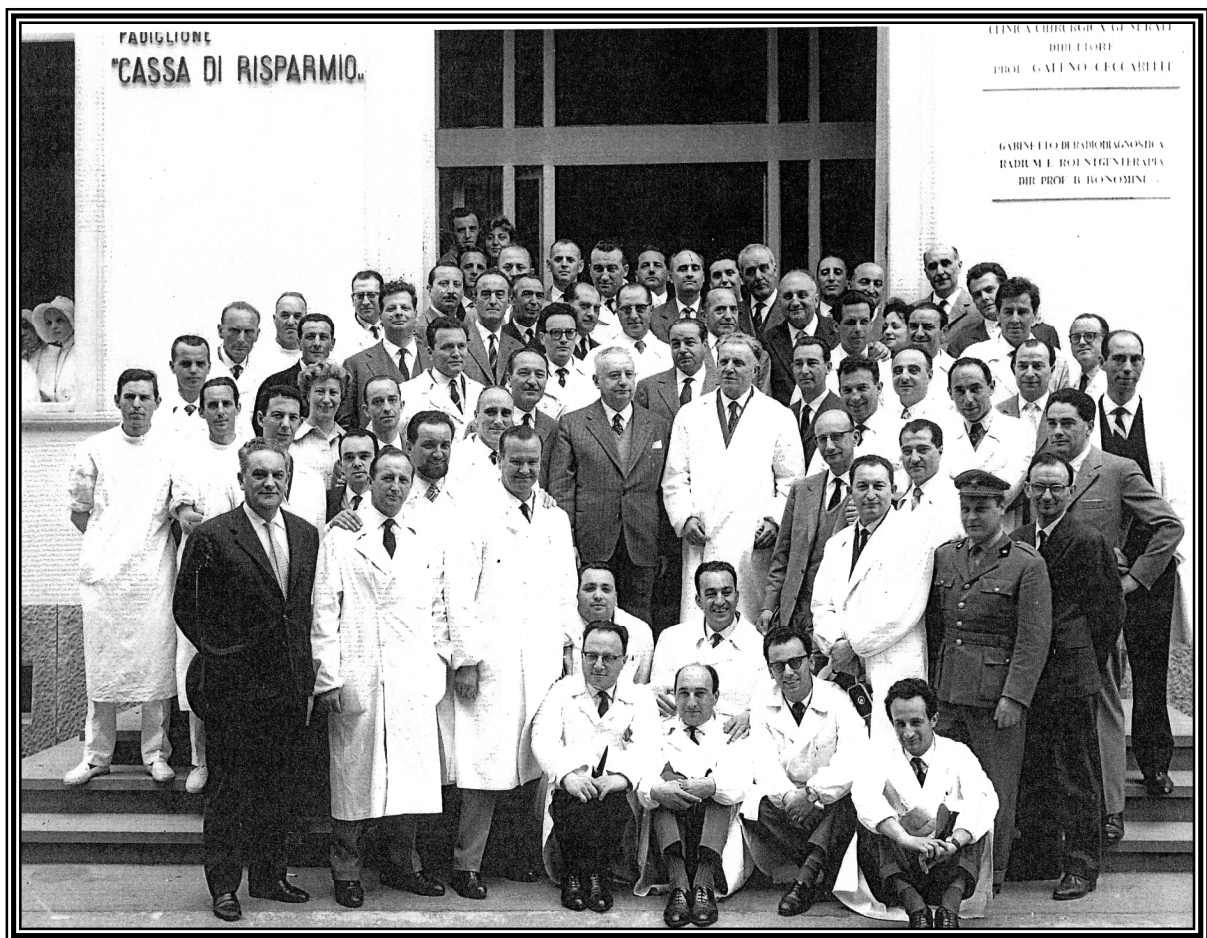


Giacomo Tasca

STORIA DELLA MEDICINA

Volume II

IL XX SECOLO - Parte Prima



- **Discipline propedeutiche
allo Studio della Medicina**
- **Anestesiologia**
- **Ghirurgia Generale**

a cura del **CENTRONOVE**
Circolo Aziendale Ospedaliero
di San Vito al Tagliamento

*alla memoria dei miei maestri di chirurgia Galeno
Ceccarelli, Giovanni Manara e Carlo Carlon e ai miei
collaboratori negli Ospedali di Udine e di San Vito al
Tagliamento*

In copertina: la scuola chirurgica del Prof.
GALENO CECCARELLI a Padova in
occasione della sua ultima lezione di clinica
chirurgica – 17 maggio 1959.

INDICE

Introduzione	8
Biochimica	9
Macromolecole	9
Enzimi	13
Energia	14
Metabolismo	15
Biochimica cellulare	18
Radicali liberi	19
Chimica Bioinorganica	23
Immunoistochimica	23
Biofisica	27
Biotechnologie	31
Biometria	37
Anatomia	40
Neurogenesi	57
Anatomia e Fisiologia della Cellula	61
Differenziazione cellulare	66
Genetica	68
Riflessi della nuova Genetica in Medicina	92
Fisiologia	99
I processi di Autoregolazione del “ <i>Milieu Interieur</i> ”	100
Metabolismo dell’acqua e degli elettroliti	101
Relazioni osmotiche dei liquidi organici	102
Neurofisiologia – Fisiologia dell’impulso nervoso	102
Fisiologia delle comunicazioni neuronali	107
Neuroendocrinologia	111
Fisiologia del Sistema Reticolare Ascendente	115
Fisiologia dell’Apparato Digerente	119
Esofago	119
Stomaco	121
Intestino Tenue	127
Motilità del Tenue	133
Colon	135
Contrazioni fasiche individuali	136
Gruppi Organizzati di contrazioni del colon	139
Contrazioni ultrapropulsive	139
Intestino retto e ano	140
Ormoni Gastrointestinali	142
Vie Biliari e Pancreas	144
Sfintere di Oddi	147
Pancreas	148
Fisiologia della Respirazione	151
Regolazione chimica	151
Distribuzione polmonare dei gas e del sangue	155
Scambi polmonari dei gas	157
Fattori che regolano la Ventilazione	159
Fattori che regolano la Perfusionione	159
Microscopia della Circolazione Polmonare “ <i>in situ</i> ”	160
Meccanismi del lavoro respiratorio	160
Il Surfattante polmonare	161
Fisiologia respiratoria dell’Anziano	162
Fisiologia della Circolazione	162
Elettrofisiologia del Cuore	168

Tono vasale	172
Fattori vasoattivi	172
Dilatazioni endoteliodipendenti	172
Contrazioni endoteliodipendenti	173
Regolazione neuromorale	174
Fisiologia Cardiovascolare dell'Anziano	174
Fisiologia dell'Apparato Uropoietico	175
Funzioni ormonali del Rene	180
La minzione	181
La continenza	182
Patologia Generale	183
Patologia della Cellula	183
Riproduzione Sperimentale	190
Rigenerazione cellulare	192
Immunologia generale	193
Istocompatibilità	200
Autoimmunità e Malattie Autoimmuni	205
Tolleranza e Immunosoppressione	210
Ipersensibilità immunitaria	215
Anafilassi	215
Malattie allergiche	216
Ipersensibilità citotossica	216
Ipersensibilità da Immunocomplessi	216
Ipersensibilità ritardata	217
Immunologia dei trapianti	218
Immunopatologia	219
L'Infiammazione	220
Mediatori cellulari e subcellulari dell'Infiammazione Acuta	226
Leucociti e Piastrine – Leucociti e Prostaglandine	229
Le Neoplasie	231
Cause delle Neoplasie maligne nell'Uomo	236
Storia dell'Oncologia Sperimentale	240
Geni Oncosoppressori	248
Immunologia oncologica	248
Storia naturale della Malattia Neoplastica nell'Uomo	251
Farmacologia	254
Farmacologia Molecolare	262
Neurotrasmettitori agonisti e antagonisti	263
Canali ionici della membrana citoplasmatica	265
Antienzimi specifici- Farmaci anti-ACE	267
Immunomodulatori e Immunosoppressori	271
Proteine G – Recettori di Membrana	271
Nucleotidi antisense (aODN)	274
Farmacogenetica	274
Vaccini Tradizionali	275
Vaccini Intelligenti	276
Farmacogenomica	278
Anestesiologia	279
Metodi e sostanze anestetiche : anni 1900-1940	279
La figura dell'Anestesista e le Scuole di Anestesiologia	284
Primi Apparecchi di Anestesia e i 4 metodi: anni 1941-1950	284
Anestesia in Ipotensione controllata	287
Ipotermia in Anestesia	288
Neuroleptoanalgesia	289
Anestesia Lombare o Subaracnoidea	289
Anestesia Extradurale o Epidurale	290

Anestesia Locale	291
Anestesia Regionale o Tronculare	292
Anestesia con Intubazione della Trachea	294
Anestesia rettale – Narcosi basale	296
Anestesia Endovenosa	296
Chirurgia Generale	297
Periodo 1900 – 1945	300
Periodo dopo il 1945	301
Chirurgia Cardiovascolare	301
in circolazione extracorporea (CEC)	303
nelle Cardiopatie acquisite	304
cuore artificiale meccanico	308
il palloncino intraaortico	309
cuore artificiale pneumatico	310
nelle Cardiopatie congenite	310
nelle coronaropatie	313
nei disturbi del ritmo cardiaco	315
negli aneurismi dell’Aorta Toracica	318
Chirurgia Vascolare Periferica	319
prevenzione dell’Embolia Polmonare	324
bypass e innesti vascolari	326
bypass venosi autogeni	328
profundoplastica e ricostruzioni extra-anatomiche	328
ricanalizzazione con ultrasuoni	329
disobliterazione con energia laser	329
aterectomia	330
angioscopia	331
ultrasuonografia endovascolare	333
Chirurgia Vascolare Venosa	334
I Trombolitici nella cura dell’Occlusione Arteriosa	334
Trattamento della Flebotrombosi profonda	336
Microchirurgia Vascolare	337
Chirurgia dell’Apparato Respiratorio	338
Chirurgia della TBC polmonare	339
sue indicazioni residue negli anni Ottanta del Novecento	341
Chirurgia degli Ascessi e Gangrene del Polmone	342
Chirurgia di exeresi per Bronchiectasie	344
Chirurgia negli Empiemi della Pleura	347
Chirurgia di exeresi per Cancro del Polmone	348
Trapianti di Polmone	352
Chirurgia di exeresi per metastasi polmonari	354
Chirurgia della Mammella nella cura del Cancro	355
Recettori ormonali	361
Chemioterapia e chirurgia	362
Mutazioni genetiche e cancro della mammella	363
Carcinoma Duttale <i>in situ</i>	363
Quadrantectomia e Nodulesctomia	364
Chirurgia dell’Apparato Digerente	365
Chirurgia dell’esofago	366
Stenosi benigne acquisite	367
Acalasia esofagea	368
Malattia da reflusso gastroesofageo	370
Varici esofagee sanguinanti	373
Cancro dell’Esofago	380
Cancro dell’esofago metodi palliativi	385
Chirurgia dello stomaco	386

Mezzi decompressivi e diagnostici	386
Gastrostomie	387
Cura chirurgica dell'Ulcera peptica	389
Cura chirurgica del cancro dello stomaco	399
Cura chirurgica dell'ernia iatale da scivolamento	406
Chirurgia gastrica come cura dell'Obesità	410
Chirurgia della Malattie Infiammatorie croniche dell'Intestino	412
nel Morbo di Chron	413
nel Morbo di Chron colico	417
nella Colite Ulcerosa	419
Chirurgia del Grosso Intestino	427
nella Malattia Diverticolare	427
nel Cancro del Grosso Intestino	430
nella Poliposi ereditaria del grosso Intestino	449
nelle forme precancerose dell'Ano-Retto	452
nei cancri del Canale Anale	455
nell'Adenocarcinoma del Retto	460
chirurgia delle Emorroidi	461
chirurgia del Prolasso Rettale	466
chirurgia delle Fistole Anorettali	470
Chirurgia di Fegato, Vie Biliari, Milza e Pancreas	474
Patologia e Clinica Chirurgica delle Malattie di Fegato	474
Ferite e traumi del fegato	474
Fegato policistico	477
Tumori del fegato	477
Ascessi del fegato	483
Cisti idatidea del fegato	487
Trapianti di fegato	490
Chirurgia delle Vie Biliari	493
chirurgia nelle malattie della Cistifellea	500
chirurgia nel cancro della Cistifellea	502
nel cancro delle vie biliari intra- ed extraepatiche	504
nella colangite sclerosante primitiva	505
Chirurgia dell'Epatocolodoco e dello Sfintere di Oddi	506
Colangiografia Retrograda Endoscopica (ERCP)	507
Manometria e Flussimetria coledocica	510
Chirurgia della Papillite Cronica Stenosante	511
Derivazioni Interne del Coledoco	512
Fistoloenterostomia	513
Splenectomia e sue indicazioni	515
Malattie chirurgiche del Pancreas	518
Pancreatite Acuta Emorragica	518
Pancreatite Cronica	524
Pancreatite Cronica Recidivante	525
Cancro del Pancreas	526
Sindrome Dolorosa da Cancro inoperabile	530
Cistoadenocarcinoma del pancreas	532
Trapianti di Pancreas	532
Bibliografia	534 - 539
Indice Anaitico dei Nomi	540 - 566
Abbreviazioni	567

PREFAZIONE

A quattro anni di distanza dalla fine del XX secolo e di fronte al continuo arrivo di notizie che quotidianamente aggiornano la popolazione mondiale sul rinnovarsi del volto della medicina dovuto a sempre nuove scoperte scientifiche nell'immenso campo della ricerca volta a migliorare il futuro dell'umano stato di salute, chi si accinge a tracciare la storia della medicina del XX secolo avverte il peso immane delle difficoltà che lo attendono. Già la fine dell'Ottocento si era svolta in un clima acceso e ricco di attese e di fiducia per le scoperte che la chimica, la fisica e la nascente biochimica avevano da pochi decenni donato al mondo della medicina inaugurando sempre nuovi filoni e metodi di ricerca. Il primo ventennio del Novecento, che pure fu profondamente travagliato dal primo conflitto mondiale, vide il tumultuoso sviluppo degli studi di biochimica, l'avvento dell'industrializzazione farmaceutica, l'affermarsi di inauditi successi terapeutici in chirurgia e nella prevenzione di malattie diffuse nelle società dei paesi più evoluti. I passi da gigante fatti fino al 1939, anno che ha segnato l'inizio della seconda guerra mondiale, nel campo della profilassi e cura di malattie infettive di preminente interesse sociale quali la tubercolosi, le malattie veneree, la malaria e le ricorrenti epidemie di numerose malattie tropicali non avevano fatto dimenticare il pesantissimo tributo di mortalità pagato dalla popolazione mondiale durante l'epidemia influenzale detta "spagnola" verificatasi tra il 1918 e il 1920. Se gli anni Trenta hanno visto il trionfo farmacoterapico dei sulfamidici, il secondo dopoguerra ha visto quello della penicillina e di tutti gli altri antibiotici che l'hanno seguita nella seconda metà del secolo come un corollario dovuto ai progressi della ricerca farmacologica. La seconda metà del Novecento ha rappresentato un periodo così denso di scoperte da rivoluzionare il mondo della medicina come mai era avvenuto in passato, sia in campo diagnostico che terapeutico, sia nella conoscenza dell'infinitamente piccolo in biologia e patologia.

Questa prefazione è stata scritta nel periodo compreso fra il 2004 e il 2006.

Nel rileggere le pagine che seguono, l'A., che ha voluto affrontare con l'indispensabile determinazione il difficile tema dell'evoluzione storica della medicina nel Novecento, ha dovuto ammettere che non ha sempre saputo collocare nella giusta luce - per l'importanza da essi rivestita nel loro momento storico - tutti gli eventi che ha tentato di ordinare secondo il criterio cronologico e seguendo sostanzialmente lo schema sfruttato per i secoli precedenti nel primo volume. L'A. si rende anche conto di aver corso deliberatamente il serio rischio di omettere del tutto e/o di non aver valutato correttamente alcuni fatti che per il progresso del sapere medico hanno avuto o potranno ancora avere notevole interesse. Sono queste le avvertenze che vengono presentate qui per un dovere morale che l'A. sente di avere nei riguardi dei lettori.

Negli anni compresi tra il 2004 - che fu l'anno in cui fu scritta questa prefazione - e l'autunno del 2013, alla prima stesura di questo 2° volume di Storia della Medicina e prima parte di quella del XX secolo, furono eseguite diverse verifiche e furono aggiunti alcuni aggiornamenti soprattutto nei capitoli della Farmacologia, dell'Anestesiologia e della Chirurgia Cardiovascolare e Vascolare Periferica nonché nel capitolo sulle Malattie chirurgiche del Pancreas e, ultimamente, si è provveduto alla composizione dell'indice analitico dei nomi e alla bibliografia. Il testo termina con il capitolo sulla chirurgia del pancreas. Sono già pronti da alcuni anni anche i testi che riguardano la evoluzione delle chirurgie specialistiche e delle specializzazioni internistiche nel secolo XX, testi che l'A. spera di poter mettere a disposizione dei lettori in altri volumi di questa storia della medicina se ne avrà il tempo.

Dicembre 2013

BIOCHIMICA

La biochimica è la chimica della sostanza vivente, una scienza relativamente giovane e nuova, sviluppatasi in forma autonoma nei primissimi anni del Novecento ma nata nella seconda metà del secolo precedente muovendo i primi passi dalla fisiologia e dalla chimica. Oggi si può affermare che la biochimica è lo studio delle molecole proprie della sostanza vivente, delle complesse reazioni chimiche che intervengono tra loro, dei catalizzatori che operano a livello di queste reazioni e delle variazioni energetiche che si verificano in tutti i processi di natura chimica.

Le radici della biochimica affondano nelle scoperte di Louis Pasteur sui processi di fermentazione operati da organismi viventi e in quel periodo la biochimica era ancora detta “chimica fisiologica” essendo concepita come un semplice braccio tecnologico della fisiologia, ovvero, come nel 1870 disse F. Hoppe-Seyler, “*un prolungamento scientifico della fisiologia*”. Ma nel 1897 E. Buchner dimostrò la trasformazione del glucosio in etanolo e anidride carbonica ad opera di un estratto cellulare di lievito evidenziando così che dentro le cellule esistono sostanze capaci di eseguire e subire trasformazioni chimiche sostanziali. Altri esperimenti di Buchner negli anni di passaggio tra Ottocento e Novecento confermarono la presenza nelle cellule vive di catalizzatori chimici, cioè degli enzimi o fermenti e questi furono i primi importanti passi della biochimica.

Durante i primi decenni del Novecento i ricercatori si interessarono prevalentemente della struttura chimica dei composti organici limitandosi a quelli di basso peso molecolare. Furono eseguite allora anche le prime sintesi di laboratorio e si giunse alle prime importanti conoscenze di struttura di numerose sostanze nel campo degli zuccheri, degli aminoacidi, dei peptidi e delle purine, cioè di quanto divenne indispensabile per affrontare il difficile studio del metabolismo. In quel periodo fu decisivo il colossale contributo delle scoperte fatte da **Emil Fischer** (1852-1919) ma certamente non meno determinanti per il progresso della biochimica furono la scoperta nel 1905 della migrazione in campo elettrico delle proteine fatta da W. Hardy e gli studi di chimica fisica sugli alti polimeri naturali condotti tra il 1910 e il 1915 da Theodor Svedberg, Hermann Staudinger e Richard Zsigmondy. Fu lo svedese **Svedberg** (1884-1971) – premio Nobel 1926 – a scoprire i primi grandi polimeri ad alto o altissimo peso molecolare applicando l’ultracentrifugazione dei colloidi naturali. La scoperta di Hardy sulla migrazione delle proteine in campo elettrico ha consentito a J. Loeb e poi a L. Michaelis di definire tra il 1915 e il 1920 il concetto di punto isoelettrico. Sarà poi il premio Nobel **Arne Tiselius**, biochimico svedese, a rendere utile anche per la medicina pratica queste scoperte del primo Novecento realizzando nei primi anni quaranta il metodo di separazione e tipizzazione delle proteine con l’elettroforesi.

A questo punto la complessità della materia richiede una trattazione separata per sottocapitoli. Il primo di questi è quello che riguarda la storia degli studi sulle macromolecole.

Macromolecole

Alle macromolecole, dette anche polimeri, la conoscenza delle quali è arrivata grazie alla definizione della struttura degli zuccheri complessi, degli aminoacidi, degli acidi grassi e anche di alcuni steroli, terpeni, ormoni e vitamine, è stata riconosciuta abbastanza presto la funzione di architettura delle strutture della cellula. Si sono aggiunte sempre nei primi decenni del secolo le nozioni di funzione energetica da parte del glicogeno e dell’amido e

della funzione di sostegno svolta dalla cellulosa e dalle scleroproteine. Già nel corso del primo ventennio erano note le sostanze eterocicliche azotate derivate dalla purina e dalla pirimidina nonché i due pentosi e l'acido ortofosforico, insomma di tutti gli elementi che entrano nella composizione degli acidi nucleici di cui si tratterà più avanti. Tuttavia l'esatta conoscenza delle formule di struttura degli acidi nucleici e di tanti altri importanti polimeri richiese notevole impegno protratto per molti decenni. A questo proposito basta citare due esempi. Il primo è quello dell'eme, il gruppo prostetico delle emoglobine deputate a trasportare l'ossigeno nel sangue e nella muscolatura dell'uomo e di tutti i vertebrati. Ebbene l'eme – che era già stato isolato dopo il 1850 allo stato puro – ha rivelato completamente la sua struttura grazie agli studi di molti ricercatori, tra i quali R. Willstaetter ed E. Fischer, verso il 1930, anche se lo studio definitivo della struttura dell'emoglobina si è concluso solo nel 1958 ad opera di **Max Ferdinand Perutz**, biochimico inglese di origine austriaca, premio Nobel 1962 per la chimica, il quale ancora nel 1935 a Cambridge aveva sottoposto la struttura tridimensionale delle proteine alla diffrazione dei raggi X. Anche John Cowdery Kendrew, che poco prima di Perutz aveva risolto con lo stesso metodo la struttura tridimensionale di un'altra cromoproteina, la mioglobina, ottenne il Nobel insieme a Perutz nel 1962.

Il secondo esempio di una lunghissima ricerca che ha coinvolto molti studiosi del mondo occidentale è quello offerto dagli acidi nucleici.

Questa è forse la storia più entusiasmante della ricerca in biochimica e in biologia ed è certamente una delle scoperte più ricche di ricadute positive in campo medico. Gli inizi di questa lunga storia si hanno nel 1871, anno in cui Hoppe-Seyler, chimico dell'università di Tubinga, dette alle stampe un lavoro del suo allievo F. Miescher, il quale sosteneva di aver estratto dalle cellule del pus una sostanza organica molto acida contenente fosforo da lui definita "*nucleina*". Lo stesso Hoppe-Seyler, stimolato da questa osservazione, riuscì a isolare sostanze analoghe alla nucleina dal lievito e dai globuli rossi degli uccelli. Nel caso della nucleina si trattava di ciò che in seguito sarebbe stato identificato come acido desossiribonucleico (DNA) mentre nella sostanza isolata da Hoppe-Seyler si trattava dell'acido ribonucleico (RNA). Da allora dovettero passare però molti anni prima di poter isolare le sei componenti chimiche essenziali di quelle nucleine: quattro sostanze contenenti azoto, acido fosforico e uno zucchero. Delle quattro basi azotate la guanina era nota fin dal 1884, l'adenina lo fu nel 1885, la timina nel 1893 e la citosina nel 1894. Il laboratorio dove furono identificate era quello del fisiologo tedesco Albrecht Kossely (1835-1927). L'uracile, invece, unica pirimidina specifica dell'RNA, fu scoperto nel 1900. Un anno prima, 1899, R. Altmann aveva sostituito il termine "*nucleina*" inventato da Miescher con quello, più rispondente alla composizione chimica e alla differenza tra due sostanze simili ma diverse, di "**acidi nucleici**", termine tuttora in uso. Il merito della distinzione dei due zuccheri in ribosio e desossiribosio fu di P.A. Levene (1931). Nel suo laboratorio e in quello di S.J. Thannhauser furono eseguite in massima parte le ricerche sui composti basi azotate-zuccheri, sui nucleosidi e sui loro derivati fosforati detti "nucleotidi". Ciò che facilitò grandemente la separazione dei nucleotidi – che sono acidi forti di solito isolati come sali - fu l'invenzione della cromatografia su carta o su strati sottili e poi, ancor meglio, l'assorbimento ed eluzione su colonne cromatografiche a scambio ionico. Fu scoperta così la caratteristica fisica specifica dei nucleotidi che consiste nello spettro di assorbimento nella banda dell'ultravioletto. Il fatto poi che i nucleotidi mostrano diverse lunghezze d'onda d'assorbimento fu proficuamente utilizzato per la loro identificazione.

Mentre nei laboratori di Emil Fischer, Traube, Wheeler, Johnson e altri si portava avanti una vasta mole di ricerche sulla identificazione dei singoli costituenti degli acidi nucleici e sui metodi per arrivare alla loro sintesi, la visione d'insieme si andò oscurando per le

difficoltà che incontrava l'accettazione del concetto di molecole giganti e per l'erronea credenza secondo la quale il DNA sarebbe stato tipico solo del regno animale mentre l'RNA lo sarebbe stato solo del regno vegetale e microbico. Appena furono disponibili metodi d'indagine adeguati questo errore fu subito corretto e tutto il mondo scientifico certificò che DNA e RNA erano presenti in tutte le cellule viventi, fatta eccezione per i virus e i batteriofagi che contengono un solo acido nucleico, il DNA o l'RNA.

Intanto un sostanziale passo avanti era stato compiuto dallo scandinavo Svedberg e da Staudinger che erano riusciti a persuadere i colleghi dell'esistenza in natura di molecole giganti, di proteine di altissimo peso molecolare e di alcuni polimeri sintetici. Poi, nel 1944, Oswald T. Avery e collaboratori pubblicarono i risultati di una loro ricerca sulla trasformazione indotta del DNA di un tipo di pneumococco tirando la seguente conclusione: *“la prova qui presentata accredita l'ipotesi che un acido nucleico del tipo DNA è l'agente che trasforma lo pneumococco tipo III”*. La scoperta di Avery e coll. dimostrava la natura chimica dei geni, rivelando anche la trasmissione ereditaria di una variante microbica indotta. Erwin Chargaff e coll., tra i quali il biochimico tedesco Ernst Vischer, convinti della bontà della strada aperta da Avery, portarono a termine tra il 1945 e il 1949 una grande quantità di ricerche su campioni di DNA e di RNA estratti da numerosi tipi diversi di cellule, affinando i metodi di idrolisi degli acidi nucleici e, nel 1950, diedero alle stampe i risultati traendo, tra l'altro, le seguenti conclusioni: *“la composizione degli acidi nucleici è caratteristica della specie da cui derivano ma non del tessuto. Se ne deduce che esiste un numero enorme di acidi nucleici di struttura diversa... tali acidi possono ben essere l'agente responsabile della trasmissione dei caratteri ereditari”*.

Queste scoperte e le indagini con diffrazione dei raggi X condotte a Londra da Wilkins sulla struttura del DNA furono la base di partenza dalla quale J.D. Watson e F.H.C. Crick partirono nel 1953 per formulare l'ipotesi del modello strutturale macromolecolare a doppia elica del DNA, dove le due catene intrecciate A e B sono tenute insieme da legami a idrogeno. Così si è finalmente capito il modo con il quale la macromolecola di DNA può duplicarsi conservando l'informazione biologica intrinseca: la primitiva catena A forma la nuova catena B e la primitiva catena B forma la nuova catena A, ossia il positivo forma il negativo e viceversa e così di seguito finché c'è vita.

Dopo il 1960 gli studi ripresero sull'RNA e il primo passo decisivo fu la scoperta di enzimi specifici detti RNA-polimerasi, che utilizzano il DNA come stampo e sintetizzano molecole di RNA di composizione complementare: quelle cioè che servono per la propria duplicazione e quelle della propria trascrizione. Nel corso degli anni sessanta furono identificate le diverse classi di RNA: il ribosomiale di alto peso molecolare, il solubile o transfer di basso peso molecolare e l'RNA messaggero. Nel 1977 il chimico inglese Frederick Sanger – che aveva già vinto il Nobel 1958 per aver individuato la struttura molecolare dell'insulina – mise a punto il sistema per individuare le sequenze del DNA, ciò che permette di decifrare il messaggio in codice di ogni singolo gene e questa scoperta gli fruttò un secondo Nobel nel 1980. Nel 1981 il biochimico P. Berg sviluppò la tecnologia del DNA ricombinante, materia sulla quale operarono anche Watson e altri fino al 1992: si tratta in questo caso del clonaggio di un singolo gene del patrimonio DNA di una cellula vivente e della possibilità di consentire a questo gene di produrre proteine o RNA in organismi eterologhi. Mullis nel 1990 utilizzò questa tecnica per amplificare quantitativamente qualsiasi segmento di DNA presente nella cellula in minime concentrazioni (*polymerase chain reactions*). Queste furono fra le prime biotecnologie che si affacciarono nel mondo ancora sconosciuto delle reazioni biochimiche dovute a scarsa o scarsissima espressione dei geni o della scarsa concentrazione del loro prodotto. Insomma il modello a doppia elica di Watson e Crick ha esercitato negli ultimi 35 anni del XX secolo un'enorme influsso sullo sviluppo della biochimica, della biofisica e della genetica,

scienze che – unitamente alla microbiologia e alla virologia - vanno a costituire ciò che oggi è detto “*biologia molecolare*”.

Le molecole giganti, più che per il loro altissimo peso molecolare, vengono oggi definite in base alle loro dimensioni sui diversi assi e questa è una conquista legata al continuo perfezionamento del microscopio elettronico. Questo meraviglioso strumento ha consentito di stabilire, oltre alle dimensioni delle enormi macromolecole, anche i modi di associazione dei monomeri che le formano, avendo ogni proteina una propria modalità di avvolgimento endomolecolare delle catene di aminoacidi che la costituiscono: questo rappresenta una progressiva conquista che si è compiuta tra il 1945 e gli anni ottanta e novanta del Novecento.

La risoluzione tridimensionale delle proteine e degli acidi nucleici a partire dal 1970 rappresenta uno dei gradini più alti della lunga scala di ricerche e di scoperte che prende inizio da quella del “*legame peptidico*” il quale unisce tra loro gli aminoacidi per formare una proteina e che risale al periodo 1899-1908 dominato dagli studi di Emil Fischer (Nobel 1902). La scoperta che quasi tutte le proteine sono composte da non più di venti aminoacidi è del 1936, anno in cui fu scoperto il ventesimo e ultimo aminoacido, la treonina. Fondamentale fu negli anni venti e trenta l’impiego dell’idrolisi totale delle proteine per ottenere la completa scomposizione proteica onde liberare tutti gli aminoacidi che le costituiscono.

Dagli anni settanta in poi si continuò a studiare il sequenziamento proteico, cioè l’ordine con il quale gli aminoacidi formano la catena polipeptidica. Da poche decine di strutture proteiche individuate prima del 1970 si è arrivati negli ultimi anni del secolo a individuarne ben cinquemila. Queste nuove conoscenze hanno reso possibile la sintesi di nuove molecole. Del resto già nel 1965 P. G. Kafsoyannis aveva realizzato la sintesi della prima proteina ottenuta in laboratorio, quella dell’insulina pancreatica.

Un’altra possibilità offerta dalla esatta conoscenza strutturale di una proteina è stata quella di modificarne singole componenti per migliorare o comunque mutare la sua azione specifica e un ulteriore vantaggio offerto dalla conoscenza della struttura tridimensionale di molte molecole proteiche è stato quello di conoscere la evoluzione che una specie proteica ha avuto nel tempo.

Per concludere questa prima parte dedicata alla storia degli studi eseguiti sulle macromolecole della sostanza vivente sembra di poter riassumere in cinque punti i seguenti dati scientifici come risultavano alla fine del XX secolo:

- a) le macromolecole biologiche sono costituite da pochi elementi (C, H, O, N e, in misura molto minore, anche P e S) e la loro macrodimensione è il risultato di una successione di unità che si ripetono saldandosi tra loro con legami particolari. Comunque trattasi sempre di una costruzione improntata a criteri di economia.
- b) la funzione delle macromolecole è altamente specifica: di messaggio, di replicazione, di sintesi proteica, di regolazione dell’espressione genica, di catalisi, di trasporto, di sostegno e altro.
- c) Una caratteristica delle macromolecole biologiche è la flessibilità che consente cambiamenti di conformazione passando da una struttura terziaria a una quaternaria e viceversa grazie alla presenza sia nelle proteine che negli acidi nucleici di legami chimici covalenti e di una serie numerosa di legami deboli.
- d) Mentre il numero delle sequenze proteiche di tipo primario presente nel 1994 nella banca dati era molto alto (30.000) e stava crescendo ogni giorno con ritmo esponenziale,

quello delle strutture tridimensionali diverse tra loro era molto più modesto e si ipotizzava un valore finale non superiore a mille.

e) Nella composizione delle proteine è stata riconosciuta l'esistenza di moduli strutturali detti “*domini*” che comprendono l'intera catena polipeptidica o soltanto una sua parte. A questi domini nel 1991 Blanden e Tooze e, nel 1993, Creighton hanno riconosciuto una funzione biologica precisa. Questo fenomeno è particolarmente presente nelle numerosissime proteine che costituiscono gli enzimi.

Enzimi

Assoluta necessità di ogni essere vivente è la contemporaneità di molte centinaia di reazioni chimiche che devono compiersi in modo preordinato e a velocità prestabilita e questo avviene in continuazione grazie al lavoro svolto dagli **enzimi** un tempo chiamati “fermenti” e oggi – più esattamente – biocatalizzatori o catalizzatori *tout court*.

Le attività enzimatiche erano note in minima parte già nella seconda metà dell'Ottocento ma non si conoscevano le sostanze chimiche che le esercitavano. Fu la preparazione sotto forma pura cristallizzata dell'ureasi nel 1926 da parte dell'americano James B. Sumner (1887-1955) a fornire la conoscenza del primo enzima. In precedenza, nel 1910, G. Bertrand, H. von Euler e W.M. Bayliss avevano stabilito che le attività enzimatiche erano tutte di natura catalitica, cioè facilitavano la degradazione di molecole semplici comportandosi come i catalizzatori minerali allora già noti. Sempre di quel lontano periodo è stata la scoperta che tutti i processi metabolici – anche i più complessi - sono dovuti all'azione catalitica degli enzimi e che essi possono verificarsi solo all'interno della cellula. Un passo avanti era stato fatto nel 1912 da S.P.L. Sorensen il quale scoprì che ogni reazione enzimatica per verificarsi ha assoluto bisogno di una concentrazione ottimale di ioni idrogeno.

Dopo la preparazione allo stato puro dell'ureasi da parte di Sumner, si ebbero quelle di molti altri enzimi da parte del biochimico americano John Howard Northrop (1891-1987) che ricevette il premio Nobel nel 1946 insieme a Sumner e a Wendell Stanley appunto per gli studi sugli enzimi e sui batteriofagi.

Se ancora negli anni venti si stentava ad ammettere che tutti gli enzimi fossero di natura proteica perché alcuni biochimici sostenevano ancora l'esistenza di un supporto enzimatico di natura indifferentemente proteica o glucidica, fu il tedesco Otto Warburg (1883-1970) a stabilire sulla base di una dimostrazione inoppugnabile che tutti gli enzimi, nessuno escluso, erano proteine. Era l'anno 1930 e nell'anno seguente Warburg fu premiato con il Nobel per la medicina proprio per aver scoperto il trasporto enzimatico dell'ossigeno.

Il periodo 1925-1950 vide molti biochimici europei e americani intenti ad approfondire lo studio dei meccanismi con cui agiscono gli enzimi. Fu in quel periodo che vennero spiegati il trasporto dell'idrogeno attraverso diverse codeidrogenasi e il trasporto di elettroni da parte dei coenzimi ematinici; sempre in quegli anni fu accertata in modo definitivo la specificità della proteina enzimatica detta *apoenzima* per distinguerla dal *coenzima*, sostanza non proteica che si associa alla proteina dell'apoenzima per fargli effettuare la reazione chimica che gli è propria.

Dal 1930 al 1980 per enzimi si continuò a intendere solo proteine anche se, dopo il 1980, fu riconosciuta funzione enzimatica anche ad alcuni acidi ribonucleici. Fu infatti il biochimico T. Ceck a descrivere nel 1993 i *ribozimi* che sono enzimi formati da molecole di RNA. La scoperta dei coenzimi, sostanze molto più piccole degli enzimi stessi, spesso di derivazione vitaminica, ha molto facilitato la comprensione della maggior parte delle attività enzimatiche essenziali alla vita della cellula. Ancora nel ventennio 1930-1950 era

stato scoperto che un medesimo coenzima può associarsi a diversi apoenzimi che tuttavia operano tutti su una specifica reazione chimica come il trasporto dell'idrogeno nelle ossidoriduzioni.

E' già stato accennato più sopra all'accertamento avvenuto negli anni trenta della assoluta specificità dell'azione enzimatica, nel senso che la reazione chimica che viene catalizzata è unica e soltanto una; ma solo in seguito fu definitivamente accertato che questa specificità è legata alla proteina (apoenzima) e non al coenzima che a lei si associa. La ricostruzione delle catene di enzimi che partecipano con la loro altissima specificità nei processi di ossidazione dentro la cellula è stata descritta da Keilin e coll. dopo il 1925.

Venti anni dopo B.Chance ha dato la descrizione dettagliata dei componenti enzimatici organizzati nella "*catena respiratoria*". Questa non è solo una sequenza di trasportatori di idrogeno e di elettroni dal substrato con potenziale negativo all'ossigeno che ha potenziale positivo, è nel contempo una fonte di recupero energetico con deposito di energia in combinazioni ricche di fosforo. Ogni tappa della catena respiratoria è data dall'azione di un enzima specifico.

Nella seconda metà del XX secolo il microscopio elettronico ha consentito la localizzazione endocellulare di moltissimi enzimi: il 25% della membrana mitocondriale è formato da enzimi della catena respiratoria. Nell'ultimo ventennio (1980-2000) i ricercatori si sono avvalsi della cristallografia a raggi X e sono giunti alla conclusione che gli enzimi, quando si uniscono al substrato, si comportano come una molecola plastica – cioè non rigida - modificando la propria struttura (legge di Koshland del 1987), fenomeno che permette di avvolgere in tutto o in parte la molecola del substrato sottraendola all'influsso e all'azione di agenti estranei. Un'altra scoperta di fine secolo fu quella dei cosiddetti "*enzimi multicentrici*" formati da diverse sub-unità con la contemporanea presenza di più coenzimi. Sono questi che consentono una maggiore efficacia e velocità della reazione chimica.

Energia

Nel 1986 M.H. Franklin identificò il significato dell'esistenza delle macromolecole della sostanza vivente e degli enzimi che catalizzano le reazioni chimiche nell'**energia** sviluppata da queste ultime. Infatti la degradazione della materia vivente si accompagna a liberazione di energia mentre la sua sintesi ne implica il consumo. L'energia è indispensabile per effettuare modifiche di sede e di orientamento delle molecole, per generare concentrazione energetica, per costruire una nuova molecola più complessa a partire da molecole semplici. Esempi classici di scambio energetico messi a fuoco nel corso della prima metà del XX secolo sono il lavoro muscolare, la fosforilazione ossidativa, il trasporto di membrana e la sintesi delle proteine. Nella seconda metà del secolo – grazie ai nuovi mezzi d'indagine - sono stati esplorati e individuati molti processi chimici endocellulari come la trasduzione di segnale, il traffico cellulare, la degradazione proteica e il funzionamento di quasi tutti i diversi elementi costitutivi della cellula. Nell'ambito endocellulare si verificano in continuazione reazioni chimiche spontanee che liberano energia e reazioni non spontanee che richiedono energia e il risultato del rapporto che corre tra queste due opposte esigenze non è affatto quello di un equilibrio raggiunto – che significherebbe la morte della cellula - bensì quello di una permanente tendenza all'equilibrio. E' in questo ambito che operano senza interruzione sostanze chimiche provviste di alta energia e sostanze chimiche che hanno un alto potere di trasferire energia come l'acido adenosintrifosforico o ATP e come l'acetil -coA o coenzima A scoperto negli anni trenta da Fritz Albert Lipmann, premio Nobel 1953. Si tratta di composti che possono accettare e donare energia libera formandosi a spese di composti più ricchi e facendo sintetizzare composti energeticamente più poveri. Il grande merito di Lipmann

(1899-1986) fu quello di aver capito per primo che tutte le reazioni metaboliche avvengono in presenza di un flusso di energia libera assicurato da composti chimici – come l'ATP – che possiedono un legame speciale ricco di energia potenziale e che è proprio la rottura per idrolisi di questo legame a liberare – ad es. nel caso dell'ATP - ben 8000 calorie per mole.

La bioenergetica, una recente branca della biologia molecolare che tratteremo più avanti,, studia e valuta le variazioni energetiche endocellulari in base al primo e secondo principio della termodinamica applicando l'equazione di Gibbs, il fisico-chimico che per primo propose il concetto di energia libera nei sistemi composti da sostanze eterogenee come sono quelli biologici. Il principio termodinamico che spiega come avviene il flusso d'energia dentro una cellula è quello che trascura il percorso fatto dall'energia stessa, tenendo conto solo dello stato iniziale e di quello finale dei componenti. I composti ad alta energia, tra i quali i più rappresentativi sono l'ATP e altri nucleotidi trifosfati, sono detti oggi composti ad alto potenziale di trasferimento di gruppo e la loro idrolisi si associa ad una reazione che libera energia (reazione esoergonica). All'inizio degli studi di bioenergetica (1941 – H.M. Kalckar) si riteneva che la reazione esoergonica consistesse solo in un trasferimento diretto di energia ma, con il progredire degli studi, si è scoperto che esiste anche la possibilità di un trasferimento indiretto come avviene nel corso di una fosforilazione ossidativa dove il substrato viene ossidato grazie ad una serie di intermediari, ognuno dei quali funziona come una coppia elettrochimica.

I progressi della bioenergetica nell'ultimo ventennio del Novecento sono stati considerevoli. Basta citare la definizione della struttura tridimensionale della molecola dell'ATP-sintetasi che catalizza la formazione di ATP sfruttando un gradiente protonico come è stato dimostrato nel 1994 da John P. Abrahamson. Altra conquista è stata la definizione strutturale dei complessi fotosintetici che trasformano l'energia luminosa in energia chimica (Deisenhofer e Michel, 1989 ; R. Huber, 1989).

Metabolismo

La definizione di **metabolismo** più recente è forse quella fornita nel 1995 da Maynard Smith e da Szathmary che suona così: *“il metabolismo è una serie di reazioni chimiche collegate, azionate da una sorgente esterna di energia”*. Questa definizione modifica e allarga quella ritenuta valida fino alla metà del Novecento quando per metabolismo si intendeva solo l'insieme delle trasformazioni chimiche che avvengono nell'organismo vivente a carico di glucidi, lipidi e proteine. Le scoperte della seconda metà del secolo sulla regolazione delle vie metaboliche e sulla trasduzione di segnale, le ultime conoscenze della biologia molecolare ed il ricorso alle tecniche di aggraffatura genica hanno confermato che ogni reazione chimica è regolata da altre reazioni attraverso una rete fittissima di interrelazioni dall'aspetto infinito ma con un unico denominatore riconoscibile nelle reazioni tra proteina e proteina oppure tra proteina e acido nucleico. Questi nuovi concetti venuti alla ribalta negli anni novanta del Novecento giustificano quindi il significato allargato di metabolismo poco sopra citato. Certamente però non sarebbe stato possibile arrivare ad una visione così vasta ed onnicomprensiva delle ultime scoperte se il lungo e paziente lavoro degli studiosi del metabolismo non avesse segnato, in tempi ormai lontani, alcune tappe veramente fondamentali come quella dovuta al biochimico tedesco Hans Adolf Krebs (1900-1981). Fu lui a introdurre il concetto di *“cicli di reazioni”*, affermando e dimostrando la interdipendenza di numerosi cicli metabolici in ricerche continue condotte tra il 1932 e il 1960. In ogni ciclo c'è una molecola che fa da veicolo ad altre molecole orientate attraverso diverse reazioni enzimatiche alla completa combustione, o alla escrezione di una loro parte o invece ad attività di sintesi. Il veicolo alla fine del ciclo è sempre rigenerato. Da un punto di vista storico il primo ciclo fu descritto nel 1932 da Krebs e da F. Hensleit ed è il ciclo dell'ornitina che porta alla formazione dell'urea

ossia il ciclo del metabolismo azotato del fegato nell'uomo e negli altri vertebrati. Pochi anni più tardi lo stesso Krebs illustrò il ciclo detto dell'acido citrico o degli acidi tricarbossilici, la cui importanza metabolica era stata scoperta poco prima dal biochimico americano Albert Szent-György (1893-1986) premio Nobel 1937 per gli studi sulla vitamina C. La scoperta da parte di Krebs del ciclo dell'acido citrico (detto anche ciclo della respirazione cellulare) fu così rivoluzionaria che nel discorso di presentazione del premio Nobel a Krebs nel 1953, Hammersten affermò: “...la conoscenza di questo ciclo ha consentito di trarre da un caos di reazioni chimiche isolate un sistema fondamentale per le principali vie dei percorsi cellulari di ossidazione”.

Negli ultimi trent'anni del XX secolo gli studi sul metabolismo hanno arricchito le conoscenze sui meccanismi di regolazione delle reazioni enzimatiche e sulla biosintesi delle proteine.

I meccanismi di regolazione delle reazioni enzimatiche rappresentano la vera chiave del mantenimento dell'organismo vivente in quello stato definito “*stazionario*” perché, come già detto più sopra, è sempre tendente all'equilibrio senza mai raggiungerlo del tutto, trattandosi di un sistema termodinamico aperto ad un continuo flusso di materia e/o di energia. Le ricerche della seconda metà del Novecento hanno potuto stabilire che la costanza della velocità di sintesi e di degradazione dei composti chimici che formano la sostanza vivente è mantenuta tale dalle modifiche covalenti degli enzimi come è stato scoperto da E. G. Krebs nel 1993 e confermato, nello stesso anno, da H. Fischer. Questi due studiosi hanno evidenziato per primi il meccanismo d'azione della glicogenasi che è l'enzima fondamentale del metabolismo del glicogeno.

Alla regolazione dell'azione enzimatica concorrono anche altri fattori come il “*feedback*”, i cicli di controllo, i sistemi multienzimatici che sono particolarmente presenti nel processo di sintesi del DNA e delle proteine e, infine, il controllo genetico. La maggior parte di questi meccanismi di controllo enzimatico è stata studiata sui batteri a cominciare dalle famose esperienze di François Jacob e di Jacques Monod (1910-1976) nell'anno 1961.

La tappa fondamentale della regolazione del metabolismo cellulare e della sintesi delle macromolecole è stata senza dubbio la conoscenza della struttura del DNA e, nel 1985, la scoperta della sua sintesi per mezzo dell'enzima specifico detto DNA-polimerasi (“*polymerase chain reaction*” ossia PCR). E' stata questa scoperta a rendere possibile la produzione in breve tempo di centinaia di miliardi di molecole di DNA partendo da una sola molecola. Tecniche molto raffinate inaugurate negli anni settanta e ottanta hanno consentito infatti di automatizzare le sequenze del DNA e di far intravedere la conoscenza della completa sequenza del genoma umano (Dulbecco). Questo progetto ha trovato realizzazione nel XXI secolo.

Tra le ricadute di queste nuove scoperte degli anni ottanta e novanta del Novecento sono da annoverare le nuove tecniche diagnostiche di molte malattie ereditarie immediatamente accompagnate o seguite da importanti conquiste terapeutiche o di prevenzione. Anche l'introduzione nella pratica clinica della diagnosi prenatale con lo studio delle cellule del liquido amniotico ha consentito di mettere in luce difetti cromosomici e difetti congeniti del metabolismo. Ne sono conseguiti ancora negli anni settanta e ottanta i primi tentativi di terapia genica. Nel 1989 French Anderson del Bethesda di New York riuscì per la prima volta a correggere con i metodi dell'ingegneria genetica un caso di deficit congenito di adenina-deminasi.

Se il campo degli studi di biologia molecolare ha visto nella seconda metà del Novecento lo sviluppo di intense ricerche sui meccanismi di regolazione cellulari, non è stato

certamente di minor interesse quello degli studi sulla **biosintesi delle macromolecole**. La base di partenza di queste ricerche fu la scoperta della struttura del DNA e della sua formazione grazie ad un enzima specifico, la DNA-polimerasi, ad opera, come già detto, del biologo americano James Dewey Watson e del biochimico inglese Francis Crick. Questi due ricercatori furono premiati con il Nobel per la medicina insieme al biofisico inglese Maurice Wilkins nel 1962.

Jacques Monod definì il DNA *“la pietra filosofale della biologia, costituente dei cromosomi, custode dell’ereditarietà e sorgente dell’evoluzione”*. A partire dal 1950 la biosintesi delle proteine ad opera del DNA è stata chiarita in tutta la complessità delle sue fasi. Si tratta di un sistema a codice che viene trascritto in un altro codice da parte dell’RNA-messaggero; questo lo comunica all’RNA-transfer che ha sede nei ribosomi. L’RNA-transfer esegue la traduzione. La complementarietà data da DNA – mRNA – tRNA è data da legami idrogeno che tengono unite tra loro le basi azotate dei due acidi nucleici DNA e RNA e questo costituisce la guida per costruire dentro al ribosoma i legami peptidici tra i vari aminoacidi che dovranno formare la proteina programmata dal DNA. Nel corso degli ultimi decenni del secolo ventesimo è stata notevolmente arricchita la conoscenza dei complicati meccanismi di regolazione (promozione, correzione di eventuali errori) delle successive fasi di trasmissione, trascrizione e traduzione, corrispondendo quest’ultima al completamento della sintesi proteica a livello ribosomico. Oggi sono noti nei loro dettagli quei processi che iniziano quando la nuova molecola proteica esce dal ribosoma per avviarsi alla sua sede definitiva, dentro o fuori della cellula: ripiegamento della catena polipeptidica, passaggio da struttura ternaria a quaternaria e altro ancora.

Un campo tutto particolare della ricerca è quello dei meccanismi di riparazione del DNA. Esso ha assunto nell’ultimo ventennio del secolo un’enorme importanza per lo stretto rapporto che lega il cattivo funzionamento del meccanismo di riparazione del DNA alla patologia umana e in particolare alle cause di insorgenza del cancro.

Grande interesse hanno risvegliato in tutto il mondo scientifico i risultati delle ricerche condotte sui batteriofagi dall’italiano naturalizzato statunitense Salvatore Luria (1912-1991) premio Nobel 1969 insieme a Max Delbrück e ad Alfred Day Hershey per gli studi sulla genesi virale e batterica. Questi studiosi nel periodo 1940-1952 hanno scoperto la modalità con la quale i batteriofagi (virus filtrabili) che sono costituiti da una sola molecola gigante di DNA coperta da una membrana proteica provocano la morte di un batterio: dopo aver perforato la membrana batterica grazie ad un enzima specifico, il fago penetra nel citoplasma batterico, blocca in brevissimo tempo la sintesi degli acidi nucleici del batterio e quindi delle sue proteine specifiche. L’RNA del fago invasore si moltiplica portando alla produzione delle sue proteine specifiche fino ad invadere del tutto la cellula batterica. Questo meccanismo ha rappresentato una tappa fondamentale per conoscere come agiscono i virus il cui meccanismo biochimico è il medesimo che si verifica a livello delle macromolecole.

L’ultimo decennio del secolo ventesimo ha visto una rapida e forte evoluzione della **biochimica cellulare**, cioè il passaggio dallo studio di singoli eventi isolati a quello dei fenomeni collegati in rete tra loro in continuazione come avviene nella realtà della vita endocellulare. Un meccanismo sempre presente e attivo è quello della trasduzione del segnale. Sotto questa dizione sono compresi tutti i fenomeni che nella cellula permettono il propagarsi di un segnale con trasferimento di energia e/o modificazione del segnale stesso fino alla realizzazione dell’evento finale voluto dallo stimolo specifico. La base storica della trasduzione del segnale risale agli studi del fisiologo americano premio Nobel 1971, Earl Sutherland (1915-1974) che ha scoperto l’AMP ciclico. Questo è l’agente di primaria

importanza nel complicato processo di trasduzione che, ad esempio, l'ormone adrenalina avvia – una volta accettata dallo specifico recettore della membrana cellulare – nelle interazioni di proteine enzimatiche a cascata in grado di amplificare il segnale, fino a ottenere l'effetto voluto che, in questo caso, è l'aumento di concentrazione del glucosio, e ciò grazie alle numerose catalisi operate dall'AMP ciclico. Comportamenti di questo tipo si ripetono ogni volta che un segnale specifico arriva alla cellula per raggiungere dentro di essa l'obiettivo voluto. L'ormone insulina ha un comportamento analogo e lo stesso si può dire per molte altre sostanze.

Un altro campo della vita endocellulare studiato a fondo nel corso dell'ultimo ventennio del Novecento è quella della regolazione e modalità di movimento delle proteine prodotte dentro i ribosomi, i mitocondri e i cloroplasti nel momento in cui esse devono raggiungere il loro luogo di destinazione, sia esso dentro alla cellula stessa o al suo esterno (via endocitica e via esocitica).

Limitatamente alle proteine prodotte nei ribosomi sono stati scoperti quattro sistemi di guida e meccanismi di controllo che riportano una proteina al suo compartimento nel caso abbia imboccato una strada sbagliata. La prima modalità di guida consiste nell'inserzione nella catena polipeptidica della proteina di un certo numero di aminoacidi che fanno da segnale di riconoscimento, il quale viene rimosso una volta che il viaggio endocitoplasmatico è felicemente terminato, non senza dopo aver conosciuto soste e riprese di movimento allo scopo di evitare attracchi errati. La seconda modalità è data da modifiche della catena polipeptidica che in realtà rappresentano il completamento della sintesi proteica iniziata dentro al ribosoma. Queste modifiche fanno indirizzare la proteina neoformata verso la sua meta. La terza modalità è data dal trasporto della proteina dentro una vescicola protettiva e questo meccanismo è proprio delle proteine lisosomiali e di tutte quelle che devono prendere la via esocitica, cioè di quelle che devono fuoriuscire dalla cellula (Rothman e Wieland, 1996). La quarta modalità è detta *folding* che significa ripiegamento tridimensionale della proteina. Questo folding inizia quando la proteina neoformata sta uscendo dal ribosoma. Gli studi sul folding eseguiti *in vitro* hanno rivelato che esso segue vie preferenziali riducendo al massimo il tempo che si impiega per ottenere la struttura tridimensionale. Sono note oggi – grazie a questi studi – le cosiddette *malattie da folding*, come il m. di Alzheimer, la malattia da prioni (morbo della mucca pazza) e l'anemia falciforme, tutte malattie in cui una proteina specifica smette improvvisamente di assumere una struttura tridimensionale corretta. Il folding di per sé non sarebbe sufficiente a garantire alla proteina un viaggio regolare e tranquillo fino alla meta se non fosse assistito da un processo perfettamente studiato negli ultimissimi anni del Novecento. E' stato scoperto infatti tutto un complesso di proteine "ancillari" deputate ad assicurare il corretto ripiegamento di un numero elevatissimo di proteine endo- ed esocellulari. Oltre a queste proteine ancillari ne esistono anche altre che impediscono il fenomeno negativo dell'aggregazione della proteina nascente e favoriscono il passaggio attraverso le membrane lipofile della cellula, in particolare della membrana cellulare nel caso della via esocitica. Tutte queste proteine sono state chiamate "*chaperons*" e "*chaperonines*". La loro attività si svolge in modo ciclico preciso e richiede una alta quantità di energia disponibile sotto forma di ATP (Hartl, 1996).

Gli studi dell'ultimo ventennio del XX secolo hanno fatto luce anche sugli intimi meccanismi che presiedono al degrado delle proteine, problema che era già stato affrontato con i pochi mezzi di allora già negli anni quaranta da R. Schoenheimer, allorché ci si era resi conto che le proteine endo- ed esocellulari avevano una vita media specifica per ognuna. Oggi sappiamo che i processi di degradazione proteica sono molto complessi e richiedono consumo energetico. Una proteina che deve essere degradata porta un suo segnale di riconoscimento e la degradazione avviene obbligatoriamente dentro la cellula ad

opera di proteinasi acide all'interno dei lisosomi, organuli il cui ambiente interno è fortemente acido. Ma oltre al sistema lisosomiale – già noto da tempo – sono stati scoperti negli ultimi anni altri sistemi chimici che si svolgono liberamente in seno al citoplasma. Trattasi naturalmente di sistemi multicatalitici operati da una cascata di enzimi i quali finiscono per ridurre la proteina da degradare a frammenti peptidici e a singoli aminoacidi. Ne sono stati studiati e resi noti due tipi, quelli “ubiquitina-dipendenti” (Ciechanover, 1994 e Jenninsen, 1995) e quello della “ornitina-decarbossilasi” noto anche come sistema ODC (Hayashi e Mukarami, 1995). Le numerosissime idrolisi con le quali si effettua la degradazione proteica avvengono normalmente dentro ad un canale cilindrico che è l'anima della struttura tridimensionale della proteina da degradare.

Se dall'ambito cellulare si risale a quello dei tessuti dove le cellule sono differenziate per le diverse funzioni che i tessuti devono svolgere, la mole degli studi che sono stati condotti sui fattori esogeni ed endogeni di coordinamento che permettono l'esercizio di funzioni particolari, come quelle del tessuto muscolare e di quello nervoso, è veramente immensa e occupa cronologicamente tutto lo svolgersi del XX secolo. Di questa complessa materia verrà trattato nel grande capitolo della fisiologia dove sarà operata una scelta per mettere in luce nel loro sviluppo temporale le scoperte più rilevanti.

Dobbiamo ora soffermarci su un settore nuovo della biochimica che nell'ultimo ventennio del Novecento ha avuto ricadute in patologia umana e in farmacologia, quello dei **Radicali Liberi**. Infatti polmone da shock o insufficienza respiratoria acuta dell'adulto, artrite reumatoide, alcune malattie del sistema nervoso come m. di Parkinson, m. di Batten e alfa-beta-lipoproteinemie da carenza di vitamina E, e complessivamente più di cento malattie hanno dato occasione di osservare una aumentata produzione di specie reattive dell'ossigeno dette “radicali liberi” (ROS) pur in assenza, almeno a fine secolo, di sicure dimostrazioni di uno specifico ruolo patogeno. A tutto questo si è giunti nel corso di ricerche sulla chimica dell'ossigeno praticate con certa intensità all'inizio degli anni settanta del Novecento.

L'ossigeno (O₂), usato dall'organismo per bruciare i substrati (alimenti) ricchi di carbonio e di idrogeno, ne ricava l'energia indispensabile alla vita della cellula. La molecola dell'O₂ nel passare attraverso i molteplici processi ossidativi si riduce ad acqua (H₂O) acquisendo quattro elettroni che vengono assunti uno per volta formando i radicali liberi che sono i prodotti intermedi della reazione chimica. Questi radicali liberi - quasi sempre estremamente pericolosi per la vita della cellula - vengono immediatamente eliminati grazie all'azione degli antiossidanti naturali che sono rappresentati da enzimi specifici e da molecole spazzine (*scavenger*). Tra le poche funzioni utili conosciute dei radicali liberi sono l'attivazione della respirazione cellulare dei fagociti da parte del superossido e del perossido di idrogeno nonché l'attività di molecole-segnaletto o “messaggere” da parte del superossido, dell'ossido nitrico e del perossido di idrogeno.

Inibire, rallentare, diminuire l'azione dei radicali liberi e riparare gli eventuali danni ad essi imputabili è un compito estremamente complicato data la grandissima velocità delle reazioni cui essi danno vita. Quando l'ossigeno si riduce per aggiunta di un elettrone per volta la scala dei prodotti che in successione ne conseguono è nell'ordine la seguente: 1- radicale idroperossido, 2- radicale superossido, 3- perossido di idrogeno 4- radicale ossidrilico 5 – acqua.

Nell'anno 1989, data che corrisponde alla conquista di una notevole quota delle conoscenze in questa materia, B. Halliwell e J.M.C. Gutteridge hanno dato dei radicali liberi la seguente definizione: “*i radicali liberi sono sostanze chimiche contenenti uno o più elettroni spaiati, capaci di esistenza autonoma*”. Questa definizione, condivisa alla soglia del secolo XXI da tutto il mondo dei biochimici, segna il punto di arrivo di un lungo

percorso che ha avuto inizio nell'anno 1900 con la scoperta del trifenilmetile da parte di M. Gomberg che stava cercando di ottenere un'altra sostanza, l'esafenil etano. L'interpretazione sostanzialmente giusta data da Gomberg fu di una reazione chimica esprimente un equilibrio in soluzione delle due sostanze appena citate, e fu una interpretazione che non trovò consenso perché vigeva allora il dogma chimico del carbonio tetravalente e non si ammetteva l'esistenza di una sostanza organica con carbonio trivalente. Nei decenni che seguirono l'interpretazione di Gomberg fu più volte controllata e valutata come corrispondente alla realtà dei fatti. Non solo: furono scoperti altri radicali liberi sul tipo del trifenilmetile. Nel 1929 Paneth e Hofeditz in esperimenti nei quali furono usati vapori riscaldati di sali di piombo ottennero radicali liberi di metile. Nel 1937 D.H. Hey e W.A. Waters pubblicarono una rassegna che fece epoca e che resta tuttora un documento storico importante dello sviluppo delle conoscenze sui radicali liberi. In quella rassegna venivano spiegate con meccanismi a base di radicali liberi moltissime reazioni chimiche in soluzione. Sempre nel 1937 gli studi di M. S. Kharasch e coll. sull'effetto perossido e la ricerca di P.J. Fleury sulla polimerizzazione radicalica dei monomeri vinilici e sul trasferimento di catena sono venuti ad accrescere l'interesse del mondo scientifico per il tema dei radicali liberi.

