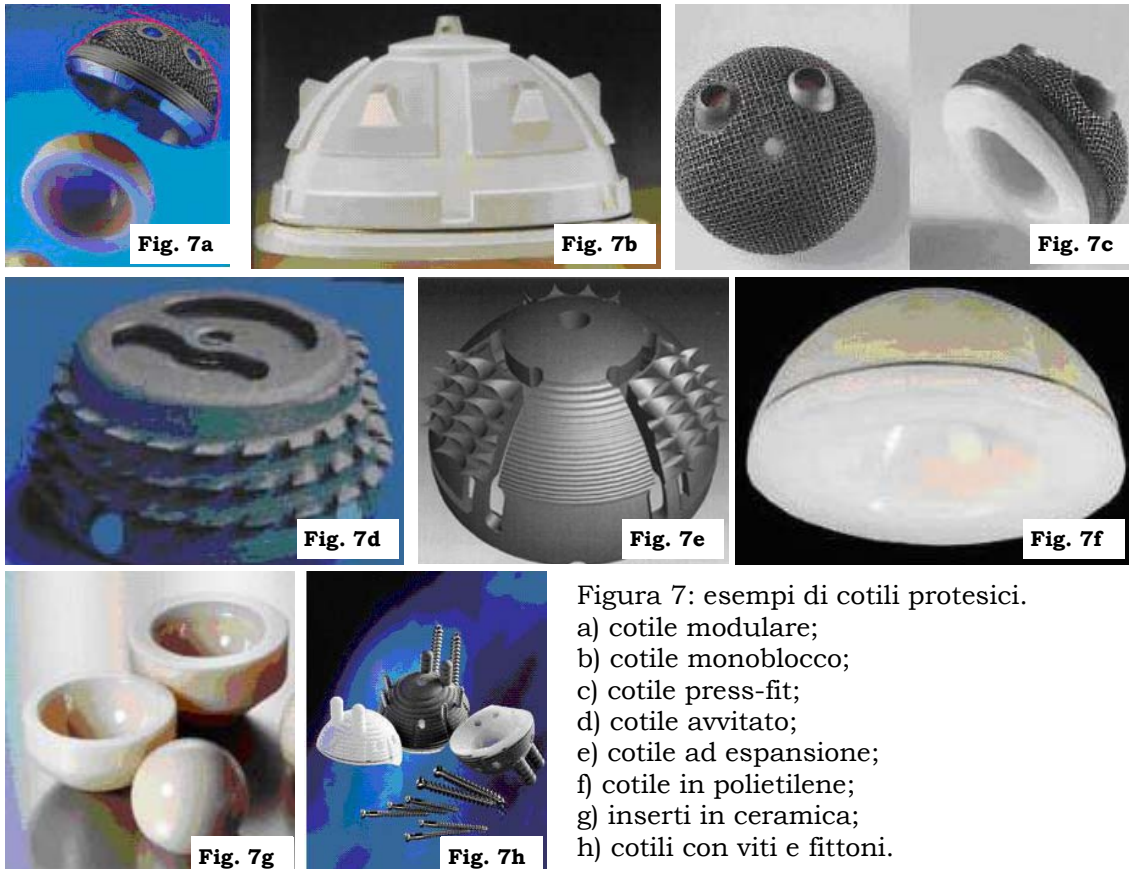


Figura 7: esempi di cotili protesici.

- a) cotile modulare;
- b) cotile monoblocco;
- c) cotile press-fit;
- d) cotile avvitato;
- e) cotile ad espansione;
- f) cotile in polietilene;
- g) inserti in ceramica;
- h) cotili con viti e fittoni.

leghe cromo-cobalto-molibdeno, leghe di titanio) e teste femorali in ceramica o metallo. La superficie dello stelo può essere liscia, quando lo stelo viene cementato alla superficie ossea, o ruvida (perché rivestita da idrossiapatite) quando si vuole osteointegrare biologicamente la protesi all'osso senza interposizione di cemento (30).

Gli steli femorali non si suddividono solo per il materiale o il rivestimento con cui sono formati (31), ma anche e soprattutto per la forma, le dimensioni, la lunghezza, la curvatura, l'antiversione perché si devono adattare al meglio nella diafisi femorale ospite.

Gli steli femorali possono essere: 1) steli monoblocco, quando la testa e lo stelo vengono forgiati in un pezzo unico; 2) steli modulari, quando la protesi femorale è costituita da più parti distinte e separate tra di loro accoppiabili e scegliibili a seconda del caso (fig. 8)

Oggi le protesi femorali più utilizzati sono quelle modulari in cui allo stelo femorale si unisce a livello del suo collo una testina femorale (che imita la testa femorale anatomica) di cui si può scegliere il materiale, il diametro, l'altezza dal collo femorale.

Il diametro della testa può variare considerevolmente da una protesi all'altra; le più usate sono quelle di 22, 24, 26, 28 e 32 mm. Il diametro del collo e della testa sono responsabili dell'entità del contatto tra il collo dello stelo e la coppa. Questo sarà maggiore quando la differenza tra le dimensioni del collo e il diametro della testa sarà lieve. Una grande differenza aumenterà le possibilità di movimento e ridurrà il contatto tra la testa femorale e la rima della coppa. Ridurrà inoltre il rischio dell'usura del polietilene (se la coppa è di polietilene)

Figura 8: in questa immagine vengono mostrati due esempi di steli femorali:

- a) stelo modulare;
- b) stelo monoblocco



**Fig. 8a**



**Fig. 8b**

o del collo (se la coppa è di metallo o ceramica). Limitando il contatto tra il collo e la coppa, si ridurrà anche lo stress meccanico che può determinare una mobilizzazione asettica. Le teste femorali di 22 mm presentano una maggiore tendenza a lussarsi rispetto a quelle di 28 mm e più ancora a quelle di 32 mm.

Di solito ad una testina in metallo si accoppia un inserto cotiloideo in polietilene o metallo; ad una testina in ceramica un inserto in ceramica o polietilene. Anche lo stelo femorale, come il cotile protesico, può essere fissato all'osso tramite cemento o osteointegrazione per le ragioni già menzionate.

Il vantaggio principale dell'utilizzazione di cemento è la qualità eccellente del fissaggio primario (32), in particolare della componente femorale, a condizione che si sia usata una tecnica corretta, come prima ricordato. Inoltre migliora la distribuzione dello stress da carico nell'osso perché aumenta l'area di contatto tra la protesi cementata e l'osso (fig. 9)

Due sono gli svantaggi della protesi cementata. Sono stati riportati, anche se raramente, incidenti cardiopolmonari al momento dell'introduzione del cemento. L'uso di cemento dà origine a due superfici di contatto: tra osso e cemento e tra protesi e cemento. L'elasticità non è la stessa per l'osso, per il cemento e per la protesi, per cui questi materiali non avranno gli stessi micromovimenti a ogni interfaccia (33).

Per avere una buona fissazione senza usare cemento, è essenziale ottenere una buona compenetrazione della protesi con il tessuto osseo (34). Sono necessari vari presupposti perché si verifichi una buona penetrazione di tessuto osseo nella protesi. L'osso deve possedere buone proprietà osteogene, la fissazione primaria deve essere perfetta per limitare i micromovimenti tra l'osso e la protesi e il rivestimento della superficie delle componenti deve permettere la penetrazione del tessuto osseo (35,36) (fig. 9)

Il miglioramento del disegno e del rivestimento delle superfici con l'aggiunta di idrossiapatite ha dato risultati simili a quelli delle protesi cementate. Il numero delle mobilizzazioni sintomatiche dopo 10 anni attualmente si aggira sul 2-4%, ma qualche volta può insorgere dolore nell'anca nei primi 3-6 mesi successivi all'intervento.

**Le protesi ibride**

Per motivi meccanici la fissazione senza cemento dell'acetabolo è più facile di quella della componente femorale senza cemento. Alcuni chirurghi usano metodi di fissazione diversi per la coppa e per la componente femorale. Di solito, la coppa viene fissata senza cemento e lo stelo viene cementato: le protesi di questo tipo sono considerate ibride.

**Pianificazione preoperatoria**

Lo scopo del piano preoperatorio è quello di analizzare il sito su cui si agirà chirurgicamente e in base a questo di scegliere il tipo di protesi da impiantare (37).

Si deve :

- determinare la sede di ancoraggio ideale;
- stabilire il corretto posizionamento della protesi per una buona ricostruzione biomeccanica;
- correggere eventuali dismetrie;
- determinare in linea di massima la taglia della protesi.

A tale scopo bisogna tener conto di:

- un esame radiografico del bacino con anche in proiezione antero-posteriore, a mt. 1,15 di distanza focale;
- un esame radiografico in assiale dell'anca interessata;
- strumenti, quali maschere trasparenti del cotile e dello stelo della protesi (phantoms), pennarelli colorati, carta da ricalco, goniometro (fig. 10)

Sulla radiografia del bacino in proiezione antero-posteriore si disegnano tre linee orizzontali: la linea bisischiatica, la sovracetabolare e la bitrocanterica tra i due piccoli

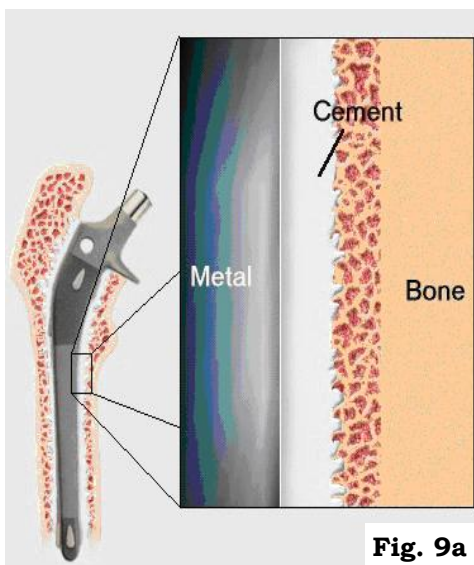
trocantere.

Se le tre linee risultano parallele tra loro, si deduce che non esiste alcuna dismetria. Nel caso in cui tutte e tre le linee risultino tra loro divergenti, la dismetria avrà una origine combinata, determinata sia dalla deformazione cotiloidea sia da quella del collo femorale. Divergenze isolate delle suddette linee orientano verso alterazioni, ora della componente acetabolare, ora del collo femorale.

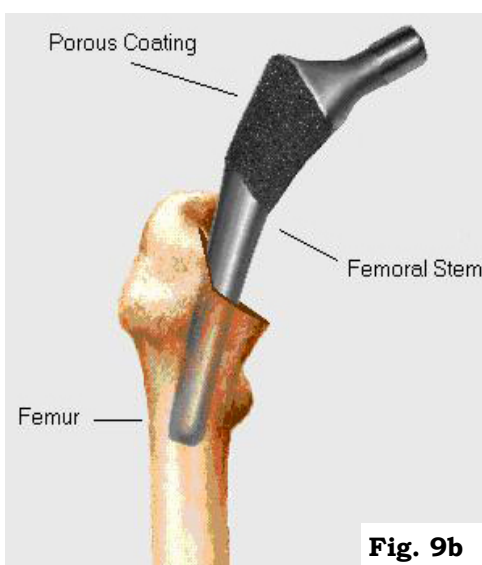
Mediante l'ischiometro di Muller si determina il centro di rotazione della testa femorale controlaterale quando questa è sana, e si quantizza la distanza dalla "U radiologica" (acetabolo radiologico); bisogna, a questo proposito, ricordare che l'immagine a lacrima corrisponde con la sua branca laterale alla corticale della fossa acetabolare al terzo medio-anteriore dell'incisura dell'acetabolo e quella mediale alla corticale della porzione più anteriore della lamina quadrilatera.

Si comprende così quanto sia importante determinare la distanza tra il margine mediale ed inferiore dell'acetabolo e l'immagine a lacrima, al fine di avere una idea di quanto sia possibile scavare il cotile senza rischiare di interrompere la lamina quadrilatera.

Successivamente si prendono in considerazione i parametri clinici e radiografici per scegliere il tipo di protesi da impiantare; i parametri da prendere in esame sono il sesso, l'età, l'indice di Sigh (che determina il grado di osteoporosi) e l'indice morfologico-corticale (I.M.C.). Si decide in questo modo se è possibile utilizzare una protesi a fissazione biologica e, grazie alla determi-



**Fig. 9a**



**Fig. 9b**

Figura 9: in queste immagini vengono mostrati due disegni schematici di due steli, rispettivamente: a) cementati b) non cementati

(web resource from: [www.the-health-pages.com](http://www.the-health-pages.com)).

nazione dell'indice morfo-corticale, si può individuare il tipo di ancoraggio biologico per l'acetabolo e per il femore. L'indice morfo-corticale ci consente di determinare lo spessore delle due corticali e la morfologia del femore. Tale indice è espresso dal rapporto esistente tra distanza delle due corticali esterne (laterali e mediali) a livello del piccolo trocantere e distanza tra le due corticali interne al di sotto del piccolo trocantere.

Molte volte all'indagine radiografica per il "planning pre-operatorio" bisogna associare l'esame TC, soprattutto quando vi sono dei limiti proiettivi dell'esame RX convenzionale. La TC è usata specie nello studio della morfometria acetabolare e del canale diafisario femorale. Per esempio, quando vi è un disformismo acetabolare con spessori irregolari delle pareti dell'acetabolo, la TC è uno strumento utile ed indispensabile nel calcolo dell'angolo di versione del cotile e quindi nella pianificazione del giusto posizionamento chirurgico della componente acetabolare protesica.

Dopo aver studiato e valutato quanto fin qui esposto, mediante l'utilizzo di templates ad ingrandimento, si procede alla scelta della taglia protesica che meglio realizza l'accoppiamento tra il cotile e lo stelo femorale. Si decide ancora il livello di resezione del collo femorale e si calcola la distanza tra apice mediale del collo protesico e la base di impianto del piccolo trocantere. Questa distanza verrà controllata intraoperatoriamente e si deciderà se impiantare

una testina con collo normale, lungo o corto, per recuperare un eventuale accorciamento dell'arto.

Il fine, quindi, è di progettare un intervento che cerchi di riportare l'articolazione dell'anca alle condizioni biomeccaniche precedenti alla patologia che lo ha richiesto.

### Conclusioni

L'attuale conoscenza della chirurgia protesica dell'anca si è sviluppata procedendo lungo le vie tracciate da Sir Charnley (per le protesi cementate d'anca) e dal dott. Branemark (per il concetto dell'osteointegrazione).

Già da molti anni, a livello mondiale, si è concordi sul fatto che a lungo termine il problema più importante delle protesi totali dell'anca risiede nell'allentamento dei cotili cementati, allentamento che si accompagna ad una perdita di tessuto osseo nell'acetabolo.

La mobilizzazione dei cotili cementati può essere di due tipi: biologica (dovuta alla incompatibilità tra osso e cemento) e meccanica (per le caratteristiche fisiche molto diverse tra cemento e protesi). Per questi motivi si è pensato di sviluppare la tecnica di ancoraggio diretto protesi-osso, senza elementi intermediari come il cemento (38).

Il progresso della scienza protesica si esprime soprattutto nella possibilità di sfruttare e favorire la rigenerazione naturale dell'organismo.

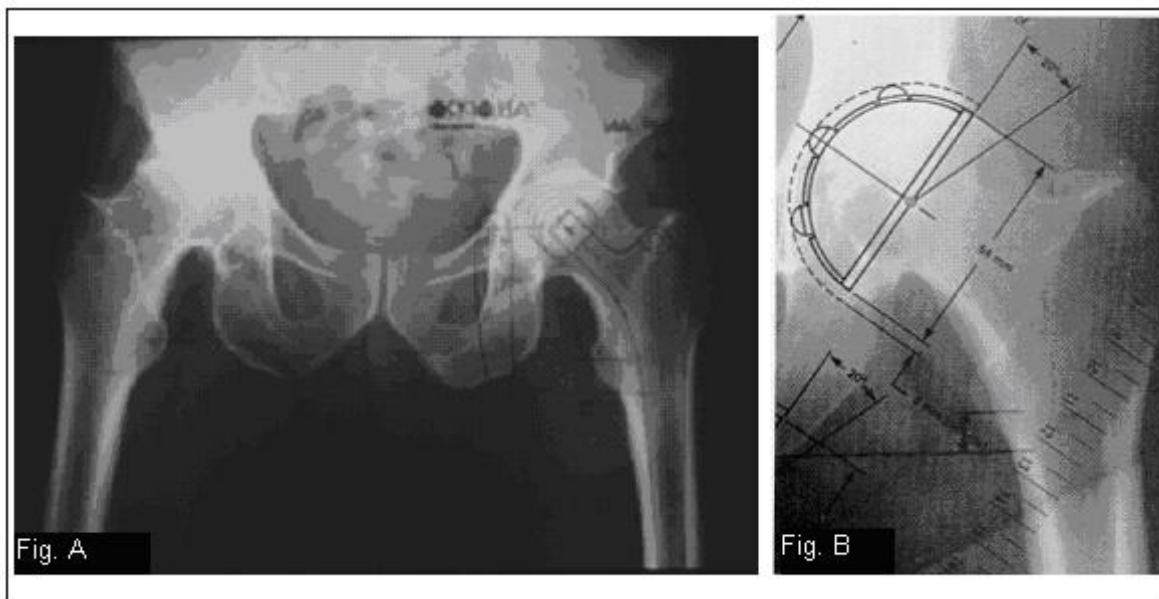


Figura 10: esempio di utilizzo del phantom femorale (fig.A) e del phantom acetabolare (fig. B) in sala operatoria.