Nel 1981 J.S. Zigler e J.D. Goosey osservarono che l'ossigeno con elettroni non spaiati detto "ossigeno singoletto" si origina in presenza di un pigmento illuminato che si eccita e trasferisce energia alla molecola dell'ossigeno che così diventa "singoletto". Questo è un fenomeno che avviene in ogni sistema pigmentato esposto alla luce come è, ad es., il caso del cristallino. Nelle porfirie, che sono malattie congenite del metabolismo delle porfirine, queste ultime si accumulano nelle urine e nella pelle dove si forma un contemporaneo accumulo di ossigeno singoletto con conseguenti eruzioni cutanee, prurito, cicatrici. L'osservazione che in certe cellule neoplastiche si accumulano porfirine ha fatto nascere una forma di chemioterapia con irradiazione luminosa di lunghezza d'onda pari a quella del derivato porfirinico somministrato al paziente per individuare il tessuto neoplastico. Le indicazioni terapeutiche usate fino alla soglia del 2000 sono quelle dei tumori del polmone e della cute. M.A. Pathak e P.C. Joshi nel 1984 hanno usato gli psoraleni per fotosensibilizzare le superfici cutanee colpite da psoriasi, usando luce ultravioletta di lunghezze d'onda contenute tra 320 e 400 nm. Gli psoraleni – di origine vegetale - sono sostanze che si comportano come fotosensori potenti della produzione di ossigeno singoletto. Non esistono *scavenger* specifici per l'ossigeno singoletto. Le sue molecole, quando decadono, emettono luce nell'infrarosso e la loro chemiluminescenza è usata per valutare lo "*stress ossidativo*" di organuli isolati e di cellule intere e organi vivi e perfusi in laboratorio (E. Cadenas e coll. 1981).

Il superossido si forma in massima parte per cessione di elettroni all'ossigeno da parte delle catene di trasporto di elettroni dei mitocondri e del reticolo citoplasmatico. Il superossido prodotto dai fagociti ha un ruolo di primaria importanza nella eliminazione di molti ceppi batterici. Nonostante ciò le ricerche di Halliwell e Gutteridge (1985) hanno dimostrato che il superossido in soluzione acquosa provoca gravi danni alle cellule. La rapida rimozione del superossido è dunque una assoluta necessità biologica e sembra, dalle ricerche effettuate nel periodo 1975-1988, che questo compito di neutralizzazione venga svolto in prima istanza dagli enzimi della famiglia delle superossido-dismutasi (SOD).

Il perossido d'idrogeno (H_2O_2) la cui origine endocellulare non è stata ancora chiarita del tutto e probabilmente è di tipo multiplo per vie diverse, è stato finora osservato sicuramente nei fagociti, spermatozoi, mitocondri e microsomi. Bhuyan e coll. hanno trovato nel 1977 perossido d'idrogeno nel cristallino e Williams e coll. lo hanno trovato nell'aria espirata; nel plasma lo si riscontra in discrete quantità. E' stato anche osservato negli anni ottanta che frazioni di microsomi di diversi tessuti animali producono livelli

elevati di questo radicale. Tuttavia sulla sua tossicità i dati raccolti fino agli ultimi anni del Novecento sono controversi.

Anche del radicale idroperossido (HO_2) non è stato chiarito a fine secolo se esercita effettivamente un'azione citotossica oppure no. Ciò che è certo è che si tratta di un radicale molto attivo che reagisce direttamente con gli acidi grassi e che gli acidi linoleico, linolenico e arachidonico vengono dalla sua azione convertiti in perossidi, come è stato scoperto da Bielsky e coll. nel 1983.

Viceversa si è visto che il radicale ossidrilico ($\cdot\text{OH}$) è dotato di elevata reattività e, quando viene prodotto in stretta prossimità del DNA, lo danneggia seriamente perché ne modifica le basi e/o rompe i filamenti. Se invece viene prodotto in vicinanza della lattato-deidrogenasi – enzima presente in notevole quantità nelle cellule – perde il suo effetto dannoso. La maggior parte di questo pericoloso radicale prodotto *in vivo* deriva dalla rottura della molecola di H_2O_2 da parte di una molecola di Ferro o di Rame, molto più raramente di altri metalli. Grande importanza per il mondo dei biochimici ha avuto a questo riguardo la cosiddetta “reazione di Fenton” nella quale l’incontro di H_2O_2 con il Fe produce il radicale ossidrilico ma l’ipotesi che questa reazione avvenga normalmente *in vivo* è stata contestata.

Gli antiossidanti “sono sostanze che, in concentrazione inferiore a quella del substrato ossidabile, inibiscono o rallentano l’ossidazione del substrato stesso”. Questa è la definizione data da Halliwell e Gutteridge nell’anno 1989. L’estesa perossidazione lipidica delle membrane cellulari provoca perdita di fluidità, diminuzione del potenziale di membrana, aumento di permeabilità a ioni H^+ e ad altri ioni e infine rottura con fuoriuscita del contenuto cellulare e quindi la morte della cellula. Questo fenomeno è stato studiato da Gutteridge in diverse patologie e in tessuti di soggetti incorsi in gravi forme di avvelenamento. Questo studioso ha sempre trovato in dette condizioni chiari segni di aumento della normale perossidazione lipidica anche se non ha potuto trarre sicure conclusioni sulla causalità dei danni osservati dato che la velocità della perossidazione aumenta nei tessuti danneggiati come avevano già osservato Stoks e coll. nel 1974.

Le ricerche di Gey e coll. nel periodo 1987 – 1991 sui rapporti tra perossidazione e aterosclerosi hanno rivelato che gli antiossidanti – e tra questi soprattutto la vitamina E – proteggono efficacemente le lipoproteine a bassa densità (LDL) e Gutteridge ha avanzato l’ipotesi che bassi livelli di vitamina E siano dovuti più che da carente assunzione della vitamina, alla sua distruzione da elementi perossidanti come il Fe e il Cu.

Gli antiossidanti conosciuti fino alle soglie dell’anno 2000 appartenevano alle seguenti tre categorie: 1- catalitici cellulari che eliminano o riducono il danno ossidativo; 2 – antiossidanti di membrana (vitamina E; beta-carotene; coenzima Q; elementi strutturali di membrana); 3 – antiossidanti extracellulari o plasmatici che inattivano il Fe e il Cu; sono numerosi e vanno dalla transferrina alla ceruloplasmina, dalla bilirubina alle vitamine C e E, dalla albumina ai globuli rossi, e altri ancora).

Per quanto si riferisce allo stress ossidativo e alle patologie umane dovute ai radicali liberi si rimanda al capitolo di patologia medica

Molte scoperte tra quelle che siamo andati citando toccano da vicino due campi nei quali la biochimica ha fornito una ottima messe di conoscenze, e cioè il campo degli ormoni e quello delle vitamine. In ambedue i casi si è trattato di *input* di ricerca chimica dettati dalla fisiologia che – cronologicamente – ha scoperto per prima la funzione endocrina di una ghiandola o di un tessuto consegnando ai biochimici l’impegno di identificare l’ormone e spiegarne il meccanismo d’azione. E’ stato nel lontano 1901 che J. Takamine ha isolato per primo l’adrenalina dalla midollare del surrene; nel 1915 fu isolata per la prima volta dalla

tiroide la tiroxina o T₃, la cui struttura chimica fu determinata solo nel 1925 da C. Harrington. Da quella data in poi l'entusiasmo per le ricerche nel campo degli ormoni raggiunse il massimo e le scoperte dei biochimici degli anni trenta e quaranta furono numerose grazie agli studi compiuti nel campo degli steroli e dei peptidi. Molti ormoni scoperti in quegli anni hanno dimostrato infatti di avere struttura steroide, come quei cinquanta prodotti della corticale del surrene o come quelli di produzione testicolare e ovarica. Tra i molti ormoni a struttura peptidica scoperti in quel periodo basta citare l'adrenocorticotropina, l'insulina e la prolattina. A differenza degli enzimi cellulari che intervengono in processi specifici di una cellula bersaglio, gli ormoni intervengono sull'insieme di cellule di un determinato organismo ed espletano coordinamenti molteplici, pochi dei quali finora sono stati del tutto definiti. Già da questi accenni appare chiaro che si tratta di un percorso storico affascinante per il quale si rinvia al capitolo della endocrinologia.

Sempre gli studi di fisiologia hanno permesso di definire il concetto di carenza alimentare di vitamine, sostanze eterogenee delle quali l'uomo non può fare a meno anche se il fabbisogno quotidiano di queste sostanze è minimo, talora inferiore a 1 mgr. E' stato Casimir Funk nel 1911 a dimostrare per primo che la mancanza di certi fattori che chiamò "vitamine" provocava sindromi catalogabili tra le malattie da deficit alimentare. Pionieri in questo campo furono anche il medico olandese Christian Eijkman (1858-1930) scopritore del beri-beri dovuto a carenza di vitamina B₁ e Frederick Gowland Hopkins (1861-1947) fisiologo inglese che, contemporaneamente a Funk, introdusse in medicina il concetto di vitamina. Eijkman e Hopkins furono premiati con il Nobel per la medicina nel 1929. Attualmente conosciamo, isolate allo stato puro negli anni compresi tra 1930 e 1960, circa quaranta vitamine. Le conoscenze di biochimica rivelano che molte vitamine partecipano alla formazione di enzimi diversi tra loro: la tiamina o vitamina B₁, ad es., è stata scoperta nella composizione della cocarbossilasi mentre la B₂ e la PP nella codeidrogenasi. Anche qui si tratta di un campo che ha raccolto molti entusiasmi nel settore scientifico e in quello medico applicativo con importanti ricadute in quello farmaceutico. E' senz'altro una importantissima pagina della scienza del XX secolo. Per questi motivi il tema delle vitamine troverà trattazione sotto il profilo storico nel capitolo che sarà dedicato alla fisiologia dell'alimentazione.

Infine non è possibile chiudere questo capitolo senza accennare alla **immunoistochimica** che rappresentava alla fine del secolo uno dei settori della biochimica in massima evoluzione. Dal lontano tempo delle anticipazioni di Paul Ehrlich, di E. Metchnikoff e di J. Bordet gli studi sugli antigeni e gli anticorpi sono giunti all'isolamento delle immunoglobuline specifiche. La conoscenza della loro struttura chimica, le modalità della loro sintesi e le loro proprietà rappresentano un complesso e corposo capitolo denso di dati e di date, capitolo che troverà posto più avanti quando verrà trattata l'immunologia del Novecento.

A questo punto è opportuno fermarsi a osservare con compiacimento lo splendido e tumultuoso cammino che la biochimica, scienza portante del XX secolo, ha percorso fino a portarsi a ridosso del progetto di Dulbecco sul genoma umano. Nel 1972 Jean Roche osservava con soddisfazione che nel corso del secolo erano stati assegnati settanta premi Nobel per la chimica e settanta per la fisiologia e la medicina, ventitre dei primi e venti dei secondi a biochimici a partire dal 1920. Dal 1972 in poi se ne sono aggiunti molti altri. Il dominio di questa scienza appare sempre più senza confini tanto che la sua forza espansiva ha fatto nascere rami scientifici collaterali, oggi autonomi, come la chimica bioinorganica e la biofisica che alla fine del XX secolo appaiono in pieno sviluppo con un orizzonte pieno di promesse. Sono proprio queste nuove scienze che qui di seguito troveranno collocazione nella storia della medicina del Novecento.

CHIMICA BIOINORGANICA

Questo ramo della chimica studia la funzione degli elementi inorganici in biochimica, cioè nella chimica degli esseri viventi. Sopravvive ancora oggi la convinzione che la biochimica sia basata tutta sulla chimica organica, in realtà *“essa si fonda sulla chimica dei composti del carbonio”* come aveva giustamente scritto nel suo trattato di chimica organica del 1867 il chimico tedesco A. Kekulé. La convinzione che la biochimica si identifichi completamente con la chimica organica trova una ragione quantitativa perché in effetti il 99% della massa umida del corpo umano è data proprio dai componenti delle sostanze organiche: carbonio 94%, idrogeno 62%, ossigeno 25,4%, azoto 1,4%. Ma bisogna tener presente che l'1% è rappresentato dai seguenti elementi: sodio(Na), potassio (K), calcio (Ca), magnesio (Mg), fosforo (P), zolfo (S), cloro (Cl) che sono essenziali per la vita. Oltre a questi elementi esiste nella composizione del corpo umano anche un'altra ventina di elementi essenziali in quantità nettamente inferiori a quelli già citati.

L'essenzialità di molti degli elementi ricordati era nota già nell'ultimo decennio dell'Ottocento ma solo da due o tre decenni è nota quella di molti altri che, in genere, fanno parte dei cosiddetti “metalli di transizione”. E' stato solo dopo il 1950 che si è cominciato a riconoscere l'essenzialità di molti metalli di transizione che svolgono una importantissima funzione catalitica in seno ai cosiddetti “*metalloenzimi*”.

Con il moltiplicarsi degli studi in questo settore e dei loro risultati spesso sorprendenti nonché in seguito alle discussioni e alle teorie sollevate da queste scoperte è andata affermandosi in seno alla compagine dei biochimici la nuova branca della **chimica bioinorganica** per la quale nella letteratura specializzata erano state proposte tra il 1977 e il 1994 anche altre denominazioni come “biochimica inorganica” e “chimica inorganica biologica”.

Poiché i composti organici non potrebbero dar vita a certe strutture che richiedono naturale robustezza come i denti e lo scheletro dei mammiferi, questo compito è affidato in natura ai cosiddetti “*biominerali*” (R.E.Crick, 1989; S. Mann e coll.,1989) quali il carbonato di Ca, il silice, il fosfato di Ca, tutte sostanze che formano aggregati cristallini come sulla crosta terrestre. Esempi di indispensabilità degli elementi inorganici sono i piccoli cristalli di calcite sospesi nel liquido del labirinto che, venendo a contatto delle macule e delle creste delle ampolle, informano il cervello sulla direzione delle linee di forza del campo gravitazionale terrestre consentendo il mantenimento della posizione eretta, o anche la presenza di cristalli di idrossido di ferro all'interno di una proteina detta “ferritina” che mantiene il ferro (Fe) in forma insolubile fino a quando non viene richiesto il suo utilizzo per ragioni metaboliche.

Con l'impiego della tecnica di diffrazione dei raggi X si riesce ad analizzare in dettaglio la morfologia dei biominerali pur restando ancora in massima parte sconosciuti i meccanismi con i quali è svolta e controllata la formazione di queste sostanze essenziali per la vita.

I **metodi d'indagine** più impiegati in chimica bioinorganica sono stati elaborati nella seconda metà del XX secolo applicando le risorse dell'elettronica, dell'informatica, dei nuovi prodotti e materiali usati oggi per le purificazioni biochimiche e, in genere, delle biotecnologie. Importanza fondamentale ha poi avuto, tra tutti i metodi d'indagine, lo sviluppo di quelli di ricerca fisica perché la presenza di metalli nei sistemi bioinorganici richiede spesso metodi chimico-fisici e spettroscopici sofisticati.

Apri l'elenco dei metodi d'indagine a disposizione del chimico bioinorganico la diffrazione dei raggi X. E' questo un metodo usato in biochimica ormai da diversi decenni,

tuttavia nel corso degli anni novanta si è resa disponibile la radiazione X da sincrotrone che è molto più intensa di quelle date dalle sorgenti radioattive usate fino alla soglia degli anni novanta. Contemporaneamente sono anche entrati nell'uso abituale rivelatori della radiazione diffratta estremamente sensibili. Con poche settimane di lavoro oggi si riesce a risolvere la struttura tridimensionale di proteine di peso molecolare medio e alto e questa operazione è facilitata quando la proteina contiene metalli.

La Spettroscopia XAS (*X-ray-Absorption-Spectroscopy*) utilizza la stessa fonte radiante delle tecniche di diffrazione solo che, invece di trasformare l'informazione data dalla radiazione diffratta in informazione di struttura utilizzando algoritmi oggi automatizzati, l'assorbimento della radiazione viene misurato in funzione della sua energia. E' naturalmente indispensabile l'impiego del sincrotrone.

La Risonanza Elettronica Paramagnetica (EPR) sviluppata da H. Sigel (1986), da A.J. Hoff (1989) e da D.J. Lowe (1992) consiste in una irradiazione elettromagnetica a bassa energia, contenuta nel campo delle microonde, di uno ione metallico che contiene elettroni in momenti magnetici (*spin*) spaiati, cioè non appaiati sul medesimo piano orbitale. Ciò che si ottiene è il valore della differenza di energia tra gli stati di *spin* : questo dato permette di ottenere informazioni sull'ione metallico indipendentemente dal suo stato solido o in soluzione. Altre tecniche, inaugurate tra il 1987 e il 1992, come la Doppia Risonanza Elettro-Nucleare (ENDR) e la Electron Spin Echo Envelope Modulation (ESEEM) forniscono informazioni ancora più ricche di dettagli dell'EPR.

La Risonanza Magnetico Nucleare (RMN) sfruttata da K. Wütrich e da I. Bertini e C. Luchinat fin dal 1986, è oggi la spettroscopia capace di fornire le maggiori informazioni chimiche. Tra il 1985 e il 1995 la RMN è talmente progredita che, sfruttando anche procedure abbastanza automatizzate, consente di avere la struttura in soluzione di piccole proteine.

La Spettroscopia Mössbauer si basa sull'assorbimento di radiazioni gamma emesse dal nucleo di un elemento presente nel campione: la differenza di energia tra sorgente e bersaglio dà informazioni sul numero di ossidazione. E' una tecnica che viene molto usata quando i composti da esaminare contengono ferro.

Le Spettroscopie elettroniche e vibrazionali sono quelle classiche nelle bande dell'infrarosso, del vicino infrarosso, del visibile e dell'ultravioletto che funzionano eccitando i passaggi tra i diversi stati energetici di una molecola emettendo radiazioni elettromagnetiche.

Le Spettroscopie di fotoelettroni ultravioletti (UPS) e di fotoelettroni ai raggi X (XPS) sono gli ultimi tipi di spettroscopia introdotti nella pratica negli ultimi anni novanta. Sono ancora poco usati e C. Luchinat nel 1996 li definiva "promettenti".

Oltre a questi metodi di indagine si aggiungono le misurazioni magnetiche ed elettromagnetiche.

Gli **elementi metallici dell'organismo** esistono sempre sotto forma di ioni positivi (cationi) e sono coordinati da altri atomi con i quali formano legami covalenti preferenziali. Gli atomi preferiti come leganti possono essere atomi di ossigeno, azoto e zolfo. La forza di questi legami aumenta con la carica dei cationi. Sodio e potassio, che sono ioni alcalini, hanno scarsa tendenza a formare legami stabili perché sono deputati principalmente al trasporto di cariche elettriche per regolare il potenziale di membrana. Invece i cationi magnesio e calcio, oltre che svolgere un vero e proprio ruolo strutturale nell'ambito del tessuto osseo, tendono a formare legami piuttosto stabili, per esempio quando si tratta di modificare temporaneamente la struttura di una proteina. I restanti metalli, dal vanadio allo zinco, dal cromo al molibdeno e così via, sono costituenti stabili

di proteine e ne caratterizzano la specifica funzione. Un esempio tipico è quello del ferro presente nella molecola dell'eme.

Le **metalloproteine** fanno parte dei principi costitutivi della materia vivente. I cationi delle proteine hanno – limitatamente a magnesio, calcio e zinco - ruolo strutturale cioè di mantenimento della struttura, ruolo di trasporto di ossigeno perché legano l'ossigeno indispensabile alla funzione respiratoria (emoglobina e mioglobina) e ruolo di trasporto di elettroni perché mutando il numero di ossidazione cedono o accettano elettroni (I. Bertini e coll., 1983). Tipiche metalloproteine di trasporto elettronico sono quelle dette “*a ferro-zolfo*” descritte nel 1990 da Beinert e studiata nel 1992 da R. Cammack e A.G. Sykes. Queste proteine, presenti in moltissimi organismi, dagli “*Archaea*”, forme primordiali di vita che precedono i batteri, all'uomo, formano aggregati chiamati “*cluster*” dove i legami del ferro con i gruppi tiolati e con gli ioni solfuro fanno sì che il numero di ossidazione dell'intero cluster possa variare di una unità in modo che la proteina acquista la capacità di trasportare elettroni.

Un quarto ruolo di alcune metalloproteine è quello del trasporto e immagazzinamento degli ioni metallici (E. C. Theil e K.N. Raymond, 1994). L'esempio più tipico è quello della transferrina (Baker e coll., 1991) che rende utilizzabile il ferro, abbondante e sempre disponibile ma quasi insolubile al pH fisiologico, legandolo per solubilizzarlo nel plasma e trasportarlo nelle sedi del suo utilizzo. Un'altra proteina, la ceruloplasmina, trasporta il rame mentre lo zinco è trasportato dalle tioneine.

I **metalloenzimi**, indispensabili per la vita, rappresentano un'altra classe fondamentale della biochimica. Un metalloenzima importantissimo è la *citocromo-c-ossidasi* studiata da B.G. Malmström nel 1990. Questo metalloenzima è capace, quando è completamente ridotto, di legare ossigeno e ridurlo tutto ad acqua cedendogli in rapida sequenza i quattro elettroni necessari senza liberare nessuna delle sostanze intermedie che, se liberate, sarebbero altamente tossiche per l'organismo. L'enzima ha il suo punto di attacco all'interno del mitocondrio mentre l'ossigeno ce l'ha all'esterno. Una volta inglobata nella membrana dei mitocondri, la citocromo-c-ossidasi contiene quattro centri metallici, cioè due gruppi ferro-eme, uno ione rame e due ioni rame facenti parte di un cluster secondo la descrizione fatta nel 1992 da W.E. Antholine e coll. Questi quattro centri metallici possono acquistare quattro elettroni da quattro molecole di citocromo-c ed è a questo punto che si verifica la reazione che porta alla riduzione completa del metalloenzima con la produzione dell'acqua.

Una classe dove i metalloenzimi sono numerosi è quella delle idrolasi e queste spesso contengono zinco che è adattissimo a legare transitoriamente il substrato che deve subire la reazione chimica. Tipico esempio è quello dell'azione della *carbossipeptidasi* studiata nel 1989 da D.W. Christianson e coll. e, nel 1994, da I. Bertini e coll.

Altri metalloenzimi molto interessanti per la loro funzione biologica sono le *nitrogenasi* e gli enzimi che fanno parte del fotosistema II. Nel primo caso si tratta della catalisi che fissa l'azoto atmosferico e lo studio della struttura ai raggi X ha rivelato nel 1992 a J. Kim e D.C. Rees la presenza in un cluster del cofattore ferro-molibdeno. Questi ioni metallici avrebbero una funzione essenziale nel rendere rapida la sequenza di cessione dei sei elettroni che servono per ridurre la molecola di N₂. Nel secondo caso i metalloenzimi interessati contengono in una componente del sistema ioni magnesio legati a gruppi eme e, in un'altra componente, quattro ioni manganese. Ma questi dati dovuti alle ricerche condotte da G. Renger nel 1988 e da M.Y. Okamura nel 1992 riguardano la produzione di ossigeno nel regno vegetale ed esulano dalla nostra trattazione.

Prima di chiudere questo capitolo sulla storia della chimica bioinorganica bisogna citare ancora gli studi degli ultimi anni del Novecento riguardanti i rapporti tra metalli e acidi nucleici. Si tratta di interazioni in parte del tutto aspecifiche, come ad es. la stabilizzazione mediante ioni sodio e magnesio di certe componenti degli acidi nucleici schermando i gruppi fosfati l'uno dall'altro con azioni elettrostatiche; però S.J. Lippard e J.M. Berg nel 1994, sulla traccia di ricerche precedenti di T.D. Tullius (1989) e di D.E. Draper (1992), hanno dimostrato che gli ioni magnesio possono attivare certe azioni enzimatiche dell'RNA e che gli ioni potassio stabilizzano le unità terminali delle doppie eliche del DNA alla fine dei cromosomi. Inoltre molte proteine contenenti zinco hanno un ruolo di attivazione e regolazione sul DNA. I cosiddetti "*zincfingers*" (dita di zinco) descritti nel 1990 da J.M.Berg sono zincoproteine che formano peptidi contenenti atomi di zinco che escono dalla proteina come altrettante dita di una mano per inserirsi tra le spirali della doppia elica del DNA.

Dei riflessi pratici che la chimica bioinorganica ha assunto in medicina durante l'ultimo scorcio del XX secolo si tratterà in un apposito capitolo dedicato a questo tema.

BIOFISICA

Questa è una nuova branca delle scienze biologiche che è venuta formandosi nell'ultimo quarto del XX secolo allorché nei cultori della fisica, che già avevano accettato e assimilato il principio della irreversibilità di tutti i fenomeni naturali, si è risvegliato uno specifico interesse nei riguardi dei problemi biologici e soprattutto di quei fenomeni irreversibili e complessi che necessitavano di modelli esprimibili con il linguaggio matematico che è lo specifico modo di esprimersi della fisica.

I biofisici di fine secolo XX riconoscono una prima figura di biofisico in David Keilin che per mezzo di una indagine spettroscopica sui citocromi (pigmenti respiratori) identificò il loro ruolo essenziale come trasportatori di elettroni nella cosiddetta respirazione cellulare e ne dimostrò la presenza in tutti i tessuti degli organismi aerobi. Keilin utilizzò sempre radiazioni elettromagnetiche di bassa frequenza in cellule e tessuti dove il sistema polienzimatico di membrana che costituisce la catena respiratoria era perfettamente o bene conservato. Britton Chance, continuando la ricerca sulle orme di Keilin, pubblicò nel 1991 i suoi studi sulle proprietà fisico-chimiche delle proteine della catena respiratoria introducendo nuove tecniche spettroscopiche di assorbimento e riflettanza a diverse lunghezze d'onda. Sono state queste nuove tecniche a permettere di chiarire diverse fasi del metabolismo delle membrane mitocondriali.

Tra i fondatori della biofisica un posto di primo rilievo è certamente quello dei fisiologi inglesi Andrew Fleming Huxley e Alan L. Hodgkin che, insieme a J.C. Eccles, furono premiati con il Nobel 1963 per la fisiologia e la medicina. Il loro trentennale lavoro volto a chiarire il meccanismo di propagazione dell'impulso nervoso mediante le variazioni di permeabilità di membrana agli ioni Na^+ , K^+ e Cl^- ha sfruttato un metodo analitico che ha consentito di darne una descrizione quantitativa.

Un ulteriore e importante apporto ai primi studi di biofisica furono la terminologia e i concetti introdotti dalla cibernetica fondata da Norbert Wiener nel 1961: essi si dimostrarono mezzi irrinunciabili per razionalizzare i processi di regolazione e di adattamento all'ambiente. Dalla cibernetica la biofisica maturò il concetto di "*sistema autonomo*" capace di autoregolazione e di una produzione finalizzata al mantenimento di una organizzazione interna.

Nel capitolo dedicato alla biochimica sono già stati ricordati i successi della indagine strutturale delle macromolecole dovuti nella seconda metà del Novecento alla collaborazione di un alto numero di ricercatori specializzati che in quegli anni furono definiti di volta in volta come biologi, biochimici, chimico-fisici, cristallografi, spettroscopisti e fisici dello stato solido, tutti comunque intenti al perfezionamento delle numerose fasi tecniche mediante le quali si sviluppa la ricerca. Abbiamo già ricordato come nell'arco di un trentennio che va dal 1970 al 2000 furono definite le strutture di migliaia di molecole di basso peso molecolare e di altre centinaia di alto peso molecolare fra proteine e polinucleotidi. In questo campo di ricerche, tuttora ampiamente aperto, la biofisica ha avuto parte attiva nel conseguimento di alcuni importanti risultati e ha trovato spinta alla propria evoluzione come disciplina autonoma. Una delle conquiste più recenti della biofisica molecolare è la risoluzione a livello atomico della struttura intima degli organismi fotosintetici tramite la cristallografia a raggi X. (J. Deisenhofer e coll., 1985)

La biofisica ha fatto fiorire diverse teorie volte anzitutto a spiegare l'apparente contrasto tra il principio termodinamico dell'irreversibilità di tutti i fenomeni naturali e l'ordine interno che si riscontra ovunque negli organismi viventi. Sono stati Ilya Prigogine e G. Nicolis ad elaborare su questo tema la teoria detta della "termodinamica dei sistemi lontani

dall'equilibrio", secondo la quale è possibile la generazione spontanea di strutture ordinate grazie all'amplificazione delle variazioni statistiche. Il problema di come quantificare il ruolo svolto dal determinismo nei fenomeni di mutazione e selezione generale è stato affrontato da Manfred Eigen nel 1979. Con accurate simulazioni numeriche egli ha dimostrato che un "processo di ottimizzazione" mirato alla massima efficienza funzionale può verificarsi purché come soggetto di mutazione venga assunta la "*quasi-specie*": questa corrisponde alla distribuzione secondo la legge di Gauss di tutti i mutandi intorno alla sequenza dominante che può essere presente anche in quantità molto limitate. Eigen nello stesso periodo ha anche elaborato la teoria detta "dell'iperciclo" secondo la quale un circuito di retroazione viene a sovrapporsi al ciclo di riproduzione da stampo come avviene nel modello di un virus a RNA. L'esempio dato era questo: "*...dal filamento RNA+ viene istruita la sintesi del filamento-, questo istruisce la copia del filamento+; su quest'ultimo è codificato l'enzima che duplica*". La conseguenza è che i virus crescono di numero non solo in modo esponenziale ma quadratico. I ribozimi scoperti da T. Check (v. capitolo della biochimica) sono piccole molecole di RNA e sarebbero gli elementi attivi all'interno dell'iperciclo.

Il modello allosterico (autoregolatore) dei sistemi polienzimatici (di Monod e coll.) si basava sull'idea che i minimi di energia corrispondenti agli stati di conformazione stabili delle macromolecole proteiche erano due e che la conversione di detti stati conformazionali dipendeva dalle reazioni con il substrato.

Un altro contributo originale è stato quello esposto nel 1990 da J. Wyman e S.J. Gill i quali, nel dare una spiegazione formale dell'interazione tra i numerosi siti di legame delle proteine, hanno introdotto i concetti di "polinomio di legame" e di "potenziale di legame" dimostratisi utili ed entrati quindi nell'uso tra gli specialisti di questa disciplina.

In Italia il fisico nucleare, allievo di E. Fermi, Mario Ageno (1915-1992) studioso di biofisica e di filosofia della scienza ha descritto in forma pregnante quella che, a suo parere, dovrebbe essere la figura professionale e morale di un biofisico affermando che la sua prima e fondamentale preparazione è quella in biologia che si ottiene lavorando accanto ai biologi in spirito di umiltà intellettuale ma mantenendosi fedeli ai principi unificanti e alle leggi generali che sono le linee fondamentali della fisica. E' a Mario Ageno che si deve la diffusione in Italia delle cattedre universitarie e dei laboratori di biofisica.

Nel panorama storico della biofisica non può mancare il ricordo dell'immensa opera specializzata dei due ricercatori statunitensi Gerald Edelman e John Hopfield. Si tratta di veri e propri studiosi di frontiera che si sono dedicati totalmente allo studio delle funzioni superiori del sistema nervoso centrale. Edelman applicò alle funzioni cerebrali gli stessi principi usati nella ricerca delle forme molecolari e nello studio della risposta immunitaria. Formulò la teoria del "*Darwinismo neuronale*" secondo la quale i processi di adattamento all'ambiente mediati dal sistema nervoso centrale (SNC) non dipendono dall'informazione proveniente dall'esterno come sempre e da tutti pensato, bensì da una selezione pregressa e collocata nel tempo dello sviluppo degli organismi su una massa di possibili risposte. Per Edelman la rete delle connessioni sinaptiche encefaliche è il risultato di una selezione competitiva tra neuroni, dei quali molti muoiono nel corso dello sviluppo sinaptico che accompagna la crescita dell'individuo. La mente, secondo Edelman, potrà essere descritta solo dopo aver ottenuto una conoscenza dettagliata della biologia del cervello (1992). Negli ultimi anni del secolo questo scienziato si è dedicato alla progettazione e costruzione di alcuni robot dei quali l'ultimo, da lui chiamato "*Darwin III*", è dotato di movimento, di un sensore visivo, di un braccio articolato e di un sistema nervoso centrale strutturato in mappe connesse con circuiti definiti "*di valore*" che simulano preferenze legate ad un

processo evolutivo secondo la teoria appena citata. *Darwin III* è erratico e impreciso, però, dopo un periodo di apprendimento, acquista capacità di classificare avvenimenti semplici e circostanze molto diverse tra loro.

John Hopfield per i suoi studi sulle funzioni superiori del SNC si è valso delle “reti neurali artificiali” (ANN, *Artificial Neural Networks*) sviluppate ancora nel 1944 dal matematico W. Pitts e dal neurologo S. McCulloch, con le quali è possibile simulare al calcolatore la capacità di apprendimento e di classificazione per categorie. Alcune modifiche apportate negli anni novanta alle ANN inserendovi il metodo della retropropagazione dell’errore, hanno consentito di creare un meccanismo di apprendimento che viene controllato da una procedura di aggiornamento tecnico volta a ridurre progressivamente il divario tra risultato noto e quello fornito dalle ANN. Le ripetizioni si arrestano quando la discrepanza scende al di sotto di un limite prefissato. Al termine della fase di apprendimento viene chiesto alla rete di risolvere un problema reale a risposta incognita. L’introduzione del sistema di retropropagazione dell’errore richiede per le ANN una costruzione a strati e una unica direzione dell’informazione dall’input all’output. Ciò non è richiesto invece nel modello di Hopfield dove la perfetta simmetria delle interazioni neurali è una condizione di base. Senza entrare in altri dettagli di una materia irta di aspetti tecnici, sembra sufficiente fermarsi alla considerazione che Edelman e Hopfield hanno il grandissimo merito di aver avvicinato il mondo della fisica a problematiche riservate finora a fisiologi, psicologi e informatici.

Negli atenei italiani e stranieri l’insegnamento della biofisica riguarda tutto ciò che concerne l’applicazione di metodi teorici e/o di tecnologie sperimentali di natura fisica allo studio della materia vivente mantenendosi strettamente fedeli a tre concetti fondamentali che sono la complessità, l’emergenza e l’autoreferenza. La complessità, che non deve essere confusa con il concetto di complicazione, ha in biofisica il significato di interazioni non lineari fra gli elementi che costituiscono un sistema, in altre parole ha il significato di un sistema ad andamento caotico (D. Ruelle, 1991; M. Brunori e A. Colosimo, 1996). Il concetto di emergenza fa riferimento alle “*proprietà emergenti*” di un sistema, considerate come implicite o prefigurate in quelle dei sottosistemi. Si tratta di un principio generale che autorizza a ritenere che fenomeni di emergenza analoghi si manifestino anche dentro altri sistemi che abbiano lo stesso livello di complessità, e ciò indipendentemente dalla natura del substrato fisico o chimico dei costituenti elementari.

Infine l’autoreferenza invita continuamente a pensare a sistemi le cui attività più importanti si riconoscono nella simulazione dei processi mentali dell’autopercezione.

Un progresso fondamentale è stato ottenuto quando, verso il 1990 alcuni biofisici teorici hanno deciso di smettere i tentativi infruttuosi di semplificare la complessità dei sistemi, limitandosi a descriverla come tale e rinunciando alla comprensione delle dinamiche lineari che la sottintendono. In questa nuova ottica si è ottenuta una razionalizzazione dei fenomeni osservati con risultati divenuti accessibili sotto forma compatta (O.T. Solbrig e G. Nicolis, 1991; K. Wiesenfeld e F. Moss, 1995). Il fatto che i fenomeni biologici dipendono dal tempo rende inadatto il tradizionale impiego della statistica multivariata di solito in uso per le situazioni complesse. Perciò, fin dal 1987 si è fatto ricorso con risultati significativi (J.P. Eckmann e coll.) alla cosiddetta “*analisi dinamica*” in tutti i casi nei quali si supponeva che un segnale dipendesse dall’azione congiunta di diverse variabili nascoste. Questa co-azione di variabili viene modellizzata con la tecnica detta dell’*embedding*, la quale permette – partendo da un segnale monodimensionale - di costruire la traiettoria del sistema in uno spazio a d -dimensioni, dove d corrisponde ad un numero arbitrario. *Embedding* significa deconvoluzione di un segnale. Questo nuovo approccio di natura tutta fisico-matematica ha fornito ottimi risultati quando è stato

applicato a tutti i biopotenziali come, ad es., ai segnali dell'elettrocardiogramma e dell'elettroencefalogramma. Un altro campo d'applicazione è quello delle informazioni che correlano la struttura primaria di una catena polipeptidica alla architettura tridimensionale.

Risultati e Prospettive

Lo studio dei sistemi biologici complessi ha prodotto negli ultimi due decenni del secolo XX importanti risultati. Tra questi va anzitutto annoverata la comprensione delle risposte cellulari immunitarie dovute alla scoperta della struttura del maggior complesso di istocompatibilità dovuta a D. Wiley. Nel 1995 Kurt Wüthrich è riuscito per la prima volta a determinare la struttura di una proteina immersa in una soluzione impiegando la RMN bi- e pluridimensionale. Metodi sperimentali che si giovano della microscopia a scansione e interazione atomica hanno consentito l'identificazione a livello atomico delle strutture tridimensionali di molte macromolecole biologiche. Nuovi metodi di calcolo molto potenti sono stati impiegati negli ultimi anni del Novecento per simulare la dinamica macromolecolare anche se con traiettorie limitate per ora a tempi inferiori a 1ns.

Tra i problemi che alla fine del secolo si identificavano con altrettante prospettive sperimentali va citato anzitutto quello del "*folding*" delle proteine che è sì codificato nella sequenza degli aminoacidi che le formano ma la cui chiave di lettura non è stata ancora trovata; Brunori e Colosimo nel 1996 affermavano che il processo del *folding* costituiva il problema centrale della biofisica perché, a loro parere, solo quando si fosse potuto calcolare la struttura tridimensionale di una proteina partendo dalla sua sequenza aminoacidica, sarebbe divenuto possibile utilizzare l'enorme quantità di dati resi disponibili dalla conoscenza dei genomi degli eucarioti, compreso quello dell'uomo.

Un campo ricco di prospettive è anche quello dei continui perfezionamenti tecnici dei mezzi d'indagine non invasivi come la RMN e come i metodi basati su immagini "ottiche" che entrano nel nuovo secolo ancora ad un livello di ricerca fondamentale.

BIOTECNOLOGIE

La data di nascita di questo settore della biologia è l'anno 1907 in cui l'embriologo e biologo americano Ross Granville Harrison (1870-1959) ha creato il primo metodo di coltura di cellule vive *in vitro* riuscendo a coltivare nei laboratori del Johns Hopkins Hospital di New York cellule nervose del midollo spinale di una rana in una goccia di linfa coagulata. Questa nuova tecnica attirò l'attenzione del chirurgo e fisiologo francese Alexis Carrel (1873-1944) che, presso il Rockefeller Institute di N.Y. sviluppò il metodo di Harrison fino a ottenere un metodo valido per la coltura *in vitro* di tessuti. Carrel dimostrò anche la possibilità di mantenere vivi organi e tessuti con la esposizione a basse temperature e inventò il primo cuore artificiale. Carrel divenne il modello dello scienziato ideale e la sua fama si propagò rapidamente in tutto il mondo con la pubblicazione nel 1935 del suo libro "*L'uomo questo sconosciuto*".

La prima rivista ufficiale di biotecnologia nacque nel 1920 in lingua inglese.

La scoperta che gli agenti filtrabili, i virus, potevano crescere e moltiplicarsi dentro le cellule isolate di un tessuto vivo portò nel 1928 i due studiosi francesi M. Beklin e G. Houillon alla messa a punto dei primi vaccini ottenuti da grandi quantità di virus ottenuti in colture cellulari.

Negli anni trenta, grazie agli enzimi fino allora noti, si scoprì che mediante la fermentazione – cioè con l'attività propria degli enzimi – era possibile ottenere modificazioni strutturali di molecole complesse e questa scoperta avrebbe permesso entro due decenni di produrre cortisone e analoghi, aminoacidi e antibiotici modificati.

Negli anni quaranta fu avviata in America la produzione industriale di un farmaco rivoluzionario, il primo antibiotico, la penicillina tratta dal *Penicillium Notatum* scoperto da A. Fleming ancora nel 1928. Sempre nel corso degli anni quaranta e successivi ci furono notevoli miglioramenti nella costruzione degli impianti di fermentazione e nei metodi di estrazione e purificazione dei prodotti. Una tappa importante fu quella segnata nel 1958 dal gruppo di ricercatori del National Cancer Institute guidato da J.C. Bryant che riuscì per la prima volta ad ottenere da una cellula una popolazione cellulare omogenea. La fermentazione sommersa (così chiamata perché le cellule coltivate sono immerse nel liquido di coltura entro recipienti metallici da 200 a 1000 litri) consentì di coltivare enormi quantità di cellule e di microrganismi.

Nei primi anni sessanta in questi laboratori si arrivò ad una produzione giornaliera di molti chilogrammi di cellule ricorrendo ad un continuo aggiornamento dei programmi computerizzati dei molti sistemi fisici e biochimici. Le unità trofocellulari da 200 ml del Roswell Institute di Buffalo (N.Y.), uno dei più attivi allora negli USA, producevano nel 1967 da 1 a 2 grammi di cellule al giorno nutrite in recipienti da 15-25 litri mantenendo il monitoraggio costante di tempo, temperatura, pH, livelli del glucosio e della popolazione cellulare onde evitare il continuo pericolo di infezioni batteriche. George E. Moore e J. Leslie Glick responsabili di quel laboratorio ammisero che lavorando in mezzo a tante difficoltà, essi stessi avevano acquisito "*un sempre maggior rispetto per i meccanismi omeostatici dell'organismo*".

L'anno 1966 segnò molte conquiste in tutte le ricerche basate sulle colture cellulari e aprì un orizzonte pieno di mete che sembravano non solo raggiungibili ma perfino prevedibili nelle rispettive date di raggiungimento come si evince dalle seguenti previsioni proposte da Moore e Glick: la conferma della eziologia da virus di alcune neoplasie nel 1970, il

ripopolamento del midollo osseo con cellule ematopoietiche coltivate nel 1975, la replicazione dei complessi polisomici di RNA in culture acellulari nel 1979, il riconoscimento di difetti genetici negli embrioni e la loro correzione inserendo i codici corretti nelle cellule primitive nell'anno 2000!

Questi sono solo alcuni esempi dei molti traguardi che la ricerca si era fissata nel 1966, nel quale anno peraltro Tanigaki e collaboratori da un lato e Fahey e coll. dall'altro riuscirono a far crescere in coltura le cellule di diversi tipi di leucemia e di linfoma e a ricavarne immunoglobuline. Il 1966 fu pure l'anno in cui fu eseguita la identificazione dei vari tipi di immunoglobuline e in cui si produssero anticorpi e cellule emopoietiche (T.W. Tao e J.W.Uhr; R.I. Mishell e R.W. Dutton; G.C. Saunders e D.W. King). I due ricercatori K.E. Hellstrom e C. Bergheden avendo osservato come gli antigeni di certe linee cellulari attaccavano gli antigeni di superfici di altre cellule di coltura ("inibizione allogenica") prospettarono l'ipotesi che questo fenomeno avrebbe potuto diventare utile nella lotta contro i tumori. Sempre nel corso del 1966 Norrby e coll. contribuirono a risolvere il problema legato agli enzimi che devono essere utilizzati nella dissociazione tissutale che rappresenta il tempo preliminare per ottenere le cellule da coltivare libere dalla matrice extracellulare e arrivare alla loro stabilizzazione in coltura.

Ancora negli anni sessanta fu possibile ottenere melanina da cellule di un melanoblastoma coltivate per tre anni, e anche ormoni e sostanze ormonosimili come ACTH prodotti dalla coltivazione di cellule tratte da un tumore dell'ipofisi e, rispettivamente, steroidi surrenalici da cellule tumorali del surrene. Anche i primi tentativi di terapia genetica risalgono agli anni sessanta: M.C. Niu e collaboratori tra il 1961 e il 1963 pubblicarono i primi risultati di cura di neoplasie in animali d'esperimento con l'RNA della cellule epatiche. Le conferme – nonostante alcune contestazioni iniziali - vennero da diverse équipes di ricercatori che comunque accertarono che le preparazioni di RNA svolgevano un ruolo di controllo sulla differenziazione cellulare, studi questi resi pubblici tra il 1958 e il 1967. E.P. Cohen e coll. scoprirono anche che l'RNA può trasferire l'immunità da cellule immunizzate contro antigeni specifici a cellule non immunizzate e ciò sia *in vitro* che *in vivo*. P. Alexander, in base a questi risultati, propose questo metodo come cura delle malattia da virus e delle neoplasie

Negli anni settanta Owens (1976), Gilbert e Migeon (1975) portarono a soluzione i problemi della separazione in coltura tra cellule epiteliali, fibroblasti e cellule endoteliali e allo stesso scopo collaborarono ideando e applicando metodiche diverse Melamed e coll. nel 1979 e Sheeter e Doolittle nel 1980. Altri obiettivi tecnici raggiunti tra 1970 e 1980 furono il clonaggio cellulare, l'immobilizzazione delle cellule in coltura, la loro conservazione assoluta a 196° sotto zero in presenza di un crioprotettore e infine le colture cellulari su vasta scala.

Alla fine degli anni settanta, dopo la identificazione di determinate famiglie di enzimi dette "*endonucleari di restrizione*" perché capaci di tagliare il DNA a livelli prestabiliti e di altri enzimi detti "*ligasi*" perché capaci di ricucirlo, prese corpo l'idea, già coltivata da tempo, di modificare *in vitro* sequenze di DNA (geni) di un organismo e di trasferirli in un altro. Il primo esempio storico fu quello del DNA umano che codifica la costruzione della molecola dell'insulina: fu trasferito nel DNA del batterio *Escherichia Coli* rendendolo capace di produrre insulina umana in grandi quantità. Quella fu la data di nascita dell'ingegneria genetica che apriva l'epoca delle cosiddette tecnologie avanzate.

Nel 1975 G. Köhler e C. Milstein ottennero anticorpi coltivando "*in fusione*" linfociti B e cellule neoplastiche di un mieloma. L'ibrido così ottenuto produsse una grande quantità di anticorpi con caratteristiche chimiche e funzionali ben definite. Erano i primi anticorpi

monoclonali (AMC) destinati ad aprire subito un seguito di ricerche volte a ricavarne applicazioni pratiche.

Infatti già negli anni ottanta gli ibridomi ottenuti con il metodo inaugurato da Köhler e Milstein consentirono una produzione praticamente illimitata di anticorpi monoclonali perfettamente omogenea. Le tecnologie di produzione degli ibridomi rivoluzionarono i metodi diagnostici e terapeutici che fino allora si erano avvalsi di anticorpi policlonali, e il settore diagnostico fu quello che ne beneficiò per primo perché le tecniche basate sul riconoscimento degli anticorpi in uso fin dagli anni sessanta presentavano problemi dovuti all'eterogeneità delle miscele anticorpali impiegate. In campo terapeutico gli anticorpi monoclonali (AMC) sono stati usati come vettori di farmaci antiblastici con il traguardo mirato delle sole cellule neoplastiche. Fino al 1985 furono prodotti AMC contenenti molecole associate a melanoma, a tumore maligno dell'ovaio, ad adenocarcinomi del polmone, del fegato e del tubo digerente.

Anche la tecnica del DNA ricombinante che l'ingegneria genetica ha elaborato per la costruzione delle cosiddette “*sonde genetiche*” ha trovato impiego nella diagnostica delle malattie infettive con ottimi risultati dovuti al grado molto elevato di sensibilità e specificità. In campo oncologico l'utilità diagnostica delle sonde genetiche è stata accertata nei riguardi del neuroblastoma, tumore maligno dei gangli nervosi. Altri esempi di applicazione diagnostica e terapeutica studiati nel corso degli anni ottanta furono quelli della diagnosi prenatale di malattie genetiche, di malattie ereditarie e quello della terapia limitata ancora alla fase sperimentale con l'impiego della manipolazione genetica delle cellule somatiche mentre rimaneva aperto il dibattito sull'opportunità di intervenire anche sulle cellule germinali.

Anche l'ingegneria proteica, la possibilità cioè di variare in modo selettivo e programmato una parte determinata di un enzima – tecnica che prende il nome di “*mutagenesi sito-specifica*” - con il risultato di accrescere la sua stabilità chimica e di modificarne la funzione nel senso desiderato, frutto di ricerche compiute da diversi gruppi di studiosi tra 1982 e 1986, apparve subito destinata a valide applicazioni in campo farmaceutico perché si trattava di tecnologia capace di offrire per la prima volta proteine provviste di una più intensa attività biologica, di un'azione amplificata.

Nell'anno 1981 la messe dei risultati scientifici e pratici ottenuti e il numero continuamente crescente di istituti destinati allo sviluppo e all'applicazione pratica delle biotecnologie indusse la Federazione Europea di Biotecnologia a rendersi pubblico testimone dell'importanza che questa aveva assunto nell'arco dei tre precedenti decenni e formulò la seguente definizione della nuova disciplina biologica: “*La biotecnologia è l'impiego integrato di biochimica, microbiologia e ingegneria per l'applicazione industriale delle proprietà e capacità potenziali di microrganismi, cellule coltivate o loro parti*”.

Nel 1984-85 nacque una branca della biotecnologia, la “**bioinformatica**” che già da alcuni anni aveva iniziato a interessarsi dell'immagazzinamento, catalogazione ed elaborazione dei risultati quotidiani di tutte le ricerche in ambito biotecnologico. Va segnalato infine che tra la fine degli anni settanta e il 1985 sorsero negli Stati Uniti diverse piccole società di biotecnologia fondate dai più bei nomi degli scienziati della materia e finanziate dai capitali d'alto rischio detti “*capital venture*”. Nell'anno 1985 i prodotti immessi nel mercato internazionale da queste compagnie erano i vaccini contro la rabbia, l'influenza, l'epatite, l'afta e l'herpes, alcuni enzimi di interesse farmaceutico come le streptochinasi e i fattori della coagulazione, diversi ormoni, gli interferoni e le interleuchine, sonde nucleotidiche e anticorpi monoclonali per l'immunodiagnostica e per l'immunofarmaceutica.

Nei primi anni novanta si è verificato un fortissimo impulso in tutte le biotecnologie. Migliaia di ricercatori in centinaia di aziende biotecnologiche di tutto il mondo si sono impegnati nella soluzione dei cosiddetti “*big science projects*” come il sequenziamento del genoma umano lanciato negli Stati Uniti da Dulbecco, impresa che può essere posta sullo stesso piano di quella della fusione nucleare o della identificazione delle particelle subnucleari. Nel frattempo si è dimostrata indispensabile e preziosa la bioinformatica che è diventata lo strumento più importante per assistere e controllare l’attività di ricerca vera e propria in considerazione dell’enorme massa di dati già catalogati ed elaborati e di quelli in continuo arrivo da tutte le parti del mondo scientifico. E’ stato tutto questo a spingere l’Unione Europea a decidere di armonizzare le procedure e i risultati informatici del settore biotecnologico.

Contemporaneamente si è assistito a un risvolto pratico dei risultati biotecnologici nel campo della farmacologia. Dal 1982 al 1991 sono stati commercializzati sedici prodotti farmaceutici ottenuti con le biotecnologie e a metà degli anni novanta si contavano, fra dodici voci di prodotti farmaceutici non ancora commercializzati ma prossimi ad esserlo, ben quattordici fattori di crescita, cinquantaquattro anticorpi monoclonali e undici vaccini.

Nel 1995 A. Albertini affermava che l’area tecnologica che aveva più influenzato la ricerca di base era stata quella degli acidi nucleici, dove la reazione di polimerizzazione a catena sviluppata sulla base della prima sintesi di due molecole di DNA a doppia elica da K.B. Mullis e F.A. Faloon (1987) aveva consentito di produrre una certa quantità di DNA. Là dove più presto la polimerizzazione a catena (PCR = *Polymerase Chain Reaction*) fornì risultati utili sul piano pratico fu l’identificazione dei microrganismi su minimi campioni di materiale infetto anche se di un microrganismo si conosceva solo una minima porzione del suo genoma. Lo stesso risultato la PCR diede nel campo delle malattie genetiche dove fu identificato il *locus* del difetto genetico (talassemia, emofilia, distrofia muscolare di Duchenne, ma anche leucemie, diversi tipi di neoplasie e altre patologie ancora).

Un’altra importante e utilissima applicazione della PCR fu quella a beneficio della medicina legale perché bastarono pochissime cellule da capelli, spermatozoi, sedimento urinario, saliva e altri liquidi organici per ottenere la tipizzazione genetica. Nel settore della diagnosi dei tumori la PCR si dimostrò utile nell’individuare cellule neoplastiche residue dopo chemioterapia e minimi cambiamenti di struttura negli stadi pretumorali.

Nel maggio del 1992 S.G. Oliver e coll. pubblicarono i risultati definitivi della mappatura del primo cromosoma su sedici di un organismo eucariote, il *Saccharomyces Cerevisiae*, un ceppo di lievito. Questa mappatura fu effettuata da una rete di 35 laboratori – di cui quattro italiani – finanziati dall’Unione Europea con un contratto che aveva obbligato ogni laboratorio a sequenziare almeno 10.000 basi. Il successo è stato possibile grazie a due fattori essenziali: due *DNA coordinators* che distribuivano ai laboratori i pezzi di cromosoma da sequenziare e la raccolta e immagazzinamento delle sequenze presso un centro di bioinformatica.

Nell’anno 1993 sulla rivista “*Science*” fu pubblicata la mappa genetica del topo da parte di N.G. Copeland e coll.: era la prima mappa genetica di un mammifero. Per arrivare a questo furono identificati, grazie alla PCR, segmenti del DNA altamente polimorfi, dopo averli monitorati nel corso di esperimenti di incrocio tra specie diverse di topi. Questa mappa conteneva 21 cromosomi ed era basata su 2.616 *loci*. Di questi ben 917 dimostrarono di essere analoghi ad altrettanti geni umani. Ciò ha indotto a investigare il grado di divergenza delle linee ancestrali nell’evoluzione umana e in quella murina e si è finito per ipotizzare che da quando le due specie si sono separate, sono avvenuti 150 riassetto genetici.

Per quanto riguarda il genoma umano, nel settembre del 1994 il Centro di Cooperazione per lo studio del Genoma Umano pubblicò una mappa genetica ad alta risoluzione della specie umana: per la prima volta nella storia l'uomo era riuscito a capire qual'è il suo assetto genetico e come questo sia implicato nella patologia della specie e in quella individuale. Fu dunque un grandissimo traguardo raggiunto dopo molti studi se si tiene presente che i primi studi di *linkage* genetico tra cromosoma X e daltonismo ed emofilia risalgono addirittura agli anni trenta del Novecento. Comunque questa mappa, la cui composizione fu enormemente facilitata dalle tecniche di PCR, risultò composta di 5.840 *loci* genetici con un potere di risoluzione simile a quello della mappa genetica murina. Questa tappa era in linea con uno degli obiettivi del Progetto Genoma Umano che, partito nel 1990, aveva come scadenza l'anno 2005. Al progetto aderirono una cinquantina di nazioni, diciotto delle quali crearono programmi nazionali di ricerca; le linee guida prevedevano che tutti i laboratori partecipanti riversassero i dati raccolti nei database pubblici nel giro di 24 ore dalla scoperta. La parte più ingente di tutta la complessa ricerca venne svolta negli USA e in Gran Bretagna dove il Sanger Centre, uno dei quattro laboratori britannici interessati al progetto, dichiarò nel 1999 di aver concluso il primo sequenziamento di un cromosoma umano, il cromosoma 22. Il CNR al quale l'Italia aveva affidato la sua partecipazione al Progetto Genoma Umano sotto la direzione del premio Nobel Renato Dulbecco dovette purtroppo interrompere la collaborazione per mancanza di fondi nel 1995 dopo aver speso in sei anni circa dieci miliardi di lire. Nel 1994 il Progetto, come abbiamo anticipato, aveva concluso prima del previsto la prima fase delle ricerche. La previsione che nell'arco di pochi anni si sarebbe arrivati al raggiungimento dell'obiettivo della mappa fisica, indispensabile per dare inizio all'opera di sequenziamento fu soddisfatta ancora entro i limiti temporali del secolo XX. A partire dal 1998 si affiancò alla grande impresa pubblica internazionale *nonprofit* quella privata diretta dal biologo americano Craig Venter e denominata Celera Genomics Corporation che si prefisse di completare la decifrazione dell'intero genoma entro tre anni grazie alle avanzatissime macchine rese disponibili dalla collaborazione di una potentissima società di ricerche biologiche, la Perkin Elmer Biosystems Group. Da quel momento le due equipe, quella internazionale e quella americana di Craig Venter, furono seguite nel loro lavoro dalle due riviste specializzate, la britannica *Nature* per il gruppo internazionale e l'americana *Science* per la Celera Genomics Corp. Nel mese di giugno dell'anno 2000 il presidente americano Bill Clinton e il premier britannico Tony Blair annunciarono che il sequenziamento del genoma umano era stato completato, ossia che erano state individuate e riconosciute le varie combinazioni delle basi nucleotidiche note con le lettere dell'alfabeto A, C, T e G combinate 3,1 miliardi di volte nella composizione del genoma. La parola fine sul sequenziamento ottenuto con un ritmo annuale di ottanta milioni di basi sequenziate, prevista entro l'anno 2005, fu annunciata pubblicamente dal presidente americano e da quello britannico il 12 febbraio dell'anno 2001.

La tecnologia del DNA ricombinante ha reso possibile caratterizzare la patologia da difetti genetici in termini molecolari e questo ha consentito di trovare i modi per correggerli come dimostrato da R.C. Mulligan nel 1993: la modalità escogitata fu quella di trasferire materiale genetico dentro specifiche cellule del paziente scegliendo tra due diverse possibilità, prelevando le cellule da trattare e reinserendole a trattamento avvenuto oppure intervenendo direttamente nelle cellule del malato nel sito dove esse si trovano. In ambo i casi il DNA esogeno deve ovviamente essere veicolato all'interno delle cellule e i sistemi descritti da A. Miller nel 1990 sono due e cioè attraverso virus che fanno da vettori (e in questo caso i più impiegati sono gli adenovirus e i retrovirus) oppure impiegando le stesse procedure che le cellule dei mammiferi usano per incorporare le macromolecole.

Nel corso degli anni novanta i tentativi di applicazione di questi metodi furono molteplici e spaziarono in tutta l'estensione del campo delle malattie di origine genetica. Nell'anno 1990 i ricercatori dei National Institutes of Health degli USA realizzarono il primo intervento di terapia genetica su un essere umano: era una bambina di 4 anni affetta da mancanza di un gene che codifica l'enzima adenosideaminasi con il conseguente stato di immunodeficienza congenita al quale poteva conseguire in un momento qualsiasi una infezione a decorso fatale. Le cellule del sistema emopoietico della bambina, estratte e caricate con la sequenza corretta di DNA e quindi reinserite nella piccola paziente la restituirono ad una vita normale. Da allora altri casi in età pediatrica furono trattati con ottimi risultati. J.M. Wilson e coll. nel 1992 hanno trattato pazienti affetti da ipercolesterolemia familiare e nello stesso anno K. Yoshimura e coll. hanno iniziato a trattare casi di fibrosi cistica, malattia ereditaria da difetto del gene che codifica la proteina che controlla il flusso degli ioni cloro attraverso la membrana cellulare. La terapia genica con trapianto di cellule modificate fu usata nel 1992 per molte malattie della coagulazione e i migliori risultati di queste cure sperimentali furono quelli ottenuti da Y. Dai e coll. che impiegarono i mioblasti modificati per correggere il difetto del Fattore IX della coagulazione. Nel campo delle malattie acquisite i ricercatori si sono in prevalenza orientati sulla cura di alcune neoplasie e dell'AIDS in una serie di protocolli che alla fine del secolo XX potevano ancora essere considerati allo stato sperimentale.

BIOMETRIA

“*Biometria*” è il nome proposto nell’anno 1900 dalla Royal Society di Londra per definire la biologia quantitativa scientifica che aveva avuto come lontani precursori il medico veneziano Santorio Santorio di Capodistria e il fisiologo napoletano Giovanni Alfonso Borelli.

Nel primo numero della rivista di biometria “*Biometrika*” edita a Londra nei primi anni del secolo XX si leggeva “*il compito principale della biometria è di fornire materiale sufficientemente esatto per consentire la scoperta della iniziali variazioni che sono troppo piccole per rendersi altrimenti manifeste*”. La storia della biometria si rifa alla storia dei suoi due strumenti scientifici, la matematica e la statistica che affondano le loro radici nel XVII secolo.

Per quanto riguarda la *matematica* gli studi di biometria si sono avvalsi soprattutto del calcolo delle probabilità, la cui sistemazione teorica è stata fatta tra il 1812 e il 1814 da P.S. Laplace, completata poi dal tedesco Karl Friedrich Gauss con il perfezionamento del metodo dei minimi quadrati esposto dal suo compatriota J.F. Enke nel 1834. Dei tre concetti della probabilità – soggettiva, matematica e logica – gli statistici si sono occupati prevalentemente della probabilità soggettiva, la più antica delle tre, quella che si identifica con il concetto di plausibilità, cioè con l’attesa di quegli eventi che appaiono essere i più probabili. Si tratta in pratica di scegliere le osservazioni biologiche e gli esperimenti scientifici che vengono usati a sostegno di una certa tesi e alla formulazione di una certa legge.

Dalla prima esatta definizione del concetto di probabilità soggettiva formulato nel 1925 da F.E. Borel si è giunti a definizioni più approfondite da parte di W. Ramsay nel 1931, di L.S. Savage nel 1954 e di B. De Finetti nel 1958. Le applicazioni pratiche della probabilità soggettiva hanno formato oggetto di contributi molto utili da parte di H. Jeffrey tra il 1948 e il 1957 e di L.S. Savage e collaboratori nel 1962. Un evento fondamentale per i risultati biometrici cui ha dato luogo è stata l’invenzione delle calcolatrici da tavolo evolute nel corso del secolo fino ai calcolatori elettronici che hanno consentito di sviluppare rapidamente nuove branche della statistica. Nel 1966 J. Yates ha definito queste novità tecniche “*la seconda rivoluzione della statistica*”.

Fin qui il profilo storico delle applicazioni matematiche agli studi di biometria. Il suo secondo strumento, la *statistica*, contava il suo precedente più importante nell’opera del matematico belga Adolphe Jacques Lambert Quetelet (1796-1874) che recava il titolo di “*Sull’uomo e sullo sviluppo delle sue facoltà, ovvero saggio di fisica sociale*” edito a Parigi nel 1835. Quetelet vi formulò la celebre teoria dell’*uomo medio* in cui sosteneva il principio che non solo il tipo fisico ma anche quello morale e intellettuale di una etnia corrispondono alla media aritmetica dei caratteri. In una seconda pubblicazione del 1846 Quetelet sostenne che i caratteri umani possono essere studiati con il calcolo delle probabilità e che per essi vale la legge dei minimi quadrati. L’opera di Quetelet, che non trovò un seguito in Francia e in Belgio, e che in Italia trovò applicazione in clinica medica per merito dei costituzionalisti A. De Giovanni e di G. Viola, ebbe una importante continuazione scientifica in Inghilterra dove sir Francis Galton (1822—1911) studiò la trasmissibilità dei caratteri quando gli studi di Mendel erano ancora sconosciuti. Tra le molte pubblicazioni di Galton va ricordata quella intitolata “*Ricerche sulla specie umana e suo sviluppo*” (1883) dove veniva spiegato il concetto di regressione evidenziabile in tutti i caratteri ereditari. Le ricerche effettuate sulle variazioni della statura media dei figli rispetto a quella media dei genitori furono riportate nel lavoro intitolato “*Regressione verso la media nell’ereditarietà della statura*” (1886). Lo studio dell’ereditarietà iniziato da

Galton e proseguito dai suoi allievi fu fondato dapprima sull'analisi della correlazione applicando i coefficienti di questa che facevano parte dei metodi statistici di allora (fine dell'Ottocento e inizi del Novecento).

Enorme fu, dopo quello di Galton, il contributo dato alla biometria da Karl Pearson (1857-1936) che fu successore di Galton alla cattedra e nel laboratorio di biometria dell'University College di Londra. A Pearson si deve l'invenzione del “coefficiente r ” che ha permesso di esprimere facilmente e in modo pratico la correlazione, ma anche l'invenzione del *test* X^2 che è la somma dei rapporti dei quadrati delle differenze tra frequenze effettive, empiriche e frequenze teoriche corrispondenti; questo test consente di esprimere in termini di probabilità le deviazioni tra le distribuzioni dei due tipi di frequenze. Ne derivarono tavole statistiche numerose che furono date alle stampe e ampiamente diffuse. Nel 1930 R.A. Fisher divulgò l'applicazione del parametro t a seconda della libertà di distribuzione dalla quale è stato estratto il campione. Fisher è stato definito uno degli scienziati più importanti del Novecento perché ha perfezionato la tecnica statistica e la teoria che l'ha originata e anche perché ha portato a termine utilissime applicazioni a tutta la biologia e ad ogni campo della ricerca. L'opera fondamentale di Fisher pubblicata nel 1922 contiene i principi dell'inferenza statistica, la via da tenere per risolvere il problema del campionamento e le basi della teoria della stima. La pubblicazione più celebre di Fisher porta il titolo di “*Metodi statistici per ricercatori*” e dal 1925 – data della sua prima edizione – diventò il manuale indispensabile per tutti coloro che vollero dedicarsi alla ricerca in ogni campo dello scibile. Fisher fu un convinto sostenitore dell'utilità delle leggi mendeliane come base per lo studio quantitativo dell'evoluzione. Dal 1930 in poi Fisher diede alle stampe diversi studi che dimostrano il suo grande interesse per la genetica e per la storia dell'evoluzione. Quando Pearson si ritirò dall'insegnamento Fisher andò ad occupare la cattedra che fu di Galton all'università di Londra (1933). Le teorie elaborate da Fisher ebbero vasta applicazione in agricoltura in India ad opera del Laboratorio di Calcutta fondato nel 1929. Nel 1943 Fisher ebbe la nomina di professore di genetica presso l'università di Cambridge. Nel 1959 fu chiamato in Australia a dirigere la divisione di matematica dell'Organizzazione della ricerca scientifica e industriale del Commonwealth.

Con i metodi elaborati da Pearson e da Fisher nei primi trenta anni del Novecento si è venuta a formare una distinzione netta tra lo studio statistico di una popolazione di tipo *descrittivo* e uno di tipo *induttivo*, quest'ultimo considerato da R.L.Andersen e collaboratori il più adatto a consentire la valutazione delle conclusioni erranee nel passaggio dal campione al dato universale, grazie all'applicazione della matematica delle probabilità.

L'allievo di Pearson G.U.Yule nel 1911 e M.G.Kendall nel 1946 si occuparono anche di divulgazione della teoria della regressione e della correlazione pubblicando testi comprensibili anche ad un pubblico di lettori non specialisti.

I grandi progressi degli studi biometrici verificatisi negli anni trenta e quaranta del Novecento furono in parte dovuti anche al polacco J. Neyman che, in collaborazione con Pearson, introdusse la nozione di potenza di un test e di A. Wald che prese da loro l'ispirazione per concepire l'analisi sequenziale, un nuovo metodo di statistica che non si basa su un numero prefissato di osservazioni e consente di interrompere il rilevamento in qualsiasi momento a seconda dei risultati raggiunti.

L'applicazione alla medicina del metodo sequenziale di Wald ha offerto lo spunto a molte pubblicazioni che forniscono dati importanti sui *medical trials* (prove cliniche) e dagli anni sessanta in poi la biometria ha dato sviluppo a una sua nuova branca che si interessa esclusivamente della *risposta biologica*: test sulle vitamine, comparazione della tossicità,

studi comparativi sugli alimenti e molto altro ancora. Comunque si deve ricordare che in materia di prove cliniche era già stata rilevante l'attività svolta da A. Bradford e coll. dal 1937 in poi. I.W.Trewan, che lavorò a lungo nel laboratorio di ricerca dell'industria farmaceutica Wellcome, ha trovato per primo la dose minima letale per la cavia, che ha fatto introdurre la famosa D.L.50. Del dosaggio biologico sono pure stati attivi studiosi negli anni trenta J.H. Gaddum e C. J. Bliss.

Una tecnica particolare sviluppata negli anni cinquanta è stata quella dell'analisi delle distribuzioni dette *libere* – cioè di caratteri che non hanno una specifica posizione relativa – per mezzo di test detti *non parametrici* in contrapposizione ai *parametrici*. I test non parametrici sono quelli impiegati oggi negli studi sul comportamento degli individui, ma sono stati estesi anche ad altri campi di ricerca biometrica. Studiosi importanti di questo settore sono stati Spearman e D. Fraser (1957).

La biometria della seconda metà del Novecento ha giocato un ruolo progressivamente rilevante nel campo della tassonomia, cioè della classificazione in senso lato perché si è interessata delle differenze tra popolazioni della stessa specie in riferimento al loro habitat, del sovrapporsi dei caratteri di una popolazione su quelli di un'altra, del fenomeno di popolazioni costituite da una mescolanza di specie diverse. La genetica è divenuta un campo abituale degli studi biometrici: sono stati pubblicati diversi studi sulle frequenze geniche, sui cambiamenti delle strutture che riguardano la moltiplicazione di popolazioni di specie diverse, sugli effetti delle radiazioni sulle cellule dei corpi animali e delle piante e quelli che riguardano il mondo dei virus.

Il 6 settembre 1947, nel corso della I Conferenza Internazionale di Biometria tenuta presso il Laboratorio Biologico della Marina degli USA nel Massachussets venne fondata la Società Internazionale di Biometria che per statuto fu così definita: *società per il progresso delle scienze biologiche quantitative e per l'applicazione, lo sviluppo e la diffusione di efficienti tecniche matematiche e statistiche*. Le successive riunioni della Società Internazionale di Biometria si sono tenute in Canada, Gran Bretagna, Australia ed Europa a varie distanze di tempo. Durante tutta la seconda metà del Novecento si sono moltiplicate le cattedre e i laboratori universitari di biometria in tutto il mondo.

Tra gli studiosi italiani di questa scienza vanno ricordato C.Gini (1884-1965), Luigi Castaldi che è stato il primo a far conoscere in Italia i metodi usati nei primi due decenni del secolo per l'analisi biometrica, e i contemporanei studiosi di biometria Gustavo Barbensi e Luciano Terrenato.

ANATOMIA

Lo studio dell'anatomia con la dissezione cadaverica che per secoli ha rappresentato l'unico mezzo per apprendere la forma, le dimensioni, i rapporti delle singole parti che compongono il corpo animale e che, grazie all'invenzione del microscopio, ha potuto approfondire la conoscenza dei vari tessuti, oggi è solo una delle tante tecniche che vengono utilizzate per la ricerca nel campo della morfologia animale. La dissezione cadaverica e lo studio istologico rimangono però anche i metodi di studio fondamentali per la preparazione degli studenti di medicina e chirurgia che possono anche avvalersi di ottimi manuali illustrati e di atlanti moderni che facilitano l'apprendimento.

La ricerca anatomica, che non ha mai conosciuto soste, ha fatto sorgere negli istituti anatomici, accanto alle sale di dissezione e di microscopia, laboratori attrezzati per l'attività sperimentale e per l'impiego di apparecchiature del tutto nuove che nel corso del Novecento hanno consentito di raggiungere una enorme quantità di nuove informazioni in tutti i settori della morfologia e dei suoi riflessi e significati funzionali.

La serie delle scoperte che ha permesso di progredire negli studi anatomici ha avuto inizio con Ross Granville Harrison (1870-1959) che nel 1907 inventò la coltura *in vitro* di frammenti di organi vivi, metodo perfezionato e standardizzato nel 1912 da Alexis Carrel (1873-1944) premio Nobel del 1912. La coltura *in vitro* a partire proprio dal 1912 consentì di eseguire una infinità di ricerche sulle cellule viventi di animali e vegetali.

Il fisico olandese Fris Zernicke (1888-1966), premio Nobel del 1953, inventò nel 1930 il microscopio a contrasto di fase che ha il pregio di accentuare e rendere osservabili i minimi contrasti tra strutture anatomiche adiacenti. E' accertato storicamente che la famosa ditta tedesca Zeiss di Jena non dette l'esatto valore alla scoperta di Zernicke e solo nel 1941 il microscopio a contrasto di fase entrò in produzione allorché il comando dell'esercito tedesco requisì tutti i progetti e le invenzioni che si ritenne potessero servire ai fini bellici. L'applicazione a questo nuovo tipo di microscopio della tecnica cinematografica ha consentito di studiare *in vitro* i movimenti del nucleo e del citoplasma cellulari, quelli della fagocitosi, della pinocitosi e quelli legati alla divisione o mitosi delle cellule. La successiva applicazione del micromanipolatore ha permesso di lavorare direttamente nell'interno della cellula compiendo esperienze di vera e propria chirurgia cellulare microscopica. Negli anni settanta del Novecento sono state inventate tecniche per la produzione *in vitro* di cloni di cellule fino a creare, per successive moltiplicazioni, popolazioni di cellule totipotenti, cioè capaci di differenziarsi in seguito in cellule specifiche di un certo tessuto, oppure di cellule figlie specifiche come cellule cartilaginee, muscolari, e così via. Anche la modificazione sperimentale dei terreni sintetici di coltura (sottrazione, aggiunta, sostituzione di zuccheri, aminoacidi, ormoni, vitamine) si è rivelata molto utile per evidenziarne le conseguenze sulle popolazioni cellulari e sui tessuti embrionali coltivati *in vitro*.

Altre importanti novità tecniche di cui si è avvalso lo studio anatomico nel Novecento sono state rappresentate dal microscopio a luce polarizzata (ultimo frutto della ricerca strumentale del secolo XIX) che permette l'analisi dell'orientamento spaziale di certe strutture dotate di birifrangenza, dal microscopio a interferenza che entrò in uso negli anni quaranta e che permette di misurare il peso secco – cioè la massa – di cellule viventi e di sostanze intercellulari, e infine dal microscopio elettronico che, utilizzando un fascio di elettroni, fornisce ingrandimenti superiori a 100.000 volte e studia in modo diverso l'oggetto a seconda che funzioni a trasmissione oppure a scansione. In quest'ultimo caso si arriva all'analisi delle più piccole unità strutturali fino a livello molecolare.

Il primo passo verso la realizzazione del microscopio elettronico fu fatto nel 1931 da M. Knoll e E. Ruska che utilizzarono una lente magnetica per ottenere immagini elettroniche ingrandite. Nel 1934 E. Brücke e i suoi collaboratori ottennero identici risultati con lenti elettrostatiche. Il primo modello di microscopio elettronico fu però descritto da Knoll e Ruska nel 1932. Da quel momento e per tutto il resto del Novecento numerosi laboratori, industrie, università hanno apportato continui miglioramenti al calcolo e alla costruzione di sempre nuovi apparecchi. I primi studi sui batteri e sui tessuti organici mediante il microscopio elettronico furono fatti da L. Marton ancora nel 1934. Nel 1939 G. Kauschke e altri cominciarono a utilizzare questo nuovo apparecchio di ingrandimento per studiare i virus. Nel 1940 M. von Ardenne ottenne le prime microfotografie di grosse molecole isolate, compresa quella dell'emoglobina. Negli studi anatomici del Novecento è stata sfruttata anche la diffrazione degli elettroni scoperta nel 1927 negli Stati Uniti da Davisson e Germer che la misero in evidenza studiando la riflessione di elettroni lenti in un cristallo di nichel. Nel 1929 G.P. Thompson in Gran Bretagna ottenne diagrammi di diffrazione simili a quelli dei raggi X facendo attraversare uno strato policristallino sottile da un pennello di elettroni veloci. Dopo il 1949 R. Castaing e A. Guinier misero a punto un apparecchio in cui una sonda elettronica costituita da un pennello di elettroni estremamente sottile esplorava un volume dell'ordine di un micron cubo della superficie di un cristallo: l'analisi chimica e cristallografica di un volume così piccolo si ottiene dallo studio della diffrazione degli elettroni e dei raggi X prodotti. Tra il 1940 e il 1954 gli studi condotti sui fenomeni di interferenza elettronica partendo dalle frange osservate sul bordo di uno schermo colpito da un fascio di elettroni, del tutto simili a quelle già rilevate con il biprisma di Fresnel, hanno portato alla costruzione di un equivalente elettronico del prisma di Fresnel da parte di G. Möllenstedt e H. Düker, 1954. Queste conquiste di ottica elettronica furono sfruttate e ulteriormente elaborate dal famoso laboratorio di ottica elettronica del CNRS francese di Tolosa. Tra i risultati più avanzati sono stati certamente quelli che la fisica nucleare ha ottenuto nella seconda metà del Novecento utilizzando strumenti derivati dall'ottica elettronica. Da quest'ultima sono derivati anche gli spettrometri che si dividono in due tipi, quelli detti di massa che consentono di separare isotopi di massa diversa e quelli detti di velocità. Aston realizzò il primo spettrometro di massa mentre uno dei primi di velocità fu realizzato da C. Ellis nel 1921 quando studiava lo spettro di velocità della radiazione beta.

Su materiali biologici fissati – ossia non più viventi – è stata ampiamente usata nel Novecento la microspettrofotometria mediante la quale si ottengono valutazioni qualitative sulla composizione chimica dei tessuti e delle cellule e, allo stesso scopo, sono stati e sono tuttora molto usati metodi istochimici e citochimici sfruttando l'affinità delle molecole dei tessuti per certi coloranti così da evidenziare distribuzione e concentrazione di proteine basiche e di proteine acide, di lipidi e di zuccheri, di enzimi endocellulari e altro.

L'impiego di sostanze fluorescenti (fluorocromi) a bassissima concentrazione sfrutta il loro legame chimico con le varie componenti della cellula vivente; lo studio di queste combinazioni fatto alla luce ultravioletta rende visibili l'assunzione e gli spostamenti di diverse sostanze dentro la cellula vivente. Un ulteriore aiuto alle indagini cellulari è venuto nel Novecento dall'uso delle assunzioni da parte di cellule vive di aminoacidi o di altre sostanze dotate di un atomo di carbonio o di idrogeno o di zolfo radioattivi: l'automicroradiografia successiva rivela le tracce lasciate dalle radiazioni e ne consente l'analisi al microscopio ottico o a quello elettronico.

Tutte queste tecniche appena citate, inventate e applicate nel corso del XX secolo, hanno consentito indagini molto precise sull'intima morfologia e sui meccanismi funzionali più intimi di cellule e di organuli endocellulari, di tessuti e di organi che anche la fisiologia e la biochimica studiano con l'impiego di queste e di altre tecniche. Tuttavia – come subito

appare da quanto siamo andati citando - va sottolineato il fatto che nel Novecento l'anatomia ha potuto compiere enormi progressi grazie all'integrazione e allo sfruttamento di tecniche messe a disposizione da altre discipline e soprattutto dalla fisica e dalla chimica.

Tutto ciò ha anche avuto il massimo peso nell'orientare l'anatomia del nuovo secolo in modo diverso dall'indirizzo della dottrina cellulare elaborata da Virchow a metà dell'Ottocento. Fu M. Heidenhain nel 1907 a sostenere per primo l'ipotesi che le cellule non devono più essere considerate individualità autonome bensì componenti di unità sovracellulari più complesse dette istomeri o istosistemi cui obbediscono e in cui sono integrate. E' questo il concetto nuovo, di "*unità funzionale*" che caratterizza oggi tutti gli organi (lobulo epatico, nefrone del rene, ecc.). Una seconda novità dei primi anni del Novecento fu quella di considerare e classificare i tessuti in base alla durata di vita delle loro cellule confrontata con quella di tutto l'organismo e in base al periodo più o meno precoce della loro differenziazione embrionale e alla conservazione della capacità di moltiplicarsi. E' stato questo l'indirizzo inaugurato da C. Bizzozzero ancora nel 1893 e continuato da G. Levi negli anni venti e da E. Cowdry nel 1932 con i suoi studi sul rinnovamento cellulare. Dobbiamo a questi studiosi la scoperta della diversità di capacità riproduttiva in regioni diverse comprese negli organi del corpo animale, delle variazioni giornaliere e stagionali del tempo di rinnovamento cellulare, dell'esistenza dei meccanismi di controllo (*feedback control*) dell'attività proliferativa. Da questo indirizzo di studi è risultata una suddivisione dei tessuti in tre classi: tessuti labili di Bizzozzero-Levi detti da Cowdry *vegetative intermitotics*, tessuti stabili (*reverting postmitotics*) e tessuti perenni (*fixed postmitotics*) le cui perdite non possono essere compensate.

Negli anni trenta si andò anche consolidando il concetto di "*sistemi funzionali*" di cellule che hanno analogie di struttura e funzione pur occupando nell'organismo sedi diverse e magari lontane fra loro. Un esempio è dato dagli istiociti del connettivo e da tante altre cellule con attività istiocitaria (pinocitosi, granulopessi, macrofagia). Non si tratta dunque di famiglie cellulari altamente differenziate bensì di cellule con proprietà biologiche speciali, disseminate un po' ovunque nei vari organi.

Contemporaneamente e successivamente all'affermarsi del concetto di "*sistemi funzionali*" è stata corretta la vecchia teoria della fissità dei tipi cellulari perché si è visto che la fissità è più apparente che reale: una cellula può ritornare a uno stato di scarsa differenziazione attraverso passaggi gradualmente causati da modifiche del microambiente.

Fra le molte scoperte avvenute a cavallo tra Ottocento e Novecento va anzitutto ricordata l'identificazione dei cromosomi sessuali, quelli cioè che determinano il sesso del nascituro. Henking nel 1891, McClung nel 1901 e Wilson nel 1912 furono i ricercatori che con questa scoperta aprirono la strada agli studi di citogenetica.

Nel 1950 Barr e altri studiosi scoprirono in alcune cellule appartenenti solo a soggetti di sesso femminile di molti mammiferi un corpuscolo basofilo prodotto da un cromosoma X; nel 1954 Davidson e Smith scoprirono, sempre nelle femmine, un'appendice del nucleo dei granulociti neutrofili che aveva la forma di una bacchetta da tamburo. Ambedue le formazioni hanno permesso le prime diagnosi di sesso nei casi di incertezza di appartenenza all'uno o all'altro sesso (soggetti intersesso).

Un'altra tecnica per la diagnosi di sesso escogitata negli anni sessanta è stata quella della colorazione con derivati fluorescenti dell'acridina che si fissano elettivamente sul braccio più lungo del cromosoma Y. Con questa tecnica è stato possibile fare le prime diagnosi di sesso del nascituro studiando cellule del feto desquamate e presenti nel liquido amniotico.

Gli studi di **Embriologia** portati a termine nel corso del Novecento sono stati concentrati sull'influsso induttore che ogni parte dell'embrione esercita sulle altre parti. Si è scoperto così che per un normale sviluppo è indispensabile fin dall'inizio un intimo e continuo contatto tra la componente epiteliale e quella mesenchimale. Coltivando fuori dall'organismo singoli parti staccate dell'embrione è stato osservato che le cellule separate sanno riconoscersi e riaggregarsi secondo i tipi funzionali dei tessuti che si formano nel corso del normale sviluppo di un embrione qualsiasi.

L'insieme delle ricerche di embriologia eseguite nel corso del secolo ha illuminato il campo delle cause e dei meccanismi di arresto e alterazione dello sviluppo che portano a malformazioni e mostruosità. Un settore di studi completamente nuovo che si è venuto sviluppando dalla metà del Novecento in poi e che è tuttora in piena evoluzione è stato quello della **neurogenesi** dove è emersa tra i primi neurobiologi che si sono dedicati a questa materia l'italiana Rita Levi-Montalcini premio Nobel. Biologi, biofisici e perfino genetisti si sono progressivamente aggregati nelle ricerche di neurobiologia stimolati dal vivo interesse alla conoscenza dell'organizzazione strutturale del sistema nervoso oltrepassando i confini della neuroanatomia vera e propria. Il capitolo della storia degli studi di neurogenesi a causa di questa loro peculiarità sarà dunque illustrato alla fine del capitolo dedicato all'anatomia.

Gli studi effettuati a carico dell'**apparato cutaneo** hanno riguardato prevalentemente le cellule pigmentifere (melanociti) e il processo di trasferimento della melanina da queste alle cellule epiteliali dello strato malpighiano della pelle. E' stata fatta una netta distinzione tra ghiandole sudoripare eccrine e apocrine in base al diverso modo di fabbricare il sudore ed è stata prospettata l'ipotesi di una innervazione diversa, le eccrine essendo innervate da fibre colinergiche e le apocrine da fibre adrenergiche.

Per quanto riguarda la **mammella** è stata pubblicata nel primo decennio del secolo la teoria umorale dello sviluppo e del funzionamento della ghiandola in dipendenza dell'attività ovarica e/o placentare ma è stato solo negli anni trenta che, in seguito al forte sviluppo dell'endocrinologia, mediante esperimenti di trapianto d'ipofisi e iniezione di estratti ipofisari si è aperta la strada per indagare sull'influsso dell'ipofisi e di altre ghiandole a secrezione interna sulla mammella. Nel corso del secolo sono seguite molte indagini che hanno fornito una conoscenza esauriente del complesso meccanismo ormonale e nervoso che modifica lo stato della ghiandola mammaria durante la gravidanza e il puerperio, ma di questo si tratterà più avanti in altro capitolo.

Le ricerche portate su **ossa e articolazioni** in diretta connessione con la scoperta recente dei raggi X fatta da Röntgen negli ultimi anni del secolo precedente, hanno condotto alla esatta definizione dell'età di comparsa dei vari nuclei di ossificazione, specialmente per le ossa della mano e del piede. Tra 1881 e 1920 Roux ha sostenuto che orientando le ossa secondo le linee di carico, il corpo ottiene la massima forza di resistenza fisica con il minimo di materiale di costruzione e questo risultato viene raggiunto con le variazioni fisiologiche del carico meccanico. Un allievo di Roux, W. Gebhardt, nel 1901 ha proseguito le ricerche del maestro in questo ambito e ha analizzato la resistenza delle varie parti dello scheletro alle sollecitazioni meccaniche della vita quotidiana sia con esperimenti sulle ossa isolate sia su parti microscopiche mantenute vive e trattate con metodi particolari. I dati ottenuti da Gebhardt sono stati confermati nella seconda metà del secolo dalla microscopia elettronica e dai metodi che impiegano la diffrazione dei raggi X. E' stato così dimostrato che la fase minerale delle ossa è data sia da microcristalli orientati secondo l'asse delle macromolecole delle fibre collagene sia da una sostanza amorfa. Negli anni sessanta è stato provato che il tessuto osseo si comporta come un trasduttore, un

tessuto capace cioè di convertire in energia elettrica l'energia meccanica delle deformazioni dovute alle sollecitazioni del carico in stazione eretta.

Nel periodo 1940-1970 sono stati indagati con sostanze marcate il ritmo dell'attività osteogenica e l'entità del rinnovamento osseo.

Gli studi portati sulle articolazioni hanno messo in luce il rapporto direttamente proporzionale tra viscosità del liquido sinoviale ed entità e velocità dei movimenti, il continuo rinnovamento a livello molecolare della cartilagine articolare, la sostituzione dei condroitinsolfati dei soggetti giovani con il cheratansolfato della terza età quando comincia a rendersi evidente l'usura.

Sulla **muscolatura scheletrica** gli studi del Novecento hanno evidenziato la diversa origine embriologica dei muscoli della testa e del tronco rispetto a quella dei muscoli degli arti, l'esistenza – osservata al microscopio elettronico - di due tipi di minifilamenti dentro le fibrille muscolari, l'ipervascolarizzazione dei muscoli ipertrofici, la funzione indipendente delle unità motorie costituite da fibre muscolari in numero che va da 5 a 100, innervate da singoli motoneuroni. A questo proposito si è scoperto che le unità motorie più piccole sono quelle che presiedono a movimenti di alta precisione (muscoli del globo oculare, dei movimenti delle dita, ecc.). Altre scoperte che interessano la miologia sono quelle delle varie sostanze chimiche che vengono trasportate attraverso la giunzione neuromuscolare, sostanze che eserciterebbero un'azione trofica sul muscolo.

Con l'applicazione sperimentale dei primi circuiti elettronici negli apparecchi di elettromiografia da parte di Herbert Jasper (1906-1999) presso la McGill University - Neurological Institute di Montreal ha avuto inizio già nel biennio 1942-1944 l'analisi della partecipazione dei vari muscoli scheletrici al mantenimento della postura. La produzione industriale degli elettromiografi ebbe inizio nel 1947. Contrariamente a quanto ritenuto in precedenza si è visto che il tono muscolare a riposo non corrisponde ad attività contrattile di unità motorie mentre le variazioni di tono esprimono altrettante variazioni della capacità di risposta del sistema motorio. Jasper inventò anche un elettrodo ad ago unipolare che usò insieme al suo elettromiografo nello studio dell'epilessia e di altre malattie neurologiche.

Nei primi anni del Novecento era stata completata la scoperta anatomica del **Sistema Autonomo di Conduzione Cardiaca**: nel 1906 L. Aschoff e S. Tawara avevano dato la esatta descrizione del fascio atrioventricolare già indicato da His nel 1893; nel 1907 A. Kith e M. Flack descrissero invece per la prima volta il nodo del seno e il fascio di conduzione seno-atriale. Nel periodo compreso tra 1907 e 1913, ad opera di W. Spalteholz e di J. Tandler, che impiegò i raggi X, fu dimostrato in modo definitivo che, contrariamente a quanto ritenuto da Conheim, le arterie coronarie non sono di tipo terminale e sono invece ricche di anastomosi che le collegano ampiamente tra loro e con le arterie pericardiche, bronchiali e freniche.

Le indagini submicroscopiche degli anni settanta hanno rivelato la presenza di minutissimi fori in certe cellule endoteliali dei capillari di ghiandole endocrine, di glomeruli renali e dei villi intestinali del diametro di 800-1000 ångstrom di solito chiusi da diaframmi molto esili che si aprono per consentire il passaggio di sostanze chimiche. Queste sono state viste transitare anche attraverso minutissime fessure tra cellula e cellula dell'endotelio. Sono state le microfotografie elettroniche a rivelare questi passaggi di proteine traccianti di grandezza nota come la ferritina e la perossidasi.

La **milza** è stata particolarmente studiata nel Novecento a cominciare dal 1901 con F. Weidenreich e dal 1903 con Mall che comprovarono la porosità della parete dei seni venosi e quindi la possibile esistenza di una circolazione aperta del sangue nell'interno dell'organo. Nella prima metà del secolo le indagini si sono rivolte alla circolazione

splenica, ai dispositivi che regolano il flusso sanguigno, allo stroma reticolare e alla attività istiocitaria utilizzando le tecniche d'impregnazione argentea particolarmente indicate per il tessuto della milza nonché l'esame a luce polarizzata a contrasto di fase o in campo oscuro. Nella seconda metà del Novecento gli studiosi si sono interessati prevalentemente dei veri sistemi enzimatici in atto nella polpa splenica (Arvy nel 1965), della emocateresi prodotta dall'endotelio dei seni venosi e reticolari, della funzione immunitaria della milza nei riguardi di antigeni circolanti. A questo proposito è stato scoperto che gli anticorpi vengono prodotti da grandi linfociti basofili e dai plasmacociti.

Gli studi sul **sistema linfatico** sono stati facilitati dall'impiego di liquidi radioopachi oppure fluorescenti in luce ultravioletta, metodo quest'ultimo usato anche nel vivente nel corso di operazioni chirurgiche. Mentre sono rimasti insoluti molti aspetti della circolazione linfatica del sistema nervoso, sono risultate invece molto produttive le ricerche sullo sviluppo dei vasi linfatici che – contrariamente a quanto ritenuto in passato - sono stati visti nascere dalla parete delle vene primitive con successiva estensione in senso centrifugo. Gli studi sulla struttura del tessuto linfatico condotti da Aschoff nel 1925 e da T. Hellmann nel 1930 hanno chiarito il significato proliferativo dei cosiddetti "*centri chiari*". Una conquista degli anni sessanta è stato il riconoscimento della capacità dei linfociti – sotto certi influssi – di aumentare di volume, di trasformarsi in linfoblasti ma anche in plasmacociti, in macrofagi e in piccoli mieloblasti.

L'anatomico J.A. Hammar si è distinto per le sue ampie e lunghe ricerche condotte tra il 1905 e il 1940 sul **timo**. Hammar ha distinto l'involutione fisiologica, che avviene molto prima del termine dello sviluppo somatico, dall'involutione accidentale dovuta a fattori interni ed esterni (azioni ormonali e radiazioni röntgen). Nella seconda metà del secolo si è accertato che la produzione di linfociti da parte del timo non dipende dall'azione di antigeni e che il timo è necessario per la produzione di cellule immunocompetenti. Non è mai stata evidenziata una funzione ormonale da parte di questa ghiandola nonostante le molte ricerche volte in questo senso.

Il **fegato** non ha mancato di interessare gli anatomici del Novecento, anzitutto per il vecchio problema della sua architettura funzionale che pure nell'Ottocento era stata studiata con grande attenzione ma con mezzi tecnici ancora insufficienti. Al tradizionale lobulo epatico di Rössle è stato contrapposto l'acino epatico di Rappaport e Wilson nel 1958, L'acino epatico è quella porzione elementare di fegato nel cui asse centrale corrono i rami della vena porta, dell'arteria epatica e del dotto biliare verso i quali convergono i capillari sinusoidali e quelli biliari insieme alle trabecole o travate di cellule epatiche di Remak. E' stato accertato che i capillari biliari corrono sempre e soltanto tra le cellule epatiche e non dentro di esse come era stato ritenuto in precedenza. Sulla parete dei vasi arteriosi e venosi del fegato sono stati descritti dispositivi fatti a spirale e interpretati come altrettanti meccanismi di regolazione del flusso sanguigno. E' stata esclusa l'esistenza di comunicazioni dirette tra vasi linfatici e capillari biliari e tra questi e i sinusoidi del sangue epatico. Gli anatomici del secolo XX si sono fatti la convinzione che l'architettura lobulare del fegato è improntata dalla pressione e dalla direzione del flusso del sangue. Il vivo interesse dimostrato dai chirurghi per la chirurgia di resezione epatica nel corso degli **anni ottanta** del Novecento ha indotto gli anatomici a suddividere il fegato in otto segmenti seguendo la disposizione dei solchi epatici che sono quattro, di cui solo il porto-ombelicale è visibile in superficie, e la distribuzione del peduncolo epatico (detto anche triade portale). Per motivi di pratica chirurgica e per venire incontro alle esigenze di cognizioni anatomiche precise quando la resezione deve interessare più segmenti gli anatomochirurghi hanno anche creato una suddivisione in settori, di solito tre: settore laterale sinistro che comprende i segmenti II e III, settore laterale destro che comprende i segmenti VI e VII e

settore mediano o mesoepatico che comprende i settori IV, V e VIII. Una lobectomia destra può estendersi a sinistra per comprendere il segmento IV. (Ralph Ger **1989**).

Per quanto riguarda lo sfintere di Oddi che, come è noto, rappresenta la terminazione del coledoco in duodeno è stata accertata l'esistenza di tre componenti muscolari, delle quali due sono rotondeggianti e possiedono azione sfinterica mentre la terza ha sviluppo longitudinale e ha funzione dilatatrice.

Il **polmone** è stato sottoposto negli anni quaranta a una revisione di nomenclatura dell'albero bronchiale e dei vasi ed è stata introdotta per la prima volta la ripartizione dei lobi in segmenti, di questi in subsegmenti, dei subsegmenti in lobuli e infine dei lobuli in acini. Gli ultimi rami dei bronchi all'interno del lobulo hanno ricevuto il nome di bronchioli minimi ossia terminali.

Per quanto riguarda la fine struttura della parete degli alveoli si è assodato che essa è formata da due tipi diversi di cellule: quelle dette del II tipo sintetizzano e secernono fosfolipidi tensioattivi che formano lo strato fluido "*surfattante*" che mantiene umida la parete alveolare.

Un'altra novità anatomica è rappresentata dalla scoperta dei pori di comunicazione tra alveoli adiacenti

Negli anni cinquanta e sessanta del Novecento la microscopia elettronica del **rene** ha rivelato la porosità dei capillari del glomerulo, l'esistenza di fessure tra le cellule che tappezzano la pagina interna della capsula di Bowmann, il triplice strato di mucopolisaccaridi tra endotelio dei capillari ed epitelio del glomerulo. Dopo le contrastanti teorie ottocentesche di Bowmann, Ludwig, Heidenhain sulla formazione dell'urina, Ellinger e Hirt nel 1929 hanno fornito le prove decisive sull'attività di secrezione e riassorbimento dei tubuli renali. Ricerche della seconda metà del secolo hanno inoltre accertato che anche i canali collettori del rene riassorbono elettroliti, mentre prima si riteneva che fossero semplici condutture senza altre funzioni particolari.

Dopo il 1925 molti interessi si sono appuntati sul cosiddetto "*apparato juxtaglomerulare*" scoperto tra arteriola afferente del glomerulo e tubulo renale. Dopo una prima interpretazione erronea del suo significato funzionale, si scoprì che questa formazione produce la renina, sostanza che, una volta entrata in circolo, attiva l'angiotensinogeno del sangue trasformandolo in angiotensina, una sostanza che esplica azione ipertensiva.

Negli anni sessanta è stata scoperta la produzione renale di ESF o eritropoietina, fattore che stimola la produzione di globuli rossi. Sono state anche accertate l'ipertrofia compensatoria di un rene dopo l'asportazione di quello del lato opposto e la capacità rigenerativa del rene dopo nefrectomia parziale.

E' una conquista del Novecento la scoperta dell'attività ormonale del **testicolo**. Nel 1903 Bouin e Ancel hanno prospettato l'ipotesi che le cellule di Leydig delle isole interstiziali del testicolo potessero produrre un ormone sessuale. La conferma di questa ipotesi si è avuta però solo in seguito. Anche se le caratteristiche della spermatogenesi erano andate rivelandosi in modo sempre più esatto negli anni a cavallo tra Ottocento e Novecento è stato solo negli anni settanta del Novecento che, impiegando timidina triziata e l'autoradiografia sono state individuate nei tubuli seminiferi le sei generazioni di cellule che si susseguono cronologicamente nei 64 giorni di durata del ciclo spermatogenetico (Rosenberg e Paulsen, 1970).

Mentre le conoscenze anatomiche dell'**ovaio** sono rimaste le stesse dell'Ottocento, i concetti di istofisiologia sono cambiati grazie alla scoperta della sua azione endocrina. A partire dagli anni trenta molti studiosi hanno espresso la convinzione che tutte le cellule

uovo dell'ovaio del feto vanno incontro a degenerazione subito dopo la nascita per essere quindi rimpiazzate da nuovi ovociti prodotti dall'epitelio ovogenico della ghiandola; questa ipotesi da tanti condivisa non è mai stata ancora verificata in modo irrefutabile (R. Amprino 1970). Un altro problema a lungo dibattuto è stato quello delle cellule che producono l'ormone femminile per eccellenza, la follicolina. All'ipotesi della sua produzione da parte delle cellule dell'epitelio del follicolo ovarico si è opposta nel 1957 quella più verosimile di M. Watzka che attribuisce la produzione di follicolina alle cellule connettivali della teca interna del follicolo.

L'anatomico G. N. Papanicolau nel 1933 ha messo in rilievo le modificazioni delle cellule dell'epitelio della vagina nelle varie fasi del ciclo mestruale, in menopausa e nella patologia uterina. L'esame routinario della citologia esfoliativa che tanta utilità diagnostica e interesse sociale ha assunto in tutto il mondo nella seconda metà del XX secolo è appunto la diretta conseguenza dei fondamentali studi condotti dal Papanicolau.

Per quanto riguarda l'**ipofisi** le ricerche istochimiche del periodo 1940-1970 hanno confermato la validità dell'ipotesi di B. Romeis prospettata negli anni quaranta, secondo la quale l'adenoipofisi sarebbe formata da cellule di ben diverso comportamento e significato. Sono stati infatti distinti due tipi di cellule – basofile e acidofile – e in seguito anche due tipi diversi di basofile, le cellule tireotrope cioè secernenti ormoni con bersaglio tiroideo e cellule gonadotrope. Queste ultime sono state poi distinte in cellule che stimolano la produzione di follicolina e cellule che stimolano la produzione di progesterone. Prima degli anni settanta si era arrivati a distinguere complessivamente sei categorie di cellule ad attività ormonale specifica e differenziata. Herlant è arrivato a questi risultati nel 1964 adottando le tecniche di immunofluorescenza.

A partire dagli anni trenta si è dato inizio allo studio anatomico del peduncolo ipofisario mettendo anzitutto in evidenza un sistema di “vene porta” che servono al trasporto di neuroormoni ipotalamici dentro ai capillari sinusoidali di tutta la ghiandola.

Il difficile studio dei collegamenti nervosi tra nuclei ipotalamici e adenoipofisi ha trovato soluzione solo negli anni settanta, dopo lunghe discussioni di carattere teorico, con il riconoscimento mediante la citoimmunologia di tre tipi di fibre che corrispondono rispettivamente alla conduzione dei fattori rilascianti (*releasing factors*) per l'ormone tireotropo, per la somatostatina e per l'ormone luteinizzante. Molto più sicuri e abbondanti sono stati invece i dati forniti dalla ricerca sui collegamenti tra ipotalamo e ipofisi posteriore che avvengono attraverso fibre nervose provenienti da neuroni ipotalamici ben individuati (Barry, 1978 e Hökfelt e coll., 1978).

Il **surrene** è stato oggetto del massimo interesse degli anatomici fin dagli ultimi decenni dell'Ottocento e questa attenzione si è vieppiù appuntata sulla sua componente midollare dopo la scoperta nei primi anni del Novecento dell'adrenalina, poco tempo dopo isolata dal contesto della midollare stessa. Nel corso degli anni trenta l'interesse degli anatomici si spostò sulla corticale della ghiandola e nel 1935 ne furono isolati i diversi ormoni. Accurate ricerche d'istochimica e di istofisiologia furono indirizzate ad individuare i rapporti tra la funzione endocrina del corticosurrene e quella dell'ipofisi, delle gonadi e della tiroide. Una importante scoperta fu quella del diverso comportamento del surrene nei due sessi: l'attività della fosfatasi alcalina, minima nel sesso femminile, è invece rilevante nella zona fascicolata e reticolare del maschio. Come in altre ghiandole endocrine anche per il surrene si verifica una rapida involuzione postnatale della struttura istologica fetale e la formazione del nuovo tessuto surrenale che – per quanto riguarda la corticale – raggiunge la sua maturazione definitiva al terzo anno di vita. Altre modificazioni sono state poi osservate nella struttura della corticale dopo il climaterio nella donna e nel quinto decennio di vita nel maschio.

La **tiroide** è stata studiata lungo tutto il secolo con tecniche sempre nuove e sempre più sofisticate. Nella seconda metà del Novecento con il metodo autoradiografico dopo assunzione di jodio radioattivo o di leucina triziata sono state perfezionate le conoscenze della sintesi ormonale, del riassorbimento della sostanza colloide dalla parete dei follicoli, delle modifiche dell'epitelio follicolare e della rete vascolare. Già nel 1932 Nonidez aveva studiato con l'impregnazione argenticca particolari cellule disposte negli interstizi tra i follicoli, cellule che erano già state scoperte alla fine dell'Ottocento e definite allora come "*parenchimatose*". Negli anni sessanta, applicata la tecnica dell'immunofluorescenza, si scoprì che queste cellule – oggi chiamate "*cellule C*" - producono la calcitonina, ormone che attenua e regola la fase di riassorbimento osseo da parte degli osteoclasti stimolando contemporaneamente l'azione degli osteoblasti e la fissazione sulle ossa dello ione calcio.

Nel 1910 le **paratiroidi** – già note fin dal primo Ottocento – furono studiate sotto l'aspetto embriologico, strutturale e di anatomia comparata ma il loro prodotto, il paratormone, di cui pur si supponeva fondatamente l'esistenza, fu isolato da J.B. Collip solo nel 1925. Dopo tale data le ricerche sperimentali hanno appurato l'effetto del paratormone sugli osteoclasti e sulla eliminazione renale di calcio e fosforo. Negli anni cinquanta e sessanta fu studiata per la prima volta la composizione ultrastrutturale dei tre tipi di cellule che compongono il tessuto delle paratiroidi.

Le **isole di Langerhans** nel pancreas sono state oggetto di lunghi studi effettuati da V. Diamare, K. Helly e E. Laguesse negli anni compresi tra fine Ottocento e inizio Novecento. Nel 1907 Laguesse scoprì in via sperimentale l'attività endocrina di queste cellule. Verso il 1940 l'impiego dell'istochimica ha consentito di distinguere nelle isole due popolazioni cellulari, quelle dette A o alfa 2 e quelle B o beta, le prime producenti il glucagone, le seconde l'insulina. In seguito questa prima scoperta fu confermata con l'impiego di altre tecniche come la immunocitochimica accoppiata alla fluorescenza indotta sugli anticorpi antiinsulina. Negli anni sessanta la microscopia elettronica e l'istochimica hanno scoperto altri due tipi di cellule meno numerose e incostanti: di queste le cellule D o alfa 1 fissano anticorpi antigastrina e da questo si è dedotto una loro produzione specifica di gastrina.

Novità interessanti negli ultimi quarant'anni del Novecento sono venute dagli studi di anatomia comparata della **epifisi cerebrale** o ghiandola pineale che tanta curiosità ha sempre sollevato in tutti i secoli precedenti, rimanendo tuttavia una presenza misteriosa e affascinante. Che fosse un organo endocrino non c'era dubbio nemmeno prima che fosse sottoposta ad esami ultrastrutturali e a ricerche istochimiche. Si è poi scoperto negli anni sessanta che la pineale dei bovini contiene un metossindolo particolare detto melatonina e, circa dieci anni più tardi, che la melatonina era proprio secreta dalla pineale insieme a serotonina e ad altre ammine. Oggi si dispone di prove sperimentali che indicano come la luce e il buio influenzano nettamente la produzione di melatonina da parte della ghiandola attraverso la regolazione del sistema nervoso autonomo. La melatonina, una volta uscita dalla pineale, giunge mediante il liquor cefalorachidiano o il sangue ai centri nervosi dell'ipotalamo e del mesencefalo che a loro volta sono regolatori del sistema neuroendocrino. La microscopia elettronica per parte sua ha dimostrato che l'ultrastruttura della ghiandola e dei vasi che la percorrono è quella tipica di una ghiandola a secrezione interna.

L'elettrofisiologia prima e gli esami con il microscopio elettronico poi hanno dimostrato l'indipendenza dei singoli **neuroni** e l'esistenza di semplici contatti detti **sinapsi** fra elementi nervosi diversi. A. van Gehuchten e R. Ramon y Cajal hanno formulato nel primo Novecento la legge della polarizzazione della conduzione dello stimolo nervoso in senso centripeto attraverso i dendriti e in senso centrifugo lungo l'assone o neurite, unico

prolungamento della cellula nervosa o neurone ad avere funzione centrifuga. Oggi conosciamo anche l'azione di diversi mediatori chimici che presiedono alla trasmissione dell'impulso nervoso a livello delle sinapsi.

Si può ben affermare che la **neuroanatomia** del Novecento è la branca dell'anatomia che ha subito la maggiore evoluzione tra tutte le branche anatomiche. Ancora nei primi vent'anni del Novecento si conosceva come unica area motoria della corteccia encefalica la circonvoluzione precentrale e come unico fascio motorio quello del sistema piramidale anche se gli anatomici coltivavano il sospetto che esistessero altre vie motorie. Sono stati gli esperimenti con le elettrostimolazioni di tutte le aree corticali che hanno portato alla scoperta dell'esistenza e della funzione di altre vie motorie che sono state definite come facenti parte del sistema extrapiramidale. Sono stati scoperti centri motori dei movimenti automatici ed altri che attivano la compensazione di aree e fasci del sistema piramidale. Anche la tecnica della degenerazione artificialmente indotta su determinate aree del sistema nervoso centrale dei primati ha permesso l'approfondimento ulteriore di strutture nervose che intervengono nei meccanismi posturali e che regolano gli impulsi della sensibilità epicritica. Molto innovative sono state le ricerche portate sulla sostanza reticolare del tronco cerebrale la cui complessità riserva ancora molte incognite e difficoltà interpretative. Dati molto interessanti sono stati forniti dagli studi di anatomia comparata della corteccia cerebrale e hanno fatto riservare il nome di corteccia solo alla materia grigia del telencefalo costituita da almeno tre e fino a sei strati di cellule collegate tra loro da una rete di prolungamenti neuronici. E' stata riconosciuta la presenza di cellule granulari e agranulari, le prime tipiche delle aree di proiezione sensitive, le seconde di quelle motorie o comunque corticifughe.

Quanto esposto fin qui è il risultato di un volo d'uccello sulle scoperte effettuate nel campo della citoarchitettura e della mieloarchitettura – quest'ultima riguarda la distribuzione delle fibre nervose – ma si devono ricordare anche le ricerche volte a conoscere la glioarchitettura, cioè la distribuzione dell'impalcatura gliale, che l'istochimica ha mostrato essere ben diversificata da zona a zona. La nevroglia o glia rivela infatti la presenza di enzimi cellulari diversi a seconda dell'area esaminata (acetilcolina e GABA).

Anche il cervelletto è stato oggetto di molte ricerche. D. Ingvar ha proposto di distinguere tre piani di arrivo delle fibre vestibolari, spinali e cerebrali. Nello stesso tempo sono state dettagliatamente studiate la composizione della corteccia cerebellare, le varie fibre afferenti e le connessioni tra i vari tipi di cellule. Le conoscenze acquisite nel corso del secolo ci dicono che la corteccia del cervelletto è composta da tre lamine, sotto le quali si dispongono a ventaglio le sottili lamine di sostanza bianca che formano il disegno detto dagli antichi "*arbor vitae*". Le lamine del lobo mediano o verme sono le più lunghe, quelle dei lobi laterali o emisferi sono le più brevi essendo il risultato del ripiegamento degli emisferi in due anse successive. E' stato accertato dagli studi di anatomia comparata di O.C. Bradley nel 1905 e di L. Bolk nel 1906 che il cervelletto raggiunge il suo massimo sviluppo nell'Uomo e nei Cetacei. Fondamentali sono state le ricerche sugli Uccelli di P. Larsell pubblicate nel 1948, perché lo portarono a suddividere il verme cerebellare in dieci lobuli contrassegnati da altrettanti numeri romani, suddivisione universalmente accettata e molto utile per la prosecuzione delle ricerche. Fin dalla fine dell'Ottocento era nota la presenza nella corteccia cerebellare di cinque diversi tipi di neuroni: le cellule di Purkinje la cui scoperta risale al 1837, i granuli, le cellule a canestro, le cellule di Golgi e le cellule stellate. Nel Novecento le cellule di Purkinje sono state definitivamente considerate come i neuroni più importanti del S.N.C. di tutti i Vertebrati. I rami dendritici terziari delle arborizzazioni a spalliera di queste cellule presentano numerose spine che sono state oggetto di accurati conteggi nel corso degli anni settanta cosicché si è calcolato che in una cellula di Purkinje del cervelletto del gatto il numero complessivo delle spine ammonta a

80.000. S.L.Palay e V. Chan-Palay tra 1974 e 1977 hanno particolarmente studiato l'ultrastruttura degli assoni delle cellule di Purkinje nonché il decorso delle loro diramazioni che prendono una direzione ricorrente verso la zona dendritica. Le terminazioni dell'assone nei nuclei cerebellare e vestibolare sono multiple e presentano le stesse caratteristiche ultrastrutturali delle sinapsi inibitorie. Infatti al loro livello sono stati evidenziati GABA e GAD (decarbossilasi dell'acido glutammico). Anche per i granuli, che rappresentano il tipo cellulare più numeroso del S.N.C. dei Vertebrati - e tra questi l'Uomo ne possiede il massimo numero - il trasmettitore è il glutammato (GABA). Invece delle "fibre muschiose" che rappresentano uno dei due tipi di afferente della corteccia cerebellare con sinapsi a forma di rosetta, alla fine del secolo non era ancora noto il neurotrasmettitore, anche se negli anni ottanta era stata emessa l'ipotesi che si trattasse di somatostatina o della sostanza P. E' sicuro invece che gli assoni delle cellule di Golgi rilasciano GABA e GAD. Gli assoni dei granuli che ascendono, attraversando lo strato cellulare di Purkinje, verso la superficie della corteccia dividendosi qui in due branche a T parallele alle lamelle sono detti "fibre parallele" per il loro decorso parallelo alla corteccia ma anche "fibre d'incrocio" perché formano sinapsi con tutti i tipi di spine dendritiche che incontrano nel loro passaggio. L'esame strutturale rivela che si tratta di fibre eccitatorie. Identica azione avrebbero le fibre "rampicanti" i cui neuroni hanno sede nell'oliva cerebellare inferiore come documentato da diversi studiosi tra il 1959 e il 1974. Il loro neurotrasmettitore è stato identificato con l'aspartato. Un'altra notevole componente della corteccia cerebellare è data dai numerosi "interneuroni inibitori locali" i cui assoni liberano GABA avente effetto inibitorio. Di essi fanno parte i neuroni di Golgi e quelli a canestro. Il terzo tipo di interneuroni locali è quello formato dagli assoni delle cellule stellate che fanno sinapsi con i dendriti lisci più grandi delle cellule di Purkinje E' stata accertata negli anni ottanta la loro funzione inibitoria.

La mappatura corticale delle risposte cerebellari agli stimoli naturali ha rivelato una distribuzione a chiazze che può sembrare del tutto casuale ma, analizzando l'area ricettiva del nervo trigemino si è ottenuta una distribuzione sistematica e sofisticata su vaste aree della corteccia del cervelletto e questo ha portato a ipotizzare che esista una architettura analogica per altre aree ricettive.

E' stata la regolarità della distribuzione neuronale del cervelletto che ha dato origine ai diversi modelli citoarchitettonici e a teorie sulla funzione cerebellare da parte di molti studiosi. Citeremo solo alcune di queste seguendo un ordine cronologico. Il primo modello è stato proposto nel 1961 da V. Braitenberg e N. Onesto che hanno interpretato come "linee di ritardo" le fibre parallele (vedi sopra) la cui funzione sarebbe quella di trasformare l'attività da spaziale a temporale. Nel 1963 e poi nel 1965 J. Szentagothai ha sostenuto che l'eccitazione si diffonde lungo l'asse longitudinale delle lamelle e che gli interneuroni inibitori limitano l'eccitazione a strisce ristrette di questo asse. Nel 1967 J.C. Eccles ha proposto un modello di funzionamento spaziale paragonando il cervelletto ad un elaboratore elettronico che, integrando e organizzando tutte le informazioni in arrivo, regola i movimenti a livello spinale e modifica gli stimoli provenienti dalla corteccia cerebrale attraverso la via piramidale e nel 1969 D. Marr ha suggerito l'esistenza di una "rete di apprendimento" dentro al modello di Eccles. Nel 1971 J.S. Albus ha proposto un nuovo modello basato su calcoli matematici e nel 1982 M. Fujita ha tentato di combinare i modelli di Marr e di Albus con la teoria dei "filtri adattativi". Nel 1984 M. Ito, sulla base di ricerche fisiologiche, ha affermato che l'adattamento a breve termine oggettivamente dimostrato sostiene la validità della teoria secondo la quale il cervelletto sarebbe un "dispositivo" per l'apprendimento. Le informazioni ottenute da Ito e collaboratori nell'anno 1984 provenivano da ricerche eseguite sulla funzione del flocculo in rapporto con i riflessi vestibolo-oculomotori. Infine nel 1985 A. Pellionisz e coll. hanno interpretato

il S. N. C. come una rete sensoriale nell'intento di fornire una spiegazione funzionale della rete cortico-nucleare del cervelletto. Stando a questa visione il cervelletto sarebbe un coordinatore che trasforma l'intenzione ancora dismetrica di un movimento programmato in una esecuzione motoria perfettamente equilibrata. In termini matematici si tratterebbe di una trasformazione covariante-controvariante operata da un tensore metrico alimentato dalla rete cortico-nucleare del cervelletto. Questa di Pellionisz è stata fino all'anno 2000 la più avanzata di tutte le teorie fino a quel punto elaborate e anche la più compatibile con i dati ricavati dalle ricerche effettuate fino allora, tuttavia la meta della comprensione dell'integrazione di funzioni tanto disparate appariva ancora lontana.

La corteccia cerebrale rappresenta un formidabile campo di studi anatomici eseguiti nei primissimi anni del XX secolo e nella sua seconda metà. La storia di questi studi conta alcuni precedenti che merita ricordare: nel 1782 Francesco Gennari descrisse la “stria chiara” nella corteccia del cervello umano, stria che oggi sappiamo far parte del quarto strato della corteccia visiva e che tuttora porta il nome di “stria di Gennari”. Nel 1840 lo psichiatra francese J.G.F. Baillarger mise in evidenza, senza colorazioni, sei strati paralleli della corteccia umana. L'introduzione del colorante naturale carminio ad opera di R. Berlin nel 1858 confermò e meglio evidenziò la disposizione cellulare della corteccia in sei strati tangenziali più o meno distinti. Finalmente nel 1883 con la scoperta della impregnazione argentea del Golgi si giunse a definire con chiarezza la forma delle diverse cellule.

La mappa cerebrale più accettata è stata quella pubblicata dal tedesco K. Brodmann nel 1908, con aggiustamenti e precisazioni pubblicate nel 1912 e nel 1914. Questa mappa distingueva 50 aree corticali, un numero abbastanza vicino a quello attuale.

L'interesse degli anatomici per la corteccia cerebrale ha subito un raffreddamento tra il 1930 e il 1960, per risvegliarsi poi con l'uso dei primi microelettrodi e con quello delle sostanze traccianti, il che ha permesso di individuare suddivisioni territoriali della corteccia più piccole dei sei strati classici universalmente accettati dopo Brodmann e dopo la nomenclatura – non da tutti accettata – proposta da Vogt nel 1919 e basata sulla cito- e mieloarchitettonica.

L'introduzione nel 1971 del nuovo metodo di colorazione con la lipofusina da parte di H. Braak ha recato una modifica dei preesistenti criteri di architettura distinguendo da un lato dimensioni, forma e densità dei neuroni, e dall'altro decorso, densità e spessore delle fibre.

I sei strati principali della corteccia dell'encefalo, procedendo dall'esterno all'interno sono così connotati: lamina I o strato molecolare pressoché privo di neuroni e caratterizzato dalla prevalenza di sinapsi; lamina II o strato corpuscolare formato da piccoli corpi cellulari a denso raggruppamento e intensamente colorati dalla lipofusina; lamina III o strato piramidale, lo strato più spesso della corteccia, formato dalle cellule piramidali disposte in colonne verticali, con affinità crescente per la lipofusina man mano che si scende verso la lamina successiva; lamina IV o strato granulare dato da corpi cellulari poliedrici piccoli, la lipofusina colora intensamente solo lo strato granulare dell'area visiva e della stria di Gennari; lamina V o strato ganglionare che nella sua parte più profonda contiene neuroni eccezionalmente grandi detti “cellule giganti di Betz”; lamina VI, l'ultima, detta anche strato multiforme perché contiene cellule fusiformi e piramidali irregolari ad orientamento verticale. Questo è lo strato più vicino alla sostanza bianca.

I tipi cellulari individuati nella corteccia cerebrale dalla fine dell'Ottocento a quella del Novecento sono come minimo dieci sebbene gli ultimi nove vengano raggruppati per ragioni di praticità in tre categorie principali l'ultima delle quali ne comprende a sua volta

sette. Ne daremo alcuni cenni seguendo e cercando di attenerci a questa ripartizione ma limitandoci soprattutto a sottolineare quanto scoperto nell'ultimo trentennio del XX secolo.

1. – *Cellule Piramidali*: rappresentano il tipo cellulare più caratteristico di tutto il S.N.C. dei Mammiferi. Il loro “dendrite apicale” che raggiunge gli strati corticali I e II forma il caratteristico ciuffo dendritico terminale. I dendriti mostrano molte spine che l'esame all'ultramicroscopio ha rivelato essere siti ricettivi di sinapsi. Si è tentato di conteggiare queste spine e il numero complessivo risulta compreso tra un minimo di 6000 e un massimo di 30.000 per ogni neurone. Il numero di sinapsi di ogni cellula supera però quello delle spine. Queste cellule sono situate tra II e III strato e in tutto il III. Nelle aree cerebrali sensitive scarseggiano mentre sono numerosissime nelle aree premotorie e motorie perché dai loro assoni nasce la via piramidale di cui tratteremo nel capitolo dedicato alla neurofisiologia. Tendono a formare agglomerati detti dagli AA anglosassoni “clusters”. Si interpreta attualmente questa disposizione come effetto dell'origine embrionale da una determinata linea cellulare del neuroepitelio primitivo.

2. – *Neuroni non piramidali proiettivi ad assone lungo*: hanno corpo cellulare stellato e dendriti ricchi di spine; descritti fin dal 1899 da Ramon y Cajal, finora sono stati osservati soltanto nella corteccia visiva. Non si hanno dati attendibili su una loro ipotizzata presenza in altre aree sensitive.

3. – *Neuroni proiettivi ad assone corto* : sono cellule stellate spinose deputate a ricevere afferenze sensoriali. I loro brevi assoni salgono e scendono nei vari strati corticali esaurendosi in essi. Le loro arborizzazioni sono contenute dentro a strette colonne di tessuto corticale. Non mostrano reazioni immunocitochimiche ad anticorpi anti-GAD e anti-GABA e quindi sono state interpretate come membri della catena neuronica che riceve e trasmette le afferenze provenienti dagli organi di senso. I dendriti hanno poche o nessuna spina. Risiedono dal II al IV strato. Molti di essi contengono l'enzima colinacetiltransferasi e ciò depone chiaramente per la loro natura colinergica.

Gli interneuroni ad assone corto conosciuti hanno tutti funzione inibitoria e negli anni ottanta sono stati studiati dettagliatamente grazie all'ottima marcatura intracellulare ottenuta con la perossidasi del rafano. Si tratta di neuroni di forma molto varia che ricorderemo qui succintamente perché sono stati oggetto di intense ricerche negli ultimi due decenni del secolo;

A. *Cellule a canestro* già descritte da Ramon y Cajal nel 1899 e nel 1911 e riscoperte nella seconda metà del Novecento. Gli assoni di queste cellule prendono sinapsi con il corpo e con i dendriti delle cellule piramidali. Le terminazioni sono Gaba-ergiche e quindi hanno funzione inibitoria. Si dividono in tre sottotipi di cui l'ultimo è stato scoperto nel 1985 da Kisvarday e collaboratori e detto delle “clutch cells” tutte situate nella lamina IV della corteccia sensitiva.

B. *Cellule a doppio pennacchio* così chiamate a causa dei due ciuffi di dendriti a disposizione verticale, uno ascendente e l'altro discendente. Il loro assone attraversa tutti i sei strati della corteccia. I corpi cellulari risiedono nelle lamine II e III. Sono molto recettivi al GABA e alla colecistochinina. Si ritiene che abbiano azione inibitoria e anche disibitoria.

C. *Cellule asso-assoniche o “a candelabro”* scoperte negli anni 1974 e 1975 da J. Szentagothai e M. Arbib. Risiedono nella parte alta della III lamina e sono fortemente GABA-ergiche, quindi certamente inibitorie. Tutte le terminazioni di queste cellule finiscono nella parte iniziale dei segmenti assonici.

D. *Cellule nevrogliiformi o “nane” o “a ragnatela”*: il termine “nevrogliiforme” è stato dato da Ramon y Cajal per le piccole dimensioni del loro corpo e per i numerosi dendriti

ondulati ad orientamento radiale che danno al loro insieme l'aspetto di una sfera. E' probabile la funzione inibitoria, ma non è stata accertata in via definitiva.

E. – *Interneuroni lisci e poco spinosi* rappresentano il tipo più comune di interneuroni; sono presenti in tutti gli strati corticali ed hanno arborizzazioni dendritiche e assoniche del tutto atipiche. Di solito l'assone inizia sulla superficie esterna del neurone.. Sono cellule GABA-ergiche.

F. – *Cellule con assone a ciuffo* sono caratteristiche della lamina II e mandano arborizzazioni assoniche nella lamina I. Non è definitivamente accertata la loro azione inibitrice.

G,. . *Cellule dendro-assoniche* identificate per la prima volta nel 1979 da J. Szentagothai. Sembrano essere per il momento una prerogativa del cervello dei Primati. Le arborizzazioni dendritiche e assoniche si assomigliano molto.

Da quando si è cominciato a studiare le connessioni interneuronali con il microscopio elettronico da parte di E.G. Gray nel 1961 e, dopo il 1970, a sfruttare le varie tecniche di marcatura - anterograda con aminoacidi triziati; retrograda con coloranti fluorescenti e con la perossidasi del rafano; anterograda e retrograda con l'iniezione intracellulare della perossidasi – l'applicazione della biochimica enzimatica e dell'immunocitochimica per l'identificazione dei vari trasmettitori, le nuove conoscenze sulle connessioni interneuronali sono aumentate con la velocità di una valanga soprattutto per quanto riguarda la conduzione dell'impulso dalle afferenze alle efferenze. Le tecniche della degenerazione assonica hanno dimostrato che le afferenze talamiche specifiche nel caso del sistema visivo e acustico terminano preferenzialmente nella lamina IV, ma i metodi di marcatura ne hanno evidenziate moltissime di nuove soprattutto nel campo di quelle visive corrispondenti a due gruppi, X e Y, di stimoli provenienti da ben definiti tipi cellulari della retina e del nucleo genicolato dorsale. Le aree corticali interessate sono la 17 e la 18 della corteccia visiva. Con l'uso di colorazione simultanea del medesimo materiale con la immunocitochimica e il metodo di impregnazione argentea di Golgi T.F. Freund e collaboratori nel 1985 si sono convinti che le afferenze X e Y terminano su due diversi gruppi di interneuroni inibitori. Per la catena eccitatoria che interessa le cellule stellate e le piramidali non si è riusciti ancora a individuare una analoga separazione delle linee afferenti. Nel 1986 Z.F. Kisvarday e collaboratori hanno pubblicato le loro ricerche sui bersagli sinaptici delle collaterali delle cellule piramidali secondo le quali meno del 5% di questi bersagli sarebbero cellule GABA-ergiche. Questo dato ha fatto presumere che, poiché le cellule piramidali rappresentano il 60% di tutte le cellule nervose corticali con un rilevante numero di collaterali assonici locali, esista un *feed-back* eccitatorio da cellule piramidali ad altre cellule piramidali di ampiezza eccezionale. J. Szentagothai ha ipotizzato che le cellule asso-assoniche giochino un ruolo di blocco sulle efferenze delle cellule piramidali ogni volta che l'eccitazione supera un certo limite di sicurezza.