La capacità degli impianti non cementati di integrarsi nell'osso è il fattore che ne decreta il successo. Una buona stabilità meccanica primaria costituisce la premessa di una stabilizzazione secondaria per osteointegrazione. Oggi, infatti, si tende ad usare sempre più protesi non cementate, anche in soggetti non giovani e di età superiore ai 65 anni. Lo scopo è quello di rendere la protesi parte integrante del tessuto osseo, evitando di utilizzare il cemento che separa fisicamente la protesi dall'osso e che è soggetto negli anni all'usura, alla fissurazione, alla rottura.

Ma in realtà si è trovata la protesi ideale? Nessuna protesi, dai dati forniti dalla Letteratura, è accreditata del 100% di successo a 10 anni e oltre dall'impianto. Ciò dimostra che la protesi perfetta non esiste. Molta strada si è percorsa nella realizzazione di nuovi impianti, ma il lavoro da compiere è ancora enorme, come enormi sono i progressi che dobbiamo attenderci. Innanzitutto bisogna tenere sotto controllo costante le protesi applicate (follow-up), ricordando che la valutazione di ciascun modello non può essere intesa in modo isolato, ma puntando sul confronto. Il fine è quello di conoscere quale modello, in particolari circostanze note, funzioni meglio di altri.

Occorre infine approfondire le nostre conoscenze a) sulla biologia dell'osso, così da poter, da un lato, migliorare la progettazione dei cotili protesici per adattarli all'osso, dall'altro, intervenire sull'osso in modo da adattarlo alla protesi; b) sulla tribologia dei materiali usati, per cercare, unitamente alla bioingegneria, nuove soluzioni che rispecchino al meglio la dinamica articolare protesica.

### Bibliografia

1. Gallinaro P., Brach del Prever E. - "Fissazione biologica o cementazione ? " GIOT 1994.
2. Rapporti ISTISAN 05/18 Interventi protesi d'anca in Italia, interventi di artroprotesi in Sicilia.
3. Charnley J. - " Low Friction Arthroplasty of the hip: Theory and practice" - sprinter Berlin 1979.
4. N.I.H. (National institutes of health) - Consensus Conference - "Total Hip Replacement" - September 12-14, 1994, Vol. 12, N°5.
5. Mancuso C.A., Renawat C.S., Esdaile

J.M., Johanson N.A., Charlson M.E. - "Indication for total hip and total Knee arthroplasties" - J. Arthroplasty, 1996.

6. Amstutz HC, Clarke IC. Evolution of hip Arthroplasty. In Amstutz HC (Ed.) Hip Arthroplasty, Churchill-livingsone 1994

7. Viladot A., Cohi O., Clavell S. - "Artrosi e protesi dell'apparato locomotore" - Cap. 2 (Biomeccanica dell'arto inferiore) Ed. Verducci 1986.

8. Doubovetzky J. - "Principales indications et suivi des protheses de hanche" - Prescrire 1996.

9. Bellamy N., Buchanan W.W, Goldsmith C.H., Campbell J., Stitt L.W. - "Validation study of WOMAC ; a health status instrument for measuring clinically important patient relevant outcomes to antirheumatic drug therapy in patients with coteoarthritis of hip or Knee " - J. Rheumatol. 15 . 1988.

10. "Total hip replacement". Effective Health Care 1996, Vol. 2.

11. Pipino F., Calderaie P.M. : Byodynamic total hip prothesis. Ital. J. Orthop Traumatol 1987 Sep;13(3):289-297.

12. Fielding JW, Srillwell WT. The evolution of total Hip Arthroplasty. In Stillwell WT (Ed.) "the art of total hip arthroplasty2 Grune and Stratton, 1987.

13. Gabanela M. - "Current Concepts in joint Replacements"- Orlando, dicembre 1998- Abstract book.

14. Charnley J. - "Arthroplasty of the hip: a new operation" - Lancet 1961.

15. Ghibellini F., Ceffa R., Brugo G., Forriera P., - "La componente cotiloidea" - Giornale Italiano di Ortopedia e Traumatologia supplemento 1, Vol. XX, fasc. 1, Marzo 94.

16. Morscher E.W., - "Current status of acetabular fixation in primary total hip arthroplasty" - Clin. Orthop. Rel. Res., 274,1992.

17. Bobyn Dennis J. - "UHMWPE: The Good, Bad, e Ugly. Fixation and Bearing Surfaces for the Next Millennium - Orthopedics, Sept.99, Vol.22. n.9.

18. Costa L., Brach del Prever E. - "UHMWPE for arthroplasty. Il polietilene protesico." - Ed. Minerva Medica-Torino, Gennaio 2000.

19. Nicolais L.,Ambrosio L., Carotenuto G., Guida G., Ronca D., Tranquilli Leali P., Del Torto M. - "Biomateriali" - Giornale Italiano di Ortopedia e Traumatologia - supplemento 1, Vol. XX, fasc. 1, Marzo 94.

20. Thanner J. - "The acetabular component in total hip arthroplasty.-Evaluation of different fixation principles." - *Acta Orthop Scand* 1999, n.70.
21. Tagliabue D., Molteni F. - "Il cotile cementato" - *Giornale Italiano Ortopedia e Traumatologia* - Vol. XXII, 2° Fasc., Giugno 96.
22. Cristofolini L. - "integrazione osso-protesi nelle artroprotesi d'anca" (1997);, *Crit. Rev biomed. Eng.* 25:4-5.
23. Curtis M.J., Jinnah R.H. - "The initial stability of uncemented acetabular components." - *Bone and Joint Surgery* Vol. 74-B HO3 May 1992.
24. Chamay A., Tochantz P. - "Mechanical Influence in bone remodeling-Experimental research on Wolff's Law" - *J. Biomech* 1972.
25. Branemark P.I. - "Osteointegration and its experimental background"- *J. Prosth. Dent.* 50, 1983.
26. Engh C.A., Griffin W L., Marx C.L. - "Cementless Acetabular Components" - *Journal Bone Joint Surgery.* 1992.
27. Morscher E.W., Masar M.D., - "Development and first experience with an uncemented Press-Fit cup" - *Clinical Orthopaedics*, 232, 1988.
28. Adler E., Stuchin A., Kummer F. - "Stability of Press-fit Acetabular cup" - *Journal Arthroplasty*, 1992.
29. Alossa E, Massè A, Brach del Prever E, Gallinaro P. - "Cotili protesici avvitati: analisi della sopravvivenza ad otto anni" - *GIOT.* 1993.
30. Delaunay C., Cazean C., Kapandji - "Cementless to eigh year results with the Zweymuller-Alloclassic prothesis" - *International Orthopaedics* - (Sicot) 1998.
31. Perugia L., Falez F., Mancini A., Cionotti G. - "Rivestimenti e Superfici" - *Giornale Italiano di Ortopedia e Traumatologia* - supplemento 1, Vol. XX, fasc. 1, Marzo 94.
32. Harris W.H. - "A cement fixation system for total hip arthroplasty" - *Clinic Arthrop.* 1982.
33. Schmalzrild T. et Al. - "The mechanism of loosening of cemented acetabular component in total hip arthroplasty " - *Clin. Orthop.* 1992.
34. Cook S.D., Barrack R.L., Thomas K. A., Haddad R.J. - "Quantitative analysis of tissue growth into human porous hip components. - *J. Arthroplasty.* 1988; 3.
35. Gallinaro P., Brach del Prever E. - "Aspetti tecnologici e clinici dell'interfaccia osso-biomateriale" - *Biomateriali* 1987.
36. Atti del congresso - "Attualità nella protesizzazione e ri protesizzazione dell'anca senza cemento" - *S. Vincent* 7-/08/1997.
37. Bellardi G.B., Fontana R. - "Il radiogramma pre-operatorio nell'impianto di Artroprotesi d'anca" - *Rassegna tecnica di Radiologia Medica* n.33. 1996.
38. Muller M.E. - "Lesson of 30 years of total hip arthroplasty" - *clinical Orthopaedics*, 274, 1992.