L'architettura modulare della corteccia cerebrale ha avuto il suo inizio nel 1938 quando R. Lorente de Nò individuò chiaramente l'orientamento verticale delle connessioni intracorticali. Solo però nel 1959 D.H. Hubel e T.N. Wiesel evidenziarono la forte somiglianza dei campi recettivi delle cellule disposte in spazi verticali organizzati a "colonne" dentro la corteccia. Questi stessi studiosi nel 1972 seguendo la separazione delle vie visive provenienti dai due occhi fino al primo relé corticale, riuscirono a costruire una mappa nella lamina IV degli spazi tissutali monoculari della corteccia visiva che in realtà anziché colonnari apparivano a strisce di zebra se osservati dalla superficie e questo corrispondeva ad uno schema ascendente e discendente in senso verticale dove la monocularità diminuiva gradualmente pur restando inalterate le proprietà del campo

recettivo. Alla fine del secolo il problema del rapporto tra colonne della dominanza oculare e colonne di orientamento rimaneva insoluto

Un aspetto interessante messo in luce dalle ricerche fondamentali di P.S. Goldman e W. Nauta, pubblicate nel 1977, è dato dalla relativa costanza filogenetica, dal ratto alla scimmia *Rhesus*, delle dimensioni delle colonne cortico-corticali, ciò che ha fatto dedurre che la forte e progressiva espansione della superficie della corteccia cerebrale riscontrata nella filogenesi è dovuta ad un aumento del numero anziché della larghezza delle colonne di fibre afferenti. Tralasciando molti altri dati riguardanti questa materia possiamo concludere che la disposizione modulare colonnare che tanto ha interessato i ricercatori di fine XX secolo, è da loro stessi considerata un principio puramente architettonico basato sull'uso ripetitivo di unità tissutali simili per struttura, una disposizione che non è e non deve essere considerata un principio di natura funzionale.

I sistemi di fibre diffuse che risalgono alla corteccia cerebrale e la cui funzione può essere eccitante o inibitoria sono stati oggetto dei classici lavori di G. Moruzzi e H. Magoun pubblicati nel 1949. Allora questi sistemi furono definiti monoaminergici (noradrenergici, dopaminergici e serotoninergici) ma l'introduzione di nuove tecniche d'indagine ha permesso di evidenziare anche una certa quota di sistemi di fibre colinergiche. Ricorderemo in rapida sequenza i quattro sistemi di fibre che afferiscono alla corteccia in base ai dati noti alla fine del Novecento

1. Sistema noradrenergico: origina nel *locus coeruleus*, un nucleo compatto del ponte di Varolio. Le sue fibre si espandono in tutta la corteccia con aspetto varicoso e sono presenti in tutti i sei strati ma con la innervazione più fitta nelle lamine IV e V. La maggioranza delle fibre di questo sistema entra nella corteccia nelle regioni frontali per espandersi poi alla parte posteriore dell'emisfero. E' stato accertato che la plasticità dei primi periodi di vita è assicurata dalle terminazioni di queste fibre che rilasciano noradrenalina.

2. Sistema serotoninergico: origina dal rafe del tronco encefalico e termina in tutti gli strati della corteccia ma preferenzialmente nella lamina I nei Mammiferi Inferiori e nella IV nei Primati. E' stato osservato che la serotonina riduce l'attività spontanea delle cellule corticali.

3. Sistema dopaminergico: origina dalla sostanza *nigra* del mesencefalo e termina quasi esclusivamente nelle aree frontali e limbiche della corteccia. Funzione complessivamente inibitoria.

4. Sistema colinergico è doppio: a) estrinseco costituito da fibre e terminazioni ascendenti, b) intrinseco fatto da cellule che forse corrispondono alle cellule corticali contenenti il polipeptide intestinale vasoattivo. L'estrinseco origina dal nucleo basale del proencefalo e termina in tutti gli strati corticali con lieve preferenza per la V lamina e questo è l'unico sistema nel quale è stato dimostrato con sicurezza che le terminazioni sono preferenzialmente sinaptiche. Il sistema intrinseco è dato dalle cellule fusiformi con terminazioni a "corona di rosario" i cui dendriti reagiscono vivacemente agli anticorpi anti-polipeptide intestinale vasoattivo (VIP).

La Formazione Reticolare del sistema nervoso centrale (FR) è nel cervello dei Mammiferi una struttura del tronco encefalico che conserva caratteri arcaici che hanno fatto paragonare la sua istologia a quella del nevrasso dei Vertebrati Inferiori (F. Ramon-Moliner e coll. 1966). Storicamente i primi a prospettare una definizione della FR furono i neuroanatomici tedeschi O. Kohnstamm e F. Quensel che nel 1908 le diedero il termine latino di *centrum receptorium* per le strette connessioni che legano questa rete inestricabile di neuroni e fibre nervose con i grandi sistemi afferenti del SNC. In effetti gli agglomerati

di neuroni in cui questa rete si condensa non sembrano avere limiti precisi né caratteristiche strutturali specifiche e questo è stato il primo grande scoglio contro il quale si sono a lungo infranti i tentativi di approfondimento dei neuroanatomici della prima metà del Novecento. Un fondamentale apporto fu quello di M. Scheibel e A. Scheibel che nel 1958, usando l'impregnazione argentea di Golgi, scoprirono strutture istologiche altamente caratteristiche in seno alla formazione reticolare.

Le ricerche di A. Brodal (anni 1955-1957) e di W.J. Nauta e coll. (1958) dimostrarono che lungo il nevrasso dal midollo allungato al mesencefalo compreso sono presenti neuroni reticolari i cui assoni ascendenti si mescolano agli assoni discendenti con l'unica differenza consistente in una concentrazione dei primi nel *tegmen* del mesencefalo e in una ripartizione più uniforme dei secondi.

Un altro dato fornito da quelle ricerche riguarda l'esistenza di cellule della FR il cui assone si divide in una branca ascendente e in una discendente e ciò conferma la vecchia previsione che la sostanza reticolare ascendente e quella discendente sono legate l'una all'altra da una effettiva solidarietà funzionale. L'organizzazione studiata dai due Scheibel si basa su neuroni di grandi dimensioni provvisti di assoni molto lunghi che consentono la rapidissima propagazione a forte distanza verso l'alto, verso il basso e in ambo i sensi.

Le fibre afferenti della FR sono molto numerose e provengono dal midollo spinale: esse sono le "fibre spinoreticolari" studiate da D. Boowsheer nel 1961. Ma fibre afferenti della FR sono anche quelle provenienti dal nucleo della radice discendente del trigemino, dal cervelletto, dal diencefalo – cioè dall'ipotalamo e dai corpi mammillari – e da diversi nuclei del tronco encefalico.

Le fibre efferenti della FR discendente nascono nei due terzi posteriori della FR: sono gli assoni dei neuroni di grandi dimensioni descritti da Scheibel. Si dividono in reticolospinali e reticolocerebellari.

Le fibre efferenti della FR ascendente si dividono anch'esse in due gruppi: il primo gruppo è quello delle fibre reticolotalamiche specifiche e reticolocorticali dirette; il secondo, meno omogeneo del primo, contiene fibre che uniscono la FR con le regioni ipotalamiche.

Fin qui l'anatomia descrittiva della formazione reticolare che è venuta ad arricchire il grande capitolo delle scoperte di neuroanatomia del secolo XX. Altrettanto importanti sono stati gli studi di neurofisiologia della formazione reticolare per la storia della quale si rimanda al capitolo della neurofisiologia.

Per quanto riguarda il **sistema autonomo o neurovegetativo** le ricerche condotte mediante le stimolazioni dell'ipotalamo e la distruzione di esso nel primo Novecento hanno provato l'esistenza di nuclei centrali del sistema autonomo che in seguito sono stati riconosciuti anche morfologicamente. Sono state poi descritte anche le vie discendenti nel tronco cerebrale e nel midollo spinale. Nell'uomo i centri che controllano le attività dei visceri sono stati identificati nella corteccia frontale premotoria, nel lobo dell'insula, nell'ippocampo e in altre aree del paleoencefalo. Lo studio al microscopio elettronico del sistema autonomo a livello dei visceri ha rivelato l'esistenza di sinapsi interneuroniche e di giunzioni citoneurali tra fibre nervose e fibre muscolari lisce.

Il Novecento è stato anche il secolo che ha visto nel 1905 la costituzione di un comitato permanente delle società di Anatomia inglese, tedesca, francese e americana e della società zoologica italiana allo scopo di organizzare scambi di informazioni, dibattiti e congressi scientifici.

Alla fine dell'Ottocento la pletora dei nomi anatomici – 50.000 circa – con un eccesso di sinonimi e conseguente confusione interpretativa ha spinto molte società di anatomia ad operare una revisione della nomenclatura e questo ha portato ad un primo elenco di 6000 nomi approvati dalla Società Tedesca di Anatomia nell'anno 1895. Nel 1935 fu istituito un nuovo comitato internazionale che nel 1950 è diventato l'International Anatomical Nomenclature Committee che ha pubblicato un nuovo elenco in latino nel 1955; in seguito questo elenco fu riveduto e aggiornato nella sua terza edizione del 1966. Contemporaneamente le sottocommissioni hanno elaborato le nomenclature specializzate di Embriologia e Istologia.

E' ora venuto il momento di chiedersi quali potrebbero essere gli sviluppi futuri degli studi anatomici. L'indirizzo che ha dominato negli ultimi decenni del Novecento è stato quello delle ricerche incentrate sulle strutture submicroscopiche e sulla biologia molecolare che ancora nell'anno 2000 era in piena e veloce espansione. Si tratta di due campi di studi che evolvono in parallelo sul doppio binario del confronto continuo e reciproco delle morfologie più minute finora rivelate dalla potenza d'ingrandimento del microscopio elettronico e della caratterizzazione biochimica dei singoli componenti cellulari cui l'istochimica offre sempre nuovi metodi specifici per la rivelazione delle moltissime attività enzimatiche.

Un indirizzo che sembra affacciarsi nel tentativo di dominare l'ordine delle grandezze submicroscopiche e molecolari che ormai rappresentano il campo più avanzato della ricerca anatomica è quello dell'utilizzo del linguaggio degli elaboratori elettronici. Va comunque sottolineato che non c'è settore dell'anatomia la cui conoscenza possa definirsi definitivamente compiuta e ciò è tanto più vero per il sistema nervoso centrale e periferico dove la fisiologia ha compiuto passi da gigante e attende dalle ricerche anatomiche quei riscontri sostanziali che consentiranno di offrire alla clinica le certezze anatomofunzionali di cui ha sempre bisogno.

Neurogenesi

Gli studi di neurogenesi pur essendosi particolarmente sviluppati a partire dai primi anni sessanta del Novecento hanno avuto i loro prodromi ancora nei primi decenni del secolo allorché P. Weiss, pubblicando nel 1926 uno studio sulle relazioni tra coordinazione nervosa centrale e periferica, iniziò un iter che lo portò nel 1950 dopo molte ricerche a proporre il principio della "risonanza" secondo il quale gli organi periferici (placche motrici dei muscoli dell'animale ospite e dei muscoli innestati da un donatore di specie diversa) risponderebbero in maniera selettiva solo a determinati impulsi nervosi, rimanendo insensibili a tutti gli altri. Era in altre parole il principio della specificità dell'impulso nervoso. Nel 1929 K.S. Laschley, che aveva studiato il comportamento di ratti prima e dopo aver praticato estese lesioni corticali, concluse che gli errori comportamentali post-esperimento dipendevano non da una particolare sede della lesione procurata dallo sperimentatore ma dalla sua estensione e che perciò la capacità integrativa del sistema nervoso è una facoltà globale dipendente dalle interrelazioni dinamiche tra parti diverse del cervello e non da differente organizzazione strutturale dei diversi settori dell'encefalo. Questa fu una teoria che ebbe grande influsso nel secondo e terzo decennio del secolo nell'impostare la ricerca sulle funzioni cerebrali da parte degli psicologi. Ambedue le teorie, quella di Weiss e quella di Laschley non ressero alla prova del tempo e in particolare non ressero di fronte ai risultati degli studi intrapresi da altri a partire dagli anni quaranta. Tuttavia ad ambedue questi ricercatori va attribuito il merito di aver impresso una svolta in favore dei fattori genetici funzionali contrariamente all'indirizzo condiviso tra 1906 e 1911 da Ramon y Cajal e C.S. Sherrington in favore del ruolo

dominante dei fattori ereditari nella genesi del sistema nervoso e dei circuiti neuronali tra popolazioni cellulari centrali e tra queste e gli organi periferici.

Gli esperimenti di elettrofisiologia condotti da C.A.G. Wiersma nel 1931 portarono a confutare la teoria della risonanza di Weiss ma alla fine degli anni trenta l'idea della specificità dell'impulso nervoso era ancora ampiamente condivisa dai neurologi. Fu a questo punto che R.W. Sperry intraprese una serie di ricerche destinate a fornire una visione completamente nuova dell'intero problema neurogenetico. Nel 1941 Sperry scambiò i nervi dei muscoli flessori e estensori della zampa del ratto e il ratto non riuscì mai, nemmeno dopo lungo allenamento, a correggere la funzione muscolare invertita. Anche analoghi esperimenti in campo sensitivo dettero lo stesso risultato (anno 1959). Sulla base di questo Sperry enunciò il principio della specificità neuronale che – modificando sostanzialmente quanto proposto da Weiss - proponeva una rigida e immutabile specificità strutturale e biochimica dei circuiti nervosi.

Partendo dalle vecchie nozioni di embriologia riguardanti lo sviluppo del tubo neurale le cui cellule in proliferazione danno origine a tutti i neuroni e alla nevroglia del sistema nervoso ma avvalendosi dei progressi ottenibili con le nuove metodiche e strumentazioni, V. Hamburger e R. Levi-Montalcini fino dal 1949 e Sidman nel 1970 hanno studiato in modo particolareggiato i movimenti cellulari pendolari di avvicinamento e allontanamento dal canale centrale riscontrando che il primo si verifica nella fase che precede la divisione mitotica e il secondo si verifica a divisione avvenuta e che tale attività periodica si ripete fino a raggiungimento della quota prefissata di neuroni definitivi. Quando le cellule entrano nella seconda fase embrionale, quella differenziatrice, assumono le caratteristiche dei neuroni immaturi che hanno forma allungata, affinità per i sali d'argento usati per le impregnazioni argentiche e mostrano due prolungamenti filiformi sui poli opposti della cellula, dei quali uno si riassorbirà, l'altro invece sarà il futuro neurite che continuerà a crescere in lunghezza, perforerà la membrana limitante esterna del tubo neurale dirigendosi verso i tessuti periferici fino a congiungersi con i mioblasti che daranno la muscolatura assiale e degli arti o con i gangli simpatici paravertebrali in via di sviluppo. Il seguito cronologico è dato da un ingrossamento dei segmenti brachiale e lombare del tubo neurale, deputati all'innervazione motoria dell'arto superiore e dell'arto inferiore mentre a livello cervicale lo spessore del tubo neurale diminuisce vistosamente di volume per un processo massivo di degenerazione cellulare (Levi-Montalcini 1963). Quando l'assone subisce l'allungamento per raggiungere la meta prefissata anche il corpo cellulare comincia a muoversi verso l'alto. Questa migrazione può essere breve e lineare se la sede definitiva da raggiungere è vicina (neuroni del midollo spinale) o lunga e tortuosa (neuroni del cervelletto e dell'encefalo). R. Levi-Montalcini ha descritto questi movimenti cellulari come *“migrazioni in linee singole simili ad eserciti di formiche o di termiti oppure con spostamenti di massa come quelli degli uccelli migratori o delle locuste”* e con le sue ricerche è arrivata a distinguere che il primo tipo di migrazione si effettua a livello del midollo spinale e di quello allungato o bulbo, mentre il movimento di massa è caratteristico della corteccia cerebellare e degli altri centri cerebrali superiori. Queste migrazioni mettono in evidenza che il sistema nervoso dell'embrione a questo punto è rappresentato da popolazioni cellulari altamente differenziate *“ognuna delle quali obbedisce a leggi diverse dal momento in cui abbandona la matrice comune dello strato ependimale”*. Sempre nel 1963 R. Levi-Montalcini ha studiato anche la degenerazione e la morte di popolazioni cellulari del sistema nervoso embrionale osservate nell'asse cerebro-spinale e nei gangli spinali a lato della colonna vertebrale e ha scoperto che in ambedue i casi la morte colpisce cellule in una fase ancora iniziale di differenziazione, quando cioè la cellula è ancora in rapido accrescimento e non ha stabilito connessioni con la meta definitiva. La ricercatrice ha supposto che si tratti di un fenomeno riguardante un nucleo

visceromotore sostituito nella filogenesi e nell'ontogenesi da un nucleo di uguale funzione localizzato in altra area, forse in quella toracica, insomma di un processo analogo a quello classicamente noto della regressione del pronefro che viene sostituito dal mesonefro che a sua volta viene sostituito dal metanefro o rene definitivo.

Nel 1943 R.W. Sperry aveva pensato che tra tutti i sistemi sensoriali il più favorevole per impostare una ricerca sui comportamenti e sui circuiti neuronali fosse quello visivo e questo è rimasto a distanza di tanti anni l'oggetto prediletto per questo tipo di ricerche non solo per la scuola di Sperry ma anche di altri ricercatori. Già prima di Sperry, R. Matthey in Francia nel 1927 e L. S. Stone negli Stati Uniti nel 1930 e nel 1953 avevano dimostrato che la sezione dei nervi ottici in Urodeli adulti è seguita dalla rigenerazione dei nervi stessi e dal ripristino della funzione visiva. Poche settimane dopo l'intervento gli animali avevano già riacquisito la capacità di inseguire e catturare moscerini dando dimostrazione di avere una vista distinta e non annebbiata. Le ricerche condotte nel 1956 da un allievo di Sperry, N. Miner, dimostrarono che lo scambio di nervi in animali in sviluppo iniziale non dà luogo a una nuova specificazione del nervo: il nervo trasmette ai centri informazioni che stanno in accordo con la sua topografia originale e non con le caratteristiche strutturali e biochimiche del tessuto sul quale è stato trasposto. Gli stessi esperimenti eseguiti in animale adulto hanno dimostrato che la reazione motoria dell'animale a stimoli esterni portati sull'area trasposta interessava l'area di provenienza il che dimostrava che i nervi erano stati specificati dal tessuto con il quale erano venuti a contatto per la prima volta. Dato che l'unica differenza tra queste due serie di esperimenti era data dall'età degli animali, nel primo caso animali in via di sviluppo e nel secondo animali adulti, Miner e Sperry prospettarono l'ipotesi (anno 1956) che i tessuti (cute, muscoli e altri) hanno la capacità di specificare le fibre nervose quando si stabilisce il contatto con i tessuti stessi per la prima volta. Specificazione che rimarrebbe poi immutata per il resto della vita.

Un passo avanti nell'approccio a questo tipo di problematiche fu quello iniziato nel 1960 da R.M. Gaze con l'utilizzo della tecnica elettrofisiologica nella esplorazione del sistema sensoriale ottico retino-tettale. La registrazione dell'attività elettrica dalle superfici di registrazione dei potenziali d'azione sui due tetti ottici in risposta a stimoli luminosi confermarono i risultati e le conclusioni già fatti da Sperry, dimostrando che le fibre nervose rigenerano secondo un ordine prefissato e che le fibre rigenerate terminano in contatto con le stesse cellule con le quale erano in sinapsi prima della sezione del nervo ottico non definendo però la quantità di connessioni ristabilite.

La determinazione del periodo di specificazione delle fibre retiniche nel processo ontogenetico fu un problema affrontato da M. Jacobson nel 1968 con la tecnica elettrofisiologica su bulbi oculari di Anfibi sottoposti a manovre di rotazione. I risultati dimostrarono che quando la rotazione veniva effettuata in stadi embrionali precoci le connessioni nervose tra tetto ottico e retina avvenivano come di norma. In stadi più avanzati si verificava una inversione parziale dell'innervazione fino ad arrivare a inversioni totali negli ultimi stadi embrionali. Jacobson ne dedusse che la specificazione neuronale avverrebbe gradualmente nel corso dello sviluppo embrionale e in maniera indipendente nella retina e nei tetti ottici. Un secondo problema, non ancora risolto negli ultimi decenni del secolo, fu quello di stabilire se le fibre in via di rigenerazione si riconnettono, dopo sezione del nervo ottico, con le cellule nervose nel tetto ottico in base alla loro posizione dentro il nervo o meno. La situazione attuale di questo settore degli studi di neurogenesi appariva alla fine degli anni settanta piuttosto confusa perché ci si trovava in presenza di risultati sperimentali contraddittori. Del resto già nel 1972 Gaze e Keating avevano affermato che *“se ogni volta che constatiamo il formarsi di nuove connessioni tra fibre retiniche e cellule del tetto ottico finiamo per concludere che la*

specificità è stata modificata, è il termine stesso di specificità neuronale a perdere il suo significato.

Per uscire da questo *impasse* nuove leve di ricercatori hanno deciso, ancora nel corso degli anni settanta, di spostare il campo delle loro ricerche su quello di forme più semplici come sono gli Invertebrati proponendosi, in antitesi con i ricercatori delle epoche precedenti, di analizzare la base strutturale e ultrastrutturale dei circuiti in esame. Valga per tutti la geometria estremamente complessa delle connessioni neuronali e regioni sinaptiche del sistema ottico di piccoli Insetti studiata con metodi ideati per il microscopio elettronico da G.A. Horridge nel 1972 e da P.M. Scheltone coll. nel 1971.

Un capitolo particolare degli studi di neurogenesi è stato quello del ruolo dei fattori esogeni che su di essa possono interferire e, se interferiscono, in quale misura lo fanno. Le ricerche volte in questa direzione sono state condotte prevalentemente con trapianti omo- ed eteroplastici in larve di Anfibi e hanno messo in luce una intensa flessibilità del sistema nervoso larvale che dimostrò negli studi di Harrison (1907-1935) di sapersi adattare alle nuove situazioni tanto da accelerare la velocità di crescita delle fibre per permettere la crescita di abbozzi di arti a rapido accrescimento presi da donatori di piccola mole. Questa fu dunque la prima dimostrazione che il sistema nervoso nelle fasi iniziali del suo sviluppo è sensibilissimo alle influenze esercitate dai tessuti periferici rappresentati in questo caso dall'area innestata. Gli stessi esperimenti dimostrarono che i tessuti periferici sono interscambiabili. Nel periodo 1934-1956 lo stesso V. Hamburger aveva perfezionato la sperimentazione sostituendo le larve di Anfibi con embrioni di pollo e concentrando l'attenzione sui neuroni motori e sensitivi che innervano l'abbozzo di un arto anziché su quelli deputati a ricevere stimoli sensoriali ottici, olfattori, acustico-vestibolari. Furono effettuati esperimenti di amputazione e di innesto in uno stadio iniziale della differenziazione neuronale motoria dei segmenti sensoriale e sensitiva dei gangli spinali. Dopo amputazione dell'abbozzo dell'arto l'attività mitotica dei gangli spinali diminuì fortemente e i processi di differenziazione nel segmento ventrolaterale dei gangli si arrestò accompagnandosi a degenerazione e morte di migliaia di cellule nervose immature in detta sede (V. Hamburger e R. Levi-Montalcini 1949). Tutti questi effetti negativi non poterono essere imputati alla lesione delle fibre nervose che all'epoca dell'amputazione non erano ancora fuoriuscite dai gangli sensitivi, ma solo a carenza di fattori che di norma vengono prodotti dai tessuti periferici per stimolare la differenziazione dei neuroni e la loro proliferazione. Questi effetti furono detti allora "*effetti di campo*".

E.D. Bueker, neuroembriologo americano, saggiò nel 1948 l'effetto di tessuti a rapido accrescimento - come quelli del sarcoma 180 - sullo sviluppo dei neuroni motori e sensitivi dell'embrione di pollo e a questo scopo impiantò frammenti del tumore nella parete addominale di embrioni al terzo giorno di incubazione. Il trapianto tumorale fu subito invaso da fibre sensitive prodotte dai gangli spinali più vicini. Con la stessa tecnica e usando frammenti di due sarcomi diversi, il 180 e il 37, V. Hamburger e R. Levi-Montalcini evidenziarono uno straordinario aumento dei gangli simpatici sia vicini al tumore che lontani e addirittura una invasione del tessuto tumorale da matasse di fibre nervose. L'ipotesi fu che i due tumori liberassero nei tessuti vicini un fattore stimolante dei gangli sensitivi e simpatici e a questo fattore ipotizzato fu dato il nome di *Nerve Growth Factor* o, più brevemente, di NGF. La identificazione chimica di questa proteina fu fatta da S. Cohen nel 1958. Questo autore e la Levi-Montalcini scoprirono l'esistenza di questa proteina anche nel veleno di alcuni serpenti e nelle ghiandole salivari del maschio adulto di tipo con concentrazioni pari rispettivamente a 1000 e a 10-000 volte superiori a quelle dei tessuti neoplastici. Una volta isolato si sono ottenuti con iniezioni giornaliere di questo fattore in topi neonati uno straordinario aumento dei gangli simpatici, fino a dodici volte il volume dei topi controllo. Si è potuto constatare che l'effetto consiste nell'aumento

numerico e volumetrico dei singoli neuroni adrenergici mentre negli animali adulti l'aumento che pure si verifica è molto minore. Dal punto di vista metabolico l'azione del NGF è chiaramente anabolizzante nel senso che fa aumentare la sintesi di RNA e di lipidi e l'utilizzo dei carboidrati come constatato da P.U. Angeletti e coll nel 1968. Quattro anni dopo, studi ultrastrutturali hanno dimostrato nella cellule bersaglio il formarsi di notevole quantità di neurofilamenti e neurotubuli che convergono in fasci verso il polo da cui emergerà l'assone o neurite. Un binario parallelo di questo interessante filone di ricerca è stato costituito negli anni sessanta dagli esperimenti con un antisiero anti-NGF su una idea promossa da Cohen. La degenerazione massiva di cellule nervose immature provocata dagli anticorpi anti-NGF nel corso di questi esperimenti ha riproposto il problema ancora insoluto del significato e della causa della morte di intere popolazioni nervose nelle fasi precoci della neurogenesi: la carenza di un fattore essenziale per la crescita rimaneva alla fine degli anni settanta ancora una ipotesi che attendeva il confronto con la futura conoscenza del meccanismo genetico che determina la morte di così cospicue popolazioni di cellule in condizioni del tutto fisiologiche della neurogenesi.

Anatomia e Fisiologia della Cellula

Data l'importanza e la quantità notevole di nuove conoscenze che il XX secolo ha apportato nel campo della cellula e data l'impossibilità di disgiungere in trattazioni separate la trattazione di questo tema è sembrato opportuno collocarlo al punto di passaggio tra la storia dell'anatomia ed embriologia e quella della fisiologia generale e speciale. Inoltre, considerata la vicinanza di molti dati appena riportati nel capitolo della biochimica e riguardanti specificamente la vita della cellula, appare più pratico rievocarli ora, inserendoli, ove necessario, nella cornice di un discorso anatomo-fisiologico complessivo.

Dalla metà dell'Ottocento alla fine del Novecento la classica definizione di Virchow secondo la quale *“la cellula è l'unità fondamentale dell'organismo vivente”* è stata continuamente confermata dallo studio di una miriade di preparati di laboratorio e da tutte le più recenti scoperte ottenute grazie all'impiego del microscopio elettronico e di tecniche di manipolazione molecolare e di biochimica di tipo più avanzato.

La prima importante scoperta del secolo XX è stata quella che riconosce la distinzione tra cellule procariote nelle quali manca un nucleo ben distinto e visibile e cellule eucariote provviste di nucleo con membrana nucleare. Le prime sono tipiche dei batteri, le seconde di tutte le altre forme di vita mono- e pluricellulari. Gli organismi monocellulari eucariotici sono i protozoi e il lievito, tra quelli pluricellulari si distinguono essere vegetali e animali.

Oggi disponiamo di microscopi che possiedono un potere di risoluzione tale da rendere visibili strutture di grandezza inferiore ad 1 nanometro (<1nm) cioè inferiori ad un milionesimo di millimetro. Si tenga presente che la maggior parte delle cellule ha un diametro che sta tra i 7 e i 50 millesimi di millimetro (micrometri). L'anatomia descrittiva del mondo cellulare nota fin verso la metà del Novecento era quella consentita dal microscopio ottico il cui massimo potere di risoluzione arriva a 0,2 micrometri. Con questo ausilio ottico si era arrivati a distinguere le seguenti formazioni: la membrana citoplasmatica o plasmalemma, il nucleo ed il nucleolo dentro alla membrana nucleare e la maggior parte delle formazioni presenti nel citoplasma: apparato del Golgi, mitocondri, lisosomi, centrosoma e altro ancora. Per tutta la prima metà del secolo XX ci si dovette limitare allo studio degli aspetti morfologici e strutturali, alla organizzazione delle singole strutture nello spazio endocellulare, all'affinità delle varie componenti cellulari per i coloranti acidi e basici. Si iniziò anche a frammentare le cellule ottenendone estratti

purificati che venivano sottoposti ad analisi chimica. Si impiegò anche molto tempo nello studio della riproduzione cellulare (mitosi) e rimasero celebri e classiche le ricerche condotte sulla *Drosophila Melanogaster*, un moscerino della famiglia dei Ditteri, utilissimo negli studi di genetica per la sua rapidità di riproduzione e per le dimensioni ben visibili dei suoi cromosomi. Dal 1950 in poi il perfezionamento delle tecniche di frazionamento subcellulare hanno consentito di isolare dagli estratti strutture e organuli endocellulari che sono stati sottoposti all'analisi biochimica e del microscopio elettronico. Si è giunti così ad individuare un rapporto preciso tra strutture morfologiche e funzioni biochimiche e l'esistenza di microambienti con caratteristiche fisicochimiche tali da permettere il funzionamento di tutte le diverse componenti della cellula. Tra gli ultimi strumenti usati per questi studi va citato anche l'impiego di anticorpi che permettono di localizzare dentro alla cellula viva la posizione di una singola proteina. Più importanti fra tutte si sono rivelate le tecniche di biologia molecolare che consentono di manipolare la composizione di DNA, RNA e delle proteine.

Fatta eccezione delle piastrine e dei globuli rossi che sono frammenti di cellule nucleate, tutte le cellule eucariotiche possiedono una componente base binaria, il nucleo che contiene DNA, RNA e proteine specifiche, e il citoplasma privo di DNA ma ricco di organuli delimitati da membrana propria. In genere le variazioni volumetriche del nucleo sono scarse rispetto a quelle frequenti e sostanziali del citoplasma.

La **membrana cellulare o plasmalemma** è composta di fosfolipidi e proteine e anche questa composizione rappresenta una fondamentale conquista degli studi del Novecento. I quali hanno dimostrato che i fosfolipidi, aventi un polo idrofilo e un polo opposto idrofobo, formano uno strato di 6-7 nanometri, impenetrabile alle molecole idrofiliche; questo strato è liquido alla temperatura corporea e ciò consente il movimento delle molecole fosfolipidiche in rapporto alla percentuale di colesterolo che di solito in seno alla membrana è abbondante. Le molecole proteiche del plasmalemma sono molto più voluminose di quelle fosfolipidiche e sporgono sulle due superfici interna ed esterna della membrana. Queste sporgenze sono in genere idrofobiche e ricche di cariche elettriche che permettono il legame delle proteine periferiche di membrana, cioè di quelle proteine idrofiliche adese alla superficie esterna del plasmalemma. Dunque la struttura complessiva della membrana cellulare assomiglia ad un *sandwich* che ha lo strato idrofobico volto verso l'interno; questa struttura molecolare è asimmetrica e altrettanto asimmetrica è la distribuzione degli ioni a cavallo della membrana che sul lato interno ha carica elettrica negativa.

La struttura della membrana cellulare è tale da consentire il trasferimento dei segnali in tempi estremamente brevi (un millesimo di secondo) anche a notevole distanza dallo stimolo. In molti casi si tratta di variazioni del potenziale elettrico di membrana che funzionano sia da segnali di attivazione sia da forza motrice per i flussi ionici, proprietà queste essenziali per le cellule nervose e muscolari. In altri casi si tratta di segnali attivati da stimoli chimici esterni che prevedono l'attivazione del segnale nel legame tra mediatore chimico esterno (ormoni, neurotrasmettitori) e recettore che è rappresentato da una proteina transmembrana. Le conseguenze di questo legame chimico possono essere un flusso ionico che passa attraverso un canale che si apre per un tempuscolo dentro la membrana oppure l'attivazione di enzimi diversi che funzionano da secondi messaggeri. Nella membrana operano anche le cosiddette "pompe ioniche", le ATP-asi e altri trasportatori che trasferiscono ioni o protoni contro il loro gradiente elettrochimico. Queste e altre attività coordinate dalle proteine della membrana cellulare sono state studiate e illustrate da molti ricercatori nell'ultimo decennio del secolo: R.J. Miller nel 1992, M.J. Berridge nel 1993, T. Pozzan e coll. nel 1994 e nello stesso anno anche C. Stevens e P. Ascher. Infine è stato scoperto che nella membrana cellulare esistono varie famiglie

specializzate di proteine-recettori che si legano specificamente solo con determinate sostanze chimiche dell'ambiente extracellulare e che sanno scegliere la posizione più favorevole possibile onde consentire l'attività di legame.

Certi tipi di cellule, in obbedienza alle loro finalità funzionali, necessitano di speciali legami intercellulari che le tengono strettamente legate tra loro come, ad es. nel caso in cui devono formare la parete di un vaso o di un canale. Queste giunzioni sono chiamate “sistemi di giunzione” e possono essere di tipo comunicante (*gap Junctions*) quando consentono il passaggio tra cellula e cellula di ioni e di secondi messaggeri, oppure di tipo occludente (*tight junctions*) di composizione esclusivamente proteica e sono queste ultime che permettono la perfetta tenuta delle pareti dei vasi, ma possono ancora essere del tipo “giunzioni aderenti” o desmosomi che consentono una continuità funzionale tra cellule adiacenti.

Il nucleo della cellula eucariota è delimitato verso il citoplasma da due membrane, la prima coperta da ribosomi in diretto contatto con il reticolo citoplasmatico, la seconda fatta di proteine in parte specifiche e strettamente adesa alla lamina nucleare fatta a sua volta di proteine filamentose. La proprietà caratteristica della membrana nucleare è la sua “transitabilità” per le macromolecole che attraversano i pori aventi un diametro di 100 nanometri. Dentro al poro è stato osservato un complesso diaframma centrale la cui apertura è stata stimata intorno ai 9 nanometri: essa consente il passaggio passivo di molecole di basso peso molecolare. Il transito invece delle macromolecole di RNA, sintetizzate dentro il nucleo e destinate al citoplasma, avviene in forma attiva grazie all'ATP. Il DNA rimane sempre dentro il nucleo tranne che in caso di mitosi. Queste conoscenze sono state tutte ottenute grazie all'impiego degli ultimi modelli evoluti di microscopio elettronico negli anni ottanta e novanta del secolo.

Il DNA, la molecola fondamentale della vita, contiene sotto forma di “triplette” tutte le informazioni genetiche necessarie. E' ormai risaputo da alcuni decenni che ogni specie vivente possiede un numero fisso delle molecole giganti avvinte a doppia elica nel formare il DNA e che quel numero corrisponde al numero dei cromosomi. Nell'uomo il numero di queste molecole è 46 e il loro costante spessore è di 2 nanometri mentre la loro lunghezza va da 1,7 a 8,7 cm. Solo una parte relativamente piccola del DNA è rappresentata dalle sequenze geniche, altre parti invece contengono le sequenze che servono a iniziare l'attività di replicazione, a fare da centromeri e telomeri durante la mitosi, e molte altre sequenze ancora appaiono fino ad oggi prive di una funzione specifica.

Il ripiegamento su sé stessi dei filamenti di DNA dà luogo alla formazione della cromatina organizzata in due maniere diverse, compatta e più superficiale ed è l'eterocromatina, lassa e più interna ed è l'encromatina. Questa contiene i geni trascritti che formano l'RNA. L'eterocromatina intrappola invece i geni repressi. Dentro il nucleo c'è anche il nucleolo, formazione particolarmente ricca di RNA; il nucleolo è la sede di formazione e assemblaggio dei ribosomi che a loro volta producono le proteine.

Le attività del nucleo sono due, la duplicazione o raddoppio del DNA in preparazione della mitosi e la trascrizione, cioè il trasferimento dell'informazione genetica da DNA a RNA. Inoltre nel nucleo avviene anche il processo di maturazione dell'RNA e quello di regolazione dell'espressione genica ad opera di proteine specifiche secondo specifici programmi.

Il succo nucleare, cioè la sostanza liquida in cui sono immerse le sequenze di DNA e RNA comunica ampiamente attraverso i pori con il succo del citoplasma detto *citosol*.

Il volume del citosol rispetto a quello della cellula è molto vario, oscilla dal 100% dei globuli rossi al 40% delle cellule più altamente differenziate. Nel citosol è immerso il

citoscheletro formato dalla polimerizzazione delle sostanze contenute nel citosol, che è la sede di elaborazione dei segnali di ogni natura e provenienza e delle relative risposte come segnali di crescita, di differenziamento, di modifiche del sistema di trascrizione endonucleare, di movimento e contrazione, di secrezione, di metabolismo anaerobico del glucosio e di molte altre funzioni ancora. Esiste nel citosol una grande quantità di enzimi perfettamente regolati per catalizzare quelle reazioni chimiche che sono necessarie per mantenere l'equilibrio flessibile della fisiologia cellulare. La reazione chimica fortemente dinamica che domina su tutte le altre del citosol e che ne condiziona la regolazione è quella della fosforilazione delle proteine. Un'alta percentuale delle proteine presenti nel citosol viene fosforilata e poi defosforilata in siti diversi. Anche se la fosforilazione svolge un ruolo fondamentale nella vita della cellula, oggi, grazie alle ultime scoperte degli anni ottanta e novanta del XX secolo, sappiamo che altrettanto importanti sono quelli rappresentati dall'attivazione e successiva disattivazione del guanosintrifosfato (GTP) e dallo ione Ca^{2+} che attiva gli enzimi Ca^{2+} -dipendenti.

Il citosol non presenta sempre una composizione omogenea perché, in determinati momenti, può presentare microterritori caratterizzati da una concentrazione di ioni Ca^{2+} superiore rispetto a quella delle zone circostanti, ed è questo che ha indotto a definire il citosol un “*mezzo eccitabile*” (Berridge nel 1993; Pozzan e coll. nel 1944).

Nel citosol esistono anche cumuli di ribosomi (poliribosomi) che hanno la funzione di sintetizzare le proteine destinate sia al citosol stesso che al nucleo, ai mitocondri e, nelle cellule del mondo vegetale, ai cloroplasti.

Il citoscheletro è fatto di strutture filamentose la cui forma e disposizione dipendono dalla specializzazione della cellula e dal suo momento funzionale. Per questa ragione il citoscheletro può essere suddiviso in tre parti,: citoscheletro contrattile, microtubuli e filamenti intermedi. La capacità di contrarsi, tipica delle cellule del tessuto muscolare scheletrico, liscio e cardiaco, non è esclusiva delle cellule di questi tessuti, essendo presente anche nelle cellule che non sono muscolari. Il processo della contrazione dipende dalle proteine filamentose actina e miosina, i cui filamenti rispettivamente sottili e spessi, slittano uno sull'altro nel dare il fenomeno della contrazione. L'energia per lo slittamento è fornita dall'ATP liberato dalla miosina. A sua volta la liberazione dell'ATP è indotta dall'aumento di Ca^{2+} nel citosol. La contrazione è indotta più rapidamente nella muscolatura scheletrica e cardiaca e più lentamente in quella liscia.

I microtubuli sono tubuli di circa 25 nanometri di diametro e lunghi anche 25.000 nanometri. Sono dati da proteine globulari dette “*tubuline*” che hanno filamenti legati tra loro longitudinalmente intorno al lume del tubulo. Si irradiano di solito da un sito perinucleare, hanno una estremità elettropositiva e l'altra elettronegativa. Sono relativamente rigidi e plastici nello stesso tempo. Si polimerizzano e depolimerizzano in continuazione. Servono da rotaie per il trasporto di organuli che vanno verso traguardi chimici precisi grazie all'ATP fornito dalle ATP-asi.

Il ruolo dei microtubuli è quello di assicurare motilità alla cellula e ciò dipende da certe proteine che sono loro associate, come una ATP-asi detta “*dineina*” la cui attivazione fa slittare il microtubulo. Questo è il fenomeno che determina i salti degli spermatozoi e il movimento simultaneo delle ciglia.

I filamenti intermedi sono costituiti da proteine di quattro tipi diversi, tutte filamentose e resistenti. Il filamento intermedio più noto è la “*cheratina*”, elemento caratteristico delle cellule epiteliali che si accumula negli strati più superficiali dell'epidermide, delle unghie e dei capelli, dove le cellule diventano lamine protettive molto dure e resistenti.

I vari componenti del citoscheletro non funzionano in modo indipendente bensì coordinato e, nell'insieme, mentre l'actina ha un suo ruolo dinamico i filamenti intermedi svolgono quello meccanico.

Tra gli organuli del citoplasma massima importanza rivestono i mitocondri e – per quanto riguarda il mondo vegetale – i cloroplasti, parzialmente indipendenti dall'attività cellulare, ambedue muniti di doppia membrana e di un corredo di DNA, RNA e altre specifiche proteine. Oggi si ipotizza (Meldolesi 1995) come probabile che i mitocondri – organuli semiautonomi di tutte le cellule – e i cloroplasti – esclusivi delle cellule vegetali e responsabili della fotosintesi – hanno avuto una origine simbiotica in un evento avvenuto un miliardo e mezzo di anni fa: in origine essi sarebbero stati batteri che ad certo momento sono entrati nel citoplasma delle cellule eucariotiche regalando a queste il loro ricambio aerobico che a quel tempo esse non avevano. Le cellule si sarebbero appropriate di gran parte del corredo genetico mitocondriale trasferendolo nel nucleo. I pochi geni rimasti nei mitocondri attuali continuano ad avere una loro funzione indispensabile per la fisiologia cellulare.

A differenza dei cloroplasti di cui qui non trattiamo i mitocondri hanno la membrana interna molto più estesa di quella esterna per cui essa si ripiega formando le caratteristiche creste o pieghe. Come per il cloroplasto, il funzionamento del mitocondrio è basato sui gradienti di idrogenioni ma, contrariamente al cloroplasto, non può sfruttare i quanti di luce solare, impiega per la propria fisiologia le sostanze chimiche che gli arrivano dal citoplasma. Anche nel mitocondrio come nel cloroplasto esiste una catena che consente un trasferimento multiplo di elettroni. Infatti gli elettroni sottratti alle sostanze provenienti dal citoplasma ad opera di appositi enzimi vengono trasferiti ad altri enzimi che sono presenti sulla membrana interna. Si forma così una caduta in quattro salti di energia libera fino a raggiungere l'ossigeno al quale gli idrogenioni si legano formando acqua. Questa perdita di energia libera serve ad espellere idrogenioni dal mitocondrio creando così – come nel cloroplasto – un gradiente elettrochimico tra membrana interna e citosol, ciò che è consentito dalla forte permeabilità della membrana esterna. Per la perdita di idrogenioni la membrana interna diventa elettronegativa (- 160 mV) per il forte gradiente elettrochimico che così si è formato. Questo favorisce il rientro degli idrogenioni rendendo disponibile energia per generare ATP. Il mitocondrio è una delle macchine naturali più efficienti ed economiche perché solo una minima quantità di energia liberata dalla ossidazione dei substrati va dispersa sotto forma di calore. Il contenuto elevato di ATP della cellula è dovuto alla sua sintesi effettuata dai mitocondri tramite la ATP-sintetasi. I perossisomi sono organuli nei quali si svolgono reazioni ossidative del tipo di quelle mitocondriali ma – a differenza dei mitocondri – essi sono privi di DNA e di RNA e hanno una membrana unica.

Il reticolo endoplasmatico e l'apparato di Golgi già ben descritti nei decenni di passaggio tra XIX e XX secolo hanno rivelato la loro vera natura e la loro funzione solo a partire dagli anni cinquanta e sessanta del Novecento.

Il reticolo endoplasmatico è formato da un ampio sistema di membrane fatte di cisterne e tubuli contigui. Le cisterne sono granulose perché coperte da complessi di ribosomi, i tubuli invece sono lisci. Il reticolo è deputato alla sintesi delle proteine che viene effettuata con la interazione dell'RNA messaggero, del ribosoma e dell'RNA di trasporto che traduce il senso delle triplette nucleotidiche fornite dall'RNA messaggero. Le proteine neoformate possono trovare una diversa localizzazione secondo l'indirizzo scritto sulla sequenza degli aminoacidi. Altre funzioni svolte dal reticolo sono la sintesi dei fosfolipidi e l'accumulo di ioni Ca che, a riposo, assume valori molto elevati come scoperto da T. Pozzan e coll. nel 1994.

L'apparato del Golgi è dato da tre-cinque cisterne accostate le une alle altre e da una rete di tubuli disposti in triplice senso. Questo apparato modifica le proteine che provengono dal reticolo endoplasmatico coniugandole con glucidi (glucosilazione) o con fosfati (fosforilazione) o solfati (solfatazione). Sul funzionamento delle cisterne e dei tubuli hanno pubblicato i risultati delle loro ricerche nel 1993 T. Sollner e coll. e, nel 1994, T.F. Martin. Così oggi è chiarito il modo con il quale si verificano i mutamenti dello stato di condensazione di alcune proteine fino a formare i classici granuli di secrezione che poi vengono immagazzinati finché giunge il segnale di fusione sincrona della membrana di questi granuli con la membrana citoplasmatica. A questa fusione segue la fase di secrezione all'esterno della cellula del contenuto proteico dei granuli.

Fin qui le nuove conoscenze riguardanti le componenti del citoplasma cellulare che funzionano prevalentemente per la esocitosi, cioè per l'avvio e il mantenimento della secrezione della cellula. Ma all'esocitosi si accoppia nel tempo l'endocitosi, cioè la formazione di vescicole che si distaccano dalla faccia interna della membrana cellulare e ritornano nel citoplasma. Recentemente sono stati individuati tre diversi tipi di vescicole, alcune delle quali selezionano le proteine che devono essere tolte dalla membrana cellulare e altre che controllano la composizione dei recettori di membrana. Nel 1986 W.F. Boron ha descritto il cosiddetto "*lavaggio acido*" delle molecole di proteine riciclate dalla membrana cellulare, lavaggio che nell'ambiente acido dei tubuli e delle cisterne serve a staccare dai recettori proteici gli stimolatori rendendoli di nuovo utilizzabili. Un esempio particolare di endocitosi è quello delle vescicole postsinaptiche che si fondono in un milionesimo di secondo con la membrana plasmatica, fenomeno al quale segue un rapidissimo riciclaggio.

I lisosomi sono organuli acidi deputati alla degradazione endocellulare di proteine, zuccheri, grassi tramite l'azione di circa cinquanta enzimi. Quando la degradazione giunge allo stato di molecole di basso peso molecolare, queste oltrepassano le varie membrane in direzione dei siti della loro riutilizzazione. L'attività lisosomiale è in perfetto equilibrio con le attività sintetiche della cellula di cui vengono mantenuti la composizione chimica, l'equilibrio energetico e il rapporto volume/superficie. L'equilibrio cellulare è la somma di tutti gli equilibri dei microambienti della cellula (J.Meldolesi, 1996).

Differenziazione cellulare

Una parte della fisiologia della cellula che è stata molto studiata nel corso del XX secolo è stata la sua differenziazione e un risultato molto importante è stato il riconoscimento che nei Mammiferi lo stato di totipotenza è una proprietà riservata alle prime otto cellule per cui ognuna di esse può formare qualsiasi parte dell'embrione. In seguito tra le cellule si verificano interazioni che portano progressivamente alla differenziazione. Nel corso di queste interazioni le cellule producono sostanze dette dai fisiologi "*morfogeni*" la cui concentrazione diminuisce man mano che ci si allontana dal loro sito di produzione e si è visto che è questo che induce diversi effetti riassumibili nel concetto di differenziazione. Attraverso questo processo il destino delle cellule, una volta diversificate, si identifica con una discendenza specifica e diversa per morfologia e funzione. Tuttavia è stato anche riscontrato che fino a fasi avanzate dello sviluppo embrionale il trasferimento di una cellula può modificare il suo destino e questo dimostra che il regolamento delle interazioni tra cellule embrionali si effettua con modificazioni dei processi di espressione genica. Gli agenti responsabili del differenziamento sono specifici fattori di trascrizione con i quali vengono sintetizzati specifici RNA messaggero e quindi specifiche proteine. Nel corso dello sviluppo embrionale il ruolo e gli effetti di questi fattori di trascrizione cambiano. Nelle fasi più precoci non viene ancora indotto un fenotipo specifico, essendo l'effetto

delle sintesi proteiche soprattutto quello di creare un'alta capacità di differenziazione. La parte del ciclo operativo della cellula che si è conclusa con il differenziamento è definita con la sigla G zero ed è seguita dalla fase G uno nella quale la cellula comincia a essere influenzata dai fattori di crescita; questi sono polipeptidi ad azione soprattutto locale che provocano dentro la cellula una cascata di segnali, il primo dei quali è l'attivazione dei recettori specifici di membrana. Già prima della nascita la concentrazione nel plasma del feto dei fattori di crescita è piuttosto elevata ed è per questo motivo che le colture cellulari vengono fatte quasi sempre in presenza di siero fetale. Nella fase G uno la cellula si prepara a raddoppiare il proprio DNA in previsione della programmata mitosi o proliferazione cellulare. Segue la fase S che corrisponde alla sintesi del DNA ed è la fase più lunga di tutto il ciclo riproduttivo. La fase G2 rappresenta l'ultimo periodo preparatorio alla redistribuzione del proprio DNA in due cellule che si formano nel periodo della mitosi che è l'ultima fase del ciclo, la più breve di tutte. La totale durata del ciclo nelle cellule animali e vegetali varia a seconda della specie da 10 a 20 ore. Le cellule che non si dividono (muscolari e nervose) continuano la sintesi dell'RNA, di proteine e di membrana ma non duplicano più il loro DNA.

Gli studi della mitosi iniziatisi nel primo Novecento sul dittero Drosophila Melanogaster, particolarmente adatto ai fini pratici della ricerca, hanno subito una notevole evoluzione nel corso del secolo e costituiscono oggi la base della genetica e quindi ad essi si farà ritorno nel capitolo dedicato appunto alla genetica. Ci limitiamo qui a ricordare che, tra i dati ottenuti dai ricercatori sulla proliferazione cellulare, spicca l'estesa e vivace attività dei microtubuli citoplasmatici e della polarizzazione che consente l'esercizio di trazioni così da posizionare i cromosomi all'equatore della cellula su un piano che permetta che le due metà – i cromatidi – prodotte dal raddoppio del DNA siano rispettivamente orientate verso uno dei due poli: formazione della cosiddetta placca metafisica. Nel 1993 S.E. Egan e R.A.W. Weinberg hanno scoperto che la regolazione della mitosi è data da proteine prodotte nella fase G due, che hanno un rapido *turnover* e che controllano specifiche proteinchinasi e quindi la fosforilazione di molti e importanti substrati. La complessità della mitosi sembra essere dovuta alla necessità di suddividere in modo corretto l'alto numero di cromosomi voluminosi che esistono nel patrimonio nucleare delle cellule (1944, J. Meldolesi).

GENETICA

La genetica è una scienza che nasce negli anni di passaggio tra XIX e XX secolo con la riscoperta delle leggi dell'abate Gregor Mendel. Molte conoscenze accumulate dopo le sue scoperte – ignorate dagli studiosi per 34 anni- finiscono per trovare, con la riscoperta, una nuova sistemazione scientifica. Si tratta di un processo evolutivo che conosce due fasi distinte. La prima fase, che va dal 1900 al 1911, è quella della diffusione delle scoperte mendeliane alle quali vengono riportati tutti i fenomeni inerenti l'eredità ed è un periodo che vede al lavoro essenzialmente botanici e biologi. Questa prima fase è stata anche definita “periodo della genetica formale” per il carattere simbolico dei fattori ereditari con cui si cerca di fissare le leggi dell'eredità senza legarli a una precisa struttura anatomico-funzionale. La seconda fase che va dal 1911 al 1922 è quella che si identifica con la formulazione della teoria cromosomica dell'eredità.

I botanici che negli ultimi anni dell'Ottocento e nei primi anni del Novecento riscoprirono le pubblicazioni di Mendel furono Hugo De Vries (1848-1935), Carl Correns (1864-1933) e Erich von Tschermak (1871-1962). Tutti affermarono di aver scoperto le leggi di Mendel e di averne condiviso i contenuti solo sulla base dei risultati delle ricerche da loro effettuate in precedenza. De Vries in particolare sviluppò una sua teoria sull'eredità basandosi su quella della palingenesi darwiniana per la quale i caratteri ereditari sono dati da elementi materiali che si trasmettono nel corso della divisione cellulare ma rifiutò la teoria della trasmissione alle cellule germinali di tutti i caratteri, compresi quelli acquisiti. De Vries teorizzò dunque una origine delle specie per “mutazioni” ossia per l'inserirsi improvviso di caratteri nuovi e spiegò l'ibridazione come una ricombinazione di caratteri ereditari. Seguendo il comportamento di molte varietà normali e anomale dei vegetali e controllando statisticamente i risultati delle sue ibridazioni de Vries elaborò la teoria della “disgiunzione degli ibridi” spiegando che i caratteri antagonisti di polline e ovuli si separano, cioè si disgiungono, semplicemente in base alle leggi della probabilità. La vicinanza alla concezione mendeliana è massima (1900).

Correns, che studiò l'origine dell'endosperma (il tessuto primitivo dell'embrione vegetale), giunse nel 1899, come de Vries, alla condivisione della concezione mendeliana sull'eredità dei caratteri. Anche William Bateson (1861-1926), che da diversi anni si interessava al problema dell'origine della varietà dei caratteri individuali e della loro trasmissione, trovò un grande aiuto nelle spiegazioni fornite da Mendel non essendo soddisfatto della teoria evolutiva che aveva accantonato i problemi inerenti alla variazione dei caratteri ereditari. Nel 1899 scriveva: “... è necessario sapere cosa accade quando una varietà viene incrociata con i parenti più prossimi. Se il risultato deve avere un valore scientifico è pressoché assolutamente necessario che la discendenza di tale incrocio sia esaminata statisticamente e...se i genitori differiscono in diversi caratteri rispetto ad ogni carattere separatamente.”

Sulla base dei propri esperimenti l'agronomo americano W.J.Spilmann scrisse nel 1902: “...forse un ibrido tende a produrre certi tipi definiti e probabilmente in proporzioni definite” e dettava queste tre regole: 1°- la prima generazione è uniforme e assomiglia ad uno dei genitori oppure è intermedia 2°- nella seconda generazione appaiono tutte le combinazioni possibili dei caratteri dei genitori 3°- il carattere che è più abbondante nella seconda generazione è il medesimo della prima.

Tutte queste espressioni di interesse per la trasmissione ereditaria dei caratteri rappresentano l'epoca del “nuovo mendelismo” che riprendeva e faceva propri i tre principi dell'abate boemo, e cioè il principio della *dominanza*, quello della *segregazione* e

quello della *segregazione indipendente*, che la biologia si apprestava a dimostrare nella loro applicabilità generale anche nel regno animale oltre che in quello vegetale.

La domanda prima e fondamentale che i biologi si posero era: “*le leggi di Mendel sono veramente universali?*”. La seconda domanda riguardava la spiegazione dell’eredità “continua” e i quesiti successivi strettamente collegati tra loro riguardavano la separazione e il mescolamento dei fattori ereditari, l’influsso della selezione sull’eredità mendeliana, i rapporti tra caratteri visibili e determinanti e quale fosse la struttura reale cui tali determinanti si legano.

Come si vede si trattava di problemi di una portata enorme che si rifacevano sì a concetti e teorie sostenute già alla fine dell’Ottocento ma anche postulavano metodi di ricerca del tutto nuovi e la creazione di procedimenti sperimentali diversi da quelli fino allora impiegati.

Il primo a ottenere la dimostrazione dei caratteri mendeliani nel regno animale fu Bateson nel 1901 sperimentando nei polli, subito seguito nell’anno successivo da Lucien Cuénot che studiò l’eredità dell’albinismo nei topi trovando ch’esso era recessivo. Nel 1902 ancora Bateson e Archibald E. Garrod dimostrarono che l’alcaptonuria poteva essere l’espressione di un carattere ereditario recessivo e nel 1905 W.C. Farabee dimostrò che la brachidattilia era un carattere ereditario dominante; infine nel 1909 fu la pubblicazione “Errori congeniti del metabolismo” dello stesso Garrod a far sì che l’ereditarietà mendeliana fosse universalmente riconosciuta sia per quanto riguardava il regno vegetale che quello animale.

Sebbene fosse certo che la maggior parte delle variabilità continue riscontrabili nel processo ereditario fossero consone agli schemi mendeliani, non tutti i caratteri degli organismi viventi dimostrarono di essere ereditati alla stessa maniera. Furono C. Correns e E. Baur a scoprire nel 1909 che esisteva anche una ereditarietà *non* mendeliana. Sia il primo che studiò l’eredità del carattere foglia pallida o variegata della *Mirabilis jalapa*, sia il secondo che studiò il carattere foglie a margine bianco del *Pelargonium zonale* si imbattono in tipi di eredità non mendeliana la cui caratteristica più rilevante era l’assenza di uniformità nella progenie della prima generazione e la segregazione irregolare dei caratteri esaminati. Per spiegare questa “anomalia” Baur ipotizzò che si trattasse di trasmissione di plastidi difettivi attraverso il citoplasma. Correns invece ipotizzò che altre particelle del citoplasma, oltre ai plastidi, fossero responsabili dell’eredità non-mendeliana della variegazione. Progressi avvenuti negli anni settanta portarono poi alla comprensione di questo tipo particolare di eredità.

Del resto nel periodo 1900-1915 l’attenzione dei ricercatori continuò ad essere attratta dal problema della variazione continua cioè da quello dei caratteri ereditari che non mostravano una netta separazione legata al loro antagonismo continuando a ripresentarsi in forma ibrida (*blending heredity*). In questo campo sorsero diatribe tra gli studiosi mendeliani e quelli di biometria. La differenza basilare tra gli uni e gli altri era il modo di evolvere dell’eredità: i biometrici darwiniani come il caposcuola Galton sostenevano che l’eredità procede per piccole variazioni continue che si accumulano nel passare delle generazioni. Invece i mendeliani sostenevano una evoluzione per salti. I primi sostenevano che i caratteri di un individuo dipendono da quelli di tutti i suoi antenati, i mendeliani invece da quelli presenti nella coppia dei genitori; inoltre i biometrici come Weldon e Pearson si limitavano a descrivere i fenomeni ereditari visibili mentre i mendeliani li riferivano a “fattori gametici” ipotizzati ma non ancora individuati e dimostrati.

Fu il matematico Udny Yule (1871-1951) a cercare di dimostrare ancora nel 1902 che una incompatibilità tra le due teorie non aveva ragione di essere perché i risultati predetti con le leggi di Mendel erano esattamente gli stessi calcolabili rispettando la teoria biometrica. Le

due ipotesi insomma erano per Yule *”perfettamente consistenti l’una con l’altra e possono far parte benissimo di una teoria omogenea dell’eredità”*.

Se in Inghilterra, nelle cui università non abbondavano certo i fondi per la ricerca, ci si era attardati su queste polemiche, negli USA, dove la biologia era in forte sviluppo sotto la protezione e l’incoraggiamento delle pubbliche istituzioni e degli interessi privati di società e di singoli cittadini, sorsero molte stazioni sperimentali per l’agricoltura e per l’allevamento e la composizione delle differenze teoriche tra mendeliani e biometrici fu rapida ed efficace.

Nel 1902 il botanico danese Wilhelm Johannsen aveva pubblicato i primi risultati ottenuti su ceppi selezionati di fagioli con l’intento di controllare la validità della teoria di Galton sulla regressione filiale. Dimostrò che se si isola un solo tipo si riesce a creare una *“linea pura”* che non fluttuerà affatto cosicché la selezione non può avere alcun effetto su di essa. Era la dimostrazione che la legge di Galton sulla regressione filiale era errata. Nella teoria delle linee pure Johannsen operò nettamente la distinzione fra fluttuazioni nei caratteri visibili e *“differenze di tipo”* indicando le prime come *“fenotipi”* e le seconde come *“genotipi”*. In una linea pura tutti gli individui hanno differenti fenotipi ma il medesimo genotipo e le variazioni individuali tra i genitori non hanno alcun effetto sulla discendenza. I genotipi diversi si possono dunque trovare solo nelle linee delle popolazioni ibride. Gli studi successivi (1907-1918) condotti sui vegetali dal biometrico americano Raymond Pearl e quelli condotti sui microrganismi da Herbert Spencer Jennings e quelli di altri ricercatori confermarono la teoria di Johannsen e la genetica del primo Novecento fece subito proprie le teorie di Johannsen come altrettante pietre fondamentali.

La distinzione fra fenotipo e genotipo recò una notevole chiarificazione in alcuni concetti-base del mendelismo. La confusione terminologica e la presunta incompatibilità tra mendelismo e biometria era dovuta al fatto che quest’ultima era una teoria del genotipo e non della distribuzione dei fenotipi nelle popolazioni. Era insomma la conseguenza dell’applicazione in due campi diversi delle due teorie. Un’analoga confusione c’era anche nel come era inteso e usato il vocabolo *“carattere”* da parte dei genetisti e dei biometrici. I primi per carattere intendevano la componente elementare del genotipo, gli altri invece per carattere intendevano un aspetto visibile che differenzia due specie o due varietà. Per evitare interpretazioni difformi sulla natura dei caratteri e sulla loro trasmissione Johannsen propose di isolare il vocabolo *“gene”* e di tralasciare l’aggettivo *“determinante”*. Sulla base di questa proposta Bateson nel 1906 propose di chiamare *“genetica”* la scienza della ereditarietà. Altri neologismi introdotti da Bateson furono F1 ed F2 per contrassegnare la prima e la seconda generazione e il termine *“allelomorfi”* – diventato poi *“alleli”* – per designare i cosiddetti *“caratteri unitari”* esistenti in coppie alternative: il gemello formato da gameti che recano alleli simili è detto omozigote mentre quello che deriva dall’unione di gameti con alleli differenti è detto eterozigote.

A questo punto, sistemata la questione degli strumenti teorici e linguistici e stabilita chiaramente la distinzione tra gene e carattere, i cultori della genetica si trovarono di fronte a nuovi e fondamentali quesiti: qual’è il rapporto che corre tra gene e fenotipi? Come avviene il passaggio da geni a caratteri? Qual’è esattamente la natura dei geni? E’ essa una realtà materiale come quella dei caratteri sì da poter essere spiegata come un fenomeno chimico ben individuabile?

Di fronte all’impossibilità di dare una risposta precisa e sicura perché basata su dimostrazioni per il momento ancora impossibili, gli scienziati del primo decennio del secolo si divisero. Johannsen e anche l’americano Edward East preferirono attenersi ad una interpretazione del gene come unità di calcolo, come una entità concettuale pura e semplice rifiutando di riconoscerne una realtà materiale soggetta alle leggi della chimica. Viceversa

Bateson e i suoi collaboratori attenendosi strettamente alla teoria mendeliana della trasmissione dei caratteri attraverso i cromosomi e continuando nelle loro analisi quantitative volte a controllare se il terzo principio di Mendel, quello della segregazione indipendente dei fattori, fosse corrispondente alla realtà, accettarono la teoria che localizzava sui cromosomi la sede dei geni, come del resto indicava la nuova teoria cellulare che si era andata sviluppando alla fine del secolo precedente grazie alle scoperte di embriologia.

La scoperta dell'esistenza di alleli multipli e della possibilità di mutazioni favorì la definizione teorica di “gene” in base all'osservazione di tre suoi effetti: espressione di un carattere o di un gruppo di caratteri, cambiamento in una forma allelica a causa di una mutazione, ricombinazione con geni confinanti a causa del *crossing-over*. La maggior parte dei genetisti fu d'accordo nel riconoscere l'esistenza di queste tre caratteristiche in una struttura molecolare definita “gene”. Si riconobbe già dagli anni Venti che questa molecola poteva andare incontro a cambiamenti chimici improvvisi ed essere separata dalle altre molecole vicine ad opera di uno scambio. Nel 1928 J. Belling suggerì che un cromosoma nella profase precoce prima della meiosi poteva avere la forma di una collana di perle, ognuna delle quali corrispondeva a un gene.

Nel 1905 Bateson e Reginald Punnett scoprirono che l'associazione fra due alleli dominanti (AB) e due recessivi (ab) non è completa ma si presenta sette volte più spesso della loro associazione incrociata. Per spiegare questo fatto parlarono di un accoppiamento parziale (*linkage*) fra i fattori e così venne spiegato perché alcuni geni vengono ereditati preferenzialmente insieme ad altri. Tuttavia la spiegazione del *linkage* verrà solo in seguito, quando si renderà possibile lo studio citologico dei cromosomi.

Nel campo molto controverso dei concetti di dominanza e recessività nella prima decade del Novecento le discussioni furono molte, soprattutto fra le concezioni opposte di Bateson da un lato e di Charles Hurst dall'altro. Quest'ultimo nel 1906 cambiò radicalmente il paradigma mendeliano sostenendo che i veri caratteri unitari erano semplicemente due, la presenza e l'assenza, e che i geni non dirigono la costruzione della forma ma si limitano a modificarla. Quando Bateson e Punnett abbandonarono la teoria della attrazione-repulsione dei fattori da loro stessi proposta per spiegare i rapporti gametici non chiaramente mendeliani, a favore della teoria della reduplicazione del materiale ereditario che meglio spiegava i rapporti gametici anomali, abbracciarono anch'essi la teoria della presenza-assenza che in quella della reduplicazione aveva trovato una base citologica plausibile. Da quel momento in poi e per molto tempo, anche dopo l'avvento della teoria cromosomica dell'eredità, il concetto della presenza-assenza continuò ad essere vivo e condiviso dalla maggior parte dei genetisti.

Ed eccoci giunti al 1920 circa, epoca in cui fervevano le ricerche atte a convalidare la teoria cromosomica in forma chiara e ben definita. Era stato proprio F. Sutton nell'anno 1920 che, avendo osservato come i cromosomi somatici della cavalletta si presentavano in coppie nettamente diverse suggerì l'ipotesi che l'appaiamento dei cromosomi paterni e materni e la loro successiva separazione nella formazione del gamete fossero la base materiale dell'ereditarietà mendeliana. Qualche tempo prima C.E. McClung aveva formulato l'ipotesi che il sesso maschile fosse determinato da quel cromosoma in più che oggi è noto come cromosoma X. Era, come oggi sappiamo, un errore che nel 1906 la Stevens, che lavorava sui cromosomi di un coleottero, aveva subito corretto riconoscendo nel maschio la coppia difforme dei cromosomi XY e nella femmina la coppia uniforme dei cromosomi XX, tuttavia la ipotesi di McClung ebbe il valore di aver indicato la strada giusta per conseguire proficui progressi in genetica. Finiva così il periodo della cosiddetta genetica classica e aveva inizio quello della genetica moderna.

L'aver individuato un legame diretto tra la trasmissione del sesso e uno specifico cromosoma fu il motivo che indusse l'americano T.H.Morgan e i suoi allievi a studiare il patrimonio cromosomico del moscerino della frutta *Drosophila melanogaster* in rapporto al colore degli occhi, bianco o rosso. Scoprirono che il colore bianco era recessivo e che la trasmissione del colore degli occhi corrispondeva alla trasmissione del sesso e le ricerche fatte con femmine ibride li portarono a dedurre che il gene responsabile del colore degli occhi doveva essere trasportato dal cromosoma X.

Già nel 1914 S.C. Tice aveva osservato che una mutazione della forma degli occhi era comparsa in un maschio di *Drosophila* essendo stata trasmessa da una femmina sana in modo dominante. Nel laboratorio di Morgan alla Columbia University di New York furono poi scoperti in breve giro di tempo altri caratteri mutanti la cui trasmissione era legata ai cromosomi sessuali. Il lavoro di Morgan e dei suoi collaboratori sull'eredità dei colori dell'occhio illustrò in modo magistrale tutti gli aspetti degli alleli multipli. Di questo argomento erano già stati precursori nel 1904 i lavori di Cuénot sui tre colori del mantello dei topi e i lavori di Emerson del 1911 che descrisse uno dei primi esempi di alleli multipli trovati nelle piante del granturco (*Zea mays*). Ancora nel 1909 Weinberg aveva esteso il teorema di Hardy-Weinberg al caso di tre alleli riscontrati in una popolazione e sarà nel 1925 F. Bernstein a riconoscere con esattezza che i quattro gruppi sanguigni dell'uomo (O,A,B, e AB) sono il risultato di alleli multipli: essi corrispondono infatti alla presenza o all'assenza di due antigeni, A e B, negli eritrociti.

Gli esperimenti d'incrocio eseguiti dalla scuola di Morgan dimostrarono che talora i geni associati si separavano dando luogo ad associazioni ricombinate e la spiegazione venne dall'ipotesi che i geni avessero lungo il cromosoma una disposizione lineare

Utilizzando la ricombinazione sporadica di due geni legati al sesso A. Sturtevant, uno degli allievi di Morgan, riuscì a costruire la prima mappa genica di un cromosoma. Partendo dall'osservazione di Morgan che i cromosomi materno e paterno al momento della divisione cellulare si scambiavano dei segmenti all'altezza di un chiasma, Sturtevant sfruttò la frequenza di questi scambi (*crossing-over*) per misurare la distanza tra i geni. La sua mappa pubblicata nel 1913 mostrava una disposizione lineare dei geni sul cromosoma X. Questo per i successivi studi di genetica fu un passo veramente fondamentale.

Un altro importante progresso fu fatto negli anni venti con la scoperta che i geni mostravano di avere la capacità di mutare forma e che la nuova forma poteva essere trasmessa in eredità. Già il gruppo di Morgan aveva osservato nella *Drosophila* che il carattere "occhi bianchi" poteva mutarsi in "occhi rosso eosina", ma fu H.Muller nel 1927 a dimostrare che i geni della forma degli occhi della *Drosophila* possono mutare se vengono colpiti dai raggi X. Gli occhi della *Drosophila* hanno una forma particolare detta "a barra" (*bar*) dovuta a un gene dominante legato al sesso. Questo gene si comporta in un modo strano perché mostra una forte inclinazione alle mutazioni (occhio rotondo e anche occhio *ultrabar*). Muller e Sturtevant trovarono che queste frequenti mutazioni erano dovute a un *crossing-over* in una regione cromosomica molto vicina alla sede del gene *bar*. Nel 1936 Muller e Bridges scoprirono che l'occhio *bar* era legato a un piccolissimo segmento duplicato del cromosoma e che l'*ultrabar* dipendeva da una triplicazione del medesimo piccolo segmento. Già nel 1925 Sturtevant aveva trovato che gli eterozigoti per *ultrabar* e occhio rotondo avevano occhi più piccoli dei *bar* omozigoti. Quando poi si trovò che il carattere *bar* era dovuto alla duplicazione di un piccolo segmento, la scoperta di Sturtevant fu retroattivamente interpretata con il fatto che tre copie di un piccolo tratto cromosomico in uno dei due cromosomi e una sola presenza nell'altro cromosoma davano origine a un fenotipo diverso da quello che si aveva quando la duplicazione era presente in ambedue i cromosomi. Dall'insieme di queste scoperte fu evidente che il comportamento

di un gene dipende dalla sua posizione nel cromosoma perché viene influenzato dalle regioni cromosomiche adiacenti.

Muller sapeva già che le mutazioni per la loro maggior parte sono recessive, cioè vengono alla luce solo quando entrambi i cromosomi hanno gli alleli mutati e ciò rendeva difficile lo studio di una nuova mutazione per la possibilità che essa fosse mascherata dall'allele normale dominante. Muller risolse questo problema ideando uno schema di accoppiamento che fu noto con la sigla CIB di cui per amore di brevità omettiamo la descrizione dettagliata. Questo schema di accoppiamento consentì di misurare gli effetti mutageni delle radiazioni ionizzanti e fu uno schema destinato ad essere utilizzato nella "*Drosophila*" per tutto il resto del Novecento nelle indagini volte a scoprire mutazioni legate alle cause più varie. Muller scoprì anche che i raggi X causavano non solo un numero di mutazioni più alto del solito ma anche veri e propri cambiamenti strutturali dei cromosomi. Questa scoperta fu facilitata dalle proporzioni gigantesche dei cromosomi delle ghiandole salivari della *Drosophila*. I cambiamenti consistevano in scambi di segmenti tra cromosomi non omologhi (traslocazione reciproca) ed in inversioni di un segmento entro lo stesso cromosoma. Anche a questo riguardo si trattò di evidenziare un aumento notevole di frequenza di fenomeni che già avvengono, ma raramente, in modo spontaneo.

L'insieme di queste osservazioni consentì a Muller, T. Painter e T. Dobzhansky di confermare uno dei postulati fondamentali della teoria cromosomica che è il seguente: "la sequenza dei geni in una mappa di associazione creata in base alla frequenze di ricombinazione, corrisponde alla sequenza fisica delle parti che compongono il corrispondente cromosoma" (Whitehouse).

I cambiamenti strutturali dei cromosomi sono stati visti dipendere anche dall'azione di molte sostanze chimiche, prima fra tutte l'azotoiprite (Auerbach e Robson, 1947). Viceversa la frequenza dei cambiamenti è stata vista diminuire in assenza di ossigeno (J. Thoday, 1947)

Nel 1961 Kihlman riordinò questa materia classificando gli agenti chimici e fisici capaci di indurre cambiamenti strutturali dei cromosomi in tre categorie: 1°- agenti ad azione indipendente dalla concentrazione di ossigeno 2°- agenti ad azione molto ridotta in assenza di ossigeno ma insensibili agli inibitori della respirazione (esempio = raggi X) 3°- agenti ad azione molto ridotta in assenza di ossigeno e in presenza di inibitori della respirazione (esempio = idrazide maleica). Comunque, pur con diversità d'azione, tutti gli agenti che producono cambiamenti strutturali dei cromosomi hanno una gamma di effetti piuttosto monotona. Una caratteristica di questi riordinamenti strutturali è che questi si verificano sempre con rotture in due punti e il ricongiungimento avviene con un assetto nuovo senza che venga ricostituita la disposizione originaria.

Per spiegare questi fenomeni i genetisti degli anni quaranta e cinquanta hanno emesso diverse ipotesi e fra queste si è consolidata quella dello "scambio" di due segmenti cromosomici secondaria a una serie di eventi che si verificano sul cromosoma in due punti diversi. Lo scambio sarebbe insomma simile ad un *crossing-over* con la differenza che avviene tra punti non corrispondenti di cromosomi omologhi. Le ricerche su questa materia pubblicate nel 1959 da S.H. Revell hanno avvalorato questa teoria.

Un'altra serie di lavori sulla *Drosophila* eseguiti nel corso degli anni trenta dimostrò che c'era una mancanza di corrispondenza tra i geni fino allora definiti e riconosciuti come unità ereditarie in base a funzione, mutazione e ricombinazione. Uno di questi studi fatto da E.B. Lewis e pubblicato nel 1941 interessava due caratteri mutanti dell'occhio chiamati *star* che determinavano una riduzione dei diametri dell'occhio, gli davano una superficie più ruvida del normale e sembravano allelici. Risultò che i due alleli *star* non occupavano

posizioni identiche nel cromosoma e che tra loro poteva intervenire occasionalmente il *crossing-over* perché tutta la progenie con occhi normali aveva un genotipo ricombinante per i geni posti sull'altro versante della regione considerata.

In conclusione le scoperte di Sturtevant sull'effetto di posizione dei geni nel cromosoma, quelle di Lewis sulla ricombinazione intragenica e quelle di Mc Clintock (1944) sulla complementarietà dei mutanti allelici indussero i genetisti degli anni quaranta a ritenere che l'idea di Belling, che aveva paragonato la posizione dei geni nei cromosomi alle perle di una collana, era da ritenersi una semplificazione eccessiva e superata.

Se nel 1902 Garrod, che stava studiando l'alcaptonuria di cui aveva intuito l'ereditarietà, aveva avanzato l'ipotesi che la malattia fosse dovuta alla mancanza di un fermento (come allora si chiamavano gli enzimi), fu però Bateson che per primo riuscì con le sue ricerche di biochimica a riconoscere e descrivere dettagliatamente alcuni schemi di eredità mendeliana dovuti a geni che determinavano la presenza e l'attività specifica di certi enzimi. Questo campo della ricerca rimase fermo e infruttuoso fino al 1941, anno in cui G. Beadle e E. Tatum, che lavoravano col fungo *Neurospora crassa* inventarono uno schema per identificare certe mutazioni a carico di geni che intervenivano in specifiche reazioni chimiche. Lo schema permise di ricostruire un intero percorso metabolico. Da quel momento la biochimica arrivò a conoscere dettagliatamente natura e attività di molti enzimi implicati nell'attività genica. Beadle concluse che i geni controllano struttura e attività chimica degli enzimi proteici e formulò l'ipotesi "*un gene-un enzima*" destinata a servire per decenni alle ricerche incentrate sulla funzione genetica.

La scoperta di Beadle e Tatum sui mutanti biochimici in *Neurospora* condusse ad altre importanti scoperte. C.H.Gray e Tatum nel 1944, usando i raggi X, ottennero mutanti nel batterio *Escherichia coli* e due anni dopo J. Lederberg e E. Tatum dimostrarono la ricombinazione genetica nel medesimo batterio.

Fu su queste basi che si sviluppò la genetica dei batteri e dei batteriofagi e mosse i primi passi la nuova scienza della biologia molecolare. Si scoprì che i batteri, anche se non in possesso di cromosomi normali, hanno geni capaci di controllare precise reazioni chimiche così come fanno gli organismi che possiedono i cromosomi, ad es. i funghi. Si scoprì anche che i mutanti batterici, come quelli dei funghi, potevano spesso essere privi di un enzima specifico.

Nel periodo compreso tra il 1920 e il 1948 furono condotte in molti laboratori di biochimica intense ricerche sulla natura del materiale genetico. L'Ottocento aveva consegnato a questo riguardo la scoperta di Miescher della famosa "*nucleina*" da lui isolata dai nuclei dei leucociti e si sapeva già dalla fine del XIX secolo che questa nucleina era costituita da proteine e da una strana sostanza detta "acido nucleico" molto ricca di fosforo e contenente due zuccheri, il desossiribosio e il ribosio. Come abbiamo già ricordato a questo proposito nel capitolo della storia della medicina dell'Ottocento, negli anni a cavallo tra quel secolo e il Novecento furono anche identificate le due purine (adenosina e guanina) e le due pirimidine (timidina e citosina) che fanno parte della struttura dell'acido nucleico. Anche l'uracile, che sostituisce la timidina nell'RNA, fu scoperto nei primi anni del Novecento. Dapprima si pensava che gli acidi nucleici (DNA e RNA) avessero una struttura troppo semplice per ipotizzare un loro coinvolgimento nella trasmissione dei caratteri ereditari e fino quasi alla metà degli anni quaranta si continuò a pensare che il materiale genetico potesse essere costituito esclusivamente da proteine. Nel 1944 O. Avery e collaboratori, riprendendo e perfezionando una ricerca di Griffith del 1928, dimostrarono che il DNA è capace di trasformare un ceppo di *Pneumococcus* in un altro. Era la prima dimostrazione che uno dei due acidi nucleici era veramente fatto di materiale genetico. Altri esperimenti di trasformazioni confermarono la scoperta di Avery

e così ma l'ultima barriera alzata dallo scetticismo di alcuni ambienti scientifici crollò del tutto quando nel 1952 Hershey e Chase dimostrarono che, nell'infettare l'*E. Coli*, il batteriofago T2 inietta nel citoplasma della cellula batterica solo il suo acido nucleico, il quale provvede a far replicare e maturare le nuove particelle virali e a sintetizzare gli involucri proteici. In tutt'altro settore di ricerca, quello del raffronto del peso molecolare del DNA dei nuclei delle cellule somatiche e di quello degli spermatozoi dei bovini, i due Vendrely (R. e C.) fornirono nel 1948 una ulteriore prova che gli acidi nucleici sono fatti del medesimo materiale dei geni.

Basandosi sui dati biochimici che riguardano la composizione del DNA così come risultava dalle ultime ricerche di Chargaff e collaboratori (1950) e precisamente sui rapporti equimolari tra adenina e timidina e tra guanina e citosina da loro descritti, nonché sulla scoperta di Wilkins e Franklin della struttura elicoidale in doppia catena rilevata con la cristallografia a raggi X, Watson e Crick pubblicarono nel 1953 il loro famoso modello della struttura a elica del DNA. Il modello di Watson e Crick ebbe un immediato influsso sui genetisti i quali si resero subito conto di come il processo di replicazione, che inizia con la separazione delle due catene elicoidali, formasse sullo stampo delle precedenti altre due catene a loro complementari, e come ognuna delle due nuove molecole a doppia elica identiche fra loro poteva essere trasmessa a una cellula figlia nel momento della divisione cellulare. Watson e Crick avevano suggerito che le due catene del DNA si separassero e che lungo ciascuna di esse se ne sintetizzasse una nuova complementare. Questo processo di replicazione fu definito da M. Delbrück e G. Stent nel 1957 "semiconservativo" perché le due molecole figlie sarebbero fatte ciascuna da una catena vecchia e da una nuova appena sintetizzata. In un secondo momento Watson e Crick proposero l'idea della separazione delle due catene analoga all'apertura di una chiusura lampo iniziando l'apertura ad una delle due estremità della molecola di DNA. La operazione di sintesi avverrebbe nella stessa direzione fisica procedendo dal punto iniziale della separazione. La prima prova che si trattava veramente di una replicazione di tipo "semiconservativo" venne da J. Taylor e coll. nel 1957 che trattarono gli apici radicali di *Vicia faba* con una soluzione di timidina triziata sfruttando il fatto che la timidina viene incorporata specificamente dal DNA e che il trizio emette particelle beta che impressionano le lastre fotografiche. Questi esperimenti dimostrarono come il cromosoma si replica in modo semiconservativo e che l'asse del cromosoma consiste in un'unica molecola gigante di DNA. Lo scetticismo espresso a questo riguardo da molti citologi fu vinto da ulteriori convincenti dimostrazioni e infine nel 1958 M. Meselson e F. Stahl dettero la prova della duplicazione semiconservativa con le divisioni cellulari dell'*Escherichia coli* dapprima in terreno il cui azoto era dato dal suo isotopo pesante ^{15}N e poi in terreno con azoto leggero ^{14}N . Il risultato fu che dopo una duplicazione in terreno con azoto leggero il DNA aveva una densità intermedia e che dopo due duplicazioni metà era di tipo intermedio e l'altra metà di tipo leggero. Questo era quanto ci si aspettava da una duplicazione di tipo semiconservativo come ipotizzato da Watson e Crick.

Nel 1960 A. Kornberg e collaboratori isolarono dall'*Escherichia coli* un enzima che denominarono "DNA-polimerasi" capace di catalizzare la sintesi di molecole di DNA *in vitro*. Di fronte a un modello consistente in una catena nucleotidica l'enzima DNA-polimerasi ne sintetizzava una complementare a quella. Pochi anni dopo si scoprì che l'enzima di Kornberg ha come specifica funzione quella di riparare eventuali danni presenti nella molecola del DNA e non è responsabile del processo di duplicazione (P. De Lucia e J. Cairns, 1969)

Nel 1963 J. Cairns dimostrò che il DNA dei batteri si duplica progressivamente da un capo all'altro della molecola che risulta avere forma di cerchio in quanto i due punti di inizio e fine della duplicazione sono contigui. Al punto di replicazione Craig notò l'esistenza di

una forcilla con nuove catene di nucleotidi sintetizzate in ognuno dei due rami della forcilla come è logico che avvenga in una duplicazione semiconservativa.

I primi a sostenere che la specificità del gene fosse dovuta alla sequenza dei nucleotidi nella molecola del DNA furono indipendentemente nel 1952 E. Chargaff e A. Dounce. Quest'ultimo associò questa ipotesi sulla specificità del gene a quella di "un gene-un enzima" elaborata da Garrod nel 1909. L'ipotesi che la sequenza dei nucleotidi del DNA specificasse la sequenza degli aminoacidi che formano le proteine (Bateson 1909 e Bearle 1945) corrispondeva a una ipotesi sul codice genetico. Essa sollevava a sua volta due importanti quesiti: 1°- la costituzione del gene è lineare e possiede siti di possibili mutazioni ? 2°- le mutazioni possono alterare la sequenza degli aminoacidi ?

Alla prima domanda diedero risposta gli esperimenti di G. Pontecorvo e collaboratori, di J. Roper e R. Pritchard condotti sull'*Aspergillus nidulans* e di S. Benzer sul batteriofago T4 di *Escherichia coli* (1955): il gene, sia in un fungo che in un virus batterico, contiene al suo interno molti siti mutazionali disposti in posizione lineare e tra essi possono verificarsi ricombinazioni.

Al secondo quesito la risposta venne anzitutto dalle ricerche di V. Ingram e J. Hunt i quali, studiando l'emoglobina nell'anemia falciforme (malattia genetica ereditata da un fattore mendeliano recessivo), trovarono che differiva dall'emoglobina normale per la sostituzione dell'acido glutammico con l'aminoacido valina in una particolare posizione di una delle due catene polipeptidiche di ogni semimolecola. Questa scoperta dimostrava che una mutazione altera la sequenza aminoacidica di un polipeptide e sta in perfetto accordo con l'ipotesi del codice genetico.

Ulteriori dimostrazioni si sono avute con i paragoni tra geni e polipeptidi. Il primo studio di questo tipo fu fatto nel 1964 da A. Sarabhai e collaboratori che paragonarono la proteina dell'involucro della testa del batteriofago T4 dell'*Escherichia coli* con una serie di mutanti del gene responsabile di quella proteina. Facendo digerire dalla tripsina la proteina della capsula della testa di un virus normale si ottengono 8 peptidi, sottoponendo allo stesso trattamento le proteine dei mutanti si ottengono da 0 a 7 peptidi. Una volta disposti i mutanti in sequenza in base ai peptidi ottenuti Sarabhai e colleghi si accorsero che questa sequenza coincideva con quella delle posizioni dei mutanti in seno al gene. Ne trassero la conclusione che la posizione di una anomalia del DNA corrisponde alla posizione di un'anomalia nella proteina e quindi anche in questo caso ci fu una conferma dell'ipotesi del codice genetico.

Contemporaneamente a questa ricerca, C. Yanofsky e altri paragonarono la struttura di uno dei polipeptidi che formano l'enzima triptofano-sintetasi in un ceppo normale di *Escherichia coli* con quella di mutanti per il gene che esprime l'enzima. Trovarono che ogni mutante differiva dal normale per uno solo dei 267 aminoacidi che costituiscono questo polipeptide e che la posizione dell'aminoacido sostituito coincideva con quella del sito di mutazione del gene.

La conclusione tratta da questi esperimenti fu che la sequenza di nucleotidi nel DNA del gene caratterizza la sequenza degli aminoacidi del polipeptide prodotto.

Per comprendere il modo con il quale la sequenza nucleotidica del DNA viene tradotta nella sequenza aminoacidica della proteina fu giocoforza cercare di conoscere la natura molecolare del processo di mutazione tenendo per base di partenza un'ipotesi di Watson e Crick che ancora nel 1953 avevano pensato che la mutazione potesse avvenire a causa della inserzione di un nucleotide sbagliato al momento della duplicazione del DNA.

L'ipotesi fu confermata come corrispondente alla realtà nel 1956, quando si scoprì che il 5-bromouracile (5BU) causava mutazioni. Benzer e Freese scoprirono allora che diverse altre sostanze mutagene davano spesso mutazioni in pochi siti mentre altre – come la proflavina – davano mutazioni in molti siti. Le ricerche sulla capacità delle sostanze mutagene come il 5BU di indurre i mutanti a ritornare normali e sulla loro capacità, come la proflavina, di aggiungere e sottrarre nucleotidi al DNA portarono Crick e altri non solo a confermare queste caratteristiche funzionali delle sostanze mutagene ma anche a ipotizzare – per deduzione dalle ricerche sul numero dei mutanti – che tre nucleotidi corrispondono ad un aminoacido e che l'unità del codice genetico (codone) è fatta di tre nucleotidi e non di un multiplo di tre.

Per convalidare però questa ipotesi era indispensabile arrivare a conoscere come l'informazione passa alla proteina. Dalla fine degli anni cinquanta prese dunque l'avvio una estesa rete di ricerche di biologia molecolare e rapidamente si aprì un periodo (gli anni sessanta) punteggiato da scoperte tutte strettamente collegate tra loro come i gradini di una scala. Allo scopo di semplificare nel modo più succinto possibile entro un ordine cronologico la densa materia di ricerche sul codice genetico con i relativi risultati di quel periodo, si può far riferimento alla sequenza che viene qui presentata:

1956 A. Giere et al.: studi sul virus del mosaico del tabacco – la sequenza nucleotidica del DNA può essere trasferita all'RNA prima di essere tradotta in una sequenza di aminoacidi

1957 J. Brachet et al.: l'RNA è implicato nella sintesi delle proteine

1958 R. Roberts propone il termine “*ribosoma*” per indicare una particella di 20 nm di diametro composta di RNA e proteine

1961 B. Hall et al. spiegano la composizione e il funzionamento dell'RNA messaggero

1961 – 1967 M. Nirenberg et al. decifrano il codice genetico e confermano che tre nucleotidi adiacenti codificano un aminoacido e che nella lettura dell'RNA messaggero vengono considerate triplette consecutive che non si sovrappongono.

1962 F. Chapeville dimostra che è l'RNA *transfer* a determinare l'esatta posizione in cui un aminoacido deve essere inserito nella molecola di una proteina confermando l'ipotesi di Crick della “molecola adattatrice”.

1964 J. August et al. dimostrano per primi l'esistenza della RNA-polimerasi

1964 – 1966 K. Marcker et al., J. Adams et al. scoprono che l'inizio di un polipeptide è operato da uno speciale RNA *transfer* al quale è attaccato l'aminoacido metionina

1965 R. Holley et al. identificano l'intera sequenza nucleotidica di un RNA *transfer* per l'alanina nel lievito *Saccharomyces cerevisiae*.

1965. M. Weigert et al. scoprono che la tripletta dell'RNA mutante ambra (UAG) codifica la fine del polipeptide

1968 E. Scolnick et al. isolano due fattori che presiedono alla separazione del polipeptide dal ribosoma

1970 D. Baltimore et al. isolano una Dna-polimerasi RNA-dipendente da virus che inducono tumori nei Vertebrati. La scoperta conferma che DNA e RNA possono contenere l'informazione per specificare un polipeptide.

Quindici anni dopo che era stata proposta l'ipotesi secondo la quale la sequenza dei nucleotidi specificava la sequenza degli aminoacidi, le linee principali del meccanismo apparivano chiarite: un certo filamento del DNA del gene viene trascritto per dare un filamento complementare di RNA che si chiama RNA messaggero. Questo poi è tradotto in

una sequenza di aminoacidi grazie ad alcune molecole specifiche di RNA di trasferimento o *transfer* che fanno da trait d'union tra l'RNA messaggero e il polipeptide in formazione. Il messaggio dell'RNA viene letto sotto forma di triplette di nucleotidi consecutive e che non si sovrappongono a partire da un punto iniziale. Ogni tripletta reagisce con una tripletta complementare di una molecola di RNA *transfer* alla quale è legato uno specifico aminoacido. Quest'ultima operazione avviene dentro i ribosomi che sono fatti da diverse molecole di RNA e di proteine.

Due argomenti che occuparono molti studiosi tra 1950 e 1975 furono il controllo dell'attività genica e la ricombinazione genetica.

Nel 1956 fu scoperto che i geni che sono responsabili delle tappe successive di un processo biochimico risultavano, nei batteri, strettamente associati tra loro (M. Demerec e P. Hartman) e nel 1959 venne data la prova che questi geni associati funzionavano come una unità di regolazione genica mantenendo un rapporto costante tra i diversi enzimi coinvolti nel processo biochimico.

Nel 1961 fu pubblicata la teoria dei genetisti francesi François Jacob e Jacques Monod secondo la quale il controllo dell'attività enzimatica nei batteri è esercitata durante la trascrizione da DNA a RNA messaggero grazie ad una speciale molecola capace di legarsi al DNA in un sito denominato dai due scienziati "operatore" per controllare e bloccare la sintesi di RNA messaggero al momento giusto. Al gruppo di geni interessati dall'azione di questa molecola-repressore i due ricercatori diedero il nome di "operone".

Tutti i geni da trascrivere sarebbero stati trascritti in una sola molecola di RNA messaggero e ciò avrebbe spiegato l'attività coordinata perché un solo operatore all'inizio della trascrizione sarebbe bastato per una intera molecola di RNA messaggero.

Nel 1966 fu isolato e purificato il repressore dell'operone da W. Gilbert e B. Müller-Hill che dimostrarono trattarsi di una molecola proteica capace di aderire direttamente all'operatore nel DNA. Confermata così per la prima volta la teoria di Jacob e Monod ne derivò grazie ad essa la distinzione tra due classi di geni, quelli "strutturali" che esprimono molecole di enzimi o componenti cellulari e quelli "regolatori" che regolano l'attività degli strutturali.

Nel 1967 M. Ptashne isolò un'altra molecola proteica con funzione repressiva capace di legarsi all'operatore nel DNA e questa scoperta fatta sull'*Escherichia coli* fu la seconda conferma della validità della teoria elaborata da Jacob e Monod. Ad essa seguì quella di Zubai e collaboratori nel 1971 sull'operone dell'arabinosio attivo che aggiunse l'individuazione di un secondo sito regolatore nel DNA che fu chiamato "promotore" perché è risultato essere il punto dove ha inizio la sintesi dell'RNA messaggero. Anche N. Gilles isolò nel 1967 un operone nel fungo *Neurospora crassa*.

L'insieme degli scambi tra cromosomi omologhi, uno di origine paterna e l'altro di origine materna, è stato chiamato ricombinazione genica. Quando la duplicazione del cromosoma avviene copiando un tratto del cromosoma paterno e il rimanente tratto da quello materno si verificherebbe la cosiddetta "scelta della copia" (teoria della *copy-choice*). E' stato invece dimostrato che la ricombinazione genica avviene preferenzialmente tra i filamenti o cromatidi che compongono il cromosoma paterno e i cromatidi di quello materno (essendo ogni cromosoma formato da due filamenti detti appunto cromatidi). Nel 1957 Taylor e collaboratori avevano scoperto che nella duplicazione si formano due subunità longitudinali cosicché ogni cromatidio risultava composto da una vecchia e da una nuova subunità. Si tratta dunque di un processo semiconservativo (teoria della "rottura-fusione"). Tra 1961 e 1965 furono eseguiti esperimenti di marcatura radioattiva onde decidere, in base ai risultati, quale delle due teorie, quella della *copy-choice* e quella della rottura-

fusione, corrispondesse nella realtà al processo di ricombinazione. Questi esperimenti dimostrarono che la ricombinazione è l'effetto di una rottura-fusione (M. Meselsen e J. Weigle 1961; Taylor 1965).

Nel 1978 Whitehouse a questo riguardo commentava così: “...la comprensione dei particolari di questo meccanismo rottura-fusione non è stata ancora possibile; studi a livello molecolare da cui si attende la chiave del meccanismo di ricombinazione possono essere fatti sui batteri e i loro virus, ma l'interpretazione dei risultati è complicata da diversi fattori...” e si soffermava nell'elencare questi ultimi, prima di concludere che “molti dettagli del processo di ricombinazione negli eucarioti quali l'eccesso di ricombinanti reciproci all'interno dei geni, sono ancora del tutto oscuri”.

I modelli a DNA ibrido usati per spiegare il meccanismo della ricombinazione partirono dall'ipotesi che la struttura del cromosoma sia quella di un asse formato da una singola molecola di DNA.

Le prime prove a favore di questa tesi furono date da Taylor nel 1958 con gli esperimenti di marcatura al trizio che rivelarono l'evenienza di scambi di parti tra cromatidi fratelli conteggiati nella liliacea *Bellevia romana* e ripetuti in forma più estesa nel 1967 da B. Herreros e F. Giannelli in colture di cellule di mammiferi. Nel 1969 J. Brewen e W. Peacock dimostrarono come la polarità delle due subunità di un cromatidio permetteva di riconoscere che una delle due subunità era il contrario dell'altra. Gli esperimenti di marcatura con il trizio e i dati raccolti sulla ricombinazione fornirono appoggio al concetto della struttura cromosomica consistente in un asse formato da una sola molecola a doppia elica di DNA, anche se la quantità del DNA nucleare complessiva varia in specie affini (misurazioni sugli eritrociti di A. Mirsky e H. Ris, 1951 – variazioni da 1 a 150pg per cellula diploide).

Nel 1965 il genetista tedesco H.G. Keyl misurò la quantità di DNA presente nelle bande trasversali microspettrofotografiche dei cromosomi di due sottospecie del dittero *Chironomus thumuri* e trovò che ogni banda di una sottospecie mostrava quantità di DNA da 1 a 16 volte maggiore dell'altra sottospecie tanto che nel complesso una possedeva il 27% di DNA più dell'altra. Keyl concluse che questa differenza si era originata attraverso il successivo raddoppiamento del DNA dei singoli cromomeri – il cromomero è l'equivalente reale della banda microspettrofotometrica – un risultato dunque dell'evoluzione del dittero dato che la sottospecie con la quantità inferiore di DNA era più vicina al tipo ancestrale come appariva dal confronto delle due sequenze delle bande.

Le ricerche di Keyl furono utili per spiegare le differenze quantitative di DNA nelle specie affini anche tra gli eucarioti e il cromomero cominciò alla fine degli anni sessanta ad essere considerato come l'unità funzionale del processo di ricombinazione che avrebbe inizio alle sue estremità.

Nei tracciati spettrofotometrici dei cromosomi di ovociti del *Triturus* (salamandra) è stato osservato e studiato da J. Gall e H. Callan un caratteristico aspetto sfrangiato dei cromomeri dato da anse, un aspetto che fece coniare il termine di “cromosomi a spazzola”. Queste anse hanno un filamento centrale di DNA circondato da proteine e da una matrice di RNA. Lo stiramento meccanico di un cromosoma a spazzola determina rottura dei cromomeri ma non delle anse che tengono insieme i punti di rottura. Da qui l'ipotesi che l'asse dell'ansa sia una continuazione di quello intercromomerico del cromosoma.

Callan nel 1967 prospettò l'ipotesi che ogni cromomero sia fatto da una serie in tandem di copie duplicate del gene e che ogni copia “schiava” (*slave*) sia identica per composizione nucleotidica alla copia “padrona” (*master*) posta in cima alla serie; a questa disposizione iniziale seguirebbe l'eliminazione di tutte le copie “schiave” che non sono complementari

alla copia “master” e la loro sostituzione con nucleotidi sintetizzati copiando la copia “padrona”. Secondo questa teoria il raddoppiamento durante l’evoluzione delle specie della quantità di DNA in un cromomero sarebbe dovuto al raddoppiamento delle copie “schiave”.

Un’altra teoria per spiegare l’organizzazione ad ansa dei cromomeri nei cromosomi fu elaborata da W. Beermann nel 1965. Egli suggerì che l’RNA fosse sintetizzato alla base dell’ansa, sito dove allora si riteneva risiedesse il gene, e che poi questo RNA si spostasse lungo l’asse dove sarebbe stato rivestito da proteine per diventare RNA *transfer* ed essere quindi pronto a passare dal nucleo al citoplasma della cellula. Questa teoria fu detta dell’impacchettamento perché elaborata in base a studi condotti sui *puffs* (rigonfiamenti) dei cromosomi politenici.

Le due teorie, quella di Callan sulle copie *slave* e *master* e quella di Beermann sull’impacchettamento, furono tentativi di spiegare la presenza di un filamento di DNA in un’ansa o in un *puff* più grandi di un gene per non abbandonare l’ipotesi “un gene-un cromomero” (Hess e Meyer, 1968). La prova delle sequenze ripetute di nucleotidi postulate da Callan fu data da C. Thomas e collaboratori nel 1970.

Essendo accertato che una tripletta di nucleotidi occupa 1 m di DNA misurato lungo l’asse dell’elica, in un identico spazio potrebbero stare tre geni, ciascuno di essi capace di esprimere una catena polipeptidica di oltre 300 aminoacidi.

I lavori di F. Ritossa e Spiegelman sulla *Drosophila* e di J. Gurdon su *Xenopus* dimostrarono dal 1965 in poi che il materiale del nucleolo che codifica l’RNA ribosomale è fatto di sequenze nucleotidiche ripetute centinaia e centinaia di volte. Le fotografie al microscopio elettronico di O. Miller e B. Beatty (1969) mostrarono molti segmenti composti da una matrice RNA e proteine disposte intorno all’asse del DNA. Ognuno di questi segmenti è stato interpretato come un gene nucleolare.

Un ulteriore esempio di sequenze ripetute di nucleotidi fu quello detto del “DNA satellite” riscontrato nei Mammiferi da R. Britten e collaboratori, i quali hanno scoperto una corta sequenza di nucleotidi ripetuta migliaia e migliaia di volte nelle regioni eterocromatiche dei cromosomi intorno ai centromeri. La funzione di questo “DNA satellite”, localizzato esattamente e autoradiografato previa marcatura nel 1971 da K. Jones e collaboratori, non era ancora conosciuta alla metà degli anni settanta.

La conclusione che a quella data si poteva trarre circa le conoscenze raccolte nel periodo 1950-1975-76 sulle conoscenze riguardanti la struttura e organizzazione del cromosoma era che l’asse di un cromosoma è certamente costituito da una molecola di DNA (due catene nucleotidiche) e che il cromomero è l’unità di replicazione, ricombinazione e attività genetica.

Anche il controllo dell’attività genica negli organismi superiori era alla metà degli anni settanta uno degli aspetti meno conosciuti di tutta la genetica e una parte dei genetisti era incline a ritenere che il controllo non fosse organizzato in modo diverso da quanto già osservato nei procarioti.

Una certa importanza di effetti sull’attività genica nei Mammiferi era stata riconosciuta nel corso del decennio precedente da ricerche condotte sulla eterocromatina, sostanza scoperta nel 1928 da E. Heitz e che costituisce i segmenti cromosomici che restano spiralizzati anche nell’interfase del ciclo riproduttivo della cellula. L’unica differenza notata al microscopio elettronico fra eterocromatica ed eucromatina fu il diverso grado di compattezza dei filamenti nucleoproteici (H. Ris, 1957) e tutte le analisi dimostrarono che non esistevano differenze chimiche tra le due sostanze. Le regioni eterocromatiche rispetto alle eucromatiche si colorano più intensamente in certe fasi del ciclo riproduttivo,

contengono certamente “DNA satellite” e danno fluorescenza quando vengono colorate con chinacrina (Casperson e coll.1968). Quando l’eucromatina viene avvicinata all’eterocromatina perde le sue bande trasversali, bande delle quali l’eterocromatina è sprovvista. Gli studi di J. Schultz rivelarono che quando una zona eucromatica diviene eterocromatica i geni in essa contenuti diventano inattivi. Nel 1949 M. Barr e E. Bertram osservarono per la prima volta che uno dei due cromosomi X è eterocromatico e nel 1967 Cattanach e collaboratori dimostrarono l’esistenza di un effetto diffusivo della eterocromatina del cromosoma X verso l’altro cromosoma e che tale effetto era responsabile di determinarne la lunghezza. Del resto che l’eterocromatina non fosse geneticamente inerte lo avevano dimostrato molti esperimenti condotti tra il 1941 e gli anni sessanta (K. Mather; H. Rees e altri) e a metà degli anni settanta si riteneva che i geni nell’eterocromatina potessero influenzare i caratteri quantitativi, tanto più che a quei geni fu attribuita una funzione di regolazione.

Le ricerche sulle proteine basiche (Bonner e coll.1963) e su quelle acide (J.Paul e R. Gilmour 1968) ambedue associate al DNA dei cromosomi di molti soggetti eucarioti dimostrarono che le prime, dette “*istoni*” e raggruppate in 5 tipi principali, mascherano il DNA mentre le acide sono responsabili dell’attività genica e quindi della specificità tissutale. Trattasi dunque di associazioni regolatrici del DNA, aspecifica quella degli istoni, specifica quella delle basi acide.

Mentre in un primo tempo si pensò che la regolazione dell’attività genica avvenisse al momento della trascrizione dell’RNA messaggero dal DNA del gene, in seguito si ipotizzò che la regolazione dei livelli enzimatici negli eucarioti si verificasse nel citoplasma cellulare durante la traduzione dell’RNA messaggero in polipeptidi, anziché nel nucleo.

Fin qui per quanto riguarda l’ereditarietà mendeliana, cioè quella dovuta all’attività dei geni a livello del nucleo. Esistono però sicure dimostrazioni di attività geniche che si realizzano – sia negli eucarioti vegetali che in quelli animali – a livello citoplasmatico, legate all’esistenza del DNA contenuto rispettivamente nei cloroplasti e nei mitocondri (B. Ephrussi 1958; R. Sanger e Z. Ramanis 1965; J. Monoulou e coll.1966; U.W. Hallier e coll.1968; F. Herrmann e coll.1968; Ashwell e Work 1970).

Alla metà degli anni settanta i genetisti consideravano possibile che tutte le differenze ereditarie tra organismi affini fossero dovute a differenze tra i loro DNA e RNA sia nel nucleo che nei mitocondri o plastidi. Gli studi sui procarioti facevano a quel tempo ritenere che la sintesi di un virus fosse determinata non dall’attività sequenziale dei geni strutturali bensì dalle caratteristiche strutturali dei nucleotidi utilizzati per la sintesi stessa, in altre parole che si potesse trattare di un montaggio automatico dei vari componenti e che questo meccanismo fosse il medesimo utilizzato negli organismi superiori per lo sviluppo di particolari strutture. Rimanevano comunque ampie zone di incertezza e vasti campi da esplorare e molta fiducia veniva espressa nei possibili futuri sviluppi della biologia molecolare.

Il fatto, ampiamente accertato, che nei Batteri un segmento ininterrotto di DNA rappresenta sempre un gene strutturale che possiede l’informazione genetica indispensabile per sintetizzare una singola catena polipeptidica aveva fatto pensare negli anni cinquanta e sessanta che questo fenomeno di corrispondenza tra sequenza lineare di nucleotidi del DNA e sequenza lineare di aminoacidi nella proteina definitiva dovesse ripetersi in tutti gli organismi, Vertebrati compresi. L’unico dato che non quadrava in questa supposizione era che negli organismi superiori la quantità complessiva di DNA è molto maggiore di quella contenuta nell’organismo unicellulare dei Batteri. Sulle prime si cercò di giustificare questa diversità attribuendola alla presenza negli organismi superiori di sequenze ripetitive di DNA alle quali fu dato il nome di “DNA egoista” perché è un DNA che non viene

trascritto. Un altro dato sconcertante era che la modificazione nel nucleo cellulare dell'RNA appena trascritto era stato interpretato come una troncatura della sua parte terminale per trasformarlo in RNA messaggero maturo prima di uscire dal nucleo. La verità era che l'organizzazione dei geni di Mammiferi, Uccelli e Anfibi è radicalmente diversa da quella dei Batteri e questa verità si fece strada nel corso degli anni settanta e dei primi anni ottanta grazie all'analisi molecolare di geni isolati fisicamente dal genoma oppure sintetizzati in laboratorio con un'operazione a ritroso partendo dall'RNA messaggero. La profonda diversità dei geni batterici da quelli degli organismi superiori risultò dovuta al fatto che nei geni degli eucarioti esistono interruzioni cromosomiche dette dagli specialisti "*introni*" oppure "*sequenze intercalate*". Queste ricerche non sarebbero state possibili se la strada non fosse stata aperta da alcune scoperte fondamentali come quelle degli enzimi di restrizione (Arber 1962; Nathans e Smith 1965), della ligasi (Gellert 1967) e delle tecniche di clonaggio del DNA (Boyer e coll. 1972-73).

Nel laboratorio di genetica molecolare di Strasburgo nel 1981 P. Chambon e collaboratori portarono a termine una interessante ricerca sulla sintesi dell'ovalbumina, una proteina composta da 386 aminoacidi e sintetizzata dalle cellule dell'ovidotto della gallina sotto controllo degli ormoni sessuali femminili. I ricercatori di Strasburgo dimostrarono che la gran parte del DNA che avevano trovato nel gene dell'ovalbumina non partecipava alla sua sintesi. Le parti che non partecipavano erano appunto gli *introni*, quelle che venivano trascritte nell'RNA erano gli *esoni*: da un totale di 7700 basi si arrivava per tappe successive ad un RNA messaggero maturo fatto solo di 1872 nucleotidi. Questa riduzione del DNA trascritto prese il termine inglese di "*splicing*".

Sul quesito che riguardava la vera natura degli *introni* discettarono negli anni settanta molti evolucionisti che diedero spiegazioni diverse e contrastanti. Tra queste ricordiamo l'ipotesi secondo la quale gli *introni* sarebbero il frutto di una ricombinazione genetica dovuta alla duplicazione di pochi geni ancestrali. J. Darnell e W. Doolittle pensarono invece che lo *splicing* esistesse già prima della comparsa sul pianeta degli eucarioti e che i procarioti, che in origine l'avevano, lo avessero progressivamente eliminato dal loro genoma nel corso della evoluzione che ha preceduto la comparsa degli eucarioti sulla terra. Jacob scrisse che per una manipolazione casuale del genoma gli *introni* sarebbero stati catapultati all'interno dei geni strutturali per assumervi una funzione regolativa. Infine altri, increduli, dissero che gli *introni* sarebbero pezzi del DNA privi di significato che le cellule degli eucarioti – meno evolute dei procarioti – non avrebbero ancora imparato ad eliminare del tutto. Certo è che alla metà degli anni ottanta una soluzione univoca e definitiva a questo problema non era ancora stata trovata.

Importanti comunque furono due scoperte degli anni settanta e dei primi anni ottanta: i *protoncogeni* e i *mutanti omeotici*.

I *protoncogeni* sono particolari geni che esistono in tutti i Vertebrati e presentano una marcata omologia delle loro sequenze nucleotidiche. Alcuni di essi codificano la composizione chimica di speciali proteine che furono definite "*fattori di crescita*". Nel 1985 risultavano individuati circa venti *protoncogeni*, tutti con una evidente omologia molecolare con *oncogeni virali*. Il *locus*, cioè il sito cromosomico, di questi *protoncogeni* è risultato quasi sempre vicinissimo a quello dei cosiddetti "*siti fragili*" che si trovano al posto dove più facilmente avvengono le rotture dei cromatidi. Le omologie trovate tra la struttura di questi *protoncogeni* e quella degli *oncogeni virali* del linfoma di Burkitt e della leucemia mieloide cronica hanno indotto Croce e Klein (1985) a ipotizzare che la trasformazione neoplastica della cellula abbia inizio con un evento molecolare abnorme verificatosi in un *protoncogene*.

I mutanti omeotici sono geni caratterizzati da una sorprendente omologia della loro sequenza nucleotidica (180 basi), presenti in un vasto ventaglio di specie di Invertebrati e Vertebrati (uomo compreso) e responsabili del fatto che una parte dell'organismo maturo ha le sembianze di un'altra parte. La *Drosophila melanogaster* ha offerto anche in questo campo un chiarissimo esempio di questo tipo di mutazione, la cosiddetta *antennapodia* che trasforma le antenne in arti. Alle sequenze omologhe di DNA di questi mutanti omeotici fu dato il nome di "scatole omeotiche" (*homeo-boxes*) che sono presenti solo negli organismi a organizzazione metamerica. Nell'uomo furono identificate due scatole omeotiche situate sul cromosoma 17.

Dal 1945 in poi furono scoperti meccanismi riproduttivi differenti da quelli della riproduzione sessuata ma capaci come questa di trasmettere l'informazione genetica da cellule parentali a cellule ibride e da organismi parentali a organismi ibridi.

La produzione di ibridi cellulari somatici tra cellule di specie, ordini e classi diverse fu realizzata nel corso degli anni sessanta. Negli anni settanta l'ibridazione cellulare fu sfruttata con successo per la costruzione delle prime mappe cromosomiche dell'uomo e di altri mammiferi.

Il motivo per il quale l'ibridazione è utile per la mappatura sta nel fatto che il genoma delle cellule ibride interspecie – ad esempio l'ibrido ottenuto dalla fusione indotta da virus in un linfocito umano con una cellula somatica di un roditore – perde progressivamente e preferenzialmente i cromosomi di una soltanto delle due specie parentali. Poiché le cellule ibride uomo-roditore perdono i cromosomi umani nel corso delle prime mitosi, questo consente di dedurre i gruppi di *linkage* (cioè i geni dello stesso cromosoma) dal rapporto positivo tra la ritenzione e la perdita di determinati cromosomi e marcatori genetici umani. L'ibridazione interspecie è una tecnica parasessuale che consente di mappare geni anche quando mancano varianti individuali essendo gli ibridi interspecie degli eterozigoti multipli a tutti gli effetti, inoltre è una tecnica che consente di scoprire con facilità l'appartenenza al medesimo gruppo di *linkage* anche per *loci* che nella meiosi hanno un comportamento indipendente l'uno dall'altro.

L'ibridazione uomo-topo ha portato alla ritenzione del cromosoma 7 indispensabile per la espressione dell'enzima beta-gus (beta-glicuronidasi) e del cromosoma 10 indispensabile per l'espressione dell'enzima GOT (glutammato-ossalacetato-transaminasi) (Th. Shows e A. Sakaguchi, 1980). Questo esempio dimostra quanto interesse debbono aver suscitato le ibridazioni cellulari interspecie che negli anni ottanta divennero il mezzo preferito di indagine genetica allo scopo di mappare geni non polimorfi o caratterizzati da una distanza genetica non misurabile.

La costruzione di mappe genetiche non è stato l'unico modo di utilizzo dell'ibridazione di cellule somatiche, essa è stata usata anche per estendere dai Batteri ai Mammiferi i tests della complementazione genetica che si erano dimostrati tanto utili per conoscere struttura e meccanismo d'azione dei geni nei Procarioti.

Ibridando cellule altamente differenziate B.Ephrussi osservò la conservazione nei passaggi generazionali delle funzioni che fanno parte del metabolismo di tutti i tipi di cellule e la scomparsa di quelle proprie solo delle cellule molto differenziate. Chiamò le prime "funzioni ordinarie" (*house-hold functions*) e le seconde "funzioni di lusso" (*luxury functions*). Usando questo stesso tipo di incroci Harris e Klein finirono per identificare negli anni settanta cinque gruppi di comportamento recessivo (*luxury*) di complementazione per le mutazioni recessive che danno origine alla malattia *Xeroderma pigmentosum*. Darlington e Ruddle ibridando fibroblasti o linfociti umani con le cellule di un epatoma del topo ottennero l'espressione *luxury* dell'albumina umana e delle

aptoglobuline umane. Nel 1975 Koler e Milstein ibridando cellule di mieloma del topo con splenociti di topo immunizzati con un antigene preselezionato ottennero anticorpi monoclonali e questa scoperta fece presagire una sua utilità nei programmi diagnostici e terapeutici di molte malattie dell'uomo.

Tra il 1975 e il 1984 la letteratura internazionale di genetica segnalò i seguenti progressi tecnici:

1°- trasferimento di cromosomi o di loro frammenti isolati con arresto di mitosi nelle cellule dei Roditori (Willecke e Ruddle, 1975)

2°- estensione alle cellule eucariote dei fenomeni di trasformazione e cotrasformazione del DNA (Wigler e collaboratori, 1977)

3°- trasfezione di sequenze nucleotidiche oncogeniche da cellule tumorali a cellule normali (R. Weinberg, 1984)

4°- impiego di virus modificati come vettori di sequenze geniche da cellule di un tipo a cellule di tipo diverso (Gluzman e coll.1984; Mulligan e coll.1984)

5°- scoperta di una nuova classe di varianti molto numerose e multiple dello stesso *locus* in una popolazione mendeliana chiamata “polimorfismo della lunghezza dei frammenti di restrizione” ossia RFLP (J.Sambrook e coll. 1975).

Dal 1975 al 1985 la lista dei polimorfismi RFLP andò rapidamente allungandosi con una velocità imprevista facendo ritenere che, a livello del DNA, il numero delle differenze ereditarie della specie umana superasse di molto i 50.000 geni ritenuti fino allora il limite massimo del codice genetico. Questa scoperta – unitamente alla possibilità ormai diffusa di utilizzare frammenti di DNA non ripetitivo come “sonde molecolari” – migliorò molto le prospettive di costruzione del genoma umano. Nell'8° *workshop* di Helsinki del 1985 il numero di geni clonati era giunto a 249 (solo 16 nel 1981) e quello dei polimorfismi RFLP a 333 (solo 24 nel 1981). Il risultato di questi studi – oltre al benefico effetto sulla costruzione genomica – fu quello di constatare in via definitiva che qualsiasi sia il meccanismo che porta alle modificazioni del DNA, dalle più piccole alle più complesse, il risultato è sempre la produzione di frammenti di restrizione di lunghezza varia che vengono ereditati come i caratteri mendeliani classici.

Certamente questa serie di scoperte che ha dato per la prima volta la possibilità di analizzare e descrivere nei minimi dettagli la costituzione genetica di ogni clone cellulare, degli individui, delle popolazioni e delle specie, ha aperto un immenso campo di applicazioni pratiche alla biologia e alla medicina.

Siniscalco nel 1985 affermò a questo proposito che *“tutte queste applicazioni sono condizionate da una premessa comune: la necessità di costruire una mappa molecolare totale del genoma umano. Le circostanze suggeriscono che la realizzazione di tale obiettivo non può essere lontana”*.

In effetti, se si tiene conto che nel 1967, l'anno della scoperta dell'ibrido cellulare instabile topo-uomo, gli esempi di *linkage* autosomico umano non superavano il numero delle dita di una mano, la stessa scoperta dell'ibrido topo-uomo e quella del polimorfismo ai siti cromosomici di restrizione hanno improvvisamente reso agibile la strada per la mappatura fisica dei geni che compongono il genoma umano. Il beneficio potenziale di queste scoperte fu subito avvertito anche dalla medicina diagnostica e preventiva. La scoperta del primo *linkage* umano tra emofilia e daltonismo fatta nel 1947 da Haldane e Smith era già stata completata e corretta nel 1966 riconoscendo l'esistenza di un *linkage* stretto tra emofilia A, quattro *loci* denominati G6PD e daltonismo da un lato e assenza di *linkage* tra emofilia A ed emofilia B dall'altro.

Poco prima del 1985 furono scoperte due forme di ritardo mentale legate al sesso e a un loro *linkage* con i *loci* G6PD.

Nel giro di pochi mesi di intenso lavoro, sfruttando la scoperta del polimorfismo RFLP, J.Gusella e collaboratori usarono un programma mirato di ricerca che permise loro di trovare uno stretto *linkage* tra la corea di Huntington e un polimorfismo RFLP sul braccio lungo del cromosoma 4.

L. Kunkel del Massachusetts General Hospital isolò sonde molecolari nella banda cromosomica Xp21 che gli permisero di identificare alcuni polimorfismi RFLP aventi un *linkage* non proprio stretto con la mutazione Duchenne della distrofia muscolare legata al sesso (regione intermedia del braccio corto del cromosoma X).

Nel braccio lungo dello stesso cromosoma X fu identificato nel 1985 il “sito fragile inducibile” Xq27.3 associato a una forma grave di ritardo mentale legata al sesso e denominata “sindrome dell’X fragile”.

Questa piccola serie di esempi dimostra come nel 1985 l’approccio molecolare alla medicina diagnostica e preventiva era ormai una realtà anche se la applicazione pratica era ancora limitata e circoscritta ad un numero ristretto di ambienti specializzati nella ricerca di biologia molecolare più avanzata e di studi medici di avanguardia.

Le conoscenze acquisite nell’ultimo decennio del XX secolo hanno superato di gran lunga tutte quelle ottenute dalla ricerca scientifica dal 1900 al 1990. Quest’ultimo è stato infatti l’anno in cui si è cominciato ad applicare su ampia scala la fortuita scoperta di Kary B. **Mullis** della reazione polimerasica a catena (PCR *polymerase chain reaction*) che ha enormemente facilitato tutti gli studi di ricerca genetica e in particolare il rapido realizzarsi del Progetto Genoma.

Negli anni settanta e ottanta Mullis si dedicava alla sintesi degli “oligonucleotidi”, piccole sequenze di basi nucleotidiche del DNA che venivano ottenute grazie all’enzima “DNA-polimerasi” scoperto da A. Kornberg nei laboratori dell’università di Stanford. Mullis usava il protocollo classico dell’inglese Fred Sanger che lo aveva introdotto nel sequenziamento dei nucleotidi del DNA all’inizio degli anni settanta. A partire dal 1975, sulla scia di Sanger e di altri ricercatori, il sequenziamento del DNA si è avvalso di due nuove tecniche considerate allora molto avanzate:

1°- la separazione di un campione di DNA in segmenti radiomarcanti ottenuta con l’impiego di una miscela contenente la DNA-polimerasi e la successiva separazione di detti segmenti in sequenze nucleotidiche tramite l’elettroforesi,

2°- la frammentazione della molecola di DNA ad opera degli enzimi di restrizione che interrompono la continuità del DNA in punti fissi chiamati “siti di restrizione”. I frammenti di DNA così staccati erano stati poi reintrodotti in alcuni casi nel DNA dell’organismo esaminato o in un organismo diverso e questo processo era stato definito “DNA ricombinante” o anche “meccanismo del montaggio genico”.

E’ stata soprattutto questa seconda possibilità tecnica a far intravedere come realizzabile su larga scala l’isolamento dei geni che codificano la composizione e quindi la produzione di anticorpi, di fattori di sviluppo, di tossine batteriche e virali, di dettagli citologici interessati alla genesi delle varie forme di cancro, ecc.

Comunque, negli anni ottanta, volendo isolare i geni, la strada più usata era – come abbiamo ricordato più sopra – quella di impiegare le miscele di sequenze oligonucleotidiche basandosi sulla corrispondenza che intercorre tra gli aminoacidi della proteina codificata dal gene e la sua composizione nucleotidica, una strada lunga e tortuosa in cui c’era sempre la possibilità che porzioni di uno o più frammenti andassero perdute.

Alle prese con queste difficoltà K.B.**Mullis** (Nobel 1993) cercò di modificare il protocollo di Sanger così da poter lavorare su un DNA totale e non più su piccole porzioni di esso. La prima modifica fu quella di usare due oligonucleotidi detti “*primers*” al posto di uno solo cominciando a sequenziare da ambedue le loro estremità. Il secondo passo fu la scoperta della **Reazione di Polimerizzazione a catena (PCR)**, scoperta che fu veramente sensazionale: la PCR dimostrò di poter amplificare una singola molecola di DNA miliardi di volte nell’arco di tre ore!

La PCR era la chiave che apriva l’accesso all’analisi rapida dei genomi, più importante fra tutti quello umano. Questa scoperta ha avuto subito un’importante ricaduta nella diagnostica, in farmacologia e in medicina legale, ed è persino entrata nel materiale didattico là dove si insegna la biologia molecolare e negli istituti di informazione scientifica per il pubblico non specializzato, date la semplicità e l’esiguità del materiale necessario: due provette, pochi reagenti e una fonte di calore. Moltissimi sono stati i vantaggi nel campo della ricerca scientifica. Uno dei campi dove l’impiego della PCR ha dato grandi risultati è quello dei Polimorfismi Genetici Pluriallelici, perché ha consentito di conoscere meglio e di classificare in tre categorie diverse queste differenze ereditabili perché genetiche che interessano diversi alleli (cioè diverse coppie di geni identici che occupano la stessa posizione su due cromosomi omologhi). Eccettuato un piccolo numero di individui che posseggono cromosomi supplementari o mancano di un cromosoma tutti i rappresentanti della specie *Homo sapiens* possiedono nelle loro cellule somatiche 46 cromosomi in due coppie di 23 (le cellule germinali ne hanno solo 23, cioè metà del corredo cromosomico) e in queste coppie la posizione, il *locus*, dei geni è nella medesima posizione. Ma questo è quanto risulta ad un’ottica macroscopica mentre a quella microscopica risalta un certo numero di variazioni da individuo a individuo non legate a malattie ereditarie e sono queste variazioni che vengono dette **Polimorfismi**. Il primo e più facile modo per evidenziare la presenza di un polimorfismo è quello di verificare la risposta all’azione degli enzimi di restrizione perché diversità nel profilo della frammentazione enzimatica di due tratti di DNA indicano differenze della sequenza di DNA tra i due frammenti. Nel 1996 è stato pubblicato un elenco che riportava più di 15.000 siti pluriallelici nel DNA umano mentre tra il 1981 e il 1985 i polimorfismi scoperti nel DNA umano erano passati da 24 a 333 (come abbiamo a loro volta citato).