**Malattia di Ménière monolaterale:  
successo del trattamento con Gentamicina intratimpanica.****Unilateral Meniere's disease:  
efficacy of intratympanic gentamicin treatment**

Dr. Francesco Dispenza, Clinica ORL – Università di Palermo

Email: francesco-dispenza@libero.it

**Abstract**

Allo scopo di stabilire l'utilità della somministrazione di Gentamicina intratimpanica per il trattamento della Malattia di Ménière (MM), abbiamo eseguito uno studio retrospettivo delle cartelle dei pazienti trattati per MM definita in accordo con la scala diagnostica e di valutazione del trattamento stabilita dalla Accademia Americana di Otorinolaringoiatria – Chirurgia della Testa e del Collo (AAO-HNS). Il protocollo di trattamento consiste in tre iniezioni intratimpaniche di Gentamicina, con intervallo di 12 ore tra ogni somministrazione. I risultati, riportati secondo i criteri stabiliti dalla AAO-HNS, mostrano un controllo completo delle vertigini nel 60% dei casi, un buon controllo nel 16,3%, moderato nel 3,7%, scarso nel 16,3% e assente nel 3,7%. La funzione uditiva è rimasta invariata nel 61,8% dei casi, migliorata nel 21,8% e peggiorata nel 16,3%. Possiamo concludere che la somministrazione di Gentamicina intratimpanica è una buona alternativa ai trattamenti medici e chirurgici per il trattamento della MM resistente a terapia medica tradizionale. Questo protocollo offre buoni risultati funzionali con rischi ridotti e bassi costi per il paziente.

Parole Chiave: Malattia di Ménière, gentamicina intratimpanica, vertigini.

Key words: Meniere's disease, intratympanic gentamicin, vertigo

CAPSULA EBURNEA, 1,12:1-5, 2006.

**Introduzione**

La Malattia di Ménière (MM) è caratterizzata da episodici attacchi di vertigine oggettiva, acufeni, ipoacusia fluttuante e sensazione di ovattamento auricolare. Studi autoptici su pazienti affetti da MM hanno dimostrato un aumento del volume dell'endolinfa con distensione dell'intero sistema endolinfatico (1).

L'idrope endolinfatica conduce verso un danno permanente degli apparati cocleare e vestibolare. Il trattamento della MM ha come scopo principale il controllo delle vertigini invalidanti. Nella maggior parte dei casi questo si ottiene con il trattamento medico conservativo (70-90%) (2). I pazienti che non rispondono possono essere trattati in alternativa con procedure chirurgiche come: labirintectomia, decompressione del sacco endolinfatico o sezione del nervo vestibolare. Inoltre la tecnica di ablazione del sistema vestibolare mediante la somministrazione di Aminoglicosidi (AMG) ha mostrato promettenti risultati.

Le cellule scure (dark cells) dell'ampolla e della stria vascolare sono coinvolte nella regolazione della pressione endolinfatica e contengono melanina che si lega con gli

AMG somministrati. Il risultante effetto tossico elettivo sulle dark cells dovrebbe determinare una riduzione della pressione endolinfatica. Quindi, in teoria, la somministrazione di AMG dovrebbe soltanto alterare la funzione delle dark cells e non agire sulle funzioni vestibolari e cocleari; ma la concentrazione appropriata per determinare soltanto questo effetto è difficile da determinare essendo l'orecchio interno umano non accessibile in maniera diretta (3-4). Studi clinici nel passato hanno stabilito un livello di tossicità delle cellule sensoriali di coclea e vestibolo. Park e Cohen hanno riportato che kanamicina e amicacina sono tossiche per la coclea, mentre streptomycina e gentamicina lo sono per il vestibolo (5).

La gentamicina è nota essere più tossica per il neuroepitelio vestibolare che per quello cocleare (6). Ci sono diversi protocolli per la somministrazione di AMG: dose multipla giornaliera, somministrazione settimanale, somministrazione a bassa dose, infusione continua con microcatetere e titration methods (7-8). Diversi studi hanno riportato circa l'84% di successo per il controllo delle vertigini con il trattamento con

gentamicina (9). Secondo alcuni autori l'insorgenza di nistagmo spontaneo, di instabilità o il peggioramento della soglia uditiva indicano che la terapia deve essere sospesa (10-11). Questo studio rivede in maniera retrospettiva l'utilità del nostro protocollo di somministrazione di gentamicina.

### Materiali e Metodi

Abbiamo effettuato una revisione retrospettiva delle cartelle di 55 pazienti (26 femmine e 29 maschi) affetti da MM monolaterale diagnosticata in accordo con la scala diagnostica della AAO-HNS (12). L'età media dei pazienti era di 54 anni (range 19-71). Tutti i pazienti erano stati sottoposti a precedente terapia medica utilizzando: dieta iposodica, betaistina e diuretici per più di un anno senza alcun beneficio. Sin dall'inizio i pazienti hanno rifiutato ogni eventuale terapia chirurgica per la MM. Dopo aver ottenuto il consenso informato al trattamento con gentamicina è stata eseguita la valutazione pretrattamento che comprende una valutazione otoneurologica completa, audiometria tonale, impedenzometria, risonanza magnetica encefalo o tomografia computerizzata.

I nostri criteri di inclusione sono stati: malattia monolaterale con udito controlaterale normale, vertigini ricorrenti, assenza di malattie del sistema nervoso centrale. Il protocollo da noi utilizzato prevede tre iniezioni intratimpaniche di gentamicina con intervallo di 12 ore tra ogni somministrazione. Se il paziente non mostra la comparsa di nistagmo spontaneo o peggioramento della soglia uditiva o non riceve alcun beneficio dal primo ciclo di terapia, lo stesso protocollo viene ripetuto un mese dopo. Abbiamo utilizzato una soluzione di

gentamicina 80mg/2ml tamponata con 1ml di bicarbonato di sodio per ottenere un pH neutro, facilitando l'assorbimento e riducendo la sintomatologia dolorosa. Un ml di soluzione contiene 27mg di gentamicina. Durante il procedimento terapeutico il paziente è in posizione supina con la testa ruotata controlateralmente di 45° per prevenire la perdita della soluzione attraverso la tuba di Eustachio e per permettere un adeguato contatto del farmaco con la finestra rotonda. Dopo l'iniezione di 1ml di soluzione il paziente mantiene la posizione della testa per almeno 30 minuti e viene suggerito al paziente di non deglutire per prevenire la apertura della tuba. Il dosaggio finale per un ciclo di terapia è di 81 mg. Dopo ogni somministrazione viene eseguito un controllo audiometrico ed otoneurologico.

### Risultati

I risultati dei 55 casi trattati sono stati riportati rispettando i criteri della AAO-HNS (12) che divide i pazienti in 5 classi in relazione al numero di crisi vertiginose per mese. I risultati mostrano un controllo completo delle vertigini in 33 pazienti (60% classe A), un buon controllo in 9 pazienti (16,3% classe B), controllo modesto in 2 pazienti (3,7% classe C), un controllo scarso in 9 pazienti (16,3% classe D) e mancato controllo delle vertigini in 2 casi (3,7% classe E) (Fig. 1). Sei pazienti dopo il trattamento hanno riportato una modesta sintomatologia vestibolare come instabilità ed oscillopsia. La funzione uditiva è stata considerata migliorata o peggiorata se presente una variazione di  $\pm 10$  dB nella PTA (media della soglia per i toni puri 0,5-1-2-4 kHz) tra la valutazione audiometria pre e post trattamento. In 34 casi (61,8%) la soglia non si è modificata; è migliorata in 12

Fig.1

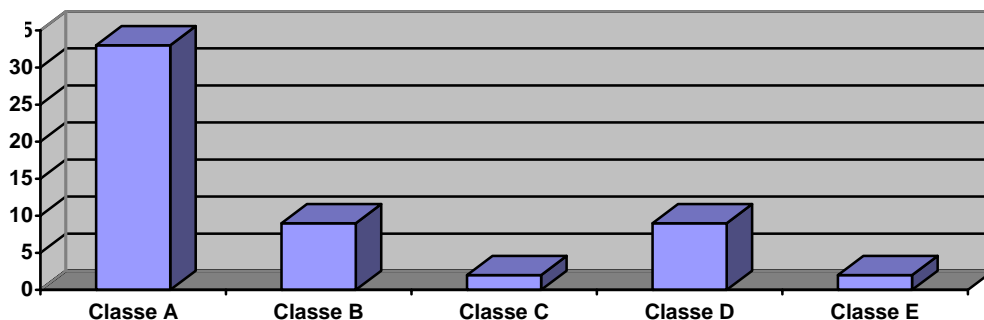


Figura 1: risultati dei pazienti trattati riportati secondo i criteri dell'AAO-HNS.

Fig.2

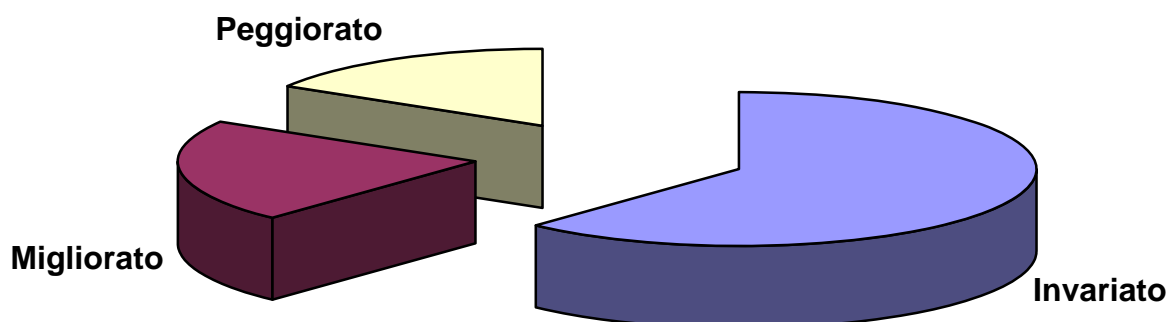


Figura 2: risultati clinici relativi all'udito dopo trattamento.

pazienti (21,8%) e peggiorata in 9 pazienti (16,3%) (Fig. 2). Durante il follow-up 3 pazienti che non hanno avuto beneficio dalla terapia hanno deciso di sottoporsi a terapia ablativa chirurgica per le vertigini invalidanti. Due pazienti sono stati trattati con neurectomia vestibolare ed un paziente anacusico con labirintectomia. I dati non hanno mostrato correlazione tra la durata del follow-up ed i risultati funzionali.

### Discussione

Vertigini e ipoacusia sono i due sintomi più invalidanti associati con la Malattia di Meniere (MM). Nella maggior parte dei casi questi sintomi sono ben controllati con la terapia medica con una combinazione di farmaci vasoattivi (Betaistina), dieta iposodica e diuretici. Il trattamento chirurgico è riservato per i pazienti che non rispondono alla terapia medica. Gli approcci chirurgici sono: la neurectomia vestibolare (VN), la decompressione del sacco endolinfatico (ELSD) e la labirintectomia. VN offre un immediato controllo delle vertigini (85-95%) (13-14) ma può comportare complicanza quali il decesso, meningite e liquorrea cerebrospinale (15). Tuttavia questa procedura non sembra avere alcun effetto sulla fisiopatologia della MM. ELSD offre un buon controllo delle vertigini con conservazione dell'udito nell'80% dei casi (15); presenta poche complicanze eccetto quelle legate all'anestesia generale. La labirintectomia sembra essere altrettanto efficace, ma viene riservata ai casi con udito compromesso o ai pazienti che presentano varianti anatomiche che impediscono un accesso alle strutture bersaglio senza ulteriori rischi specie per il seno sigmoide e per il

nervo facciale. La somministrazione di gentamicina intratimpanica (GI) non è considerata una tecnica chirurgica, è rapida da eseguire, produce buoni risultati sul controllo delle vertigini (che spesso risultano superiori a quelli ottenuti ad esempi con la ELSD) e ha costi ridotti. L'uso della GI è aumentato negli anni '90 come trattamento alternativo per questi pazienti (2). Gli aminoglicosidi sono stati usati per il trattamento delle vertigini da diversi anni. Schuknecht nel 1957 (16) è stato il primo a descrivere il successo terapeutico con l'uso di streptomina solfato intratimpanica in 5 pazienti, ma il risultato è stato complicato dalla ipoacusia profonda che si è avuta in tutti i pazienti. Come riportato da studi precedenti (5), la gentamicina è più tossica per le cellule vestibolari che per quelle cocleari. La principale via di comunicazione per i farmaci tra l'orecchio medio e quello interno sono la membrana della finestra rotonda (RWM) ed il legamento anulare della platina della staffa (3). Alcuni fattori possono modificare la permeabilità della finestra rotonda. I più importanti sono: infiammazione della mucosa dell'orecchio medio (3), la funzionalità della tuba di Eustachio, le dimensioni e la forma della nicchia della finestra rotonda, lo spessore della membrana fibrosa che ricopre la nicchia, che può essere alterata da sangue e polvere d'osso di precedenti interventi chirurgici all'orecchio (17). La gentamicina nell'orecchio interno si lega con la melanina presente nelle dark cells dell'ampolla e della stria vascolare (3). Le dark cells contengono Na-K ATP-asi e fosfolipidi con i quali crea un legame. Questi giocano un ruolo fondamentale nel tra-

sporto attivo di elettroliti nel labirinto vestibolare influenzando il bilancio  $\text{Na}/\text{K}$  (18). Questa prima fase è reversibile sospendendo la somministrazione del farmaco. Una seconda fase irreversibile data dalla gentamicina è l'alterazione della permeabilità della membrana delle cellule ciliate agli ioni  $\text{Ca}$  e  $\text{Mg}$ , provocandone la distruzione (19-20). La prima fase (reversibile) produce una riduzione della produzione di endolinfa ed un conseguente controllo delle vertigini (21). Dati recenti spiegano il razionale dell'uso di dosi ridotte di gentamicina per prevenire la tossicità irreversibile per le cellule ciliate essendo il danno cocleare dose correlato (22). È anche evidente che la completa ablazione della funzione vestibolare non è necessaria per ottenere il controllo totale delle vertigini (9). Come riportato da diversi studi sulla somministrazione di gentamicina nella MM (7), la terapia intratimpanica è emersa come una modalità standard per il trattamento. Noi abbiamo usato una modalità a basso dosaggio (low dose) modificata in tutti i pazienti, facendo attenzione alla comparsa di segni otoneurologici o ipoacusia. Il protocollo è stato adattato alla somministrazione in one day hospital per soddisfare le esigenze del paziente (anche proveniente da sedi lontane) e ottenere un diretto controllo di eventuali segni e sintomi dopo ogni somministrazione. Abbiamo considerato il dosaggio totale di gentamicina, l'ospedalizzazione del paziente e il costo del trattamento. Non c'è consenso riguardo al metodo di somministrazione. Esistono vari metodi come: dose giornaliera multipla, dose settimanale, low dose, infusione continua con microcatetere e titration (7). Il metodo low dose consiste nella somministrazione di una o due dosi in giorni o settimane consecutive. Il razionale di questa tecnica è quello di minimizzare il dosaggio totale di farmaco somministrato al paziente per evitare il danno cocleare e la conseguente ipoacusia (7). Comparato con altri metodi il low dose risulta avere il minor dosaggio cumulativo per il paziente (20-240 mg) (7). Nel nostro studio abbiamo modificato la somministrazione riducendo la permanenza del paziente a 24h ed abbassando il dosaggio totale di gentamicina (81 mg totali dopo 3 iniezioni intratimpaniche) ottenendo un controllo effettivo nell'80% circa dei pazienti. Nel 60% dei casi questo è stato ottenuto con un solo ciclo di

somministrazioni. La funzione uditiva è peggiorata nel 17% dei casi in maniera variabile. Questi risultati sono in accordo con i dati esistenti nella letteratura in inglese riguardo la somministrazione di GI con metodo low dose (7). Oscillopsia e altri lievi sintomi vestibolari sono stati riportati da sei pazienti, ma senza compromissione della qualità di vita. Non abbiamo notato una correlazione tra il periodo di follow-up ed il risultato funzionale. Il costo del trattamento è stato calcolato considerando: il numero di visite del paziente (una o due includendo il costo del viaggio per raggiungere il nostro reparto) e la quantità di farmaco utilizzato. Altri autori riportano la somministrazione di gentamicina utilizzando colla di fibrina o microcateteri (23-24); questi dispositivi medicali accrescono i costi senza migliorare il risultato.

### Conclusioni

Nella nostra esperienza, la somministrazione di gentamicina è una valida alternativa sia alla terapia medica che a quella chirurgica per il trattamento della MM resistente a terapia. Alcune procedure chirurgiche (VN, ELSD) producono un ottimo controllo delle vertigini con pochi rischi per la funzione uditiva, ma presentano allo stesso tempo importanti complicanze come meningite e liquorrea cerebrospinale, è necessaria una più lunga ospedalizzazione per il paziente ed hanno costi alti. Il nostro trattamento in un giorno permette controllo adeguato delle crisi vertiginose senza compromettere l'udito e la qualità di vita e riducendo i costi. La somministrazione di gentamicina è ripetibile fino alla comparsa di una delle complicanze. L'anacusia e la ipoacusia sono le peggiori, ma questi danni sono dose-correlati e per questa ragione prevedibili. In caso di fallimento di questa tecnica è sempre possibile convertire il trattamento in chirurgico.