Una prima categoria di polimorfismi è stata individuata nelle variazioni delle sequenze nucleotidiche delle estremità di molti geni come quelli che codificano l’insulina, le due mioglobine e il collagene tipo II. I *loci* o siti di questi geni sui cromosomi sono detti “ipervariabili”.

La seconda categoria è data dalle differenze molecolari dovute ad assenza o ad eccedenza di nucleotidi in parti del cromosoma interposte alle sequenze codificanti dei geni. Questa categoria di polimorfismi è nota come “polimorfismi da microsatelliti”, è più comune della precedente ed è stata particolarmente studiata da J. Cavalli-Sforza nel 1994, da S.S. Arcot nel 1995 e da C.Dib e coll. nel 1996.

La terza categoria riguarda polimorfismi ereditari molto comuni dovuti a perdita e/o reinserzione di sequenze note con l’acronimo *Alu* o di sequenze genomiche più o meno lunghe (delezioni e duplicazioni). I cosiddetti polimorfismi da microsatelliti e le amplificazioni graduali di alcune sequenze di tre nucleotidi sono state considerate una conseguenza di errori che si verificano nella replicazione del DNA quando la cellula si divide (sia sotto forma di mitosi che di meiosi cellulare).

I genetisti molecolari e i biologi evolutivisti che si dedicano a studi sulla diversità genetica della specie hanno raccolto un’enorme quantità di dati sulle mappe genetiche dell’uomo e di altri Mammiferi e hanno scoperto che esistono nell’uomo e nel topo molti

gruppi di *linkage* stretto identici a quelli di altri Mammiferi come gatto, mucca, ecc. (ricordiamo nuovamente che il vocabolo inglese *linkage* che significa legame esprime in genetica la distanza molto ravvicinata di due geni tra loro).

Alla fine del Novecento i genetisti erano unanimemente convinti che questi studi avrebbero consentito di capire meglio il complicato meccanismo della determinazione del sesso aiutando così la diagnosi e la cura delle malattie che derivano dall'instabilità genomica. In effetti le ultime scoperte genetiche hanno rivelato che molti processi di differenziamento somatico – come ad es. quello che riguarda milioni di cellule immunocompetenti – sono frutto di errori nella replicazione del DNA durante il lungo iter che va dalla cellula-uovo fecondata all'organismo completamente sviluppato. Ora, rispetto all'altissimo numero di questi “errori”, quello delle malattie ad essi imputabili è enormemente basso, e, d'altronde, è proprio l'alto indice di variabilità genetica che sembra garantire la sopravvivenza delle specie nel tempo.

Le conoscenze genetiche aggiornate all'anno 1996 hanno permesso di riconoscere tre tipi di instabilità genomica: 1°- mutazioni sezionali da perdita o ridondanza di sequenze nucleotidiche, la prima delle quali, come è già stato ricordato, è stata quella osservata nel 1914 da S.C. Tice nella *Drosophila melanogaster*. Ricordiamo ancora una volta che nel 1924 A. Sturtevant, che aveva continuato a studiare il cromosoma X della *Drosophila*, osservò altre mutazioni e ipotizzò che fossero dovute ad uno scambio (*crossino-over*) ineguale tra due cromosomi omologhi appaiati in modo sbagliato. Questa ipotesi fu confermata da G. Bridges che studiava i cromosomi giganti delle ghiandole salivari del dittero. Bridges scoprì che si trattava di un meccanismo di duplicazione e/o di perdita di pezzi interi di cromosoma. Fino ai primi anni sessanta questi fenomeni vennero considerati rari e fu solo allora che, sempre nella *Drosophila*, furono individuate altre due zone cromosomiche che davano frequenti fenomeni di polimorfismo per errori di ricombinazione; questi due *loci* vennero etichettati uno come *white* e l'altro *rosy*, il primo sul cromosoma X, il secondo sul cromosoma 3. Quando l'analisi genetica cominciò a sfruttare i metodi più moderni della biologia molecolare i genetisti trovarono che questa mutazione era la più comune. Infine l'applicazione della PCR negli anni novanta ha fatto scoprire molti altri esempi di duplicazioni/delezioni da scambio ineguale in molti organismi, dal batterio *Escherichia coli* all'uomo. Alle malattie originate da queste mutazioni sezionali da errori di ricombinazione del DNA appartengono la Neuropatia ereditaria di Charcot-Marie-Tooth, la sindrome Velo-Cardio-Facciale, la cecità per il rosso, quella per il verde e la cecità parziale, tutte dovute a delezioni parziali o totali del gene PROTAN o a fusioni parziali dei geni PROTAN e DEUTAN per *crossing-over* ineguale.

2°- retroinserzioni di sequenze trasponibili e di genomi virali: si tratta di trasposizioni di geni che avvengono con meccanismi diversi e provocano mutazioni instabili dei genomi nelle varie specie animali e vegetali. Prima del 1951 nessuno pensava che la conformazione cromosomica potesse essere alterata per colpa di geni mobili. Fu allora che Barbara Mc Clintock avendo osservato le mutazioni instabili del genoma del mais parlò per la prima volta di trasposizione di geni detti “saltatori” (*jumping genes*). Questa scoperta fu premiata con il Nobel solo nel 1983 quando, sulla spinta dei risultati ottenuti dalla McClintock nei Batteri e nella *Drosophila*, altri studiosi approfondirono l'argomento arrivando a scoprire che solo nel genoma della *Drosophila* le sequenze nucleotidiche trasponibili erano circa 5000 (il 15% del DNA totale). Gli studi dell'ultimo trentennio del Novecento hanno portato a riconoscere due grandi classi di elementi trasponibili, i trasposoni e i retrotrasposoni. La famiglia meglio conosciuta e più studiata dei *trasposoni* è quella delle sequenze nucleotidiche dette ALU comprendenti da 150 a 300 nucleotidi che rappresentano il 5% del DNA della specie. Le sequenze ALU pur differendo una dall'altra non solo tra specie e specie ma anche tra due organismi della stessa specie, sono presenti in

tutte le specie e rappresentano un'importante prova di dimostrazione in favore della teoria evolutivista. Nel 1996 Batzer e collaboratori hanno usato la forte tendenza della famiglia ALU ad accumulare varianti mantenendo immutata la sua composizione, per marcare le distanze evolutive fra le specie con una scala espressa in milioni di anni. La famiglia ALU fa parte dei trasposoni *short* detti dai genetisti SINES (*Short Interspersed Elements*). ALU è il SINES più frequente nel genoma umano. Quando la lunghezza dei trasposoni arriva da 1000 a 5000 nucleotidi essi sono detti *long* e più comunemente LINES (*Long Interspersed Elements*). Di questi trasposoni lunghi nel genoma umano il più frequente è il LINES 1, una famiglia che conta in seno al genoma da 20.000 a 40.000 copie. I trasposoni lasciano la loro posizione originaria e si inseriscono a caso in un altro posto del genoma; questo fenomeno di mobilità è regolato da un enzima (trasposasi) codificato nelle stesse LINES. Tra i trasposoni meglio conosciuti sono il fattore Ac del mais e il fattore P della *Drosophila*, che sono stati impiegati per creare organismi transgenici allo scopo di migliorare piante e animali domestici.

I *retrotrasposoni* sono famiglie di elementi trasponibili che possono creare copie di sé stessi in un'altra zona del genoma mediante la funzione dell'RNA messaggero dove la traduzione a ritroso è regolata dall'enzima trascrittasi inversa. Il risultato è che il retrotrasposone senza muoversi dalla sua sede originaria crea copia del DNA in cui la sua trascrizione trova una collocazione del tutto diversa dalla sua. H.Varmus e J.M.Bishop hanno studiato negli anni novanta le forti analogie strutturali e funzionali tra i retrotrasposoni e i virus. Infatti il genoma dei retrovirus è costituito solo da RNA che viene trascritto a ritroso sotto l'azione dello stesso enzima trascrittasi inversa codificato dai retrotrasposoni. Questa trascrizione è una sequenza di nucleotidi complementare detta cDNA. Questo cDNA viene integrato nel DNA della cellula invasa dal virus. Sia il cDNA che il DNA dei retrotrasposoni terminano ad ambedue le estremità con la medesima sequenza di 200-400 nucleotidi nota con l'acronimo LTR (*long terminal repeat*) così definita nel 1991 da Singer e Berg. L'unica differenza fra il retrovirus e il retrotrasposone è il gene *env* del virus, gene del rivestimento proteico che permette al virus di uscire integro dalla cellula-ospite. Alcuni genetisti hanno definito i virus "retrotrasposoni arricchiti del gene *env* durante l'evoluzione". Un'altra analogia tra retrotrasposoni e virus è la capacità di ambedue di attivare oncogeni, cioè di stimolare la insorgenza di neoplasie come è stato messo in luce nel 1996 da J.Watson.

3°- elementi trasponibili a variabilità genetica. Rappresentano la novità dell'ultimo ventennio del Novecento. Nel 1983 una nota industria farmaceutica della California interessata a produrre su vasta scala l'enzima attivatore tissutale del plasminogeno usato nella cura dell'infarto cardiaco riuscì a clonare il gene responsabile di questo enzima conosciuto come *t-PA* (D.Pennica e altri, 1983) localizzato nell'introne 25 del cromosoma umano 8. Dopo qualche anno alcuni ricercatori che studiavano la dispersione della sequenza ALU nel genoma umano si accorsero che essa era assente nell'introne 25 del cromosoma 8 in un alto numero di individui. Usando la PCR si è poi arrivati a dimostrare che dal DNA di eterozigoti si ottengono due prodotti dell'amplificazione, uno contenente la sequenza ALU (400 coppie di basi) e l'altro che non le contiene (100 coppie). Dal DNA degli omozigoti si ottiene invece un unico prodotto che ha dentro di sé l'ALU oppure che non ce l'ha. Si è trattato di un classico esempio di polimorfismo genetico che Batzer, Bloom e altri dimostrarono essere presente in tutte le razze umane studiate (1996).

Gli anni compresi tra il 1986 e il 1996 hanno assistito ad un vivissimo intensificarsi degli studi sulla sequenza ALU e sui suoi 6 polimorfismi che si sono estesi parallelamente su altre sequenze o triplette nella trasmissione di malattie ereditarie come l'atrofia muscolare bulbospinale di Kennedy dove la ripetizione e l'instabilità della tripletta CAG danno 40-55

individui malati su 17-24 sani; si è visto che la malattia si verifica quando l'amplificazione della tripletta supera una certa soglia.

Nel corso degli anni novanta la lista delle malattie ereditarie da abnorme ripetizione delle triplette nucleotidiche instabili del genoma umano si è rapidamente allungata: malattia di Huntington (corea), atassia di Friedreich, distonia miotonica, atassia spinocerebellare, malattia di Machado-Joseph e le tre sindromi dell'X fragile tra le quali di gran lunga la più frequente è quella dei padiglioni auricolari deformi per eccesso di ampiezza e prominenza (T. Strachan e A.P.Read, 1996).

Nell'ultimo ventennio del Novecento, oltre alla scoperta della PCR di cui abbiamo già illustrato l'enorme importanza per tutti gli studi di genetica, questi si sono impadroniti di nuovi strumenti che hanno permesso di approfondire e allargare i molteplici campi di ricerche che hanno visto impegnati sempre più numerosi genetisti. Ci limiteremo a citare i nuovi metodi, il campo specifico della loro applicazione e i primi risultati positivi che interessano direttamente la medicina.

A) Minicromosomi artificiali in lieviti (YAC) e batteri (BAC): si tratta del clonaggio in lieviti e/o in batteri di lunghi pezzi di un genoma ritagliati con le ultime metodiche dai cromosomi. I minicromosomi che ne risultano e che si possono clonare dal lievito (YAC) contengono da poche centinaia di migliaia a oltre un milione di nucleotidi, quelli ricavati dai batteri (BAC) vanno invece da un minimo di 50-60.000 ad un massimo di 500.000-600.000. Prima dell'adozione dei cloni YAC e BAC e fin dal 1975 la mappatura di un genoma veniva affrontata – come abbiamo ricordato nel precedente paragrafo – con le cosiddette “forbici biologiche”, cioè con le endonucleasi batteriche che frammentano una lunga molecola di DNA all'altezza di specifiche sequenze di nucleotidi nei punti chiamati “*siti di restrizione*” e le forbici biologiche stesse sono state chiamate appunto “*enzimi di restrizione*”.

Trattasi sempre di frammenti di piccole o minime dimensioni che offrono il vantaggio di poter essere facilmente inseriti in vettori plasmidici e fagici opportunamente preparati a riceverli. Una volta inseriti, la possibilità di replicarli è infinita. Le piccole mappe ottenute con questo sistema portano a “librerie di DNA” che constano di poche centinaia di nucleotidi (librerie plasmidiche) o di alcune migliaia (librerie fagiche). A breve distanza di tempo si sono aggiunte le “librerie P1” che contengono da decine di migliaia fino a circa 100.000 nucleotidi e le “librerie YAC” con milioni di nucleotidi. Tuttavia si tratta pur sempre di numeri molto inferiori a quelli necessari per costruire l'intera libreria del genoma umano.

L'utilità di queste segmentazioni di lunghezza varia è consistita nel facilitare e abbreviare il lavoro di mappatura subcromosomica dei genomi della specie esaminata. Alla fine del secolo questa metodica applicata al Progetto Genoma aveva già consentito di ottenere un chiaro guadagno di tempo su quello previsto per completare la difficile e mastodontica operazione: il genoma umano consta infatti di tre miliardi di nucleotidi ripartiti nelle 23 coppie di cromosomi. Il grado di risoluzione raggiunto a fine secolo è stato di centinaia di migliaia di nucleotidi mentre le mappe cromosomiche a disposizione fino ai primi anni novanta avevano un grado di risoluzione di decine o centinaia di milioni di nucleotidi. La mappatura subcromosomica con YAC e BAC era già avanzata per il genoma umano nell'anno 2000 ed era già stata conclusa alla stessa data per i genomi di diversi batteri, lieviti e per quelli del topo e di altri Vertebrati superiori.

B) Citogenetica molecolare umana: è l'ultimo stadio evolutivo della citogenetica, disciplina nata nella prima metà degli anni cinquanta del XX secolo allo scopo di arrivare ad una perfetta conoscenza della forma e della funzione dei cromosomi. Il primo passo è

stato fatto a metà del Novecento grazie ad una scoperta fortuita fatta in un laboratorio del Texas (lab. HSU-Austin) dove per errore erano state messe in sospensione in una soluzione salina ipotonica cellule che si stavano dividendo e grazie alla ricerca pianificata di diversi laboratori sulle colture di fibroblasti e linfociti. Nell'arco di dieci anni si riuscì ad ottenere l'esatta conoscenza morfologica di ogni cromosoma.

Verso il 1968-1969 si erano sviluppate nuove tecniche di mappatura genica (l'impiego delle famose "forbici enzimatiche" già citate che hanno consentito di effettuare la dissezione dei cromosomi). E' venuto poi il momento di utilizzare la citogenetica nel Progetto Genoma trasformando la genetica cromosomica, sostanzialmente dedicata allo studio della forma, nella genetica molecolare degli anni ottanta e novanta. L'ultimo progresso è stato lo sviluppo della ibridazione molecolare *in situ* dei cromosomi della metafase studiata con la fluorescenza (metodo FISH, acronimo di *Fluorescence in situ hybridization*). Con la FISH si era arrivati a precisare la localizzazione subcromosomica di frammenti di genoma delle più varie dimensioni. La marcatura con fluorocromi di colore diverso ha consentito di sostituire la precedente tecnica di marcatura radioattiva con immediati vantaggi pratici. Un ultimo miglioramento è stato quello dell'automazione computerizzata dei segnali fluorescenti provenienti dai siti di ibridazione molecolare.

Alla fine del secolo i genetisti disponevano già di 24 sonde molecolari specifiche per ognuno dei 22 cromosomi autosomici e per i 2 cromosomi sessuali X e Y della specie umana. L'automazione robotizzata dello *screening* citogenetico routinario prevista per i primi anni del XXI secolo appariva destinata a risolvere rapidamente e con tutta sicurezza la diagnosi di tutte le alterazioni cromosomiche che interessano la pratica medica.

C) Ibridi cellulari con minuscole porzioni di DNA umano e loro utilizzazione. Negli anni sessanta era stata fatta la scoperta fortuita dell'utilità degli ibridi cellulari instabili topo/uomo, ratto/uomo e criceto/uomo che hanno permesso di riconoscere per la prima volta la localizzazione sui cromosomi dei geni umani. Il metodo è quello di analizzare la segregazione delle caratteristiche ereditarie lungo una serie di incroci per arrivare a scoprire i geni localizzati sullo stesso cromosoma. Questo tipo di ricerca ha portato alla costruzione di un numero molto elevato di librerie cellulari ibride che sono state molto utili nella mappatura dei genomi. L'impiego di queste librerie ha consentito di mappare nuovi geni in poche ore ed esse sono state molto utilizzate per il Progetto Genoma durante gli anni novanta.

D) Frammenti di Sequenze Espresse e il Progetto Genoma. Nei primi anni ottanta si è cominciato anche a costruire librerie di DNA complementare sfruttando miscele di RNA messaggero e mettendo a disposizione geni che codificano la produzione di proteine che hanno funzione antigenica, che inducono cioè la produzione di anticorpi. Il metodo consiste nell'impiegare l'anticorpo specifico contro una certa proteina immunogena per identificare il clone di DNA complementare che codifica quella proteina. Questa strada è stata percorsa molte volte tra il 1991 e il 1996 dal gruppo di ricerca di Rockville nel Maryland diretto da Venter sia per clonare geni che controllano funzioni biologiche molto importanti sia per ottenere in brevissimo tempo la sequenza del Genoma Umano che codifica geni strutturali. Ancora nel 1991 Venter mise a punto un protocollo che accelerò di mille volte la scoperta delle sequenze codificanti. Questo protocollo si basa sull'estrazione di RNA messaggero prodotto da cellule diverse del corpo umano, della successiva produzione delle corrispondenti molecole di DNA complementare con la trascrittasi inversa e, infine, nel rapido sequenziamento automatizzato delle rispettive sequenze codificanti dette da Venter "*Expressed Sequence Tags*" (EST) ossia "Frammenti di sequenze espresse". Le EST identificano e quantificano l'espressione di singoli geni in ogni tipo di cellula del corpo umano. Nel 1991 il totale dei geni identificati con il metodo

Venter era di 3000 unità che nel 1997 era salito a circa 100.000 geni strutturali ottenuti con le 10.000 EST prodotte nel Laboratorio del Maryland.

E) Sequenze di riferimento genomico (STS) ossia “*Sequenze Tagged Sites*” Rappresentano e costituiscono l'insieme dei risultati ottenuti nell'arco degli ultimi 15 anni del secolo XX da tutti i laboratori del mondo che hanno partecipato al Progetto Genoma. Il comitato direttivo del Progetto ha deciso di puntare sull'utilizzazione dei laboratori che presentavano caratteristiche favorevoli alla prosecuzione rapida e sicura dei lavori in corso; a questo scopo ha deciso nel 1995 di arrivare a identificare e distribuire 30.000 sequenze STS. Alla fine di quell'anno le sequenze STS mappate erano già più di 15.000. Il vantaggio offerto da queste mappe parziali distanziate tra loro da 100.000 nucleotidi era ed è quello di servire da pietre miliari dette “*marcatori di riferimento*” per eseguire l'allineamento reciproco dei cloni raccolti nelle librerie genomiche come quelle dei minicromosomi YAC e BAC e altre.

F) Mappe ottiche di restrizione e microchips elettronici. Sono ambedue metodiche nuove, inventate e applicate per la prima volta negli anni novanta onde facilitare lo studio della variabilità genomica delle popolazioni con chiari intenti di applicazione pratica nella diagnostica prenatale e nella diagnosi precoce della predisposizione ad ammalare di tumori per perdita di geni oncosoppressori.

Le mappe ottiche di restrizione hanno consentito di ottenere la mappa fisica di sequenze nucleotidiche molto lunghe evitando di ricorrere al sistema elettroforetico. L'analisi della struttura di sequenze del DNA su molecole immerse in gel di agarosio addizionato di enzimi di restrizione viene fatto con impiego di fluorocromi che colorano le parti di DNA non digerite dagli enzimi. Nel 1996 erano già state ottenute mappe ottiche di minicromosomi YAC e BAC relativi ai cromosomi umani 11 e 12.

Nel 1997 è stata annunciata ufficialmente la nascita di microchips elettronici detti “*gene-chip*” elaborati da una bioindustria della California. Alla fine del secolo è stato dato il via alla utilizzazione di 60.000 settori del microchip dove venivano fissate specifiche sequenze nucleotidiche per determinare con la lettura delle ibridazioni sotto colorazione con fluorocromi, la diversità genetica di moltissimi individui, grazie alla estrema rapidità del metodo.

Alla fine del secolo Siniscalco affermava che “*la massiccia applicazione*” di questi due metodi (mappe ottiche di restrizione e microchips elettronici) “*è solo una questione di investimenti finanziari che non dovrebbe essere difficile reperire dato che l'identificazione dei fattori genetici e ambientali associati alle cosiddette malattie multifattoriali comuni è funzione diretta del progredire delle conoscenze sulle interazioni tra diversità genetica e malattie.*”

Riflessi della nuova Genetica in Medicina

Ancora prima dell'entrata in uso della tecnica di studio dei Polimorfismi con il metodo della lunghezza dei frammenti di restrizione (RFLP) e della reazione di polimerizzazione a catena (PCR) erano già state identificate nella seconda metà del Novecento diverse malattie genetiche con apposito test di *screening* e relativi programmi.

I metodi di *screening* consistevano nell'esame microscopico diretto del numero e della forma dei cromosomi come nel caso della malattia di Down o nella ricerca di un'anomalia biochimica come nella fenilchetonuria o nel riconoscimento dell'alterata morfologia dei globuli rossi come è il caso dell'anemia a cellule falciformi. Tra i programmi di *screening* entrati nella pratica medica prima del 1980 va anzitutto ricordato lo *screening* prematrimoniale basato soprattutto sull'accurata anamnesi familiare dei due potenziali genitori (se ambedue sono portatori dello stesso gene recessivo hanno una probabilità su

quattro di generare un figlio con la coppia del gene alterato). La pratica dell'amniocentesi ha permesso di praticare uno *screening* prenatale dando ai genitori la facoltà di decidere a ragion veduta sul destino del feto. Lo *screening* neonatale a sua volta si è dimostrato utilissimo per le malattie genetiche curabili come la fenilchetonuria che, se non curata, evolve in ritardo mentale e in altri disturbi fisici, e come l'anemia a cellule falciformi prevenibile con una terapia antibiotica sul neonato. Sono stati ideati anche *screening* per adulti che possono fornire indicazioni utili per mutare abitudini di vita come è il caso di fumatori che hanno cellule incapaci di produrre l'alfa-uno-antitripsina, una proteina che protegge dalle gravi malattie dell'apparato respiratorio dovute al fumo. Fin qui la situazione precedente gli anni ottanta del Novecento quando, con la spinta notevole data dal Progetto Genoma, i nuovi sistemi di isolamento e caratterizzazione dei geni hanno consentito di penetrare a fondo nel campo delle malattie genetiche dovute a mutazioni dominanti come la corea di Huntington e a quelle recessive dove i sintomi del male non si manifestano se l'individuo ha il gene mutato in uno solo dei due cromosomi che fanno coppia. Perché la malattia si manifesti i due alleli infatti devono essere ambedue mutati. Anche la distrofia muscolare, il cancro della mammella e quello del colon, il diabete, diverse malattie del sistema nervoso come la schizofrenia e la sindrome maniaco-depressiva sono state sottoposte nel corso dell'ultimo ventennio del Novecento a vari tentativi di *screening* genetici con le nuove metodiche (RFLP e PCR) con alterni risultati. Uno dei limiti di applicazione pratica di questi *screening* è dato dalla necessità di studiare la natura specifica del gene mutante in ogni componente della famiglia in cui si vuole identificare i portatori del gene stesso. L'anamnesi familiare di ripetuti casi della stessa malattia resta comunque il primo motore che avvia un programma di *screening* genetico.

Alla fine del secolo i genetisti ammettevano che il numero delle malattie genetiche trattabili con protocolli terapeutici semplici e sicuri era ancora molto ristretto per varie cause, non essendo infatti sufficiente conoscere con esattezza qual'è il gene assente o difettoso che sta alla base di una malattia genetica. La dimostrazione di questa verità è data dall'anemia a cellule falciformi il cui difetto genico fu scoperto nel 1957 ma la cura efficace è stata ottenuta solo nel 1987. Uno dei metodi di terapia genica studiati e perseguiti negli anni novanta nei pazienti affetti da fibrosi cistica e nel deficit immunitario di persone che non producono l'enzima adenosin-deaminasi è quello di introdurre copie del gene normalmente funzionante nelle cellule che ne sono carenti e che ne abbisognano. Questo si ottiene incorporando i geni purificati in virus che di norma infettano le cellule umane oppure associandoli a liposomi che riescono a penetrare nelle cellule grazie alla loro composizione ricca di acidi grassi. Johnatan Beckwith nel 1996 affermò che *"ci sono ancora limiti nell'applicazione della terapia genica"* dovuti al fatto che *"il gene, una volta introdotto nelle cellule, non diviene parte integrante del materiale ereditario cellulare e in seguito va perso o la sua espressione si fa molto attenuata"*. Altri limiti sono dati dalla scarsa capacità di indirizzare precisamente la cura genica in modo elettivo alle cellule che ne hanno bisogno, come è il caso delle cellule degli alveoli polmonari dei malati di fibrosi cistica. Infine c'è la costante preoccupazione che accompagna l'impiego di vettori virali ancora capaci di cagionare danni al paziente, essendo difficile essere sicuri che tutti i virus usati hanno perduto l'azione infettante. Infine la terapia genica non può fare nulla di positivo nei casi in cui la malattia genetica consiste in una grave e ampia alterazione cromosomica.

Viceversa la terapia genica può rendersi utile in malattie che non sono obbligatoriamente genetiche come i deficit causati da traumi, da uno stile di vita sbagliato, da esposizione cronica a fattori ambientali tossici o comunque negativi e infine nel trattamento del cancro. In quest'ultimo caso è stata utilizzata la scoperta che le cellule neoplastiche non possiedono la normale capacità delle cellule sane di esprimere le proteine MHC (*Major*

Histocompatibility Complex) con le quali una cellula sana interviene nel sistema immunitario favorendo l'incontro antigene-anticorpo. Partendo dal presupposto che in un organismo normalmente funzionante le proteine MHC farebbero subito riconoscere al sistema immunitario l'esistenza delle cellule neoplastiche che verrebbero affrontate e distrutte, la ricerca genetica ha cercato di introdurre nelle cellule tumorali i geni che codificano la produzione di interferone gamma e di altre sostanze che eccitano l'espressione delle proteine MHC.

La terapia genica alla fine del ventesimo secolo – come appare da quanto esposto finora – poteva essere definita come un tipo di cura che si trovava ancora allo stato embrionale, ricco di promesse e irto di difficoltà, del quale però era impossibile predire con certezza l'entità del suo futuro successo.

Le applicazioni della Genetica in Medicina Legale si fondano sul presupposto che non esistono sul nostro pianeta due individui – tranne forse i gemelli omozigoti - che abbiano lo stesso profilo di DNA. Nei procedimenti di identificazione di una persona implicata negli effetti di un atto criminoso, l'identificazione stessa si realizza con la tecnica RFLP (v.sopra), cioè con l'analisi dei polimorfismi che equivale in pratica all'impronta digitale. Questo tipo di analisi è stato applicato anche nel *Progetto Diversità del Genoma Umano*, che nell'ultimo decennio del Novecento è partito quasi parallelamente al Progetto Genoma Umano, per sfruttare il confronto dei polimorfismi nel DNA in gruppi etnici diversi ed in individui provenienti dalle più diverse regioni del mondo.

Anche i Vaccini hanno fatto parte della ricerca genetica che ha prodotto il vaccino contro il virus dell'epatite B introducendo un gene che codifica una proteina del guscio del virus in cellule del lievito dalle quali sono state poi estratte particelle immunizzanti di alta efficacia. Alla fine del secolo erano in atto intense ricerche genetiche per poter produrre un vaccino anti-AIDS, un altro vaccino contro una forma particolarmente resistente del bacillo di Koch e un vaccino anticolerico mediante tecniche di manipolazione genetica degli organismi patogeni che rimangono vitali e ricchi di potere antigene ma inoffensivi.

Più numerosi e più importanti sono stati nelle ultime decadi del Novecento i risultati degli studi intenti ad offrire alla classe medica una valida serie di nuovi Test Diagnostici per la diagnosi di agenti infettivi. Bastano piccole sequenze di DNA dell'organismo patogeno che vengono ibridate con il DNA del paziente e, in un secondo momento, apposite regioni del DNA amplificate con la PCR su quelle sequenze ibridate e si ottiene la dimostrazione della presenza dell'agente patogeno. Un tipico esempio di questo procedimento è il test diagnostico per il retrovirus dell'AIDS.

La capacità di purificare i geni e di trasferirli da un organismo a un altro (ingegneria genetica) ha messo in commercio diversi Prodotti Genici di notevole importanza come l'insulina umana ottenuta introducendo il suo gene codificante nel DNA di alcuni batteri come l'*Escherichia coli* che sono poi stati riprodotti in enormi quantità per fare di loro altrettante fabbriche di insulina. Altri prodotti genici scoperti nella seconda metà del Novecento sono stati l'Attivatore Tissutale del Plasminogeno ampiamente usato nella fase acuta dell'infarto miocardico con ottimi risultati, l'ormone umano della crescita, diversi altri fattori di crescita come il fattore stimolante della produzione di granulociti che è stato molto usato nelle gravi granulocitopenie dopo terapia antineoplastica, l'eritropoietina che fa produrre globuli rossi e l'enzima desossiribonucleasi che è un coadiuvante terapeutico nelle difficoltà respiratorie dei pazienti affetti da fibrosi cistica. Tutte queste proteine sono state prodotte e continuano ad essere prodotte grazie alla tecnica del DNA ricombinante (v.sopra).

Non è possibile chiudere questo lungo capitolo della genetica senza ricordare le controversie degli anni settanta sorte alla luce dei risultati delle prime manipolazioni genetiche. Ad alcuni genetisti apparve lo spettro di possibili gravi danni ecologici e di virulentazione massiva e infrenabile di microrganismi patogeni modificati dall'ingegneria genetica nascente. Nel 1975 in un congresso scientifico appositamente organizzato in California fu decisa una sospensione temporanea della ricerca in attesa dell'approvazione di un codice deontologico. Intanto i timori che avevano agitato le coscienze di una parte dei ricercatori si estesero all'opinione pubblica e alcuni governi negli USA e in Europa elaborarono e imposero nuove linee-guida per la ricerca scientifica in generale. In Germania si arrivò ad emanare disposizioni molto più restrittive di quanto gli stessi ricercatori più sensibili avevano voluto. Negli anni ottanta, alla luce dei progressi e dei risultati utili degli studi genetici, le restrizioni sono state ridotte ai campi che ancora destavano timori per l'ambiente e per la salute.

Anche i progressi del Progetto Genoma avveratisi più rapidamente del previsto servirono ad allentare i freni e le preoccupazioni legate all'ingegneria genetica. Tuttavia il mondo scientifico alla fine del secolo appariva ben conscio delle ampie implicazioni sociali, etiche e legali delle tecniche di mappatura genica e di queste si parlerà ora con alcuni richiami che sembrano rivestire un significato tutto particolare.

Nel 1989 Holtzmann aveva rilevato che la realizzazione di vasti programmi di *screening* (v.sopra) aveva comportato conseguenze di natura psicologica nei soggetti che vi si erano sottoposti: quando il risultato metteva in evidenza un difetto genetico, si manifestava nell'interessato una visione pessimistica o fatalista del proprio futuro e, viceversa, si osservava una sensazione di sollievo e di vittoria quando il test non rivelava alcunché di anormale. Pessimismo e fatalismo non si accordano affatto con lo studio e con l'applicazione pratica della genetica come è dimostrato dall'esempio della fenilchetonuria che, una volta diagnosticata in tempo utile, ponendo il bambino in una situazione ambientale favorevole (basso livello di fenilalanina nella dieta fino al completamento del periodo puberale) consente il raggiungimento di un quoziente intellettivo normale – ossia medio – in un organismo adulto perfettamente sano. Un altro caso che dimostra la sicura e grande utilità di un test genetico è quello che riguarda i soggetti che hanno un deficit genetico di produzione di alfa-uno-antitripsina che li rende estremamente sensibili ai danni da fumo di tabacco e all'aria ricca di polveri sottili nel proprio ambiente di vita e/o di lavoro. Evitare queste cause di danni al sistema respiratorio (pericolo di grave enfisema polmonare e di conseguente insufficienza respiratoria) significa sicurezza di vita normale. Anche l'uso di diete controllate povere di lipidi è risultata utile nei soggetti esposti a forme ereditarie di malattie cardiache e di tumori. Lo stesso dicasi per quanto riguarda l'utilità accertata dei test per il morbo di Alzheimer, per la corea di Huntington e per il cancro del colon. Viceversa l'isolamento di geni associati a malattie molto diffuse e di sicura familiarità come il cancro della mammella o rare come la neurofibromatosi di Recklinghausen ha un valore prognostico limitato nel senso che non consente di prevedere se la malattia si verificherà realmente e tanto meno quando. Purtroppo esistono però malattie genetiche la cui diagnosi con isolamento del gene relativo comporta una prognosi fatale entro un breve periodo di tempo come è il caso della malattia di Tay-Sachs dei piccoli bambini che evolve con peggioramento progressivo e porta a morte entro il 4° anno di vita. Del resto ogni uomo è portatore di 5-8 geni responsabili di malattie genetiche fortunatamente recessive e perché una di queste si manifesti bisogna che i due genitori siano portatori del gene della stessa malattia e anche in tal caso essa si manifesterà con la probabilità di una su quattro. In base a questi dati P.Billings e collaboratori nel 1992 concludevano che è sbagliato discriminare chiunque risulti positivo a un test per malattie genetiche, essendo questi test positivi solo l'espressione della variabilità umana.

Negli USA le compagnie di assicurazione avevano intrapreso negli anni ottanta progetti di una valutazione razionale delle possibili malattie future dei propri assicurati sfruttando l'applicazione dei test genetici; contemporaneamente nel mondo del lavoro vi furono alcuni casi di applicazione dello *screening* genetico allo scopo di individuare, prima dell'assunzione, se singoli individui erano o meno suscettibili di ammalare per l'esposizione ad eventuali agenti tossici presenti nell'ambiente di lavoro. In seguito a queste avvisaglie di possibile emarginazione sociale a causa di *screening* genetici applicati su vasta scala nel campo del lavoro e in quello assicurativo T.H.Murray e altri genetisti come S.Beckwith hanno alzato un grido d'allarme invitando a prendere in seria considerazione le gravi e imprevedibili conseguenze degli *screening* di massa. Un palese esempio negativo fu quello dello *screening* genetico per la beta-talassemia cui furono sottoposte la popolazione di Cipro e quella della Sardegna e i cui risultati furono pubblicati nel 1991 (A.Cao e coll.). I ricercatori che sono stati coinvolti in questi programmi hanno raccontato che nei primi tempi i soggetti riconosciuti portatori sani del gene mutato dell'emoglobina venivano emarginati e indicati nelle loro comunità come "*non adatti al matrimonio*" e comunque etichettati come affetti da infermità genetica a differenza della normalità degli altri abitanti. Anche il programma americano di utilizzazione massiva dello *screening* per la fibrosi cistica ha indotto, dopo gli effetti provocati dal primo sondaggio-pilota, a riconsiderare e moderare la diffusione incontrollata del test come documentato nel 1990 da B.Wilfon e N.Fost.

Nell'ultimo ventennio del XX secolo si è ravvivato tra i genetisti l'interesse per la genetica del comportamento, un campo di ricerca estremamente complesso e irto di trabocchetti che già era stato affrontato con risultati deludenti nella prima metà del secolo, ben prima della scoperta della struttura del DNA, quando la ricerca si era appuntata sui rapporti fra il comportamento umano dei gemelli o di figli adottati e i loro dati genetici rilevati con i rozzi e inadeguati mezzi di allora.

Gli studi recenti hanno avuto come oggetto della ricerca i geni responsabili dell'omosessualità, dell'alcoolismo, dell'aggressività, della psicosi maniaco-depressiva, della schizofrenia e dei disturbi dell'apprendimento. Importanti nel settore delle malattie mentali ereditarie sono state le ricerche pubblicate nel 1990 da M.Baron e collaboratori, da N.Risch, nel 1993 da J.S.Alper e M.R.Natowicz e da J.S.Alper e J.B.Beckwith, e infine nel 1994 da M.Baron.

Sul problema dei fattori biologici dell'omosessualità hanno avuto vasta eco le ricerche di M.Bailey e R. Pillard (1991) condotte su gemelli identici, ricerche che hanno indicato la reale esistenza di una componente genetica nel determinismo dell'omosessualità, anche se i due studiosi non si sono sentiti di poter affermare con sicurezza l'esistenza di un vero determinismo genetico, dato che solo nel 52% dei gemelli con identico corredo genetico è stato possibile riscontrare una vera e propria tendenza all'omosessualità. La maggior parte della comunità scientifica ha dimostrato negli anni novanta una evidente ritrosia nell'accettare i risultati delle ricerche genetiche sul comportamento umano data la complessità e discutibilità delle strategie usate per questi studi e per l'impossibilità di accertare il ruolo più o meno determinante dell'ambiente sul comportamento dell'uomo.

Molti genetisti hanno sostenuto che la genetica non può essere considerata sinonimo di predestinazione e quindi non può essere impiegata per sostenere una visione deterministica. Le stesse incertezze che abbiamo testé citato per la determinazione genetica dell'omosessualità sono state espresse per quanto riguarda l'alcoolismo. Sono stati comunque dimostrati come autentici e reali alcuni casi di determinismo genetico in certe malattie mentali, in certi comportamenti asociali come quello dovuto alla sindrome di Gilles de la Tourette (incontrollabile lancio di insulti generici e di frasi oscene in pubblico)

e nell'aggressività ereditaria con ritardo mentale legata alla mutazione del gene che esprime la produzione della monoaminoossidasi (MAO) descritta nel 1993 da H.G.Brunner e collaboratori. Del tutto infondate si sono dimostrate invece negli ultimi tempi del Novecento le conclusioni tratte nel 1965 da P.Jacobs e collaboratori da una ricerca genetica condotta su carcerati criminali portatori di un cromosoma Y supplementare (maschi XYY). La maggior aggressività imputata al cromosoma Y sopranumerario era stata considerata per un certo periodo come un fenomeno patologico immutabile che avrebbe reso del tutto irresponsabile il maschio portatore di due Y. Negli USA e in Austria questa tesi è stata abilmente sfruttata nelle aule di giustizia. Uno dei collaboratori di Brunner nel 1994 fu chiamato a deporre in vesti di perito in un processo d'appello per una condanna a morte dello stato americano della Georgia mentre nello stesso periodo in California i giudici avevano accettato il riconoscimento di una predisposizione genetica all'alcoolismo in una persona incolpata di appropriazione indebita. Tutto questo per sottolineare che anche nel campo del diritto penale il Novecento si è chiuso con una discussione ancora aperta sulla necessità di distinguere tra reati comuni commessi per libera scelta o invece per condizionamento genetico.

Un'applicazione pratica perversa e disastrosa delle prime cognizioni genetiche del Novecento basate sulle leggi mendeliane dell'eredità ha provocato nella Germania nazista degli anni trenta effetti sconvolgenti come i programmi di sterilizzazione delle cosiddette "razze inferiori" e quelli di sterminio della razza ebraica (A.Rosenberg n.1893- m.1946). Anche se programmi eugenetici di questo tipo non si sono più verificati nel mondo dopo la II guerra mondiale, in alcuni paesi, come a Singapore e in Malesia, i governi hanno incoraggiato i matrimoni tra membri di etnie considerate geneticamente superiori e hanno osteggiato quelli tra membri di etnie definite inferiori. La Cina, entro un ampio programma di politica di contenimento demografico, ha incoraggiato l'aborto in genere e soprattutto in tutti i casi di feti considerati anormali o supposti tali. A Cipro, dove nasceva un bambino beta-talassemico ogni 158 parti, il governo, preoccupato dei costi eccessivi per il sostegno e le lunghissime cure di questi bambini, approvò negli anni ottanta un programma di aborti nelle gravidanze che presentavano questo rischio. Il risultato di questa politica eugenetica ha portato ad una riduzione di oltre il 90% delle nascite di bambini malati (M.Angastiniotis e coll. 1988). La popolazione cipriota e la stessa Chiesa Ortodossa hanno approvato il programma e i suoi risultati.

Negli Stati Uniti gli *screening* genetici hanno avuto nell'ultimo ventennio del secolo una buona diffusione e la classe medica è stata concorde nel considerare utilissima l'informazione data ai genitori sul significato di certe variazioni genetiche e sulle loro conseguenze e ha anche ritenuto che l'autonomia dei genitori nel prendere le decisioni che ne derivano deve essere assolutamente rispettata dagli specialisti. Se alla fine del secolo gli *screening* prenatali venivano eseguiti con l'amniocentesi e l'analisi dei villi coriali, era già allo studio la possibilità di semplificarne l'esecuzione ottenendo cellule fetali da campioni di sangue della madre.

Pressioni sociali importanti, da quella della spesa sanitaria gravante sui bilanci governativi a quella degli interessi commerciali delle industrie biotecnologiche e farmaceutiche, facevano prevedere un loro ruolo determinante nel modificare l'atteggiamento delle popolazioni nei riguardi della diversità genetica all'interno della specie. Già allo spirare del Novecento era evidente nelle nazioni più progredite un risveglio della sensibilità sociale riguardo ai problemi e al futuro della genetica. Questo non poteva certo sfuggire agli stessi genetisti che hanno manifestato preoccupazioni per la tendenza a ricondurre tutti i problemi di salute e di comportamento asociale a cause genetiche, trascurando la fondamentale importanza degli studi epidemiologici volti da sempre a scoprire i fattori ambientali responsabili della manifestazione e/o della riacutizzazione di tante malattie di

vasto impatto sociale. Nel 1994 L.B.Andrews e collaboratori e nel 1996 J.Beckwith si dichiaravano sostenitori di una “*visione equilibrata del ruolo della genetica e di quello dell’ambiente nel campo della salute e del comportamento sociale*”, visione che “*non può che risultare di grande beneficio per l’intera società*”.

FISIOLOGIA

Non si può mettere in dubbio che i primi studi di fisiologia sono stati quelli fatti e descritti nel II secolo d.C. da Galeno di Pergamo. Nel Cinquecento il medico parigino Jean Fernel impiegò la parola “*fisiologia*” per indicare l’equilibrio delle varie funzioni degli organi e apparati dell’organismo animale e da allora lo studio della fisiologia si è sempre identificato con quello delle funzioni dell’organismo vivente. Poiché nel Settecento e tanto più nell’Ottocento i progressi della fisiologia sono dipesi direttamente da quelli della fisica e della chimica, nel Novecento si è assistito al tentativo di ricondurre le funzioni degli organismi viventi nell’ambito delle leggi della fisica e della chimica che vengono applicate alla materia priva di vita.

Nella prima metà del XIX secolo l’avvento della tavola dei pesi atomici di J.J. Berzelius, le ricerche di elettrochimica di H. Davy, le grandi scoperte di chimica fatte da J. Von Liebig e da F. Wöhler, gli esperimenti di J.P. Joule e la conseguente affermazione del principio della conservazione dell’energia avevano finito per interessare sempre più i fisiologi immersi nello studio dei sistemi di regolazione delle funzioni corporee.

Molti problemi di fisiologia furono allora risolti grazie appunto alle conquiste della fisica e della chimica. La scienza della natura era arrivata infatti a unificare i concetti di materia, di movimento e di energia e aveva consegnato il bagaglio delle nuove scoperte del secolo che moriva al Novecento, un complesso caratterizzato da una estrema vivacità di studi, di continue scoperte, di nuovi indirizzi della ricerca scientifica. La fisiologia fu sommersa da una vera valanga di novità apportate dalla chimica fisica e dalla neonata chimica biologica.

Analogamente a quanto avvenuto nel Novecento per l’anatomia, anche la fisiologia, parallelamente al corso delle ricerche di biofisica e biochimica, ha sviluppato la propria evoluzione prevalentemente nello studio della vita cellulare. Ciò è stato reso possibile per gli importanti progressi dovuti alle nuove tecniche e ai nuovi mezzi di ricerca come il microscopio elettronico, lo spettrometro a raggi X, i vari metodi di cromatografia, l’ultracentrifugazione, l’amplificazione elettronica e altri ancora.

Nel Novecento l’organizzazione intima delle cellule ha rappresentato il centro del massimo interesse dei fisiologi, come lo era stato nel secolo precedente l’organizzazione del corpo pluricellulare.

La possibilità di studiare la posizione degli atomi nelle molecole complesse della vita cellulare, la sequenza delle regolazioni chimiche del sistema riproduttivo, l’identificazione di tracce anche minime presenti in miscele complesse, la conoscenza dei minimi dettagli del processo infiammatorio con le sue implicazioni immunitarie, tutto questo ha contribuito a mutare radicalmente il volto della fisiologia che tuttavia continua a studiare le grandi funzioni dell’organismo, dalla digestione al controllo della temperatura, dal ritmo circadiano di sonno e veglia all’elettrofisiologia nell’immenso campo in massima parte ancora inesplorato della neurofisiologia.

Appare a questo punto molto difficile e rischioso un tentativo di presentare una summa di tutte le evoluzioni che gli studi di fisiologia umana e animale hanno registrato nel corso del XX secolo. Per motivi di praticità e di chiarezza illustrativa si è preferito limitarsi, nel testo che segue, alla esposizione separata dei risultati ottenuti nel corso del Novecento dagli studi di fisiologia nei settori di maggior rilievo.

I Processi di autoregolazione del “*Milieu Interieur*”

Gli studi eseguiti nella prima metà del Novecento per arrivare alla conoscenza delle leggi che regolano l'equilibrio interno dei sistemi fisiologici recano il marchio dell'Istituto Pasteur di Parigi e della scuola medica di Harvard nel New England.

Il medico, chimico e fisiologo americano Lawrence J. Henderson (1878-1942), che dopo essersi laureato a Harvard in medicina venne in Europa per lavorare nel laboratorio del chimico Franz Hofmeister (1850-1922) di Strasburgo, dedicò tutta la sua vita di biochimico e fisiologo al settore degli equilibri acido-base del sangue. Henderson dimostrò che le varie parti di un sistema fisiologico sono interdipendenti e finalizzate a conservare un sistema coordinato e stabile. Le ricerche di Henderson si sono sviluppate sulla base di alcune scoperte consegnate ai successori dai fisiologi della seconda metà dell'Ottocento che già avevano riconosciuto la capacità dell'organismo vivente di mantenere stabile una composizione acido-base.

Nell'anno 1900 il chimico August Fernbach (1860-1932), con i suoi studi presso l'Institut Pasteur di Parigi sull'attività enzimatica del malto, aveva dimostrato l'azione “*tampone*” dei fosfati, sempre pronti a cedere o assorbire ioni idrogeno da una soluzione. I sistemi tampone studiati da Henderson dapprima su modelli artificiali di laboratorio e poi nei liquidi organici lo portarono alle seguenti conclusioni: **a)** i sistemi tampone fisiologici sono molto più rapidi ed efficienti delle soluzioni tampone normalmente usate dai chimici in laboratorio. La coppia coniugata bicarbonato-acido carbonico che è il sistema tampone predominante nei Mammiferi, relativamente inefficace *in vitro*, diventa invece molto potente nel contesto fisiologico dell'organismo. Un aumento della concentrazione idrogenionica del sangue, infatti, stimola la ventilazione polmonare incrementando così l'eliminazione di CO₂; questa compensazione controbilancia attivamente la diminuzione di bicarbonato nel plasma e ristabilisce il rapporto di tamponamento del sistema bicarbonato-acido carbonico. **b)** nei liquidi organici operano molte combinazioni di sistemi tampone, ognuna con un limitato campo di attività. **c)** i sistemi tampone specifici impiegati dall'organismo sono i migliori possibili per regolare con estrema rapidità ed esattezza il pH. **d)** quanto sopra spiega perché gli organismi viventi sono perfettamente adattati alle condizioni chimiche e fisiche dell'ambiente e perché la loro caratteristica principale è la capacità di autoregolare tutti i problemi fisiologici.

Fra il 1913 e il 1919 Henderson si mise a studiare le interrelazioni che si formano in fisiologia tra i molti sistemi-tampone del sangue. Studiò sette variabili interdipendenti cercando di impiegare modelli matematici per i suoi dati sperimentali. Con il nomogramma cartesiano Henderson riuscì a stabilire rapporti precisi e prevedibili sugli effetti della modificazione di una delle variabili su tutte le altre. L'ultima proposta di Henderson fu quella di applicare i metodi matematici a tutti i sistemi fisiologici e questa rappresentò una pietra miliare nello sviluppo della ricerca fisiologica per tutto il resto del secolo. Nel 1920, analizzando lo stato di acidosi, scrisse che “...*non esiste un processo o un fenomeno essenziale e determinante, ma ognuno è parte integrante, come causa e come effetto, in un ciclo di mutamenti patologici...così la condizione conosciuta come acidosi può essere veramente compresa solo in termini di organizzazione del corpo come un tutto*” e in una classica monografia del 1928 dimostrò che era possibile concepire le funzioni del sangue, come si andava affermando a proposito del sistema endocrino, in termini di attività integrativa.

Oltre a Henderson anche altri fisiologi del primo Novecento si sono dedicati allo studio delle regole che mantengono l'equilibrio biochimico e funzionale del “*milieu interieur*” indicato agli studiosi con profetica e chiara visione già da Claude Bernard. Essi furono J. Haldane (1860-1936), sir Joseph Bancroft (1872-1947) e Walter B. Cannon (1871-1945).

Il periodo “quantitativo” delle ricerche sulla regolazione chimica della respirazione fu aperto dalla figura più eminente della fisiologia inglese del primo Novecento, John Scott Haldane. Nel 1905 Haldane e Joseph Prestley analizzarono sistematicamente centinaia di campioni di aria alveolare prelevata da soggetti nelle più diverse condizioni fisiologiche. I risultati che ottennero dimostrarono che: 1- a differenza di quella dell’ossigeno, la pressione del diossido di carbonio rimaneva sorprendentemente costante al variare della pressione barometrica, 2- i centri respiratori erano squisitamente sensibili a ogni incremento della pressione alveolare di CO₂, 3- l’apnea che seguiva all’iperventilazione era causata dall’ipocapnia e poteva essere prevenuta con la somministrazione di aria al 5,5% di diossido di carbonio, 4- durante il lavoro muscolare la pressione alveolare di CO₂ saliva e questo induceva un forte incremento della ventilazione polmonare

Metabolismo dell’acqua e degli elettroliti

Questo particolare metabolismo corrisponde ad un insieme funzionale perché l’acqua – non fissa dal punto di vista chimico – è in pratica una soluzione isotonica che ha una composizione relativamente costante di elettroliti e una proporzione un po’ meno costante di sostanze inorganiche; le variazioni che riguardano uno di questi componenti comportano di conseguenza quelle degli altri e viceversa. Queste sono nozioni fondamentali elaborate dai fisiologi fin dal periodo di transizione tra Ottocento e Novecento.

La distribuzione dell’acqua nelle varie parti del corpo (acqua intracellulare e acqua extracellulare, ecc.) dipende dal contenuto di sostanze minerali disciolte nelle sue diverse ripartizioni. Gli ioni Na⁺ e Cl⁻ predominano quantitativamente nel liquido extracellulare. Il K⁺ predomina invece in quello intracellulare. L’apporto dell’acqua è dato da quello degli alimenti liquidi e solidi e dall’acqua di ossidazione del metabolismo intermedio: 100 gr. di grasso producono circa 100 ml di acqua, la stessa quantità di proteine e di carboidrati produce rispettivamente 40 e 60 ml di acqua di ossidazione.

Nel soggetto normale adulto l’acqua fornita dagli alimenti solidi è sufficiente a coprire le perdite di acqua extrarenali definite “perspiratio insensibilis” perché sono perdite che avvengono attraverso la cute e il respiro.

Il volume dell’acqua endocellulare è stato calcolato aggirarsi sul 40% del peso corporeo di un adulto normale e sano. La ripartizione nei diversi territori del corpo umano dipende più dalla superficie cutanea che dal peso corporeo. Poiché il volume relativo dell’acqua endocellulare dipende dalla pressione osmotica effettiva dell’acqua extracellulare, l’elasticità della pelle e del tessuto sottocutaneo non riesce a fornire un’idea nemmeno approssimativa dello stato di idratazione endocellulare, essa si limita a fornire una valutazione abbastanza vicina alla realtà dello stato di idratazione extracellulare. Quindi per valutare la distribuzione di acqua extracellulare ed endocellulare si deve ricorrere alla determinazione del Na⁺ nel siero di sangue mentre il volume plasmatico viene valutato basandosi sui valori dell’ematocrito, sul numero dei globuli rossi o sulla quantità di emoglobina: queste nozioni rappresentano altrettante conquiste degli studi di fisiologia della prima metà del secolo XX. I confronti tra peso corporeo e numero di globuli rossi o la concentrazione di proteine nel siero (protidemia) sono altrettanti metodi validi per valutare la modificazione dello stato di idratazione. La sete rappresenta il meccanismo naturale che, in condizioni di normalità, indica con esattezza i bisogni di idratazione attuali dell’organismo. La sensazione di sete è causata e influenzata da diversi fattori come lo stato di idratazione endocellulare che a sua volta dipende dalla concentrazione elettrolitica dell’acqua extracellulare, dal volume plasmatico e da altri fattori ancora.

In condizioni assolutamente normali e in stato di riposo le perdite giornaliere di acqua sono di 2500 ml in tutto, di cui 400-600 ml per via transcutanea, 400 ml dall'apparato polmonare, 60-250 ml dal tubo digerente e 600-1600 dalla diuresi.

Relazioni osmotiche dei liquidi organici

La concentrazione osmotica è fondamentale per l'ottimale ripartizione dell'acqua nell'ambito extracellulare ed endocellulare, nel territorio vascolare e perivascolare e nel meccanismo di filtrazione endocorporeo.

L'equilibrio tra l'acqua endocellulare e quella extracellulare dipende dalla loro concentrazione reciproca di particelle osmoticamente attive (molecole e ioni). Nel 1928 il fisiologo tedesco F. Leuthardt pubblicava i seguenti dati riguardanti i fattori che condizionano la ripartizione dell'acqua tra lo spazio endovascolare e lo spazio interstiziale: quelli che favoriscono la trasudazione sono la pressione capillare e la pressione oncotica del liquido interstiziale mentre quelli che inibiscono sono la tensione tissutale e la pressione oncotica del plasma. Il liquido interstiziale è un ultrafiltrato del plasma e si distingue da questo solo per la concentrazione molto inferiore di sostanze proteiche: la pressione osmotica del plasma è a 38°C di 7,70 atm. ossia 5852 Torr (mm Hg). Questa pressione osmotica comporta un abbassamento crioscopico di 0,56°C ossia una concentrazione di tutte le particelle ad effetto osmotico (osmolarità) pari a 301,4 mosm.

I valori funzionali dell'apparato renale mostrano una elevata capacità di filtrazione per il Na⁺ e per i cloruri - che hanno un'alta concentrazione nel siero mentre la filtrazione è meno forte per i fosfati - e per il K⁺ che hanno concentrazioni sieriche inferiori. I glomeruli filtrano 137 litri nelle 24 h. e quindi il mantenimento dei normali valori di acqua, Na⁺ e Cl⁻ è dovuto esclusivamente al buon funzionamento del riassorbimento tubulare. Quando la filtrazione glomerulare è ridotta si verifica anche una ritenzione di fosfati ma non di Na⁺ e Cl⁻. L'eliminazione del K⁺ e degli altri elettroliti è regolata dall'attività di riassorbimento tubulare e, in determinate condizioni, anche dalla vera e propria secrezione dei tubuli renali (Berliner e coll. 1951) per cui una ipercaliemia non può avvenire in reni sani altro che in caso di oliguria molto spinta. Nel 1950 Darrow e Pratt, tenuto conto del valore di 1200 osm di costituenti urinari eliminati nelle 24 ore con una alimentazione normale (J.L. Gamble), hanno calcolato la quantità di urina minima necessaria per eliminare, con un certo potere di concentrazione, tutti i suoi normali costituenti. Queste quantità raggiungono il massimo quando l'alimentazione è molto ricca di proteine ed il minimo quando predominano invece i carboidrati. H.F. Weisberg nel 1962 calcolò che nel digiuno l'apparato urinario elimina circa 800 mosm di sostanze. Quando poi l'alimentazione è ricca di calorie e di carboidrati ma povera di proteine - un regime alimentare che rallenta la distruzione proteica dell'organismo - la quantità delle sostanze che fanno alzare l'osmolarità è ancora più ridotta.

Neurofisiologia – Fisiologia dell'impulso nervoso

L'impulso nervoso è stato definito nel 1959 dall'elettrofisiologo Harry Grundfest *“la manifestazione elettrofisiologica di un adattamento evolutivo che ha trasformato la cellula recettore-effettore primitiva in un neurone”*. Lo stesso studioso, in seguito, confermando questo concetto, chiariva che nel neurone, anche se ingresso e uscita sono molto distanti fra loro, il messaggio ricevuto dal neurone all'ingresso si propaga lungo l'assone fino alla sua terminazione dove provoca la secrezione di una sostanza specifica detta *“trasmettitore”*. Infatti, come è ben noto, è il trasmettitore che attraversa la fessura sinaptica per agire sulla

membrana di un'altra cellula. La capacità di specializzazione funzionale del complesso "recettore-conduttore-trasmettitore" contenuto entro i confini del singolo neurone, dipende dalle proprietà specifiche delle componenti eccitabili della membrana cellulare. Questa, essendo elettricamente eccitabile, risponde a uno stimolo adeguato con una variazione di conduttanza che si esprime in una variazione di permeabilità della membrana cellulare ai diversi ioni. In altri termini la risposta consiste in uno spostamento dal potenziale di riposo a quello d'azione che si identifica con l'impulso. L'impulso viaggia dentro l'assone fino alla sua terminazione portando l'azione depolarizzante che induce la secrezione finale del trasmettitore. Tutto ciò rappresenta il risultato di una lunga e nutrita serie di studi condotti nel XX secolo da parte dei fisiologi e, in modo del tutto particolare dagli elettrofisiologi ed è stato magistralmente descritto e dimostrato in modo inoppugnabile da Eccles nel 1964.

Nel corso di questa operazione l'assone svolge la funzione di un cavo che trasporta senza decremento il messaggio codificato sotto forma di impulsi.

Gli elettrofisiologi del XX secolo hanno considerato il citoplasma della cellula come un conduttore ionico caratterizzato da una resistività piuttosto bassa ma abbastanza alta se la si paragona a quella di un conduttore metallico. Il dielettrico che si forma sulla regione centrale idrofoba della membrana cellulare fra conduttore interno e conduttore esterno ha uno spessore che è stato valutato tra 50 e 1000 ångstrom, e la membrana stessa lavora come la combinazione di una resistenza in parallelo con una capacità.

L'elettrotono – così chiamato nel 1879 dal fisiologo tedesco L. Hermann – è l'effetto del passaggio della corrente applicata da un nervo a un muscolo nelle aree circostanti alla distanza che separa i due elettrodi. Hermann sostenne che l'elettrotono era dovuto alla presenza di un buon conduttore (il citoplasma) circondato da un cattivo conduttore (la superficie della cellula). Riproducendo l'elettrotono con un modello fisico Hermann ipotizzò che fossero le caratteristiche di cavo dell'assone a permettere la progressione dell'impulso nervoso fino alla sinapsi. Nel 1899 egli paragonò la trasmissione dell'impulso al diffondersi dell'esplosione dei granuli della polvere da sparo. Questa visione di fine Ottocento rimase lettera morta per molti decenni finché, nel 1946, A.L. Hodgkin e W.A.H. Rushton – e, l'anno seguente, L. Davis e R. Lorente de Nò – pubblicarono una analisi completa teorica e sperimentale delle proprietà di cavo, i primi usando l'assone isolato del gambero di mare teso tra due mollette. Gli esperimenti condotti a lungo da queste due équipes portarono ad una soluzione il cui successo fu dimostrato dalla coincidenza dei dati da loro ottenuti per via sperimentale con quelli ricavati dalle curve di calcolo ottenute con l'analisi della diffusione elettrotonica lungo un assone.

Altre ricerche condotte nel 1961 da Mathewson e coll, nel 1965 da Nakamura e coll. e nel 1968 da Murlock e coll. hanno scoperto e più volte confermato che la capacità di membrana è dipendente solo dalle dimensioni e dalla costante dielettrica della componente lipidica della membrana stessa. La resistenza di membrana varia sensibilmente da specie a specie e anche a seconda del tipo di cellula, come si verifica ad es. nel caso delle fibre muscolari "lente" dove è molto più alta che in quelle "rapide". Tutti questi dati e altri ancora (che qui non riportiamo) sono stati forniti dalla ricerca condotta su diversi animali d'esperimento e hanno rivelato che la cellula nervosa in genere, ma in modo particolare il suo assone, non è un conduttore che assomigli per bontà ad un cavo elettrico perché la resistenza interna dell'assone è molto più alta: è di circa sei ordini di grandezza rispetto a quella dei cavi costruiti con fibre artificiali. Inoltre lo spessore di membrana è inferiore a quello di un isolante elettrico. Tuttavia per trasmettere un segnale elettrico l'assone presenta caratteristiche superiori a quelle di un cavo metallico. Anche se è vero che nel cavo la perdita spaziale del segnale è molto inferiore a quella dell'assone, in questo la distorsione in alto e in basso del segnale nel tempo è molto inferiore a quella del cavo. Nei

cavi le distorsioni sono state tecnicamente corrette con l'introduzione di amplificatori elettronici. Il medesimo principio è presente nell'assone e nelle fibre muscolari conduttrici dove l'amplificazione non serve solo a correggere le distorsioni ma soprattutto a colmare le perdite di segnale in ampiezza dovute al decremento spaziale.