### Bibliografia

1. Schuknecht HF, Ruther A. Blockage of longitudinal flow in endolymphatic hydrops. *Eur Arch Otolaryngol.* 1991; 248:209-17
2. Kayle DM, Jackson CG, Gardner EK. Surgical management of Meniere's disease in the era of gentamicin. *Otolaryngol Head Neck Surg.* 2005; 132:443-50.
3. Paparella MM, Schachern PA, Yoon TH. Survey of interactions between middle ear

- and inner ear. *Acta Otolaryngol* 1988; 99 (suppl 457): 9-24.
4. Okuda T, Sugahara K, Shimogori H, Yamashita H. Inner ear change with intracochlear gentamicin administration in Guinea Pigs. *Laryngoscope* 2004; 114:694-697.
  5. Park JC, Cohen GM. Vestibular ototoxicity in the chick: effect on streptomycin on equilibrium and on ampulla dark cells. *Am J Otolaryngol* 1982; 3:117-127.
  6. Duval AJ, Wersall J. Site of action of streptomycin upon inner ear sensory cell. *Acta Otolaryngol* 1964; 57:581-88.
  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, Aslan A, Falcioni M, Russo A, Sanna M. Titration streptomycin therapy in Meniere's disease: long term results. *Otolaryngol Head Neck Surg.* 1998; 118:261-6.
  9. Perez N, Martin E, Garcia-Tapia R. Intratympanic gentamicin for intractable Meniere's disease. *Laryngoscope* 2003; 113:456-64.
  10. Kaplan DM, Nedzelsky JM, Chen JM et al. Intratympanic gentamicin for the treatment of unilateral Meniere disease. *Laryngoscope* 2000; 110:1298-305.
  11. Morufushi T, Almagy G, Yavor R. Intratympanic gentamicin in Meniere's disease: result of therapy. *Am J Otol.* 1997; 18:52-7.
  12. Committee on hearing and equilibrium. Guidelines for the diagnosis and evaluation of Meniere's disease. *Otolaryngol Head Neck Surg.* 1995; 113:181-5.
  13. Jackson CG, Dickins JR, Mc Menomey SO et al. Endolymphatic system shunting: a long-term profile of the Denver inner ear shunt. *Am J Otol* 1996; 17:85-8.
  14. Magnan J. Vestibular neurectomy by retrosigmoid approach. In : Sterker EFO, Dauman R, Sauvage JP et al., eds *Meniere's disease 1999- update Paris kugler publication, 1999: 793-7.*
  15. Convert C, Franco-Vidal V, Bebear JP, Darrouzet V. Outcome based assessment of endolymphatic sac decompression for Meniere's Disease Using the Meniere's Disease Outcomes Questionnaire: a review of 90 patients. *Otol Neurotol* 2006, 27:687-696.
  16. Schuknecht HF. Ablation therapy in the management of Meniere's disease. *Acta Otolaryngol* 1957; 132(suppl):1-42.
  17. Atlas JT, Parnes LS. Intratympanic gentamicin titration therapy for intractable Meniere's disease. *Am J Otol* 1999; 20:357-63.
  18. Hiraide F. The histochemistry of the dark cells of the vestibular labyrinth. *Acta Otolaryngol* 1971; 71:40-8.
  19. Mercant SN, Rauch SD, Nadol Jr JB. Meniere's disease. *Eur Arch Otolaryngol.* 1995; 262:63-75.
  20. La Ferriere KA, Aremberg IK, Hawkins Jr JF, Johnson LG. Melanocytes of the vestibular labyrinth and their relationship to the microvasculature. *Ann Otol Rhinol Laryngol.* 1974; 83:685-94
  21. Odkvist L. Middle ear ototoxic treatment of inner ear disease. *Acta Otolaryngol* 1988(suppl); 457:83-86.
  22. Minor LB. Intratympanic gentamicin for control of vertigo in Meniere's disease: vestibular signs that specify completion of therapy. *Am J Otol* 1999; 20:209-19.
  23. Casani A, Nuti D, Franceschini SS, Gaudini E, Dallan I. Transtympanic gentamicin and fibrin tissue adhesive for treatment of unilateral Meniere's disease: effects on vestibular function. *Otolaryngol Head Neck Surg.* 2005; 133:929-35.
  24. Hoffer ME, Kopke RD, Weisskopf P, Gottshall K, Allen K, Wester D. Microdose gentamicin administration via the round window microcatheter. *Ann N Y Acad Sci* 2001; 942:46-51.

## “Eccelso mattone della vita”

Da Nippur all’embrione della “Scuola di Ġundaysābūr” al “Poema della Medicina”

Prof. Aldo Gerbino

Ordinario di Istologia ed Embriologia

Cultore di Antropologia culturale

Dipartimento di Medicina Sperimentale, Sezione di Istologia e Embriologia,

Facoltà di Medicina e Chirurgia, Università degli Studi di Palermo

E-mail: aldogerbino@tiscali.it

CAPSULA EBURNEA, 1,13:1-4, 2006.

È dall’imbuto terminale del terzo millennio a.C. che emerge, tra le rovine di Nippur, una insolita tavoletta d’argilla. Misura appena 16 cm x 9, e in essa son raccolte, da un anonimo medico, ricette a base di sostanze vegetali, animali, minerali: forse può essere considerata il più antico manuale medico. E se medicina e legislazione professionale nelle lontanissime civiltà mesopotamiche possedevano un’estensione ‘teurgica’ (è la divinità che sancisce lo stato di salute o di malattia), il medico opera, di conseguenza, nella sua veste di sacerdote-mago. Egli non governa direttamente il paziente e la malattia, ma, da benevolo intermediario, dominato dal sovrannaturale, facilita il traghettare del paziente verso le sponde della illuminata lungimiranza divina, quindi verso uno stato di benessere, attraverso la conquista della salute, o, in parallelo, officinando il rito sacrificale. Più pragmatico appare l’operato del chirurgo. Armato del suo scudo laico, è schiavo operativo del medico-sacerdote. Su tale scenario la posanza evocativa degli interrogativi primordiali viene mirabilmente travasata dalla parola poetica. Nella *Saga di Gilgamesh*, poema epico-eroico precedente ai poemi omerici, l’eroe fa appello al dio Sole per favorire l’incontro con il mostro Khubaba, insormontabile guardiano della foresta di Cedri. Così è scritto, nel grido dell’eroe posto alla conquista della morte:

«Nella mia città si muore, il cuore è oppresso;  
i miei cittadini muoiono, il cuore è prostrato;  
io sono salito sulle mura della mia città  
e ho visto i cadaveri trasportati dalle acque del fiume;  
ed io, pure io sarò così? Certo, pure io!  
L’uomo, per quanto alto egli sia, non può raggiungere il  
[cielo,  
l’uomo, per quanto grasso egli sia, non può coprire il  
[Paese;  
nessun uomo l’ha (finora) avuta vinta sull’eccelso  
[‘mattone della vita’;  
io voglio entrare nella Montagna, voglio porre colà il  
[mio nome;  
nel luogo dove ci sono già stele voglio porre il mio  
[nome;  
nel luogo dove non ci sono stele, voglio porre il nome  
[degli dèi».

(Trad. G. Pettinato)

La ‘montagna’ – insiste l’Assirologo Giovanni Pettinato – consegna la «vita all’uomo», appunto per immortalare il suo nome nei luoghi dove gli dèi di Sumer sono già noti, e portare invece quello degli dèi nei luoghi in cui questi ancora sono sconosciuti. Anche se la vera motivazione verrà esplicitata in seguito, l’accenno, nella quarta riga, all’ “eccelso mattone della vita”, su cui nessun uomo l’ha avuta sinora vinta, ci fa comprendere che quella perseguita da Gilgamesh è una forma d’immortalità, da tutti gli studiosi identificata con la fama. Era questo infatti l’unico modo possibile, per i Sumeri, di superare la morte». Superare, quindi, la morte ‘con qualsiasi mezzo’; attraversare la folgore delle divinità è stato, nel buio temporale della coscienza umana, la meta cui approdare.

Tale folgore viaggia lungo l’altipiano iranico (‘Ormuz’ è la luce che origina il bene, mentre ‘Arimone’ soffonde le tenebre da cui originano malattie e morte) per raggiungere la medicina indiana, dalla ‘vedica’ (prima del 700 a.C.) alla ‘postvedica’ (dopo il 700 a.C.). Il primo segmento storico della cultura scientifica indiana articola le conoscenze della patologia; nel secondo, mentre si espongono autorità mediche (Caraka) e chirurgiche (Susruta) di valore, vede luce il *Mādhavenidana*, il primo vero trattato di patologia. È Susruta a descrivere un vasto campionario di strumenti chirurgici (oltre 100). Al suo tempo si eseguono con successo: laparotomie, litotomie, si attuano interventi cesarei, operazioni di rinoplastica, di cataratta, di emorroidi.

Il medico, per esercitare, deve aver seguito uno specifico tirocinio e, al fine di espletare le funzioni professionali, gli è necessaria l’autorizzazione del Re. La medicina in India – avverte Loris Premuda – ha compiti umani, civili, così come è già ben affermata la figura del medico militare.

Il legame tra tale imponente cultura sanitaria e il vasto dominio intellettuale della penisola arabica (condensatosi nel VI e VII secolo), raccolto nella ‘semplicità’ della cognizione medica del Profeta, e dove esercitavano arabi pagani, musulmani, ebrei, cristiani (medici, chirurghi, odontoiatri), un medico e letterato, Burzōe, viaggiatore non casuale in India per comando del re Cosroe I, traduceva dal sanscrito in pehlevico un profondo e attraente libro indiano, il *Pančatantra* (le «Cinque regole»). Sarà la traduzio-

ne araba, per mano di un umanista persiano Ibn al-Muqaffā' (morto nel 757), che, nella sua "ricreazione" restituisce nel *Libro di Kalīla e Dimna* apologhi e favole esotiche "che avrebbero attraversato – ricorda Andrea Borruso – i secoli, raggiunto la Sicilia dei Normanni, la Spagna, l'Italia del Cinquecento, la Francia di La Fontaine"; tale radice va ricercata proprio nella persiana 'Scuola di Gūndaysābūr' (tra gli artefici: Ibn al Qiftī, morto nel 1248, nella sua opera riferisce di 414 biografie di medici, filosofi, astronomi; mentre Ibn Abī Usa-ybi'a, morto nel 1270, stila ben 380 biografie di medici). Riaffiora, in questo lago di conoscenze (nella 'introduzione' al *Libro di Kalīla e Dimna*) la descrizione esemplare della formazione embrionale intrauterina (fig. 1):

«Troviamo infatti nei testi di medicina che quando lo sperma, di cui si comporrà il feto ben formato, raggiunge l'utero della donna, si fonde agli umori e al sangue di lei, poi si addensa e s'ispessisce, e in un intimo soffio l'agita fino a farlo diventare come la panna e come il latte cagliato, quindi si organizzano e distinguono le membra del fanciullo al momento opportuno: se si tratta di un maschio il suo viso è rivolto al dorso della madre, se invece è femmina in direzione del ventre. Sta con le mani sul viso, e il mento sulle ginocchia; è avvolto nella placenta come in una borsa, e trae dal petto affannoso il respiro; tutte le sue membra sono come avvolte in una stretta cintura. Sopra di lui si trova il caldo grembo materno [che lo opprime] con il suo peso e sotto quel che superfluo dire. Unito alla madre mediante il cordone ombelicale, succhia attraverso di esso le sostanze facilmente digeribili che provengono dal cibo e dalle bevande di lei, e così vive e si nutre, e in questa posizione e in queste condizioni rimane fino al giorno della nascita».

(Trad. A. Borruso)

Da tale sostrato Avicenna, filosofo e medico vissuto dal 980 al 1037, ha contribuito con il suo *Canone della Medicina*, fino al XV secolo, alla formazione delle scuole di medicina. Così anche nel suo *Poema della medicina*, filosofia e poetica, concretezza e analisi costituiscono l'adeguato approccio storico-epistemologico per avvicinarsi a questo illuminante scienziato e pensatore del Medioevo; un 'poema' che può essere considerato un prezioso gioiello scientifico e letterario. L'Arabia di certo ha costituito un crogiolo di interscambi scientifici nell'antichità: tra Arabi musulmani e pagani, tra gli Ebrei e i Cristiani. Da questi ultimi, soprattutto, ven-

gono elargite funzioni odontoiatriche: dalle otturazioni in oro, a 'ponti' e dentiere; e ancora: elementi protesici in metalli preziosi (oro e argento) per le frequenti mutilazioni d'armi in quel tempo: i nasi mozzati (i poeti Qais ibn-Hatīm e 'Āmir ibn al-Aslat denunciano infatti [A. Borruso] in *hatīm* e *aslat* la condizione mutilante di "naso spappolato" e "tagliato"). Dopo la morte del Profeta, gli Arabi, con gli Ummayyadī (661-750) si aprono alla cultura scientifica greca, s'impegnano nella traduzione di ciò che rimane dei testi della Biblioteca di Alessandria (ricca, nella pienezza del suo sviluppo, prima della devastazione, di oltre 700 mila rotoli). Proprio in questa città esercita l'autore delle *Pandette* (non pervenute), Abrūn; sembra che esse contengano la prima analisi descrittiva del vaiolo (sconosciuto ai Greci) e di cui abbiamo espressione tanto fervida quanto inquietante con la mummia di Ramsete V al museo del Cairo. Una cultura, quella della mummificazione, che possiamo codificare come vera e propria scienza del corpo; nel loro commovente (quanto orgoglioso) progetto d'immortalità, espresso nel mortale esercizio della dissezione e della imbalsa-



Fig. 1: Ishtar, dea della maternità e della fertilità, ha, per la medicina mesopotamica, origini celesti. È figlia della Luna; al Sole, è addirittura gemella. I profeti dell'Antico Testamento condannarono il suo culto. La statuetta d'alabastro, qui raffigurata, si trova nel parigino Museo del Louvre.

mazione, si vuol consolidare quella tenuta fisiognomica capace di vincolare sembianza di corpo e *flatus* d'anima, affinché quest'ultima possa essere traghettata nel regno dei morti e presentata al cospetto terrifico e appagante della deità. Una prassi settoria che, con altri aspetti e finalità, ritroveremo legiferata nella corte federiciana e, ancor prima, in Alcmeone di Crotona (500), cifra di quella antichissima Scuola medica anteriore alla setta di Pitagora.

La morte è valutata dagli egizi come consolatrice. Nell' "Ode del disperato" si lamenta:

«La morte è oggi davanti a me  
come la fine della pioggia,  
come il ritorno di un uomo a casa  
dopo una campagna d'oltremare.  
La morte è oggi davanti a me  
come il cielo si scopre,  
come il desiderio di un uomo di rivedere la sua  
casa dopo lunghi anni di prigionia.»

Di vivido interesse linguistico e pervaso di premonitrice modernità ci si mostra tale piccola e conosciuta 'Ode', ornata del suo intreccio metaforico nella cui centralità risplende la 'casa' (l'*oikos* greca; la *domus* romana). La morte si offre quasi in un gesto di sospensione temporale, di meditativo stupore, riversati a piene mani nel perimetro confortante dell'abitazione ricca di affetti familiari, di intravisti oggetti permeati di nostalgia, di fascino evocativo. Il portato della cultura egizia si aggetta, in parte, nella medicina ebraica (pratica della circoncisione; parto sui due mattoni; il senso del «guardare» degli Egizi al malato, lo stesso che per gli Ebrei. E ancora – ricorda Ange-Pierre Leca – l'uso del termine biblico *schechin*, cioè malattia della cute, e in egizio espressa con il termine *sechem*; o il *qaa* emerso dal papiro di Ebers che ritroviamo nel Levitico come *qu'ah* (lemmi che traducono l'atto del 'vomitare'). Anche le scuole preippocratiche di Rodi, Cos, Cnido, di Samo e Crotona traggono spunto dalla civiltà medica egiziana particolarmente sulla eziopatogenesi di alcune malattie (fig. 2). Lo stesso Ippocrate (II), padre della medicina, assertore principe della struttura deontologica, s'ispira al papiro di Corlsberg per il suo *Trattato del cuore e dei vasi*. Sarà, infatti, Cos il centro di un potere culturale in virtù della presenza di Ippocrate. Tra gli asclepiadi, che sostenevano la discendenza diretta da Asclepio (per linea paterna) e da Ercole (per linea materna), un tale Nebros (dal greco: 'figlio del cervo'; traccia etimologica riscontrabile nei siciliani monti Nebrodi, tra i boschi delle Caronie) fu capace di arrestare l'epidemia nel conflitto tra le città di Delfi e Cirra. Con il medico greco (*iatros*: 'colui che guarisce'), per Diodoro Siculo, emerge il primo decreto pubblico che sancisce la sua funzione 'civile'; sarebbe stato promulgato, intorno al 600 (a.C.), da Caronda, quel fiero legislatore di Catania che si diede morte per aver infranto una leg-

ge da lui stesso redatta. È Ippocrate di Cos (460 a. C.), minuscola isola del Dodecanesso («il grande» per Aristotele; «il divino» per Apollonio; «l'ammirevole inventore di tutto ciò che è bello» per Galeno), che con il suo sapere (*Collezione ippocratica*) domina la medicina del IV e V secolo a.C., la espande con la sua funzione di medico «periodeuta» ('di città in città'), e, come si recita nella *Fedro* di Platone, viene associato, nell'esercizio della pratica professionale, alla *orthos logos* ("giusta ragione"). È autorità indiscussa, consegna valore all'attività sociale e antropologica proiettata fin alla modernità, nella sua valenza legiferante e deontologica, grazie all'istituto del "Giuramento".