Grundfest nel 1975 ha fatto per la cellula nervosa il paragone con un “*doppio sistema di Donner*” con un potenziale di riposo negativo e con forze elettromotrici interne positive fornite dalle batterie del Na^+ e dei cationi bivalenti. Infatti la membrana cellulare risponde a uno stimolo elettrico depolarizzante che fa aumentare la conduttanza delle batterie ioniche positive sì da evidenziarne le forze motrici.

Non ci soffermeremo sui particolari tecnici che riguardano il potenziale d'azione assonico alla cui conoscenza molti elettrofisiologi hanno contribuito con i loro studi tra il 1938 e il 1975 e ci limiteremo a registrare una serie di conclusioni alle quali essi sono giunti alla fine di quel lungo periodo: A) il potenziale d'azione, una volta scattato, diventa una risposta autogena che si mantiene da sola sfruttando la corrente necessaria a generarsi dalle batterie ioniche del neurone; B) la generazione di un potenziale d'azione “*tutto o nulla*” è analoga alla formazione degli impulsi digitali di un calcolatore elettronico; C) esiste sempre un tempo di latenza fra il momento di applicazione della corrente e quello in cui il potenziale di membrana raggiunge il punto critico di scarica. Se la corrente è bassa il tempo si allunga e anche la temperatura fa aumentare consensualmente la latenza; D) al livello di soglia più alto la corrente è sufficientemente forte da far aumentare la capacità fino al livello critico di scarica e la risposta locale non aggiunge nulla al raggiungimento della soglia (Bennett e coll. 1970) E) nell'eccitazione il fattore più importante è il tempo utile per caricare la capacità di membrana fino al valore di soglia; infatti quando la stimolazione è molto breve manca il tempo necessario perché possano verificarsi le variazioni nelle aree elettricamente eccitabili della membrana; F) anche se non sempre si riesce a formulare bene in maniera matematica i complessi eventi che si attuano alla base delle risposte liminali (D.Noble e R. Stein, 1966), la cronassimetria si rivela molto utile nel diagnosticare i difetti di trasmissione neuromuscolare, soprattutto quando si tratta di lesioni del nervo; G) in un determinato tipo di assone forma e durata del potenziale d'azione sono molto costanti in determinate condizioni ioniche e di temperatura, tenuto conto che l'ampiezza del potenziale d'azione dipende anzitutto dalla forza elettromotrice della batteria di Na^+ e dalla conduttanza massima della membrana rispetto al Na^+ , oltre che dalla rapidità di entrata in attivazione del Na^+ e di attivazione del K^+ . Inoltre tempi di depolarizzazione e di ripolarizzazione variano molto a seconda che si tratti di fibre mieliniche A o B e di fibre amieliniche C sensoriali afferenti o invece di fibre amieliniche efferenti autonome (ricerche di H. Gasser e di H.S. Grundfest del periodo 1936-1939, di H. Gasser nel 1950, di S. Yamagishi nel 1971 e di H.P. Rang e coll. nel 1968).

Un settore dell'elettrofisiologia dell'impulso nervoso che ha molto interessato i ricercatori fin dal secondo decennio nel Novecento è stato quello della conduzione dell'impulso. In seguito è stato accertato che, una volta che un potenziale d'azione sia scattato, l'elettrogenesi è tanto grande che supera le differenze regionali di soglia e perciò si può verificare non solo una propagazione ortodromica dell'impulso ma anche una sua diffusione antidromica come è stato registrato da Edwards e Ottoson nel 1958 e confermato da Grampp nel 1966. Si è constatato che la velocità di conduzione assonica varia molto da specie a specie e per farle raggiungere valori altissimi – come è il caso di animali che devono eseguire movimenti muscolari rapidissimi – la natura ha dotato alcune specie (molti Invertebrati, Artropodi, certi Pesci) di assoni giganti. Nei vertebrati l'aumento della velocità di conduzione nelle fibre mieliniche, anziché mediante assoni giganti, è ottenuta con la “*velocità saltatoria*” così chiamata perché a livello dei nodi Ranvier (dove si interrompe l'isolamento offerto dalla guaina mielinica) la corrente

generata dal potenziale d'azione esce come negli assoni amielinici, ma, siccome nei tratti mielinici non c'è perdita di corrente, la progressione dell'impulso corre più veloce da nodo a nodo, saltando elettronicamente i tratti internodali. Nel 1925 R.S. Lillie, che studiò questo fenomeno in un modello composto da un filo metallico isolato con una serie sovrapposta di manicotti di vetro, predisse giustamente che la conduzione di tipo saltatorio è più veloce di quella ininterrotta da punto a punto. In realtà la conduzione saltatoria nelle fibre nervose mieliniche fu indicata per la prima volta dai fisiologi americani J. Erlanger e E.A. Blair nel 1934, ma confermata in via definitiva da A.F. Huxley solo nel 1949 e ulteriormente sottoposta ad approfondimenti da parte di I. Tasaki nel periodo 1953-1959. Da questo studioso si è appreso che la conduzione saltatoria è pochissimo influenzata dal raffreddamento del segmento internodale e che, viceversa, quando il raffreddamento interessa l'area dove nasce il potenziale d'azione la latenza subisce un prolungamento.

La classificazione dettagliata di tutte le varietà di assoni dei mammiferi è il risultato degli studi di fisiologia comparata condotti da H.S. Gasser e da H. Grundfest tra 1936 e 1950. Questi due studiosi hanno messo in luce la correlazione che esiste tra diametro degli assoni, velocità di conduzione, durata degli impulsi, comportamento dei potenziali postumi e altre proprietà ancora. Le fibre A, mieliniche, trasportano informazioni al S.N.C. e comandi efferenti alla muscolatura scheletrica e servono da vie di comunicazione interna dello stesso sistema nervoso centrale da neurone a neurone. Le fibre A più grosse e con maggiore velocità di conduzione dei Mammiferi sono quelle del fascio dorso-spino-cerebellare di Flechsig. Le fibre mieliniche B e Cs amieliniche fanno parte del sistema autonomo dove possono essere fibre pregangliari che afferiscono alle ultime cellule nervose del sistema ortosimpatico e parasimpatico oppure possono rappresentare gli assoni efferenti di dette cellule. Le fibre Cdr sono fibre afferenti ai nuclei centrali dei nervi sensoriali e trasportano – come le fibre A – sensazioni dolorifiche. A differenza dell'alta velocità di conduzione delle fibre afferenti A, le Cdr hanno una conduzione molto più lenta. D.C. Thrusch ha pubblicato nel 1973 quattro casi di insensibilità dolorifica congenita ipotizzando l'assenza isolata delle fibre A di maggior spessore o delle sole fibre amieliniche o di ambedue.

Quando il potenziale d'azione è scattato l'assone entra in una fase detta di “*refrattarietà*” assoluta di fronte a un secondo stimolo di qualsivoglia intensità, e questo per un periodo che è pari alla durata dell'impulso che l'ha provocato; questo è dovuto all'azione depolarizzante del Na^+ e alla comparsa e attivazione dei K^+ . Il recupero dei Na^+ e il decremento dell'azione dei K^+ portano al graduale ripristino dello stato di responsività e questa fase è detta di refrattarietà relativa. Uno stimolo applicato in questa seconda fase deve essere ben più alto del precedente per scatenare l'elettrogenesi che, comunque, fornirà una risposta graduale destinata a decremento. La capacità dell'assone di rispondere in modo ripetitivo a uno stimolo liminare o sopraliminare è un requisito funzionale importante proprio di quegli assoni che recano informazioni sensitive al SNC. Tra il 1948 e il 1963 Narahashi e Hodgkin hanno accertato l'enorme variabilità nei diversi tipi di assoni per quanto riguarda la capacità di rispondere ripetitivamente.

Nel corso degli anni sessanta le ricerche degli elettrofisiologi si sono pure concentrate sulle normali modalità d'insorgenza dell'impulso e hanno accertato che il neurone sensitivo inizia l'attività conduttiva del suo assone con un messaggio di impulsi i cui numero e frequenza corrispondono alla informazione ricevuta sulla intensità e durata dello stimolo. Gli impulsi nascono di regola in un punto dell'assone che è posto in immediata vicinanza del corpo cellulare. Nelle cellule nervose post-sinaptiche il cui corpo presenta un'area dendritica-recettrice molto estesa (vedi la neuroanatomia della corteccia cerebellare e cerebrale) le informazioni che arrivano sono accompagnate da un elettrotono che dalla sinapsi si diffonde alla zona di insorgenza del potenziale d'azione. L'albero dendritico del

neurone sensitivo diventa un luogo di sommazione elettrogena che riflette gli effetti della stretta vicinanza di sinapsi attivate simultaneamente.

Nel campo degli organi di senso è stato scoperto che i recettori uditivi, vestibolari e gustativi dei vertebrati non hanno assoni e sono quindi cellule recettrici-effettrici come proposto da Grundfest nel 1961, cellule cioè che liberano un mediatore il quale eccita le terminazioni recettive di un assone afferente che porta il messaggio al SNC. L'organizzazione della retina è ancora più complessa perché, essendo una parte del cervello primitivo (paleoencefalo) ha diversi strati di cellule interposti tra i fotorecettori (coni e bastoncelli) e i neuroni gangliari, che formulano un messaggio di impulsi che viene condotto al cervello. Anche il modo con il quale questo messaggio inizia è molto complesso, fatto che è stato dimostrato abbondantemente da molti ricercatori nel periodo compreso tra il 1968 e il 1973. Al buio i fotorecettori divengono permeabili al Na^+ cosicché le cellule sono depolarizzate. L'illuminazione riduce la permeabilità al Na^+ , diminuisce la conduttanza e fa ripolarizzare le cellule. La complessità morfofunzionale della retina permette una notevole varietà di interazioni, alcune delle quali refiniscono accuratamente il messaggio che deve pervenire al cervello.

Poiché l'ingresso della cellula post-sinaptica è elettricamente inecceccabile, la trasmissione dell'informazione avviene per mezzo di un segnale chimico che viene liberato nella sinapsi dalle terminazioni pre-sinaptiche sotto forma di vescicole contenenti il mediatore chimico. Alla fine degli anni sessanta si riteneva che il numero di mediatori chimici fosse altissimo, ma alla fine del decennio successivo solo pochi di essi erano stati ben individuati: tra questi l'adrenalina e la noradrenalina, l'acetilcolina preferita dai neuroni sensitivi, l'acido gamma-aminobutirrico (GABA) particolarmente concentrato negli assoni ad azione inibitrice, le catecolamine e diversi aminoacidi. Le vescicole, per lo più sferiche ma anche ellittiche e di varie dimensioni, sono risultate trasparenti agli elettroni. Esse liberano il mediatore chimico per estrusione (esocitosi) dalla membrana sinaptica. La liberazione può essere fatta applicando una corrente depolarizzante e l'effetto persiste anche dopo esaurita o eliminata l'elettrogenesi del potenziale d'azione. Una piccola attività post-sinaptica può verificarsi per liberazione casuale o spontanea di una o più vescicole. Ciò può avvenire in qualsiasi tipo di sinapsi, eccitatoria o inibitrice, ed è quindi indipendente dal tipo di assone e di mediatore. Nei Vertebrati il veleno del ragno Vedova nera, oltre che bloccare i potenziali evocati nelle sinapsi dei loro assoni, mette in forte risalto l'attività sinaptica spontanea. Le differenze tra liberazione di mediatore normalmente indotta e quella spontanea non hanno ancora trovato spiegazione.

Il controllo dell'attività secrete viene realizzato grazie all'intervento di diversi meccanismi fra i quali anche quelli metabolici, cosicché la secrezione è mantenuta per riassorbimento o captazione di alcuni prodotti di degradazione come è stato osservato da J. Burn e M. Rand nel 1959 e confermato da M.A. Enero e coll. nel 1972. A loro volta E. Holtzmann e coll. nel 1971 hanno dimostrato che le vescicole presinaptiche sono capaci di captare molecole di diverse sostanze. I meccanismi elettrofisiologici di controllo della secrezione sono essenzialmente due, il primo nervoso presinaptico detto anche "indiretto" osservato diffusamente nel sistema nervoso dei Vertebrati nel 1974 e anni precedenti da Eccles e nel 1968 da Euler e coll. Trattasi di un effetto inibitore del mediatore GABA sulla conduttanza nelle terminazioni dell'assone eccitatorio; il secondo meccanismo di controllo è quello dipendente dalla facilitazione perché consiste nella misura in cui l'impulso promuove la secrezione a livello sinaptico a seconda che essa sia facilitata o meno. S. Ochs nel periodo 1972-1974 ha studiato il trasporto assoplasmatico di materiali nei Mammiferi dove il trasporto "veloce" spinge dal citoplasma alla sinapsi alla velocità di 400 mm al giorno materiali composti da proteine di peso molecolare tra 50.000 e 500.000 e da polipeptidi di peso tra 5000 e 10.000. Questo trasporto veloce è stato visto in azione anche

dal citoplasma verso i dendriti da W.G. Kreutzberg e coll. nel 1973. Tra le molecole individuate nelle vescicole di trasporto veloce sono state identificate l'acetilcolina, l'acetilcolinesterasi, le catecolamine. Le sostanze di alto peso molecolare vengono trasportate in modo "lento", cioè a 1/100 delle rapidità del sistema "veloce".

Un ultimo campo di studi che qui si desidera menzionare è stato negli anni settanta quello della ipersensibilità da denervazione che è di particolare interesse per le sue ricadute in clinica neurologica. Con questa definizione gli elettrofisiologi hanno inteso designare l'aumento di sensibilità verso gli agenti eccitatori da parte dell'assone presinaptico quando è entrato in fase di degenerazione walleriana. Questo fenomeno è stato particolarmente studiato nei Vertebrati da S. Thesleff nel 1961, da D.M. Farnbrough nello stesso anno e da diversi altri tra il 1969 e il 1972. Questi AA hanno constatato che dopo denervazione le strutture chemorecettive postsinaptiche superano i limiti della placca terminale e cominciano a svilupparsi un po' dappertutto sulla membrana cellulare. Questo fenomeno rientra progressivamente man mano che l'assone interrotto procede con la sua rigenerazione. La denervazione induce nelle fibre muscolari denervate, oltre al potenziale di azione normale un potenziale d'azione aggiunto che non viene bloccato dalla tetrodotossina (che invece elimina quello normale) e questo è dovuto all'attivazione del Na^+ . La denervazione delle fibre muscolari lente che di norma sono innervate da fibre a conduzione lenta, le trasforma, in caso di reinnervazione, in fibre muscolari di tipo "rapido" che generano potenziali d'azione che vengono bloccati dalla tetrodotossina e dalla mancanza di K^+ . Il fenomeno però è temporaneo.

Non sembra ora il caso di continuare il filo del riepilogo storico fin qui svolto in campi della neuroelettrofisiologia molto avanzati e non ancora di palese interesse per la medicina, quali sono le correnti di campo e le giunzioni elettrotoniche o efaptiche intercellulari.

Fisiologia delle Comunicazioni neuronali

Questa parte della neurofisiologia ha trovato il suo rapido sviluppo soprattutto negli ultimi quindici anni del XX secolo. Le sue basi risalgono alla sistematica introduzione nella pratica di ricerca del **microscopio elettronico a scansione** che ha consentito di arrivare fino a oltre 6000 ingrandimenti con una definizione di 1 millesimo di millimetro. E' stato infatti questo meraviglioso strumento che ha permesso di porre definitivamente termine alle discussioni e incertezze sulle terminazioni delle cellule nervose. Per la prima volta il microscopio elettronico ha dimostrato che tra cellula nervosa (neurone) e parte innervata (detta comunemente "effettore") non c'è mai vera e propria continuità in quanto le due strutture sono separate da uno spazio di 200 ångstrom, spazio che permette la trasmissione del messaggio assicurando l'indipendenza delle due strutture. Questo spazio insieme alla terminazione nervosa e all'effettore forma la sinapsi. Oggi si ritiene che ogni cellula nervosa abbia una superficie ricevente capace di accogliere più di 100.000 sinapsi ed è sufficiente questo dato per esemplificare l'estrema ricchezza e complessità dei collegamenti interneuronali del sistema nervoso centrale (SNC).

Tre sono le proprietà delle sinapsi: 1) la trasmissione è unidirezionale 2) è ben focalizzata con un sito preciso della cellula che riceve l'informazione 3) è specifica perché specifici sono sia la sostanza che fa da neurotrasmettitore sia il recettore della membrana cellulare postsinaptica, quella cioè che riceve l'informazione.

La funzione della sinapsi, a fondo studiata nel corso degli anni settanta, è relativamente semplice: quando la sua prima componente, cioè la membrana detta presinaptica, riceve il potenziale d'azione lanciato dal neurone, si depolarizza e questo fa immediatamente aprire i canali degli ioni Ca^{++} che lasciano appunto entrare il Ca^{++} che fa sciogliere le vescicole

che contengono la sostanza chimica detta “neurotrasmettitore”. Questo, una volta liberato, attiva i recettori specifici posti per lui sulla membrana postsinaptica della cellula ricevente. A questo punto – come scoperto da P.S. Mepherston e P. De Camilli nel 1944 – le vescicole svuotate del loro trasmettitore ritornano vuote all’interno della presinapsi dove si riforniscono di nuovo, pronte a ripetere quanto appena fatto. Il destino del neurotrasmettitore, una volta effettuata l’attivazione del recettore, può variare: D. Attwell e coll. negli anni 1993 e 1994 hanno scoperto che esso può essere ripreso dalla presinapsi di provenienza per essere immagazzinato e riutilizzato, oppure può essere distrutto da enzimi o catturato dalle cellule della glia o finire diluito nel liquido extracellulare.

La risposta della cellula che ha ricevuto il messaggio dipende dal numero di molecole di neurotrasmettitore che l’hanno attivata e dal numero dei suoi recettori che sono stati attivati. I neurotrasmettitori (molecole sintetizzate nel citoplasma della presinapsi e conservate entro vescicole) possono appartenere al tipo “classico” come l’acetilcolina, le monoammine e gli aminoacidi, fra i quali predomina quantitativamente il GABA e ogni neurone può sintetizzare solo uno di loro, oppure possono far parte della grande famiglia dei neuropeptidi isolati per la prima volta nel 1987 da J.K. McQueen e da A. Harmor.

Delle monoammine fanno parte l’adrenalina, la noradrenalina, la dopamina, la serotonina e l’istamina. I neuroni noradrenergici sono più diffusi degli adrenergici; la degenerazione delle cellule dopaminergiche provoca il morbo di Parkinson e altre sindromi extrapiramidali; i neuroni serotoninergici sono legati ai processi affettivi e cognitivi. Il GABA è il neuromessaggero inibitorio più importante e più diffuso del SNC e trova nella parte postsinaptica due tipi di recettori – GABA_A e GABA_B – i cui diversi ruoli non sono ancora risultati chiari alla fine del Novecento. Benzodiazepine ad azione ansiolitica e barbiturici ad azione antiepilettica potenziano il sistema nervoso centrale GABAergico. L’acido glutammico è il neurotrasmettitore più comune e più diffuso nel cervello e, negli ultimi tempi del secolo, è stata molto studiata la sua presenza nei nuclei dell’ippocampo dove si svolgono i meccanismi di fissazione della memoria.

I neuropeptidi, più che neurotrasmettitori sono stati considerati alla fine del Novecento dei modulatori della trasmissione in associazione ad acetilcolina, noradrenalina, calcitonina e altri neuromessaggeri (Clementi, 1995). Molti sono i neuropeptidi isolati finora. Tra i più studiati citiamo l’ossitocina, la vasopressina e tutti gli ormoni dell’ipotalamo (somatostatina, fattore rilasciante della tireotropina, fattore rilasciante delle gonadotropine) ma la scoperta più importante è stata senz’altro quella dei neuropeptidi oppioidi – endorfine ed encefaline – che stimolano i recettori per la morfina. Dal punto di vista della biologia cellulare la grande differenza tra neurotrasmettitori classici e neuropeptidi sta nel fatto che questi ultimi sono prodotti nel citoplasma della cellula nervosa mentre i classici vengono prodotti nella porzione presinaptica che può essere anche molto lontana dalla cellula nervosa di cui è l’ultima emanazione anatomica. Questo comporta tempi di rifornimento diversi per sostituire le scorte mancanti a livello di presinapsi. Inoltre per liberare i neuropeptidi occorrono stimolazioni nervose più intense e protratte rispetto a quelle necessarie per liberare i classici.

Il segreto della trasmissione dell’impulso nervoso, che avviene grazie ad un sistema sofisticato di amplificazione del segnale e della sua propagazione dalla cellula all’area presinaptica alla velocità di oltre 100 metri al secondo, risiede nel perfetto funzionamento dei canali ionici.

La prima ipotesi sull’esistenza di questi canali ionici voltaggio-dipendenti è stata formulata verso il 1955, ma solo dopo il 1992 sono state ottenute molte conoscenze di carattere molecolare, strutturale e biofisico che hanno permesso di comprenderne la funzione. Ne sono subito derivate ricadute in ambito farmacologico con la sintesi e l’ingresso in terapia

medica degli inibitori dei canali del Ca^{++} detti “calcioantagonisti” e dei canali del Na^+ detti “antiaritmici”, tutti farmaci molto utili nella patologia cardiaca e dei grossi vasi. I canali del Na^+ , così chiamati perché permeabili soltanto al Na^+ , hanno l’effetto di aumentare la depolarizzazione di membrana e quindi di amplificare il segnale che deve essere trasmesso. I canali del Ca^{++} invece sono essenziali a livello della sinapsi dove servono ad accoppiare l’arrivo dell’impulso nervoso con la secrezione del neurotrasmettitore (ricerche di B.Hille 1992; di L.Y. Jan e Y.N. Jan 1992; di W.A. Catterall, 1993; di A. Volterra e E. Sher, 1996; di G. Varadi et al. 1995).

Da quanto scoperto da questi studiosi apprendiamo anche che i canali voltaggio – dipendenti rimangono normalmente aperti per un tempo prestabilito a prescindere dal fatto che lo stimolo sia cessato o sia tuttora presente, ma che questa proprietà può essere modificata dai farmaci antiaritmici, dai beta stimolanti e dalle catecolamine. Catterall nel 1993 ha scoperto che l’inattivazione del canale avviene nella zona idrofobica situata tra i territori III e IV del canale del Na^+ e ha proposto altri modelli di inattivazione dei canali del Ca^{++} e del K^+ .

I recettori sono le molecole che trasducono all’interno della cellula ricevente il messaggio ricevuto dal neurotrasmettitore nella sinapsi. Ogni recettore lega a sé in modo assolutamente specifico una o più molecole consegnategli nello spazio sinaptico e nel far questo subisce una modificazione strutturale che fa scattare l’effetto biologico programmato dal neurone che ha inviato lo stimolo.

La prima ipotesi dell’esistenza dei recettori risale al 1880, anno in cui J.N. Langley, che conduceva studi sul SNC del gatto, scoprì l’antagonismo tra nicotina e curaro. Negli anni venti del Novecento l’inglese H.H. Dale e il tedesco O. Loewi scoprirono i primi mediatori chimici e i loro effetti biologici che spiegarono con l’azione di recettori specifici e differenti per ogni sostanza chimica mediata. Nello stesso periodo A.J.Clark con la sua “*legge di massa*” fornì il primo chiarimento del rapporto che corre tra farmaco e recettore. Negli anni quaranta e cinquanta la chimica farmaceutica cominciò ad operare modifiche della struttura chimica di diversi neurotrasmettitori arrivando a definire molti dettagli sul sito di legame chimico di diversi recettori (E. Fourneau e D. Bovet) e a produrre nuovi anestetici locali, curari e molti antiistaminici. Il grande salto nella conquista di nuove conoscenze è stato fatto però **nel 1982** allorché il giapponese **S. Numa** clonò il recettore colinergico della nicotina dall’organo elettrico della torpedine: si aprì così alla sperimentazione il nuovo e immenso campo della **biologia molecolare**. Dopo Numa altri ricercatori hanno clonato un alto numero di recettori di cui oggi si conosce la struttura molecolare e il modo di trasdurre il segnale ricevuto. La biologia molecolare ha permesso di scoprire che i recettori sono molto più numerosi di quanto si supposeva fino agli anni novanta e che ogni neurotrasmettitore può attivare molti sottotipi di recettori. Grazie alle ricerche condotte a termine nell’ultimo decennio del secolo sono state individuate quattro grandi famiglie di recettori alle quali fanno capo molte unità. La famiglia detta dei “recettori canale” è quella composta da canali ionici che si aprono solo legandosi ad un neurotrasmettitore specifico. In questo caso si verifica un rapido cambiamento delle concentrazioni ioniche endocellulari e quindi del potenziale di membrana (T.M. De Lorey et al., 1992; D. Bertrand et al. 1995, e altri ancora). Sono recettori-canale quelli nicotinici, il recettore A per il GABA, i recettori del glutammato e della serotonina. La famiglia più numerosa di recettori è quella dei recettori accoppiati a proteine G. La loro caratteristica funzionale è la trasduzione del segnale ricevuto tramite attivazione di una proteina G come è stato confermato dagli studi di B. Hille (1992) e di altri fino a quelli di L. Vallar e L. Vicentini del 1996. Le proteine G sono molecole eterotrimeriche e si chiamano così perché sono capaci di legare il GTP (guanosintrifosfato) e di svolgere su di lui attività enzimatica idrolizzandolo in guanosindifosfato. Poiché ogni proteina G può attivare specificamente

diversi enzimi, è facilmente intuibile come l'attivazione nella postsinapsi di un recettore accoppiato a una proteina G possa provocare la nascita di molte molecole di secondi e terzi messaggeri, una cascata, insomma, di molecole enzimatiche che si amplifica progressivamente. La prima conseguenza di questa cascata è che l'effetto dovuto all'attivazione dei recettori accoppiati a proteine G può durare per alcuni minuti. L'elenco dei recettori che si accoppiano a proteine G è ormai molto lungo perché ha continuato ad allungarsi negli ultimi anni del secolo.

La modulazione serve a controllare qualitativamente e quantitativamente i diversi livelli di trasmissione dello stimolo. Il primo livello è quello del neurotrasmettitore stesso, cioè della sostanza che viene rilasciata nella sinapsi. La concentrazione di neurotrasmettitore e il tempo della sua persistenza nella sinapsi non devono superare determinati limiti; sistemi enzimatici degradativi e sistemi di *feed-back* neuronali e locali provvedono a espletare questa assoluta necessità. Un esempio è dato dall'impiego come insetticidi e armi da guerra degli inibitori della colinesterasi, inibitori che degradano rapidamente l'acetilcolina. Se la colinesterasi è bloccata, l'acetilcolina rimane intatta e attiva dentro la sinapsi e continua ad attivare i recettori colinergici fino a renderli in breve tempo del tutto insensibili e questo è il momento che coincide con la morte cellulare.

Il secondo livello di modulazione agisce sull'interazione neurotrasmettitore-recettore che, per rendere attivo il recettore deve rispondere ad una costante di equilibrio che ammette una variabilità consentita da un minimo ad un massimo diversa da recettore a recettore.

Il terzo livello si effettua sulla trasduzione del segnale e consiste nella capacità di trasdurre propria della molecola del recettore e delle sue eventuali variazioni. La cronica esposizione di una cellula all'agonista di un recettore si associa a una diminuzione delle molecole recettoriali e questo provoca una riduzione di effetto del farmaco in terapia medica.

Il quarto e ultimo livello di modulazione riguarda i molteplici meccanismi di spegnimento dell'attivazione recettoriale che sono il potenziale di membrana, la concentrazione ionica e la concentrazione di un eventuale secondo messaggero. E' indispensabile che lo spegnimento sia sufficientemente rapido per consentire alla cellula di poter essere nuovamente eccitata.

Negli ultimi anni del Novecento furono eseguite molte ricerche sulla modulazione patologica e farmacologica della comunicazione neuronale. Le patologie più conosciute come la fibrosi cistica, la disgenesia muscolare, la paralisi periodica iperpotassiémica e altre ancora hanno tutte come bersaglio i canali ionici, la miastenia grave invece è dovuta alla diminuzione dei recettori colinergici nicotinici, altre malattie sono dovute ad alterazioni di trasduzione del segnale, ma di questa materia ci si occuperà più avanti nei rispettivi capitoli (farmacologia, neuropatologia). Per molti farmaci si conosce oggi esattamente il meccanismo di inibizione o attivazione e il bersaglio d'azione (canali del Na⁺, del Ca⁺⁺, sintesi dei neurotrasmettitori, recettori) e di questi verrà trattato nel capitolo riservato alla farmacologia del XX secolo.

Neuroendocrinologia

Questo settore, come fa chiaramente intendere la denominazione, studia le interferenze e le interrelazioni tra sistema nervoso e ghiandole endocrine. La parte del sistema nervoso centrale (SNC) che costituisce il versante nervoso di queste interrelazioni è formata dal complesso ipotalamico-ipofisario. Si tratta di una branca della fisiologia del sistema

nervoso che si è sviluppata completamente dentro i confini cronologici del XX secolo e, per la sua massima parte, nella sua seconda metà.

Il complesso ipotalamico-ipofisario è composto dall'ipotalamo, dall'ipofisi e dalle connessioni tra queste due formazioni anatomiche, note già molto prima del 1900. L'ipotalamo è il regolatore ormonostatico dell'attività neuroendocrina, stimola e inibisce le funzioni dell'ipofisi e contiene cellule nervose ormonosensibili che esercitano un effetto di retroazione. Le vie afferenti all'ipotalamo provengono sia da due aree della corteccia cerebrale filogeneticamente più antica sia da aree filogeneticamente più recenti e dal tetto del mesencefalo. La via efferente dell'ipotalamo più importante nasce nel suo nucleo sopraottico e in quello paraventricolare e gli fa da collegamento con l'ipofisi. Questo tratto di congiunzione si chiama "tratto ipotalamico-ipofisario. Queste nozioni anatomiche, così scheletricamente riportate, appartengono anch'esse ai frutti delle ricerche anatomiche iniziate nel periodo di transizione tra Ottocento e Novecento. I due lobi ipofisari – di diversa origine embrionale - secernono molti ormoni che ci sembra opportuno elencare nel seguente modo: il lobo anteriore secerne tre ormoni gonadotropi (follicolostimolante, luteinizzante, prolattina), l'ormone della crescita (STH o GH), il tireotropo che attiva la funzione tiroidea (TSH), il corticostimolante per il surrene (ACTH). Una lipoproteina (RLF) e l'ormone melanofores dilatatore sono prodotti dalla *pars intermedia* del lobo anteriore. Ad ognuno di questi ormoni ipofisari corrisponde un neurormone detto *releasing factor* (RF) che ne stimola la produzione. Il lobo posteriore produce due soli ormoni: l'antidiuretico (ADH) detto anche vasopressina e la ossitocina o lattagogo.

I collegamenti tra ipotalamo e ipofisi sono di due tipi molto differenti tra loro: quelli con la neuroipofisi consistono in un fascio di fibre provenienti dal nucleo sopraottico e dal nucleo paraventricolare composte da assoni le cui cellule elaborano gli ormoni dell'ipofisi posteriore (fenomeno della "*neurosecrezione*" ipotizzata e sempre sostenuta da E. Scharer fin dal 1928 e accertata con particolari metodi istochimici dalla scuola del fisiologo Bargmann nel 1949); i collegamenti con l'ipofisi anteriore costituiscono invece un *unicum* di tutto l'organismo perché consistono in uno speciale dispositivo vascolare veramente unico.

A – Le cellule neuroghiandolari del collegamento ipotalamo-ipofisi posteriore possono essere stimulate dalla corrente elettrica dei neurotrasmettitori, dalle variazioni osmotiche del liquido interstiziale e quindi hanno tutte le proprietà di un neurone, ma nel loro citoplasma si riconosce la presenza di strutture tipiche di una cellula ghiandolare (granuli elementari e complessi del Golgi). Con la cisteina marcata sono state accertate la produzione e migrazione lungo gli assoni che scendono alla ipofisi posteriore dei granuli secreti dalle cellule nervose ipotalamiche (Weiss e Hiscoe, 1948). La esatta ubicazione ipotalamica di questi neuroni neurosecretori è stata scoperta dopo il 1972 usando tecniche immunoistochimiche in luce fluorescente. Contemporaneamente essa è stata anche identificata con il metodo elettrofisiologico. Con il progresso dei metodi citoimmunologici sono state visualizzate anche piccole cellule nervose situate in varie zone dell'ipotalamo e chiamate "*pericari*" contenenti fattori rilascianti (RF) per l'ormone luteinizzante e per la somatostatina (Barry 1978 e Hörkfelt e coll. 1978). Questi pericari ossia "cellule a releasing factors" sono stati identificati anche con la stimolazione antidromica dei nuclei ipotalamici.

B – Il collegamento tra ipotalamo e ipofisi anteriore ha rappresentato un difficile problema per quanto si riferisce alle connessioni nervose. Ipotizzate, ammesse, poi negate, sono state infine riconosciute negli anni settanta da tutti i fisiologi come realmente esistenti grazie agli studi eseguiti con i metodi citoimmunologici che hanno evidenziato tre tipi di fibre

corrispondenti al releasing factor tireotropo (TRF), alla somatostatina e al releasing factor dell'ormone luteinizzante (LHRF).

Il collegamento più vistoso è però quello vascolare già citato e chiamato “*sistema portale ipotalamico-ipofisario*”. Trattasi di due reti capillari, una ipotalamica e l'altra ipofisaria collegate tra loro da vasi venosi. Questo dispositivo vascolare è fatto in modo tale che il sangue che va all'ipofisi anteriore ha già percorso il sistema capillare ipotalamico.

Dal 1960 al 1980 è stata elaborata una nuova metodologia mirata alla scoperta dei meccanismi e delle vie neuroormonali. Grazie alla pratica stereotassica che permette di raggiungere con estrema precisione tutte le strutture cerebrali comprese le più profonde, è stato possibile produrre lesioni circoscritte di vario tipo, stimolare determinati gruppi di neuroni, eseguire impianti e trapianti, microiniettare ormoni e farmaci, tutte tecniche che sono venute a completare la sezione del peduncolo ipofisario e il trapianto dell'ipofisi o di una parte di essa nella camera anteriore dell'occhio o sotto la capsula del rene, metodi questi usati in fisiologia sperimentale già nella prima metà del XX secolo. Con questi nuovi mezzi sono stati studiati il controllo nervoso della secrezione di ACTH, TSH, GH e delle gonadotropine FSH e LH. Nel 1955 J. Benoit e I. Assenmacher, lavorando sull'anatra che, tra i molti animali d'esperimento, ha una disposizione anatomica particolarmente favorevole a queste ricerche, furono i primi a fornire l'inoppugnabile prova sperimentale della teoria neuroumorale elaborata da J.D. Green e G.W. Harris nel 1947. Cronologicamente la prima funzione regolatrice della secrezione neuro-ormonale è stata quella degli ormoni dell'ipofisi posteriore, cioè dell'ADH e dell'ossitocina. Meno riuscita è stata invece nei Mammiferi la dimostrazione di una regolazione di origine centrale della produzione ormonale del lobo intermedio; comunque la separazione delle connessioni tra lobo intermedio e ipotalamo ha provocato nella rana una ipertrofia del lobo e la iperproduzione dell'ormone alfa-MSH che fa scurire la cute.

I *releasing factors* hanno rappresentato dal 1955 in poi un ampio e difficile campo di ricerca orientata ad isolarli e a caratterizzarli chimicamente. La ricerca è partita dal presupposto che, essendo l'ossitocina e la vasopressina due oligopeptidi, tali sarebbero presumibilmente stati anche i releasing factors. In realtà fino al 1980, pur avendo riscontrato che estratti acquosi d'ipotalamo supposti contenere i polipeptidi stimolavano la produzione di ACTH, non era ancora stato possibile identificare chimicamente il fattore di rilascio dell'ACTH, cosa che invece è riuscita per il releasing factor dell'LH (noto come LRF), un polipeptide composto da 10 aminoacidi di cui 6 presenti anche nel TRF (releasing factor dell'ormone tireotropo). Nel 1969 Schally e coll. hanno tentato di isolare il fattore di rilascio dell'ormone della crescita (GH-RF) e ci sono arrivati vicino, al punto da proporre una formula chimica sulla quale a fine secolo perduravano ancora molte incertezze; inoltre nel corso di quella ricerca hanno isolato e purificato un neuropeptide che inibisce la secrezione dell'ormone della crescita: era la somatostatina, un polipeptide formato da 14 aminoacidi che può assumere anche struttura lineare. R.Guillemín e coll. lavorando sul cervello di ovini sono arrivati – in via del tutto indipendente – alla medesima scoperta.

Molti ricercatori hanno avuto modo di descrivere localizzazioni del TRF, del LHRF e della somatostatina in molte strutture extra-ipotalamiche come il mesencefalo, il setto pellucido, l'amigdala, la corteccia cerebrale, l'ippocampo e perfino il midollo spinale (quest'ultimo limitatamente al TRF). La somatostatina è stata trovata nel pancreas e nel tratto alto del tubo digerente (vedi capitolo della fisiologia della digestione).

Tra il 1975 e il 1980 sono stati identificati recettori specifici per gli oppiacei e per gli analgesici sintetici di struttura chimica affine e subito dopo diversi gruppi di ricercatori hanno segnalato l'esistenza di sostanze endogene naturali capaci di azione analgesica e

capaci di fissarsi in modo reversibile su quei recettori. L'acme della ricerca di questi piccoli peptidi cerebrali fu raggiunto quando Hughes e coll. identificarono queste sostanze morfinomimetiche nel cervello del maiale. Erano due pentapeptidi che furono chiamati rispettivamente Metenkefalina e Leukenkefalina. Nei tempi che seguirono ne furono trovati molti altri soprattutto nei laboratori diretti da R. Guillemin e da C.H. Li. A tutte queste sostanze fu dato l'appellativo generico di "endorfine".

Ogni endorfina quando viene iniettata nel cervello di un animale d'esperimento provoca analgesia. Più piccola è la catena peptidica meno dura il suo effetto. Come i morfinici del commercio le endorfine possono causare dipendenza psichica, assuefazione e catatonìa. Di tutte le endorfine la beta-endorfina, che è presente in alta concentrazione nell'ipofisi, possiede la più alta attività e presenta la massima affinità per i recettori della morfina. Guillemin e coll. nel 1977 hanno dimostrato che nello stress l'ipofisi libera simultaneamente ACTH e beta-endorfina.

L'enkefalina, caratterizzata da un'attività più fugace perché è un pentapeptide, è stata vista, con ricerche all'immunofluorescenza, nel citoplasma di neuroni di diverse regioni cerebrali e del midollo spinale, specialmente in quelle associate alle vie sensoriali.

Il rapporto tra SNC e ghiandole endocrine è a doppio senso: il primo regola il secondo e queste agiscono sul sistema nervoso centrale con gli ormoni riversati nel torrente circolatorio. Nell'animale adulto la regolazione della secrezione ipofisaria avviene per *feed-back* in funzione del tasso ematico degli ormoni stessi. Quello dell'ipofisi è dunque un sistema autoregolatore dove il SNC rappresenta un anello intermedio. Gli ormoni agiscono sul SNC anche nel corso dello sviluppo embrionale e della differenziazione neurale. Rebière e Legrand infatti nel 1972 hanno osservato gli effetti sulla formazione del cervelletto a livello cellulare dell'ipotiroidismo e dell'ipertiroidismo. In fase di sviluppo il testosterone imprime al cervello il suo orientamento in senso maschile. Infatti dal punto di vista sessuale il cervello si comporta diversamente nei due sessi: l'ipotalamo della femmina esercita una regolazione ritmica delle gonadostimoline e da questo ritmo dipende tutto il ciclo ovarico, mentre nel maschio l'ipotalamo mantiene un livello costante di secrezione delle gonadostimoline onde consentire che l'attività sessuale resti costante. Un impianto di tessuto ovarico in un maschio comporta che la stimolazione gonadotropinica non provochi ovulazione in quanto l'innesto si ferma alla prima fase del ciclo, quella della maturazione. Solo un trapianto effettuato in un maschio castrato entro 2-5 ore dalla nascita consente che si realizzi un ciclo ovarico completo. La soppressione della secrezione di testosterone nello stesso periodo neonatale critico favorisce lo sviluppo cerebrale in senso femminile.

Il complesso ipotalamico-ipofisario integra stimoli esterocettivi (olfattivi, fotici, tattili, ecc.) e stimoli enterocettivi (nervosi o umorali) e ciò rappresenta una vasta materia di studio dove molti ricercatori hanno lasciato la propria impronta o, addirittura, il proprio nome come è stato il caso dell'*effetto Bruce* dal nome del fisiologo H.M. Bruce che lo descrisse nel 1959: una femmina accoppiatasi di recente va incontro al blocco dell'annidamento dell'ovulo se viene fatta giacere dove in precedenza c'era stato un maschio estraneo che la femmina non aveva nemmeno mai visto. Questo fatto non si verifica invece se la femmina è anosmica. Un altro riflesso reca il nome del suo scopritore, il *riflesso di Ferguson*, che consiste nella liberazione di ossitocina provocata dal coito, dal parto, dalla dilatazione vaginale. Anche l'aggressione chiama in gioco l'asse ipofisi-surrene. La scarica di ACTH che avviene in questo caso non è mai una reazione isolata: è associata a molte altre risposte vegetative e somatiche che sono provocate da ogni tipo di aggressione perché la contemporanea scarica di adrenalina fa erigere i peli, dilatare le

pupille, eccitare azioni motorie di difesa e ha effetti emotivi. Le strutture nervose che comandano queste reazioni sono il tronco encefalico e il rinencefalo.

A conclusione di tutte le numerose scoperte avvenute nella seconda metà del Novecento nel campo dei riflessi neuroendocrini Stutinsky affermava nel 1980 che tutte le regolazioni endocrine classiche erano regolazioni neuroendocrine e che lo schema fino a quel momento scientificamente accertato poteva essere visto nel succedersi di quattro stadi. Il primo è lo stadio ipotalamico in cui vengono integrate tutte le informazioni nervose e umorali ed è nelle strutture ipotalamiche, rinencefaliche e mesencefaliche che si verificherebbero i più importanti effetti di retroazione. Il secondo stadio è quello della secrezione dell'ipotalamo (*releasing factors*). Il terzo stadio si identifica con la produzione ipofisaria di ormoni specifici per ogni ghiandola endocrina periferica. Il quarto e ultimo stadio è quello delle ghiandole endocrine che rispondono agli stimoli ipofisari e contemporaneamente esercitano retroazioni su SNC e ipotalamo.

Fisiologia del Sistema Reticolare Ascendente

Le prime ricerche di fisiologia del sistema reticolare eseguite nella prima metà del Novecento hanno riguardato solo la Formazione Reticolare Discendente (FRD) così definita per la prevalenza numerica delle sue fibre efferenti a decorso discendente (v. capitolo della neuroanatomia), cioè in direzione del midollo spinale dove la sostanza reticolare riempie gli spazi lasciati liberi dai neuroni motori e dagli interneuroni specializzati. Questi studi furono eseguiti nel primo trentennio del XX secolo da C.S. Sherrington, R. Magnus, F. Hering e altri che hanno utilizzato i mezzi tecnici allora disponibili e quindi le impregnazioni argentiche di Ramon y Cajal e di Golgi e la degenerazione assonica dopo interruzione. Questa prima serie di ricerche ha comunque fornito conoscenze anatomiche importanti e del tutto nuove. La situazione dei metodi di ricerca è cambiata del tutto quando sono entrati nell'uso l'amplificazione elettronica dei potenziali bioelettrici e la loro registrazione con oscillografi catodici, i microelettrodi e soprattutto l'apparecchio stereotassico di Horsley e Clarke. Grazie a questi nuovi metodi è stato possibile procedere alla stimolazione locale e alla lesione precisa di aree molto ben delimitate del tessuto nervoso. Il debutto dei grandi studi di fisiologia della sostanza reticolare è avvenuto nel 1932 con la pubblicazione dei lavori di Ranson e collaboratori i quali hanno analizzato e descritto per primi la reazione alla stimolazione elettrica della formazione reticolare (FR) nell'animale da esperimento non anestetizzato. Nel 1946 H. Magoun e R. Rhines, lavorando sull'animale anestetizzato e stimolando regioni del midollo allungato previamente definite in modo preciso con la stereotassi, hanno scoperto effetti facilitanti e inibitori su tutte le attività del midollo spinale. Nel 1949 G. Moruzzi e H.W. Magoun hanno dimostrato per primi l'effetto del risveglio da stimolazione del tegmento mesencefalico e questa è stata la prima vera scoperta della Formazione Reticolare Ascendente (FRA) fino a quel momento del tutto sconosciuta. Per arrivare a questo risultato furono usati i preparati detti "*cervello isolato*" secondo una tecnica ideata da F. Bremer fra il 1935 e il 1937. Il terzo passo avanti è stato quello della dimostrazione che gli impulsi ascendenti attivatori – responsabili del cosiddetto "*tono corticale*" già individuato da altri studiosi - prende origine dalla FRA del tronco encefalico, e ciò è stato dovuto alle ricerche di J.D. French e coll. (1952-1960), di D.B. Lindsey (1958) e di H.W. Magoun (1963).

Gli studi elettrofisiologici della sostanza reticolare hanno dimostrato che le cellule reticolari sono in continua attività espressa da potenziali unitari a tutti i livelli (ponte di Varolio, mesencefalo, midollo allungato) senza differenze da un sito all'altro. La successione di questi potenziali d'azione unitari è di carattere continuo con frequenze tra 50 e 100 al secondo ma senza raggruppamenti in salve come invece avviene per i potenziali delle cellule dei nuclei del talamo. Questa attività reticolare è autoctona, spontanea, sensibile a tutti i fattori umorali che condizionano la normale attività dei centri vasomotori, respiratori e cardioregolatori del midollo allungato, come è stato scoperto da H. Dell nel 1958. Questo fisiologo ha anche scoperto che i neuroni reticolari vengono attivati da livelli molto bassi di adrenalina e per questo motivo li ha definiti "adrenorecettivi". La ricchezza dell'innervazione afferente della FRA ha fatto ritenere che i fattori neurogeni sono molto importanti nel mantenimento del tono di essa e fra questi sono stati individuati fattori trigeminali, olfattivi, visivi, uditivi, vestibolari, somestesici e corticali. Zernicki e coll. nel 1970 hanno scoperto che quando la FRA viene totalmente e improvvisamente privata del sostegno degli impulsi provenienti dalla corteccia cerebrale, il suo tono decade in maniera sensibile.

Nel 1972 Bonnet e Briot hanno a loro volta dimostrato che una salve di impulsi corticali suscita una potente reazione reticolare e questa è la controprova dell'esattezza del

fenomeno osservato da Zernicki. La reattività della FRA all'arrivo di impulsi afferenti di origini molto diverse e distanti tra loro è stata studiata in modo molto approfondito tra il 1954 e il 1961 da molti neurofisiologi tra i quali spiccano i nomi di G. Moruzzi, N. Yoshi e H. Ogura, V.E. Amassian e coll. Le reazioni delle cellule reticolari a brevi salve di impulsi possono essere di tipo “unitario”, spesso inibitorio, e in questo caso mostrano una spiccata sensibilità a stimoli di nuovo tipo e alla natura motivazionale degli stimoli stessi; però la reazione delle cellule reticolari può anche essere una “*reazione di massa*” e in tal caso la reazione si manifesta come la somma dei potenziali d'azione di una popolazione neuronica di modesta entità assumendo il nome di “*potenziali evocati*”. Quando poi esprime la risposta sinergica di popolazioni neuroniche di vaste proporzioni viene etichettata come “*potenziali di campo*”. Quando la sostanza reticolare è attivata essa si evidenzia all'elettroencefalogramma con la tipica caratteristica del risveglio da eccitazione della FRA, che, nel gatto – animale più spesso impiegato in queste ricerche di neurofisiologia - è molto simile nella sintomatologia oculare ed elettrocorticale a quella tipica del risveglio naturale.

Indipendentemente dal modo con cui viene provocato il risveglio cerebrale, esso si caratterizza in tutta la neocorteccia con una accelerazione di frequenza ritmica e con riduzione d'ampiezza sino alla scomparsa dei potenziali di superficie della corteccia cerebrale detti “*onde cerebrali*”. Il fenomeno che meglio evidenzia l'attivazione diffusa della corteccia nel risveglio è la scomparsa nell'elettroencefalogramma delle onde *alfa* a 8-12 cicli/secondo, tipiche della vigilanza cerebrale rilassata. Questa reazione – scoperta ancora nel 1929 dal neurofisiologo H. Berger – è provocata più facilmente da stimolazioni visive diffuse e dalla semplice apertura degli occhi.

Nell'archicorteccia dell'ippocampo l'attivazione della FRA, diversamente dall'effetto che essa provoca sulla neocorteccia, fa comparire onde ritmiche molto ampie con il ritmo regolare detto *teta* di frequenza pari a 4-7 cicli/secondo.

La distruzione elettrolitica della FRA nella parte centrale del tronco cerebrale provoca nell'animale da esperimento un sonno profondo ad occhi chiusi accompagnato da insensibilità totale verso qualsiasi stimolo sensoriale. Questo stato di letargo, che nel gatto può mantenersi per diverse settimane di sopravvivenza, è nella scimmia ancora più profondo ed è sovrapponibile a quello del preparato “*cervello isolato*” di Bremer dopo sezione mesencefalica completa: l'elettroencefalogramma registra soltanto una successione monotona di treni di onde di frequenza fissa di 12 cicli al secondo.

Tutti questi interessanti risultati sperimentali hanno consentito di assegnare alla FRA il ruolo di *apparato del risveglio*. Nel 1970 D. Ingvar e P. Sourander hanno pubblicato il caso clinico di un uomo di 60 anni che per tre anni era vissuto in completo letargo dopo distruzione emorragica della parte più alta della formazione reticolare, come fu dimostrato dall'autopsia e dagli esami istologici. Nel 1958 G. Jefferson ha dato alle stampe diverse osservazioni cliniche che dimostravano come la compressione meccanica della regione di passaggio tra tronco cerebrale e diencefalo provoca e mantiene uno stato di totale incoscienza molto simile al sonno profondo, fenomeno che scompare del tutto dopo che la causa della compressione è stata rimossa.

Per quanto riguarda il rapporto tra formazione reticolare e comportamento emozionale, le ricerche – eseguite tra il 1939 e il 1967 prevalentemente con eccitazione elettrica del mesencefalo del gatto – hanno dimostrato che le reazioni di attacco o di fuga che ne conseguono, nonostante la loro veemenza, lasciano un ricordo fugace o incerto e per questo motivo sono state classificate come “*reazioni pseudo-affettive*”. Nel 1939 Bard e nel 1948 lo stesso Bard in collaborazione con Mountcastle ha localizzato nella parte posteroinferiore del diencefalo talamoipotalamico la sede della reazione di falsa rabbia del

gatto decorticato. Nel 1967 A. Zanchetti ha osservato che la reazione di falsa rabbia è del tutto assente quando la formazione reticolare è distrutta. Poiché la reazione di falsa rabbia prende origine dalle strutture diencefaliche Bremer ne ha dedotto che il mesencefalo è necessario per mantenere con la sua attività ascendente lo stato eccitatorio centrale diencefalico che fa scattare la reazione di falsa rabbia nel gatto decorticato e modula l'intensità della reazione emozionale nell'animale non decorticato (Lindsley, 1958).

Molti dati sperimentali raccolti nel corso degli anni cinquanta da R. Granit e coll., da E. Eldred e coll., da R. Hernandez-Peon e coll. e da altri ancora hanno portato a concludere per l'esistenza di un controllo dei recettori sensoriali da parte della formazione reticolare (FR) e per una sua azione facilitante sulla trasmissione ai nuclei talamici e alle rispettive aree corticali degli impulsi provenienti da tutti gli organi di senso. Quest'ultima è un'azione dinamica propria della FR che i neurofisiologi hanno definito "*dinamogenesi*". Essa è fortemente vivacizzata dalla d-anfetamina ed è abolita del tutto dai barbiturici ad alte dosi e dai fenotiazinici.

Un altro aspetto degli studi di fisiologia della formazione reticolare è stato quello della sua influenza sui processi percettivi ma si tratta di ricerche che hanno cozzato contro l'insormontabile difficoltà di poter essere effettuate direttamente sull'uomo trattandosi dell'indispensabile inserimento nel cervello di elettrodi per la stimolazione e la registrazione. E' stato necessario dunque ricorrere alle scimmie (J.Fuster e A. Uyeda 1962) e all'uso di segnali visivi presentati per breve tempo modificando la capacità percettiva con stimolazioni elettriche della formazione reticolare e premiando poi ogni successo di prestazione alla visione rapida con una ricompensa alimentare. La durata dell'azione facilitante della formazione reticolare, misurata dall'inizio della stimolazione faradica, variava da 4 a 8 secondi.

Nel 1958 Lindsey ha osservato nell'uomo un aumento dell'intensità soggettiva della sensazione provocata da uno stimolo costante e riduzione del tempo di reazione visivo quando lo stimolo sensoriale era preceduto da un segnale che attivava l'attenzione del soggetto. Questa è una dimostrazione dell'attività facilitante della formazione reticolare.

Anche i rapporti tra fisiologia della formazione reticolare e riflessi condizionati sono stati sottoposti a diversi tipi di indagini i cui risultati non sono stati univoci, tranne che per l'assenza di influssi della formazione reticolare sullo stabilirsi dei riflessi condizionati di difesa negli animali da esperimento.

I neurofisiologi italiani G. Moruzzi e coll. e C. Batini e coll. hanno studiato nel 1959 l'azione di controllo esercitata sulla formazione reticolare dai centri ipnogeni del cervello e del midollo allungato. Le caratteristiche funzionali del centro ipnogeno bulbare sono state studiate nel corso degli anni sessanta da diverse scuole di neurofisiologia e hanno confermato l'esistenza del controllo della FR (formazione reticolare) da parte del centro ipnogeno e l'attivazione di questo da stimolazione dei barocettori senocarotidei. Ricerche ulteriori hanno dimostrato l'esistenza di un centro ipnogeno nella regione encefalica preottica basale e la sua azione inibente nei confronti della FR, esercitata in modo attivo.

Molte e diversificate sono state soprattutto nella seconda metà del Novecento le ricerche sulla farmacologia della FR con una enorme quantità di risultati – non tutti di facile interpretazione – anche se alcune conclusioni possono essere così definite: a) la FR presenta una particolare sensibilità all'azione depressiva dei barbiturici e dei benzodiazepinici definiti per la loro azione "tranquillanti minori" in contrapposizione ai fenotiazinici e ai butirrofenoni. b) diverse sostanze mostrano un'azione farmacologica che è stata interpretata negli anni sessanta con l'acetilcolinorecettività e adrenorecettività dei neuroni della FR. In seguito l'azione dei tranquillanti è stata definita come un

potenziamento o facilitazione della trasmissione neuronale mediata dal GABA (acido aminobutirrico), neuromediatore che inibisce la liberazione di altri neurotrasmettitori come adrenalina, dopamina, serotonina, ecc. c) l'anfetamina esercita sulla FR un'azione molto simile a quella della sua stimolazione elettrica e produce un'intensa attività corticale; questi due fatti confermano che nel risveglio reticolare i circuiti neuronici comprendono cellule adrenocettive e acetilcolinocettive. d) il fenomeno biologico periodico del sonno e il suo alternarsi con il periodo giornaliero di veglia è il risultato dell'inibizione attiva reciproca di due sistemi antagonisti, quello del sonno a sede bulbare e quello della veglia a sede mesencefalica nella FR ascendente. Questa teoria della produzione attiva del sonno e della veglia ha sostituito nella seconda metà del secolo la precedente teoria che vedeva nel sonno solo un fenomeno passivo perché dovuto all'assenza di veglia per semplice cessazione di stimoli di origine periferica. E' stato infatti dimostrato che lo spegnersi dello stato di veglia non è dovuto solo all'attenuarsi di stimolazioni periferiche sulla FR ascendente ma anche a una sua inibizione attiva vera e propria da parte del sistema bulbare del sonno.

Volendo ora fare il punto su quanto siamo andati esponendo, sembra di poter affermare che dalla metà del Novecento in poi la FR ha visto riconosciuta ampiamente la sua funzione di meccanismo fisiologico del risveglio, di mantenimento della recettività cerebrale che è la condizione di veglia attenta e di sostegno dell'unità comportamentale, nonché, infine, la funzione di facilitazione della trasmissione sinaptica di impulsi indirizzati ai nuclei talamici, alla corteccia e alle formazioni dell'archiencefalo. Nell'insieme dei risultati degli studi anatomici e fisiologici qui ricordati va senza dubbio individuata una larga serie di nuove conoscenze su una componente del SNC che può essere considerata a buon titolo una conquista esclusiva del secolo XX anche se alla fine di questo secolo molti aspetti della FR attendevano ancora delucidazioni e soluzioni definitive.

Fisiologia dell'Apparato Digerente

Esofago - I fisiologi del secolo XX si sono prevalentemente interessati di due aspetti della fisiologia di questo viscere che dà inizio alla parte alta del tubo digerente: la motilità e i meccanismi di difesa.

La prima ricerca effettuata sulla motilità esofagea era stata pubblicata ancora nel 1883 dai fisiologi tedeschi H. Kronecker e S.J. Meltzer nella rivista di fisiologia edita dall'università di Lipsia. Avevano fatto inghiottire ad alcuni volontari dei palloncini attaccati a sonde collegate a loro volta ad un registratore. Dalle registrazioni di allora, che furono le prime dimostrazioni grafiche della motilità esofagea, ben pochi progressi furono fatti prima del 1958, anno in cui C.F. Code e coll. impiegavano sonde a fondo cieco e lume multiplo riempite d'acqua e fatte inghiottire a persone sane e malate stabilendo così la maggior parte dei criteri di rilevamento e interpretazione dei dati raccolti, criteri che da allora in poi sono stati sempre rispettati. Tra gli anni sessanta e ottanta sono stati impiegati cateteri ad infusione continua, sistemi di perfusione a bassa compliance, sensori di pressione lunghi adatti a rilevare la pressione sfinterica e microtrasduttori intraesofagei (C.S. Winans e coll. 1967; J.B. Hollis 1972; J. Dent 1976; T.J. Humphries e coll. 1977; R.C. Arndorfer e coll. 1977; A.C. Duranceau e coll. 1983). Queste ricerche, pur nella diversità e, talvolta, nella contraddittorietà dei loro risultati, hanno comunque permesso di cogliere alcuni punti fermi che ora cercheremo di riassumere.

La zona di alta pressione da tutti accertata in corrispondenza del passaggio da faringe ad esofago è dovuta all'azione del vago che è responsabile delle contrazioni toniche del muscolo cricofaringeo (J. Christensen, 1978). Sia con i sistemi a perfusione continua che con gli altri la pressione di questo sfintere esofageo superiore oscilla a riposo tra 10 e 100 mm Hg. La deglutizione abolisce la stimolazione tonica dello sfintere e la pressione cade a zero facendo del lume esofageo una perfetta continuità di quello faringeo. Il coordinamento motorio di questo tratto fa sì che quando lo sfintere si rilascia del tutto, la contrazione muscolare del faringe raggiunge il suo massimo (R. Nagler e coll. 1961; C.C. Winans 1972; A. Duranceau su 40 volontari, 1983). T.J. Humphries e coll., che hanno impiegato i microtrasduttori endoesofagei, hanno rilevato che la contrazione dell'esofago alto, che segue quella faringea, corre verso il basso alla velocità di 2-5 cm. al secondo, per proseguire poi più lentamente nella muscolatura striata del terzo superiore del viscere e più rapidamente nella muscolatura liscia del basso esofago fino a raggiungere lo sfintere inferiore dove rallenta di nuovo. Su queste variazioni di velocità di propagazione delle contrazioni esofagee sono stati pubblicati risultati diversi da quelli pubblicati nel 1977 da Humphries e queste discordanze sono state spiegate da Duranceau con la diversità delle metodiche impiegate dai vari ricercatori. Ad ogni modo tutti hanno concordato che le alte pressioni rilevate sotto contrazione della parete esofagea nel terzo distale del viscere sono sempre superiori a quelle dell'esofago prossimale.

Le onde peristaltiche "terziarie", di ormai vecchia osservazione radiologica, sono state osservate manometricamente in tutte le persone sane esaminate e i fisiologi hanno finito per considerarle un fatto comune privo di qualsiasi significato patologico. Tutti i valori di pressione a riposo del basso esofago sono stati visti variare a seconda del metodo di misurazione impiegato. Nel 1980 R.W. Welch e coll. hanno condotto un'accurata ricerca su questo tema dimostrando che la massima pressione registrata alla fine dell'inspirio con un lento passaggio della sonda manometrica è quella che corrisponde nel modo più esatto alla pressione dello sfintere esofageo inferiore. Tuttavia le ricerche di Dent e coll. praticate anche con osservazione prolungata al di là delle 24 ore hanno portato a concludere che le

pressioni a riposo endoesofagee a livello dello sfintere inferiore subiscono molte variazioni spontanee tra persone diverse e anche nella stessa persona.

Per quanto attiene agli studi effettuati nel corso del Novecento sui meccanismi di difesa antireflusso gastroesofageo è bene tener conto di quanto ha affermato J.L. Collins nel 1954 riportando quelle che erano le valutazioni dei colleghi fisiologi del suo tempo: *“Il meccanismo universalmente accettato per spiegare la prevenzione fisiologica del reflusso gastroesofageo può essere riassunto in quattro punti: 1- l’inserzione obliqua dell’esofago nello stomaco 2- le fibre “a fionda” della muscolatura gastrica a questo livello 3- il pilastro destro dell’orifizio diaframmatico 4- la debole azione dello sfintere esofageo inferiore”*. La presenza di questo sfintere era già stata ipotizzata nel lontano 1822 dal padre della fisiologia francese François Magendie. Il primo a dimostrare la effettiva presenza anatomica è stato il fisiologo tedesco H. Fischer che lo ha individuato nel pipistrello nel 1909. Nell’uomo, invece, anziché una vera e propria individuazione anatomica, c’è stata una dimostrazione manometrica inoppugnabile da parte di J. W. Butin e coll. che nel 1953 hanno impiegato la tecnica manometrica ideata da Ingelfinger e Code. In seguito il gruppo di Code nel 1956 e quello di G. Botha nel 1957 hanno stabilito che lo sfintere esofageo inferiore detto LES (*low oesophageal sphincter*) ha un tono basale più alto della pressione endogastrica e si rilassa all’inizio di un’onda di deglutizione per chiudersi subito dopo il rilassamento. Tra il 1960 e il 1981 le ricerche eseguite sulla funzione del LES sono state numerosissime.