Sarà, molto più avanti, il IX secolo, durante la dinastia dei califfi abbassidi (750-1055), in funzione della forte curiosità intellettuale del tempo (a Bagdad il califfo Al Mamun edifica [813-833] una «casa della saggezza e della scienza»), e per quel fervore di conoscenza potenziato dall'attività della traduzione (fondamentale l'apporto della «Scuola di Ġundaysābūr») a rinsaldare i legami con la cultura scientifica precedente e attingere alle vaste e sconosciute acquisizioni e pratiche sanitarie. Da Giovanni Mesuè a Jiohannitius, dalla scuola di Harran a Zahrum si tradussero Ippocrate, Galeno, Dioscoride, Rufo di Efeso, Oribasio, Alessandro di Tralles, i

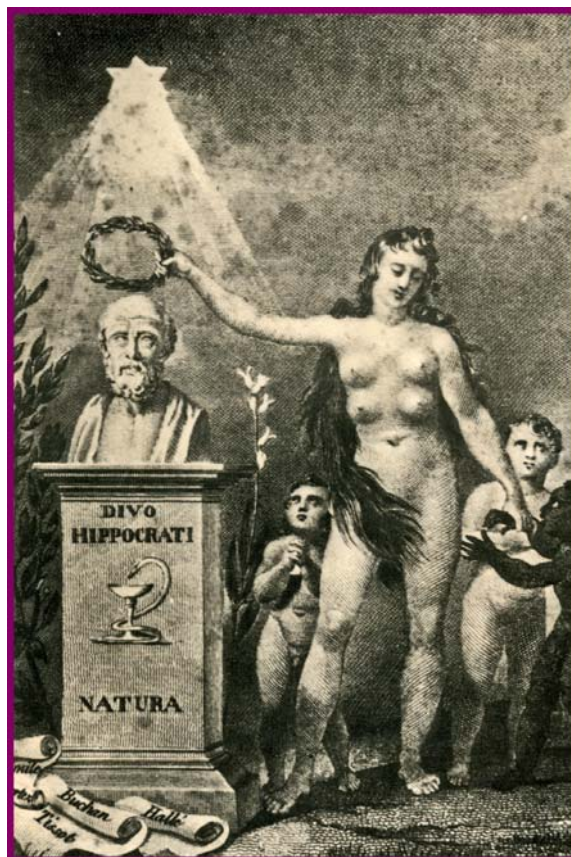


Fig. 2: Incisione del secolo XIX conservata al museo di Storia della Medicina di Parigi. Illustra "La Natura che incorona Ippocrate".



Fig. 3: Al centro dell'immagine: Avicenna, da una miniatura d'un Erbario del XIV secolo (Firenze, Biblioteca Nazionale). Accanto, una pagina del celeberrimo *Canone* (Damasco, Museo Nazionale) e delle tavole illustrative del "Canone" in un'edizione cinquecentesca. Questa, come le altre figure, sono tratte dal volume 1 e 2 della: *Storia della Medicina*, Walk Over italiana, Bergamo, Milano, 1982.

trattati medici di Curaka e Susruta. Così se in Spagna, a Cordoba, troviamo una biblioteca sostanzziata da oltre 400.000 mila volumi, essa è città testimone della validissima trattatistica (ostetricia e pediatria) di Arib al Wateb al Kurtubi fino a quella del grande Abulcasi (936-1013) con i suoi 30 volumi di chirurgia (*Al Tersif*), nell'Asia centrale assurge il dominio Avicenna (980-1037). Egli sa conciliare filosofia e antropologia, rielabora i temi della logica e della metafisica aristotelica e considera la "realtà" fondamento insostituibile della scienza, nello stesso modo in cui la metafisica esprime, in maniera incontrovertibile, l'ansiosa progressione dell'umana intelligenza. Il suo *Canone* s'impose come testo obbligatorio in numerose facoltà europee (fig. 3). Nella sua, a volte, esasperata astrazione e conflazione dei 'saperi', sottolinea anche una sorta di dinamica dell'agire medico posto come tema conciliatore dei sistemi religiosi fermentati lungo le sponde della sincretica civiltà mediterranea. Tra il XVII e il XVIII secolo va scemando in Occidente l'interesse per il *Canone* di Avicenna (roccaforte secentesca l'università di Lovanio), al contrario dell'Oriente arabo-islamico in cui si mantiene alta l'attenzione su tale visione della pratica medica (e dell'umana avventura intellettuale avicenniana). Ancor oggi, nello Yemen (A. Borruso), i medici consultano il "Canone" prima della formulazione diagnostica. Nel *Poema della medicina*, opera minore di 1326 versi (lontani dal ritenerla 'non efficace' secondo il giudizio detrattore di E.G. Browne; concordi, invece, con la lettura filologica e partecipata di A. Borruso, 1996), Avicenna trasmette la mentalità scientifica attinta dalla cultura greca per renderla più pragmaticamente efficace e rigenerarla nel dolore dell'uomo sofferente. La medicina e i compiti del medico sono definiti nel 'poema' (punti: 17 e 780) con icastica determinazione:

- 17. Per medicina s'intende [l'arte di] conservare la salute, e guarire la malattia sopraggiunta per un qualche accidente al corpo.
- 780. Conservare la salute nell'uomo sano è a dire il vero, per noi medici, lo scopo primario.

Nel primo segmento del 'poema' (punti: 10 e 13) si consegna valore categoriale alla 'parola' quale veicolo della natura, espressione d'evoluzione ideale, di impronta divina, ca-

pace di tracciare e permeare la vita umana, ed estendere quella commozione, fatta di famigliari tensioni e ardori tiraici, alla conoscenza e alla comprensione per quell'essere al mondo. Due sistemi da governare, quindi: *parola e corpo*,

- 10. Le arti e la parola distinguono l'uomo dagli animali.
- 13. I poeti sono i principi della parola, e i medici sono i re del corpo.

Poeti e medici s'incontrano, non a caso, nel laminare magnetismo del corpo e del suono, e del silenzio. Tra questi confini, nell'amalgama di questi 'comuni saperi', il dolore e i sintomi (di grande suggestione quelli premonitori della morte) ci restituiscono l'orizzonte morale del medico temprato dalle condivisioni interculturali e dalla perenne umana doglianza.

**Bibliografia**

A. Borruso (a cura di), *Avicenna. Il poema della medicina*, Zamorani, Torino 1996. G. Imperiali, *L'antica medicina egizia*, Xenia, Milano 1995. G. Pettinato, *La saga di Gilgamesh*, Rusconi, Milano 1992. L. Premuda, *Storia della medicina*, CEDAM, Padova 1975.

## Capsula Eburnea

Rivista di formazione e cultura dei giovani medici

### Editori

Francesco Cappello – Palermo, Anatomista  
francapp@hotmail.com

Walter Mazzucco, Palermo, Igienista  
waltermazzucco@libero.it

Giuseppe Puccio – Palermo, Neonatologo  
gpuccio@neomedia.it

### Comitato Scientifico

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  
fabiobuk@hotmail.com

Emanuele Cannizzaro – Palermo, Farmacologo  
manuc0@tin.it

Silvestro Ennio D'Anna – Cefalù (PA), Pneumologo  
sdanna@hsrgiglio.it

Piero Di Silverio – Napoli, Chirurgo  
pierodisilverio@libero.it

Francesco Dispenza – Palermo, ORL  
francesco-dispenza@libero.it

Pierluigi Ingrassia – Novara, Anestesiologo  
pingrass@fsb.it

La rivista **Capsula Eburnea** pubblica articoli scientifici originali su argomenti di medicina, biomedicina, biotecnologie mediche, scienze motorie e psicologia medica. La rivista accetta contributi redatti come articoli originali, review, casi clinici, note di tecnica, note di terapia, nuove tecnologie.

Lo scopo è quello di promuovere l'interesse dei giovani laureati in discipline biomediche nei confronti della ricerca scientifica. Giovani medici, specializzandi, dottorandi, assegnisti, borsisti e ricercatori possono cimentarsi nella stesura di originali e interessanti articoli in italiano e in inglese.

Questi articoli saranno valutati da Reviewers che si impegneranno nel dare opportuni suggerimenti per migliorare la qualità del manoscritto, rendendolo pubblicabile.

Capsula Eburnea è pertanto sia una rivista scientifica sia uno strumento di formazione per giovani ricercatori.

Anna Martorana – Palermo, Anatomopatologo  
annaemme@hotmail.com

Rossana Messina – Marsala (TP), Psichiatra  
rossanamessina@hotmail.com

Rosaria Nardello – Palermo, Neuropsichiatra infantile  
r.nardello@unipa.it

Salvatore Pirri – Palermo, Anestesiologo  
salvo.pirri@libero.it

Eva Polverino – Brescia, Pneumologo  
evapo74@gmail.com

Riccardo Mandracchia – Palermo, Radiologo  
rimandr@tin.it

Francesco Sanguedolce – Bologna, Urologo  
fsangue@hotmail.com

Claudio Tripodo – Palermo, Anatomopatologo  
tripodo@unipa.it

Manlio Vinciguerra – Ginevra, Biologo Molecolare  
Manlio.Vinciguerra@medecine.unige.ch

*Le linee guida per gli autori e tutti gli articoli sono disponibili gratuitamente attraverso il Sito Web:*

**<http://www.sims.ms/rivista>**



**<http://www.sims.ms>**