Nel 1983 G.G. Jamieson e A.C. Duranceau hanno riassunto nei seguenti punti la situazione delle conoscenze sulla fisiologia del LES: 1- il tono basale del LES è dovuto al basso potenziale di riposo delle cellule muscolari dello sfintere e questo potenziale è mantenuto dall’acetilcolina secreta nello spazio sinaptico dalle fibre colinergiche del vago. Questo nervo dà allo sfintere fibre inibitorie ed eccitatorie, e sono appunto le inibitorie che fanno rilassare il LES al momento della deglutizione. 2- il LES è influenzato da molti ormoni gastrointestinali: gastrina, polipeptide pancreatico, motilina e bombesina che aumentano il tono e secretina, colecistochinina, polipeptide intestinale vasoattivo e glucagone che lo diminuiscono. Sembra tuttavia che l’influsso di tutte queste sostanze sul LES sia nel complesso poco rilevante. 3- il tono basale è sempre più alto della pressione addominale, aumenta dopo il pasto fatta eccezione per l’ingestione di lipidi che lo fa ridurre fino ad annullarlo. 4- la teoria che il LES rappresenti l’unico meccanismo di difesa esofageo antireflusso non è più sostenibile perché il reflusso gastroesofageo è un fatto normale che avviene quotidianamente in tutte le persone sane, come è stato documentato per la prima volta nel 1969 da J. Spencer e l’anno successivo da F.G. Patrick con misurazioni protratte del pH endoesofageo. Gli episodi di reflusso sono rari di notte e frequenti di giorno, specie dopo i pasti, e la durata dell’esposizione giornaliera della mucosa esofagea all’acido cloridrico di provenienza gastrica è inferiore ad un’ora su ventiquattro. Dent ha dimostrato che il maggior numero dei reflussi nelle 24 ore è dovuto a perdite del tono basale del LES di durata inferiore ai 30 secondi. Lo stesso ricercatore ha dimostrato che i soggetti normali nella veglia deglutiscono in media una volta ogni minuto, mai e quasi mai nel sonno e che l’unico meccanismo di pulizia della mucosa esofagea è la peristalsi secondaria legata alla deglutizione della saliva, il cui pH è di circa 7 (J.F.Helm e coll. 1982). Questo flusso salivare è stato però visto decrescere con l’avanzare dell’età. 5- un ultimo fattore che influenza positivamente il tono basale del LES è il normale svuotamento gastrico in duodeno, fatto questo che per via ormonale e neurogena fa aumentare il tono sfinterico.

Questi meccanismi di difesa della mucosa esofagea possono essere superati quando si verificano grandi quantità di reflusso gastrico o addirittura di reflussi di bile e succo pancreatico, fenomeni che si possono verificare più facilmente in esiti di resezione gastrica ma più spesso in caso di difficoltà o insufficiente svuotamento gastrico che fa prolungare

la fase postprandiale in soggetti peraltro normali. In queste situazioni si tratta di anomalie transitorie e non frequenti. L'esofagite da reflusso è invece la patologia esofagea dipendente dalla perdita o dall'insufficienza permanente dei meccanismi di difesa e di essa si parlerà nel capitolo della patologia esofagea.

Stomaco – Sembra opportuno premettere alla storia delle ricerche condotte sulla fisiologia dello stomaco nel Novecento una sintesi delle conoscenze attuali su questo tema.

Il periodo interdigestivo inizia spesso per lo stomaco con onde peristaltiche ritmiche e leggere di frequenza pari a tre al minuto, una situazione che Carlson ha definito “ritmo tonale” per significare che essa rappresenta variazioni regolari e normali della muscolatura gastrica. Lo stesso H.C. Carlson nel 1966 e N.J. Soper e coll. nel 1988 hanno rilevato nella fase di digiuno un'attività elettrica ciclica nella parete gastrica che è stata chiamata “complessi motori migranti interdigestivi”. Ogni complesso è composto da 4 fasi: nella prima fase i potenziali d'azione (corrispondenti alle contrazioni muscolari) sono assenti, nella seconda compaiono potenziali d'azione intermittenti con carattere random, nella terza fase sono stati evidenziati gruppi di potenziali d'azione che coincidono con la funzione di svuotamento dello stomaco da residui di cibo non digeriti, la quarta fase corrisponde ad un breve periodo transitorio interposto tra la terza fase e la prima. Ogni ciclo dura da 90 a 120 minuti. L'ingestione di qualsiasi cibo solido o liquido fa immediatamente cessare questa attività elettrica periodica. Dopo un periodo di tempo variabile da soggetto a soggetto (e anche nella stessa persona) cominciano a presentarsi innalzamenti di pressione che danno delle puntate della durata di circa 30 secondi, puntate che tendono a farsi più ravvicinate nel tempo. Queste onde definite “onde di I tipo” sono espressione della peristalsi gastrica che inizia sopra l'incisura e scende fino al piloro. Man mano che tale attività su stomaco vuoto aumenta di forza, le contrazioni si succedono ad un ritmo tale per cui le nuove ondate di pressione si sovrappongono alle precedenti formando le cosiddette “onde di II tipo” di Carlson. Se il periodo di digiuno si prolunga oltre i limiti d'orario usuali, compaiono le “onde di III tipo” dette anche “tetano gastrico” perché sono ondate peristaltiche che attraversano rapidamente le pareti gastriche e sono caratterizzate da un tono molto elevato. Le contrazioni “da fame” cessano improvvisamente con l'ingestione di cibo. La peristalsi ricomincia di solito alcuni minuti dopo l'ingresso del cibo nello stomaco e ha inizio nell'antro vicino al piloro, laddove cioè la muscolatura è più spessa. Dopo 5-10 minuti le contrazioni prendono inizio sulla porzione verticale dello stomaco prossimale e diventano progressivamente più forti. In questa fase il piloro si apre solo parzialmente e in modo intermittente. La maggior parte del chimo viene rilanciata verso il fondo gastrico e questo processo continua finché il cibo ingerito è ridotto a consistenza fluida e semifluida.

Il tono del piloro e la motilità antrale subiscono modificazioni dovute a riflessi nervosi di natura intrinseca ed estrinseca a partenza dal duodeno a seconda del grado e rapidità della sua distensione, del pH e della pressione osmotica del bolo che ha già oltrepassato il piloro. Comunque le variazioni di tono sono consensuali a quelle della *pars pilorica*. Il significato del tono pilorico è quello di bloccare l'ingresso in duodeno di materiale solido, di offrire una resistenza costante al passaggio del chimo e di impedire il rigurgito di bile e di succo pancreatico nello stomaco. Il rilassamento del bulbo duodenale per ricevere il chimo persiste per tutta una serie di contrazioni gastriche fino a riempire tutta la seconda porzione del duodeno dove ha inizio la peristalsi dell'intestino.

Normalmente le contrazioni antrali e duodenali sono ben sincronizzate come è stato dimostrato nel 1921 da Wheelon e Thomas con le loro ricerche sperimentali ormai classiche. E' stato proprio in quella data che è stata abbandonata la teoria secondo la quale sarebbe il grado di concentrazione di chimo acido in duodeno a regolare l'attività pilorica

mentre le ricerche sperimentali del secondo decennio del Novecento l'hanno fatta dipendere dalle variazioni di tono e dalle contrazioni del duodeno. Quando l'attività contrattile dello stomaco è in piena attività due onde peristaltiche – e talvolta tre o quattro – si susseguono ad intervalli di 5-15 secondi. Questa attività cessa a stomaco vuoto, quando la motilità del viscere riassume le caratteristiche della fase di digiuno.

Venendo ora alla cronologia degli studi di fisiologia della secrezione e della motilità dello stomaco della seconda metà del XX secolo è giocoforza iniziare da presupposti piuttosto lontani che risalgono addirittura alla prima metà dell'Ottocento.

La scoperta della digestione peptica operata dal succo gastrico è stata fatta per la prima volta dall'americano William Beaumont (1785-1853) con le osservazioni condotte tramite una fistola gastrica che era il risultato di una ferita penetrante dell'alto addome. Beaumont raccolse il succo gastrico introducendo un tubo di gomma direttamente nello stomaco attraverso la fistola; una volta estratto il succo lo assaggiò più volte e confrontò la sensazione gustativa con quella ottenuta assaggiando diversi gradi di soluzione di acido cloridrico. Ottenuta la diluizione che meglio assomigliava all'acidità del succo gastrico, immerse due pezzi di carne bovina di pari peso, una nel succo estratto dalla fistola e l'altra nella soluzione di acido cloridrico. Il primo pezzo fu digerito molto prima del secondo e Beaumont concluse *“probabilmente il succo gastrico contiene delle sostanze che i sensi non riescono ad apprezzare”*. La pubblicazione di Beaumont porta la data del 1833 ma le prime ricerche da lui eseguite risalgono al 1822.

Nel 1834 i chimici tedeschi Schleiden e Schwann scoprirono l'enzima che scomponeva la proteina della carne nello stomaco, la pepsina. Molto tempo dopo i fisiologi dell'Ottocento e dei primi anni del Novecento giunsero alla conclusione che la pepsina per agire deve trovare il suo substrato ad un livello molto basso di pH, quello offerto appunto dalla presenza nel succo gastrico dell'acido cloridrico.

La scoperta del primo meccanismo fisiologico che stimola la **secrezione gastrica** reca la data del 1886, anno in cui I. **Pavlov** scoprì la cosiddetta “fase cefalica” o nervosa della secrezione gastrica, scatenata dalle sensazioni provocate dalla vista e dall'odorato del cibo e trasmessa sotto forma di stimolo nervoso dai centri del nervo vago allo stomaco. Pavlov e tutta la comunità scientifica internazionale negli anni di transizione dall'Ottocento al Novecento considerarono l'intera funzione digestiva come espressione funzionale del sistema nervoso autonomo. Questa visione nel 1902 fu messa in ombra da W.M. Bayliss e E.H. Starling che avevano scoperto il meccanismo fisiologico della secrezione esocrina del pancreas. Nel 1906 J.S. Edkins descrisse il meccanismo chimico della secrezione gastrica ipotizzando una sua fase più propriamente “gastrica” ossia “ormonale”. Infatti aveva osservato che gli estratti crudi di mucosa gastrica antrale, ovviamente priva delle cellule cosiddette “parietali” deputate selettivamente alla secrezione di acido cloridrico e anche delle cellule dette “principali” che secernono la pepsina dal pepsinogeno in esse contenuto quando il pH è inferiore a 6, una volta iniettati negli animali da esperimento stimolavano la secrezione gastrica. Edkins aveva anche osservato che la perfusione diretta dell'antro gastrico con estratti di carne bovina faceva subito aumentare la produzione di succo gastrico acido nel corpo dello stomaco. Egli diede il nome di **“gastrina”** all'ormone che secondo lui era responsabile di questi fenomeni. La comunità scientifica non accettò questa teoria e si dovette attendere il 1942 perché S.A. Komorov riprendesse la strada tracciata da Edkins con esperimenti di stimolazione della secrezione gastrica in sacche isolate del fondo gastrico mediante iniezione endovenosa di estratti di mucosa antrale privati di istamina. Komorov confermò con questi studi l'esistenza dell'ormone “gastrina” che solo nel 1961 R.A. Gregory e H.J. Tracy riuscirono a isolare allo stato puro descrivendone compiutamente le proprietà chimiche.

Il concetto di una possibile fase “intestinale” ormonale della secrezione gastrica fu avanzato nel 1925 da A.C. Ivy e coll. Questi fisiologi avevano isolato chirurgicamente tutto lo stomaco dei cani d’esperimento interrompendo simultaneamente tutta l’innervazione vagale: la somministrazione orale di cibo provocò una secrezione gastrica di acidità ridotta ma di composizione normale.

Le tre classiche fasi della secrezione gastrica (nervosa, gastrica e intestinale) sono state tradizionalmente considerate come fasi separate e indipendenti fino al 1942, quando il fisiologo scandinavo B.Uvnas studiando il ruolo della regione pilorica nella fase cefalica dimostrò che tra la fase nervosa e quella ormonale gastrico-antrale esiste una interdipendenza. Infatti l’asportazione dell’antro gastrico faceva ridurre sensibilmente la portata della stimolazione vagale. Nel 1953 P.A. Burstall e B. Schofield hanno dimostrato che la stimolazione vagale della fase cefalica da ipoglicemia (indotta iniettando insulina) o da cibo finto provoca secrezione nel fondo gastrico isolato e denervato con vagotonia attraverso la produzione antrale di gastrina attivata da fibre vagali lasciate intatte solo per l’antro. Nel 1964 P.H. Jordan e C. de la Rosa hanno osservato che la somministrazione di gastrina esogena potenzia notevolmente la fase intestinale della secrezione gastrica e hanno concluso che esiste un marcato sinergismo fra le tre fasi.

Nel 1987 il fisiologo americano J.H. Baron riassume le conoscenze sulle tre fasi della secrezione gastrica mettendo in rilievo la contemporaneità dell’eccitazione vagale nella produzione esocrina di succo gastrico e della produzione endocrina di gastrina nella fase cefalica, il funzionamento del meccanismo *feed-back* antrale negativo pH-dipendente che fa cessare la produzione di gastrina quando durante la fase gastrica l’acidità bagna la mucosa antrale e, per quanto riguarda la fase intestinale, l’altro meccanismo *feed-back* negativo che entra in funzione quando chimo acido e grassi entrano in duodeno.

Anche i meccanismi di inibizione sono stati oggetto di studio nel corso del Novecento per quanto si riferisce alla secrezione gastrica. E’ stato così accertato che la produzione antrale di gastrina cessa quando il pH della mucosa antrale raggiunge valori inferiori a 1,7, ciò che rappresenta un bell’esempio di omeostasi in un sistema biologico. A.P. Sokolov nel corso di ricerche condotte nel laboratorio di Pavlov ha scoperto che l’introduzione diretta in duodeno di acido inibisce immediatamente e del tutto la produzione di succo gastrico acido. Nel 1957 H.B. Greenlee e coll. del laboratorio di Dragstedt hanno studiato l’effetto inibitorio del succo pancreatico sulla secrezione gastrica e hanno concluso che tale effetto deve essere imputato in buona parte all’azione dell’ormone secretina. Naturalmente anche diverse altre sostanze esercitano inibizione sulla secrezione gastrica come l’ingestione di grassi, l’enterogastrone di Ivy e un fattore umorale contenuto nella bile come è stato ipotizzato nel 1960 da R. Mengoy che ha studiato sperimentalmente il ruolo della bile e del succo pancreatico nel meccanismo di inibizione della secrezione gastrica da ingestione di lipidi.

I dati ottenuti dalla letteratura specializzata del Novecento sulla ripartizione delle percentuali di acido cloridrico prodotto nelle 24 ore in un soggetto adulto normale sono i seguenti: la quantità complessiva pari a 15 mEq è data per il 45% dalla fase cefalica o nervosa, per un altro 45% dalla fase antrale o gastrica e per il 10% dalla fase intestinale. Queste proporzioni e la quantità totale delle 24 ore subiscono fortissime variazioni nelle malattie dello stomaco e particolarmente nelle persone malate di ulcera duodenale in cui la produzione totale sale a 60 mEq e la fase cefalica ne risponde per l’86,5%.

Le cellule principali delle ghiandole della mucosa gastrica secernono i pepsinogeni liberi nel lume gastrico. Attualmente (fine del secolo XX) si distinguono due pepsinogeni, il primo prodotto dalle cellule del fondo gastrico e il secondo dalle cellule antroduodenali. La pepsina, che rappresenta l’enzima più importante del succo gastrico, preformata sotto

l'aspetto dei pepsinogeni I e II e immagazzinata nel citoplasma delle cellule principali della mucosa gastrica, si forma grazie ad una reazione catalitica e attacca la maggior parte delle proteine demolendo la catena peptidica, fatta eccezione per alcune protamine, per le cheratine e per gli aminogruppi di aminoacidi aromatici. Il risultato dell'azione digestiva della pepsina è rappresentato da blocchi proteici detti "peptoni", da polipeptidi e da aminoacidi singoli. Il peso molecolare della pepsina è ridotto rispetto a quello dei due pepsinogeni da cui deriva (36.000 contro 42.000) e il suo pH d'azione ottimale dipende anche dalla natura del substrato e dall'anione acido come è stato dimostrato nel 1955 dai fisiologi tedeschi Masch e Huchting. Un'azione accessoria della pepsina è la coagulazione del latte, fenomeno che previene il troppo rapido passaggio di questo alimento liquido ricco di lipidi in duodeno rendendolo più pronto ad essere idrolizzato dall'enzima specifico. La secrezione di pepsina è sensibilissima all'azione vagale. I pepsinogeni entrano solo per l'1% nel torrente circolatorio e solo il pepsinogeno I viene eliminato dai reni sotto forma di uropepsinogeno, fatto questo che è stato sfruttato per saggiare l'attività secretoria dello stomaco. I pepsinogeni possono però anche essere misurati direttamente nel sangue ed espressi come concentrazione globale sierica dei pepsinogeni.

Il succo gastrico è anche composto da due differenti qualità di muco, quello detto "visibile" di consistenza gelatinosa prodotto dalle cellule mucose dell'epitelio gastrico su stimolazione meccanica *in loco*, e quello detto "solubile" prodotto dalle cellule mucoidi del piloro e del cardias nonché dal collo delle cellule principali sotto attivazione promossa dagli stimoli vagali.

Un altro componente del succo gastrico è il "*fattore intrinseco di Castle*", una mucoproteina di peso molecolare 15.000 circa, termolabile e di struttura chimica non conosciuta, studiata da Ternberg e da Eakin nel 1949; il fattore intrinseco interagisce con la vitamina B12 favorendone l'assorbimento intestinale. Della composizione del succo gastrico fanno ancora parte la catepsina che è un enzima proteolitico, una debole lipasi che è sempre presente nei bambini, alcuni aminoacidi, diversi ioni (Na^+ , K^+ , Ca^{++} , Mg^{++} , Hco_3^- , SO_4^{--} e fosfati), e l'ureasi scoperta dall'americano L. Martin nel 1933.

Nel 1968 presso la Royal School dell'Hammersmith Hospital di Londra fisiologi, laboratoristi ospedalieri e clinici chirurgi e medici hanno concordato un protocollo inteso a uniformare secondo standard universalmente accettati per affidabilità e comparatività le tecniche di misurazione della secrezione acida dello stomaco. Di queste tecniche fanno parte il test di recupero dell'acqua ove non si desidera fare il controllo radioscopico del posizionamento corretto della sonda gastrica che serve a estrarre il succo gastrico, l'iniezione intramuscolare di pentagastrina oppure, in alternativa, la sua infusione endovenosa, il pasto simulato, l'iniezione endovenosa singola (o la perfusione) di insulina. Per motivi di comodità e sicurezza il vecchio test dell'istamina è stato quasi ovunque sostituito da quello con la pentagastrina. L'espressione dei risultati usata nei laboratori delle case farmaceutiche e degli ospedali è quella della portata acida massimale che corrisponde alla massa cellulare parietale correlata alla massa corporea magra, alla superficie corporea o, più semplicemente, all'altezza.

La **Motilità Gastrica** è stata indagata nel Novecento per la prima volta da W.B. Cannon nel 1911. Egli sottolineò il ruolo unico svolto dal nervo vago nell'eccitare la motilità dello stomaco prossimale e distale e individuò due distinte proprietà dello stomaco prossimale per quanto riguarda il controllo continuo della pressione endogastrica e dello svuotamento gastrico: il rilassamento muscolare che ha lo scopo di accogliere il bolo che scende dall'esofago e la capacità di adattamento volumetrico a masse anche notevoli di cibo. Quando la muscolatura gastrica si rilassa per accogliere quanto viene deglutito la pressione

endogastrica scende rapidamente e resta bassa per tutto il periodo in cui durano i successivi atti di deglutizione. Alla fine dell'ultima deglutizione la pressione comincia a risalire. Questa fase studiata da Cannon è stata da lui definita "fase di rilassamento recettivo" e attribuita alle terminazioni inibitorie del vago. Per quanto riguarda invece la capacità di adattamento volumetrico da parte dello stomaco prossimale, Cannon ha dimostrato che la pressione endogastrica sale di 10 cm. d'acqua quando sono stati ingurgitati da 300 a 500 cc. di cibo mentre un'ulteriore distensione fino a 800- 1000 cc. provoca sì un ulteriore aumento pressorio ma di grado molto più modesto. Anche in questo caso il fisiologo inglese ha attribuito il meccanismo di regolazione alle fibre inibitorie del n. vago.

Quest'ultima osservazione spiega perché il gradiente di pressione tra stomaco e duodeno resta basso durante il pasto e non c'è spinta allo svuotamento dello stomaco. Le ricerche di T.S. Nelsen pubblicate nel 1971 hanno confermato quanto scoperto da Cannon stabilendo che il ritmo di svuotamento dipende dalla differenza di pressione tra stomaco e duodeno e varia a seconda della resistenza offerta al defluire del bolo. Da un punto di vista strettamente meccanico lo svuotamento è dato dalle forti contrazioni dello stomaco prossimale indotte dalle terminazioni eccitatorie (colinergiche) del n.vago come è stato dimostrato nel 1973 da H. Abrahamson.

Nel corso degli anni settanta diversi ricercatori hanno aggiunto nuove conoscenze sulla intima regolazione nervosa e ormonale della muscolatura gastrica. Nel 1974 B.G. Wilbur e coll. hanno scoperto che i vaghi facilitano la regolazione ormonale della motilità dello stomaco prossimale: la gastrina, ad esempio, che è un ormone di produzione antrale, inibisce le contrazioni gastriche alte e fa scendere quindi la pressione endogastrica rallentando o paralizzando lo svuotamento e questa azione inibitoria è potenziata dai n.vaghi; la controprova di questo fatto è data dalla vagotomia che comporta una netta diminuzione di sensibilità delle fibre muscolari lisce dello stomaco prossimale all'azione della gastrina (N. Okike e K.A. Kelly, 1975). I vaghi possono anche modificare le risposte della muscolatura liscia dello stomaco ad altri ormoni come la colecistochinina, la secretina, il glucagone e la motilina, tutte sostanze peptidiche che rallentano lo svuotamento gastrico.

I movimenti dello stomaco distale sono quelli di un "mixer o di una macina" come sono stati efficacemente paragonati da Cannon. Nel 1970 J. Weber e coll. hanno individuato nella parte alta del corpo gastrico, al limite tra corpo e fondo, l'esistenza di un pacemaker che imposta ritmo, velocità e direzione delle onde peristaltiche dello stomaco distale. Più precisamente si tratta di una variazione ciclica di potenziale elettrico detta *pace-setter*, la quale depolarizza parzialmente la muscolatura liscia mentre corre distalmente rendendo le cellule muscolari più prossime alla soglia della contrazione. La soglia è raggiunta quando la somma degli stimoli colinergici rende completa la depolarizzazione di membrana delle fibrocellule muscolari e questo è il momento in cui scatta il potenziale d'azione che si sovrappone ai *pace-setter* potenziali dando la contrazione. La contrazione antrale ha la forma di un anello che si sposta rapidamente fino al piloro creando così la caratteristica onda peristaltica dell'antro gastrico ben nota ai radiologi.

Le contrazioni si susseguono al ritmo di tre volte al minuto rispettando la frequenza del *pacesetter* potenziale e del corrispettivo pacemaker. Sia *pace-setter* che pacemaker sono fenomeni strettamente miogenici ma sono i vaghi che stabilizzano il ritmo del pacemaker e impediscono che pacemaker ectopici vengano a disturbare la regolarità delle contrazioni (R.R. Dozois e K.A. Kelly 1976) così come nello stomaco prossimale il vago aumenta e l'ortosimpatico inibisce le contrazioni.

Del resto K.G. Morgan e coll. nel 1980, al seguito di una accurata ricerca sulla motilità dello stomaco prossimale sia *in vivo* che *in vitro* e in particolare sugli effetti della motilina

e della pentagastrina hanno visto che le contrazioni toniche lente e sostenute della muscolatura liscia del fondo gastrico non sono legate a potenziali pace-setter. Questi rimangono perciò una dotazione particolare dello stomaco distale (corpo e antro). Questa differenza tra le singole porzioni dello stomaco si spiega dunque con le diverse funzioni che esse svolgono, così come erano state individuate ancora agli inizi del secolo da Cannon, e cioè accoglimento e immagazzinamento del cibo da parte del fondo e azione di mixer e svuotamento da parte di corpo e antro. L'unica eccezione a questo riguardo è data dall'ingestione di liquidi che vengono espulsi rapidamente in duodeno come dimostrato da moltissimi ricercatori. Lo svuotamento dei liquidi può subire un certo ritardo sulla norma solo quando il tono muscolare della parete gastrica è particolarmente basso a fronte di un aumento della pressione endoluminale (W.J. Chey e coll. 1970, H.T. Debas e coll. 1975, R.R. Dozois e coll. 1971, J.N. Hunt e coll. 1967, B.G. Wilburg e coll. 1973).

La gastrina aumenta la frequenza del pacemaker gastrico e quindi stimola la peristalsi in evidente contrasto con l'azione inibitrice che essa esercita sulla muscolatura dello stomaco prossimale. Altri eccitanti della peristalsi dell'antro gastrico sono la colecistochinina e la motilina mentre secretina, glucagone, VIP, GIP e bulbogastrone l'inibiscono.

Il piloro agisce di concerto con l'antro gastrico per trattenere i cibi solidi e non completamente fluidificati, nel lasciar passare i liquidi e nell'impedire il rigurgito di succo duodenale, succo pancreatico e bile nello stomaco. Ricerche di J.R. Stephens e coll. pubblicate nel 1975 hanno documentato che il piloro ammette il passaggio in duodeno di particelle di contenuto gastrico allo stato ancora solido non superiori a 0,1 mm. Il controllo nervoso del piloro è simile a quello dell'antro (Carlson, 1966) ma gli effetti dell'azione ormonale sono diversi; R.S. Fischer infatti nel 1973 ha trovato che la secretina rafforza le contrazioni del piloro ma non quelle dell'antro.

Lo svuotamento gastrico è stato il tema che più ha appassionato i fisiologi che nel corso del secolo si sono dedicati allo studio dello stomaco. In verità la prima ricerca su questo particolare aspetto funzionale è stata quella del francese C. Marbaix nel 1898. Egli dimostrò che i liquidi che oltrepassano il piloro entrando in duodeno rallentano lo svuotamento ulteriore dello stomaco. Studi del primo Novecento hanno a loro volta dimostrato che quanto maggiore è il contenuto dello stomaco tanto più rapido è il suo svuotamento. Nel 1929 M.H. Wilson e coll. e nel 1954 J.N. Hunt osservarono che lo stomaco disteso da grandi quantità di liquidi di diversa natura si svuota ad una velocità che è indipendente dalla qualità del liquido. Marbaix aveva già dimostrato che 250 cc di aria sommati ad altri 250 cc di acqua uscivano dal piloro alla stessa velocità di 500 cc. di acqua. L'effetto della pressione osmotica sullo svuotamento gastrico, studiato nel 1905 da P. Charnot e A. Chaussevant, consiste in un ritardo di svuotamento sia che le soluzioni endogastriche siano ipertoniche sia che siano ipotoniche.

Nel 1973 R. Fisher e S. Cohen studiando la fisiologia del piloro su 28 soggetti normali hanno osservato che vi è presente una zona lunga 1,5 cm di alta pressione a riposo intorno a 5,3 mm Hg, e hanno concluso che *“il piloro è uno sfintere fisiologico che si contrae sotto stimolazione ormonale proveniente dal duodeno e modifica il movimento retrogrado del contenuto duodenale nello stomaco”*.

I recettori della muscolatura gastrica sensibili alla tensione e distensione delle pareti dello stomaco sono stati descritti per la prima volta nel 1954 da A. S. Paintal e nel 1955 da A. Iggo, i quali hanno documentato la emissione di impulsi di questi recettori seguita da contrazioni della parete gastrica. Quando lo stomaco è disteso viene emessa una grande quantità di impulsi ma anche quando è del tutto vuoto sono stati registrati 10 impulsi al secondo. L'effetto di questi impulsi è quello di dare l'avvio allo svuotamento dello stomaco.

Gli studi del 1905 sull'osmolarità già citati sono stati ripresi nel 1960 da J.N. Hunt e J.D. Pathak e ancora nel 1975 da H.J. Sheiner e hanno portato alle seguenti conclusioni: 1 – esistono certamente osmorecettori sensibili indovati nella parete duodenale 2 – gli effetti calcolati in milliosmol delle soluzioni di glucosio, sorbitolo, solfati, sali di K, Ca e Na sono sovrapponibili tra loro e ognuna di queste soluzioni ritarda lo svuotamento gastrico 3 – il confronto dei tempi di svuotamento tra acqua da un lato e amido e glucosio dall'altro mostra maggior lentezza per l'amido e il glucosio.

Anche le soluzioni acide rallentano lo svuotamento in modo direttamente proporzionale al loro grado di concentrazione mentre la forza del singolo acido non mostra alcuna correlazione con il tempo di svuotamento. Le ricerche condotte a tale riguardo nel 1968 da J.N. Hunt e da M.T. Knox e da altri hanno portato all'ipotesi secondo la quale sarebbero gli anioni a determinare l'efficienza dell'acido nel rallentare lo svuotamento. Nel 1974 A.R. Cooke ha a sua volta scoperto che sono i primi 5 cm di duodeno, cioè quella parte di duodeno in genere definita come “bulbo duodenale” o anche “prima porzione del duodeno” ad essere sensibile all'acidificazione mentre le altre parti del duodeno non rivelano tale sensibilità specifica. Sempre a proposito dello svuotamento gastrico si deve ricordare che già nel 1911 W.B. Cannon aveva osservato che gli zuccheri vengono svuotati in duodeno prima delle proteine e queste prima dei lipidi ma che quantità isocaloriche di zuccheri, proteine e grassi passano attraverso il piloro ad uguale velocità.

Passiamo ora ai progressi degli studi di fisiologia umana dell'intestino tenue.

Intestino Tenue – L'apparato ghiandolare del tenue (ghiandole di Brunner e di Lieberkühn) produce il succo enterico che è stato diffusamente studiato in molti laboratori europei e angloamericani nel corso della prima metà del Novecento. Oltre al muco prodotto dalle ghiandole mucipare e il cui scopo è essenzialmente protettivo al quale si associano azioni di diluizione e lubrificazione e la cui secrezione è stimolata da secretina, enterocrinina, pH acido e pressione esercitata dal chimo sulla parete intestinale, il succo enterico è composto anche da molti enzimi che presiedono alla **digestione delle proteine**, globalmente definiti “*proteasi*”. Queste proteasi sono state suddivise dai biochimici e dai fisiologi in due classi principali:

1 – le *endopeptidasi* che idrolizzano, cioè scindono nei loro aminoacidi costituenti, le catene peptidiche più interne di una proteina e si identificano con la tripsina enterica di peso molecolare 23.800 e con l'enterochinasi la cui azione è quella di trasformare il tripsinogeno in tripsina e ha un pH ottimale di 6.

2 - le *esopeptidasi* che idrolizzano le catene peptidiche più esterne di una proteina; queste esopeptidasi sono numerose e tra esse sono state particolarmente studiate la tripeptidasi che idrolizza molte varietà di tripeptidi dando luogo ad un aminoacido libero e a un dipeptide, e la leucina-aminopeptidasi che è attivata da Mg^{++} o Mn^{++} e viene inibita dai pirofosfati e dai citrati.

Altri enzimi proteolitici del succo enterico sono la glicol-glicina-dipeptidasi che contiene cobalto, la glicol-L-leucina-dipeptidasi attivata dal Mn^{++} , l'imido-peptidasi o propinasi pure attivata dal Mn^{++} che la protegge dall'inibizione operata dalla iodoacetamide e dal p-cloro-mercuribenzoato, e infine l'iminodipeptidasi che idrolizza i dipeptidi contenenti residui di prolina e di idrossiprolina.

Queste conoscenze di biochimica sono dovute a ricerche di laboratorio eseguite prevalentemente su proteine sintetiche negli anni quaranta e cinquanta del Novecento (E.L. Smith; M. Bergmann; G. Agren; Vallerv e Neurath). Al gruppo delle peptidasi nei primi anni sessanta si sono aggiunti altri enzimi importanti come nucleasi, nucleosidasi e

fosfatasi che idrolizzano in vario modo i nucleotidi e il DNA nel suo complesso (digestione delle nucleoproteine).

Nei primi anni del Novecento non era ancora noto il principio per il quale ogni proteina per essere digerita abbisogna dell'opera di enzimi diversi, ognuno dei quali agisce in condizioni di pH per lui ottimali così da effettuare una idrolisi altamente specifica. Non essendo ancora noto questo principio che è andato svelandosi nelle ricerche degli anni trenta, l'azione digestiva delle proteine nel loro complesso veniva attribuita ad una unica sostanza chimica non esattamente individuata detta "*erepsina*".

Le reazioni biochimiche coinvolte nella **digestione dei carboidrati** hanno tutte lo scopo di ridurre i polisaccaridi e oligosaccaridi in monosaccaridi (zuccheri semplici). Nell'alimentazione umana l'amido è il polisaccaride più importante e più effettivamente consumato in tutte le diete (pane, pasta, riso) e le molecole di monosaccaridi che lo formano sono legate tra loro in vario modo cosicché per la scomposizione di una molecola di amido entrano in funzione diversi enzimi specifici: il primo attacco viene eseguito dall'amilasi salivare e da quella pancreatica che liberano un disaccaride detto maltosio lasciando intatto il polisaccaride residuo formato dalle destrine sul quale l'amilasi non è attiva. Il succo enterico elabora invece la maltasi che scinde il maltosio in due molecole di glucosio, la lattasi che scinde il lattosio in glucosio e galattosio, la saccarasi o invertasi che scinde il saccarosio in fruttosio e glucosio. Le prime pubblicazioni di biochimica su questa materia recano la data del 1935 e portano le firme dei due ricercatori tedeschi Neuberg e Hofmann; molte altre scoperte sono seguite nel corso degli anni quaranta e cinquanta.

La **digestione dei grassi o lipidi** riguarda sostanze molto diverse tra loro per composizione chimica, come grassi neutri, fosfatidi, cerebrosidi, steroidi e vitamine liposolubili (A, E, D, K). Il succo enterico collabora alla complicata e principale azione digestiva operata dal succo pancreatico con la lipasi intestinale. I grassi neutri – così chiamati perché il gruppo del loro acido non è libero – vengono digeriti per idrolisi del legame estere tra glicerolo e acidi grassi di vario tipo: trattasi di una scissione progressiva che dal trigliceride (tre molecole di glicerolo e di acidi grassi) passa al digliceride (due molecole) più un monocliceride e poi dal digliceride a due monogliceridi. Contrariamente agli enzimi della proteolisi e della digestione degli zuccheri che agiscono tutti con un elevato grado di specificità, l'azione della lipasi è molto meno specifica. Inoltre è anche reversibile nel senso che essa può realizzare la sintesi degli esteri. Gli acidi grassi a loro volta si legano nell'ambiente intestinale a diversi cationi: con Na^+ e K^+ formano saponi solubili, con Ca^{++} e Mg^{++} saponi insolubili.

Le vitamine liposolubili e gli steroidi non subiscono azioni enzimatiche nel lume intestinale e i fosfolipidi vengono scissi solo in parte.

La lipasi enterica studiata da A.C. Frazer nel 1946 sarebbe prodotta dalla mucosa del digiuno e la sua attività complessiva è stata valutata in quegli anni "debole" rispetto, naturalmente, alla potente azione della lipasi pancreatica. Precedentemente, nel 1934, Nickel e Kanitz avevano escluso che l'ileo (la porzione più bassa del tenue) potesse produrre una lipasi.

Il meccanismo intimo dell'**assorbimento**, per quanto sia stato studiato per diverse decadi, non era stato ancora negli anni cinquanta del tutto chiarito nei suoi minimi dettagli biochimici e biofisici. La superficie sulla quale si effettua l'assorbimento dei principi nutritivi è esclusivamente la mucosa di duodeno, digiuno e ileo essendo la mucosa del colon deputata solo al riassorbimento di acqua ed elettroliti. I fenomeni fisico-chimici che si verificano nelle cellule epiteliali del piccolo intestino sono quelli della filtrazione, diffusione ed osmosi e la loro complessità ha avuto la sua prima illustrazione panoramica

solo intorno al 1962 (E. Oppenheimer e F. Netter) quando già erano venuti ad aggiungersi altri meccanismi (ignoti prima degli anni cinquanta) come la pinocitosi, l'azione dei potenziali di membrana, il trasporto operato dalle speciali proteine delle cellule intestinali chiamate “*carriers*” e il consumo energetico. Tutti questi nuovi parametri e le scoperte sul loro funzionamento hanno consentito di comprendere come molti principi nutritivi vengono assorbiti dalle cellule della mucosa del tenue (enterociti) contro un gradiente di concentrazione ossia contro le regole della biofisica che operano sulla diffusione e sull'osmosi. Alla fine del Novecento era ormai chiaro che per ogni principio nutritivo viene applicato un meccanismo specifico diverso da tutti gli altri. Solo l'acqua e i minerali come i sali composti da ioni Na^+ , K^+ , Cl^- che si muovono con l'acqua passano la parete intestinale in ambo le direzioni a seconda che il chimo contenuto nel lume intestinale è ipotonico o ipertonico (M.B. Visscher, 1957), ma l'assorbimento di ioni cloro in presenza di solfati e del cloruro di sodio contro un gradiente di pressione richiede un meccanismo particolare (M.H. Jacobs 1939). Molte ricerche espletate tra il 1936 (F. Verzar e coll.) e il 1958 (L. Swell e coll.) hanno riguardato l'assorbimento del calcio, del fosforo, del magnesio e di altri ioni.

L'**assorbimento dei lipidi** ha costituito l'oggetto delle ricerche e delle numerose pubblicazioni del fisiologo inglese A.C. Frazer edite tra il 1940 e il 1958 e di molti altri studiosi tra il 1939 e il 1960. Fra quelle date alle stampe alla fine degli anni cinquanta meritano di essere ricordate le pubblicazioni che riguardano l'assorbimento intestinale dei lipidi studiato con l'impiego di grassi marcati con sostanze radioattive (B.J. Duffy e coll., M. Grossman e coll.; J.M. Ruffin e coll. 1957 e 1958). Questi studi hanno dimostrato che ogni singolo componente della miscela di grassi parzialmente già idrolizzata dalla lipasi pancreatica in di- o mono-gliceridi o del tutto idrolizzata in glicerina e acidi grassi come pure molecole intere niente affatto idrolizzate possono entrare nelle cellule intestinali (enterociti) dove i singoli prodotti dell'idrolisi completa o incompleta vengono risintetizzati, pronti così ad entrare nei vasi del sistema chilifero-linfatico.

La glicerina e i sali alcalini degli acidi grassi a catena lunga, media e corta entrano nell'enterocita per diffusione mentre i mono- e di-esteri della glicerina superano la membrana dell'enterocita da soli o insieme agli acidi biliari senza ulteriori idrolisi. Gli acidi grassi a catena media detti MCT (*medium chain triglycerides*) possono essere assorbiti dagli enterociti senza essere idrolizzati ed essendo idrosolubili non abbisognano nemmeno della funzione veicolante degli acidi grassi. Gli MCT una volta entrati nell'enterocita non hanno necessità di essere risintetizzati prima di entrare nel circolo venoso portale. Tutte queste caratteristiche degli MCT li hanno fatti diventare l'alimento lipidico ideale per tutti i disturbi del sistema chilifero-linfatico.

Dunque quasi tutti i prodotti del lavoro enzimatico lipolitico – una volta entrati nel citoplasma dell'enterocita - vengono riesterificati a trigliceridi grazie all'azione di enzimi presenti nell'enterocita. Si è scoperto che l'ingresso dei trigliceridi appena ricostruiti e rivestiti da una copertura proteica nei vasi chiliferi è aiutato da un'azione meccanica di pompaggio effettuata dai villi intestinali. La presenza degli acidi biliari è essenziale non solo per emulsionare i grassi ingeriti formando le cosiddette “micelle” ma anche per trasportare tutte le sostanze e prodotti della digestione non solubili o poco solubili in acqua: sono infatti gli acidi biliari a fare da *carrier* per i monogliceridi che si presentano nel chimo sotto forma di saponi insolubili. Alcune combinazioni di acidi biliari e acidi grassi transitano attraverso l'enterocita ed entrano direttamente nel sistema venoso portale senza subire alcuna modificazione

Questa via è usata anche da alcuni trigliceridi formati da acidi grassi a catena corta ma l'ingresso complessivo dei lipidi dall'enterocita nella vena porta rappresenta una quota minima rispetto a quella che entra nel sistema chilifero-linfatico.

Altri studiosi si sono dedicati allo studio dell'assorbimento del colesterolo (L.Swell e coll. 1958), dei fosfatidi e delle vitamine liposolubili A,D,E K1 e K2 che subiscono processi di esterificazione prima di lasciare il citoplasma dell'enterocita per entrare nel sistema linfatico (A.E. Sobel 1952; S.W. Clausen 1943). Questi studi hanno dimostrato che la presenza della bile è essenziale per consentire la penetrazione di questi particolari tipi di grassi e delle vitamine liposolubili presenti nei grassi alimentari dal lume del tenue nel citoplasma dell'enterocita. La vitamina A viene assorbita dall'epitelio del duodeno e della prima parte del digiuno mentre le restanti vitamine liposolubili (D,E,K) sono assorbite dalla parte restante del digiuno e da tutto l'ileo.

L'assorbimento degli **acidi biliari** avviene nella loro forma coniugata nell'ileo con un meccanismo di trasporto attivo. L'organismo perde con le feci ogni giorno in media circa 400 mgr di acidi biliari, perdita che il fegato compensa quotidianamente mantenendo intatto il pool che è di 4 grammi circa. Nel cosiddetto circolo enteroepatico gli acidi biliari circolano da 6 a 8 volte nelle 24 ore e due volte ad ogni pasto (K.W. Heaton 1972). Durante questi passaggi gli acidi biliari del lume intestinale vengono riassorbiti per circa il 95%.

L'**assorbimento dei carboidrati** avviene quasi esclusivamente sotto forma di monosaccaridi esosi (glucosio, fruttosio, galattosio) o pentosi (ribosio e arabinosio). Una minima quantità di disaccaridi come saccarosio e lattosio entra direttamente nell'enterocita ma si tratta di una percentuale trascurabile. Il trasporto dei monosaccaridi dal lume intestinale all'enterocita avviene in parte per diffusione ma anche con sistemi specifici e per processi attivi e selettivi come la conversione di esosi in esofosfati grazie agli enzimi esosochinasi presenti nel lume intestinale dove operano la fosforilazione necessaria solo per alcuni tipi di esosi. Ciò spiega certe differenze nell'assorbimento come la maggior rapidità del galattosio rispetto al glucosio nel transitare dal lume intestinale alla cellula e del glucosio rispetto al fruttosio che risulta il più lento. Del resto il tempo impiegato per l'assorbimento è indipendente dalla concentrazione del chimo. Anche la forma stereoisomerica destrorotatoria è assorbita più velocemente della levorotatoria. L'assorbimento del glucosio avviene in maniera ottimale in presenza di sodio (W.F. Caspary 1975 e 1979; R.K. Crane 1966): questa scoperta è stata utilizzata nella cura delle diarree acute da colera ed enterite da salmonellosi ricorrendo a soluzioni orali di glucosio con elettroliti. I pentosi, nonostante abbiano la molecola più piccola di quella degli esosi, richiedono più tempo per attraversare l'enterocita.

Tra i primi a studiare questi fenomeni è stato E. von Koras nel 1938, seguito nel 1957 da J.P. Peters. Della messa a punto del test di tolleranza dello xilosio per saggiare l'efficienza del sistema di assorbimento intestinale dei carboidrati si sono occupati J.M. Finlay nel 1958 e D. Fowler e Cook nel 1960.

Quando la dieta è ricca di lattosio (o galattosio) l'assorbimento dell'ione Ca^{++} è facilitato, specie nei bambini nei quali i lactobacilli intestinali trasformano il lattosio in acido lattico che, abbassando il pH del lume intestinale, aumenta la solubilità del fosfato di calcio. D'altronde anche il calciferolo (vitamina D) svolge un ruolo determinante nell'assorbimento del fosforo e del calcio soprattutto a livello intestinale alto come pure facilita l'assorbimento del ferro e del cobalto stando ai risultati di ricerche degli anni settanta.

L'**assorbimento delle proteine** avviene di regola sotto forma degli aminoacidi liberi che le compongono subito dopo la loro scomposizione per azione enzimatica. La velocità dell'assorbimento è maggiore per le forme L-isomere anziché per le D-isomere e la maggior parte lascia gli enterociti per entrare nel sistema portale (D.M. Matthews 1971); solo una esigua quantità entra nel sistema linfatico. Nel 1988 H.N. Munro ha proposto una classificazione degli aminoacidi in tre gruppi biochimici detti "acido, basico e neutro" a seconda della loro solubilità a gradi diversi del pH fisiologico, tale essendo infatti il risultato delle ricerche da lui compiute sul rapporto del pH nel lume di tratti diversi dell'intestino tenue, dal piloro alla valvola ileocecale, con l'assorbimento dei protidi. Ogni aminoacido appartenente ad uno dei tre gruppi di Munro sfrutta il medesimo *carrier* per superare la membrana cellulare. Del gruppo acido fanno parte gli aspartati e i glutammati che possiedono due gruppi carbossilici mentre i basici (istidina, leucina e arginina) hanno due gruppi amminici. Il gruppo neutro include alanina, glicina, prolina, isoleucina, leucina, valina, serina e treonina, cisteina e metionina, triptofano.

Gli aminoacidi *essenziali*, come è noto, sono quelli che l'organismo umano non è capace di sintetizzare e che deve procurarsi con la dieta e la loro definizione è stata fatta nel **1938** da W.C. **Rose** con una lunga serie di esperimenti dietetici sugli animali di laboratorio. L'orlo a spazzola dell'enterocita contiene le proteine-*carrier* specifiche per trasportare i singoli aminoacidi dentro al citoplasma dell'enterocita. Qui una parte di tutti gli aminoacidi assorbiti viene subito utilizzata per sintetizzare proteine e altri composti azotati necessari alla vita stessa dell'enterocita e al meccanismo dell'assorbimento proteico, la maggior parte però lascia la cellula intestinale per entrare nel circolo portale e raggiungere il fegato, la grande officina chimica dove vengono costruite tutte le proteine di cui l'organismo necessita. Fa eccezione la glutammina che viene sfruttata dall'enterocita come sua sostanza energetica (H.G. Windmüller-1982). L'azoto rilasciato dalla glutammina esce dall'enterocita sotto forma di diverse combinazioni (NH₄, alanina, citrullina e ammidi della glutammina per la biosintesi degli acidi nucleici). Nel 1985 W.W. Souba e coll. hanno studiato a fondo il metabolismo della glutammina nella parete intestinale e hanno concluso che essa, come fonte energetica, corrisponde al glucosio che produce 36 mole di ATP per mole. Lo sfruttamento energetico della glutammina da parte delle cellule della mucosa intestinale fa risparmiare un'enorme quantità di glucosio che rimane libero per essere utilizzato dagli altri tessuti a metabolismo glicolitico. Quasi metà di tutta la glutammina che entra nell'enterocita viene però trasformata in alanina che viene subito inviata al fegato. Ricerche degli anni ottanta e novanta hanno dimostrato la benefica azione sul trofismo intestinale della glutammina (J.P. Grant e coll.; T.L. Hwang e coll.; S.T. O'Dwyer e coll.). Della sua azione protettrice verso danni da irradiazione, da cura con 5-fluorouracile e con metatrexate hanno dato prova le ricerche di V.S. Klimberg (1990), D.O. Jacobs e coll. (1987) e A.D. Fox e coll. (1988).

L'**assorbimento delle vitamine idrosolubili** avviene su aree preferenziali a livelli diversi del piccolo intestino così come avviene anche per tutti i minerali. Il duodeno assorbe la vitamina B1, il ferro e il calcio; il digiuno prossimale assorbe vitamina A e B1, acido folico e ferro; il digiuno distale assorbe la vitamina C, l'acido folico, la biotina o vitamina H, il rame, lo zinco, il potassio e l'acido pantotenico; l'intero intestino tenue assorbe a qualsiasi livello le vitamine B1, B2, B3 e B6, lo jodio, il calcio, il magnesio e il fosforo. L'ultima porzione dell'ileo assorbe la vitamina B12 con il fattore intrinseco, il cloro, il sodio e il potassio.

Per l'assorbimento del calcio è fondamentale l'azione favorente della vitamina D e dei suoi derivati ormonali elaborati dal fegato e dai reni (25-idrossicalciferolo e 1-25-diidrossicalciferolo rispettivamente). Per l'assorbimento del ferro è molto importante la acidità del succo gastrico e l'azione enzimatica multipla del succo pancreatico che libera

ferro dal cibo ingerito. La concentrazione ottimale del calcio nel lume del tenue è importante per mantenere ridotto al 10% l'assorbimento intestinale di acido ossalico in modo da impedire un'iperossaluria con formazione di calcoli di ossalato.

Motilità dell'intestino tenue. – Le contrazioni parietali dell'intestino tenue mescolano il chimo con un ritmo che facilita sia la digestione che l'assorbimento, funzioni di cui abbiamo appena trattato, ripulisce da residui alimentari, secrezioni e batteri negli intervalli fra i pasti e spinge rapidamente il contenuto a forte distanza quando si tratta di movimenti di massa veloci antigradi o retrogradi che hanno scopo protettivo per l'organismo.

Nella seconda metà del secolo XX l'affinamento dei mezzi d'indagine ha consentito di migliorare in modo sostanziale le conoscenze sul controllo miogeno, nervoso estrinseco, nervoso intrinseco e chimico della normale motilità del piccolo intestino e sulla organizzazione della sua attività contrattile. Abbondante letteratura su questa materia è stata presentata al IV Simposio di Vancouver nel 1973 e al V Simposio sulla motilità del tenue a Hereutels in Belgio nel 1975 nonché in altre riunioni scientifiche internazionali nel corso degli anni ottanta e novanta.

Il “controllo miogeno” è dato dall'attività elettrica della muscolatura liscia della parete intestinale e si identifica con l'attività di onde lente dette anche ritmo basale o potenziale di *pacesetter* (S.K. Sarna ricerche eseguite tra il 1975 e il 1981; N.W.Eisbrodt 1981; J.H. Seurszwesski 1981). Le variazioni del potenziale di membrana a riposo oscillano fra -50 e -70 mV rispetto al liquido extracellulare e le depolarizzazioni di membrana delle fibre muscolari lisce si verificano da 11 a 13 volte al minuto nell'alto tenue e da 8 a 10 volte al minuto nel basso tenue. Quando interviene uno stimolo elettrico o chimico – e ciò avviene solo nella fase di depolarizzazione della membrana cellulare della muscolatura del tenue – scatta un potenziale d'azione, cioè una contrazione della tonaca muscolare. Sarna ha dimostrato che l'attività delle onde lente rafforza il controllo temporale e spaziale delle contrazioni del tenue, che le contrazioni stesse si verificano in ogni fibrocellula muscolare individualmente e che la coordinazione tra le singole fibrocellule avviene grazie a speciali strutture anatomiche a bassa resistenza elettrica dette “giunzioni cellulari” o “*gap junctions*”. Le conclusioni tratte su questo argomento da Sarna e coll. nel 1993 hanno paragonato l'attività elettrica del tenue ad un sistema di oscillatori accoppiati bidirezionali e hanno riconosciuto la presenza nel duodeno prossimale di una zona che agisce da pacemaker in modo del tutto simile al pacemaker gastrico, fatto questo che giustifica il progressivo decremento della frequenza delle onde lente in senso aborale mentre a livello duodenale e digiunale il fenomeno dell'accoppiamento elettrico è tanto accentuato da far oscillare il potenziale delle fibrocellule con la massima frequenza.

Nel 1982 P. Kerlin e coll. hanno osservato che il tempo di transito del contenuto intestinale nelle ultime anse del tenue è molto più lento rispetto a quanto avviene nelle anse del digiuno e nel 1987 M.L. Sigle e coll. hanno spiegato questo fatto con la carenza o assenza di coordinazione delle contrazioni del tenue terminale e con la non propagazione delle stesse.

Il “controllo neurogeno” della muscolatura dell'intestino tenue è duplice, estrinseco e intrinseco. Il primo si svolge attraverso le diramazioni periferiche del sistema parasimpatico che fa capo al n. vago (X paio di n. cranici) e al sistema ortosimpatico dei gangli celiaci e dei n. splancnici (n. spinali lombari da T5 a L3). Fin dalla prima metà del Novecento le ricerche di fisiologia del tenue avevano accertato in modo chiaro e definitivo l'azione peristaltizzante del parasimpatico e l'azione paralizzante del simpatico. Per quanto riguarda la prima, le ricerche espletate in diversi laboratori – quelli di J.Gidda e coll. nel 1980, di J.Kewenter e coll. nel 1965, di S. Mir e coll. nel 1978, di S. Sarna nel 1976 –

hanno accertato che ogni fibra vagale efferente influenza circa 2000 neuroni del tenue mentre le fibre vagali afferenti trasportano rapidamente ai centri nervosi gli stimoli chimici della mucosa intestinale e più lentamente quelli meccanici rilevati dalla muscolatura dell'intestino.

Per quanto riguarda il parasimpatico che innerva il tenue è stato pure scoperto che solo il 20% delle sue fibre è di tipo efferente mentre il restante 80% è tutto deputato all'azione afferente.

L'innervazione simpatica – studiata in modo particolare da C.V. Euler nel 1959 – è anch'essa ripartita in fibre efferenti e afferenti; la stimolazione delle efferenti fa rilasciare noradrenalina ed altre sostanze regolatrici neurocrine la cui azione specifica è quella di inibire le contrazioni del tenue; questo effetto stiptizzante viene ampiamente usato in terapia delle diarree mediante farmaci che amplificano l'attività del simpatico intestinale. Va tuttavia ammesso che una approfondita ed esatta conoscenza dell'azione di controllo della muscolatura del tenue da parte del simpatico alla fine del secolo risultava, per espressa dichiarazione degli stessi fisiologi, ancora carente tanto che continuava a formare oggetto di ricerca di laboratorio nell'anno 2000.

Il controllo intrinseco o neuroenterico per il quale nel 1989 H.J. Cooke e coll. hanno proposto la definizione di “minicervello dell'intestino” è dato da una fittissima rete composta da tutti i numerosissimi neuroni della parete intestinale. G.L. Telford e coll nel 1985 e J.B. Furness e coll. nel 1987 hanno calcolato che il numero complessivo dei neuroni dell'intestino umano è pressoché pari a quello del sistema nervoso centrale (SNC)! I neuroni sono immersi in un intreccio di fibre che li collegano uno all'altro e con i gangli fino a formare i due plessi già descritti da Meissner e da Auerbach, rispettivamente nella sottomucosa e nella muscolare. Le fibrocellule muscolari del tenue sono attivate da neuroni eccitatori colinergici e da neuroni inibitori non adrenergici e non colinergici. L'azione di questi ultimi non era ancora chiarita negli anni novanta del Novecento. Molti fisiologi hanno dedicato la loro attenzione all'ossido di azoto ritenuto essere il maggior responsabile dell'azione inibitrice alla quale coopererebbero l'ATP e il VIP (polipeptide intestinale vasoattivo) secondo J. Fahrenkrug, J.B. Furness, L. Larsson che pubblicarono le loro ricerche tra il 1976 e il 1980. Gli esperimenti di isolamento del tenue dal SNC mediante neurotomie selettive oppure con autotrapianto del tenue hanno rivelato una scarsa modificazione della peristalsi.

Il *riflesso peristaltico o mienterico* si è rivelato ai fisiologi degli ultimi anni del secolo come un classico riflesso “enteroenterico”. Bayliss e Starling già nel lontano 1899 avevano descritto il meccanismo di eccitazione a monte e di rilassamento a valle del sito dove agisce lo stimolo meccanico o chimico. Anche se questo riflesso non sembra svolgere un ruolo importante nell'attività motoria postprandiale del tenue, esso riflette la circoscrizione coordinata del sistema nervoso enterico.

Il “*controllo chimico*” che si basa su stimolazione e inibizione della muscolatura del tenue è dato da sostanze neurocrine rilasciate *in loco* dalle terminazioni nervose, da sostanze paracrine, dalle cellule infiammatorie o enteroendocrine della parete intestinale e da ormoni rilasciati da ghiandole situate lontano dall'intestino. Esempi di queste diverse classi di sostanze sono l'istamina, la serotonina, gli oppiacei, la colecistochinina (CCK), la motilina, la somatostatina, il VIP e la sostanza P.

Esiste anche una interrelazione tra sistema immunitario (rilascio di alte dosi di istamina da parte delle cellule dell'infiammazione) e sistema nervoso enterico.

Non appare utile, a questo punto, soffermarsi in una esposizione dettagliata dei numerosi risultati sperimentali che hanno consentito di chiarire in modo soddisfacente

l'organizzazione dell'attività contrattile del piccolo intestino. Sarà sufficiente ricordare che le molte pubblicazioni fiorite su questo argomento nel corso degli anni novanta hanno puntualizzato le caratteristiche elettriche e grafiche delle contrazioni fasiche individuali, dei gruppi organizzati di contrazioni (complesso motorio migrante; salve di contrazioni migranti) e delle contrazioni propulsive speciali (giganti retrograde e giganti migranti). Questa varietà di tipi di contrazioni dell'intestino presenti in differenti situazioni spaziali e temporali presiede all'efficienza della digestione, dell'assorbimento e della propulsione del chimo. In particolari situazioni il tenue svolge anche con la massima tempestività un ruolo altamente protettivo nei riguardi dell'organismo provvedendo all'espulsione del suo contenuto per via retrograda (vomito) o per via aborale (scariche diarroiche) (M.Otterson e coll. 1993).

L'insieme delle nuove conoscenze acquisite negli ultimi decenni del Novecento ha potuto far comprendere meglio molti quadri di fisiopatologia come quelli della pseudoostruzione cronica idiopatica, dell'anastomosi a Y di Roux, del trapianto intestinale (G.L. Telford e coll. 1993, M.G. Sarr e coll. 1991, E. Quigley e coll. 1992, E. Livingston e coll. 1990).

Colon – La fisiologia del grosso intestino è stata studiata lungo tutto l'arco del secolo ma con diversità di temi scientifici nella prima metà del Novecento rispetto alle sue ultime decadi.

La **secrezione propria del colon** è data da un liquido alcalino composto essenzialmente da acqua e muco con l'aggiunta di una quota variabile di enzimi; si tratta di un secreto che può rapidamente aumentare molto di volume quando la mucosa è irritata da cause chimiche o meccaniche.

Il colon normale secerne di regola un massimo di 0,03 mEq di K^+ e di 0,18 mEq di HCO_3^- al minuto e il pH è alcalino. Il muco assolve l'importante ruolo di lubrificatore della parete intestinale e ciò facilita lo scorrimento di feci di consistenza particolarmente dura. L'epitelio della mucosa colica è un'importante via di eliminazione di metalli come il piombo, il mercurio, il bismuto, fatto questo che doveva avere una notevole importanza nei secoli passati allorché alcuni di questi metalli erano ampiamente usati in farmaceutica per la cura di diverse malattie e soprattutto della sifilide. Anche l'argento e il calcio rientrano tra gli elementi che possono essere eliminati dalla mucosa del colon.

L'**assorbimento** riguarda l'acqua, gli elettroliti, gli acidi grassi volatili e gli acidi biliari. La capacità assorbente del colon è molto ampia e si adatta facilmente a tutte le necessità. La massima capacità di assorbimento/minuto è di circa 0,28 mEq di Na^+ , di 0,39 mEq di Cl^- e di 3,9 ml di acqua (A. Manning e coll.1977). La diarrea compare solo quando questi limiti vengono superati.

La **funzione digestiva** normalmente è assai scarsa o di nessuna importanza, assume però notevole interesse nei casi di sindrome del breve intestino allorché assume chiaro significato compensatorio. In questa circostanza il colon mostra di sapersi lentamente adattare ad assorbire piccole quantità di peptoni e peptidi e anche amido grazie all'attività degli enzimi batterici. Sono infatti questi a produrre lo scatolo dal triptofano, l'indolo dalla tiroxina, il fenolo dalla fenilalanina, il cresolo e l'istamina dall'istidina. L'*Escherichia coli* è un batterio particolarmente abile nel demolire la molecola dei trigliceridi liberandone i rispettivi acidi grassi. Una parte dei sunnominati prodotti della putrefazione viene assorbita e portata dal sangue venoso al fegato il quale la elabora al punto che dette sostanze possano essere escrete dal rene sotto forma di solfati e glucuronati. La flora batterica del colon - e in modo particolare quella del cieco - sintetizza la piridossina(detta anche vitamina B6) il cui fabbisogno giornaliero oscilla tra 0,53 e 1,21 mg. Questa sostanza agisce come

cofermento in un elevato numero di reazioni enzimatiche del metabolismo degli aminoacidi (decarbossilazione, transaminazione, scissione e risintesi del triptofano etc.). La piridossina è anche essenziale per conservare all'organismo la facoltà di trasformare le proteine in lipidi e interviene nella formazione degli acidi grassi insaturi (E. Snell, 1953). Il colon trasverso è la sede della formazione di grandi quantità di biotina (detta anche vitamina H) tanto che la sua eliminazione fecale supera di due-cinque volte l'apporto alimentare. La biotina, di cui non si conosce ancora il tasso medio di utilizzazione da parte dell'organismo, svolge un suo ruolo fisiologico nella sintesi degli acidi grassi insaturi e soprattutto dell'acido oleico, ma anche nei processi di sintesi di alcuni aminoacidi (Williams e coll., 1947). La presenza della biotina è comunque essenziale per un buon utilizzo dell'acido pantotenico come pure nei casi di carenza di esso (C.B.Daglies 1955).

La **motilità del colon** è l'argomento che più ha attirato l'attenzione degli studiosi del grosso intestino.

I processi di assorbimento della mucosa colica avvengono contro carichi osmotici a gradienti di concentrazione che richiedono tempo speso ad agitare e mescolare nella metà destra del colon il contenuto fecale così da esporlo in maniera uniforme a tutta la superficie mucosa deputata all'assorbimento. La motilità colica che si esprime nelle contrazioni delle due tonache muscolari, quella circolare e quella longitudinale, assolve appunto lo scopo di mescolare e far progredire in senso aborale le feci man mano che queste da liquide divengono progressivamente solide. Gli studi di fisiologia eseguiti su questa materia nelle ultime decadi del Novecento hanno permesso di distinguere tre tipi di contrazioni, le fasiche individuali, i gruppi organizzati e le ultrapropulsive riconoscendo ad ognuno dei tre tipi diversità spaziali e temporali (S.K.Sarna 1991),

Contrazioni Fasiche Individuali

Possono avere breve o lunga durata: le prime durano in media meno di 15 secondi, le seconde da 40 a 60 secondi. Con l'impiego di trasduttori *strain-gauge* e *solid-state* e di tubi manometrici endoluminali fatti procedere per via ascendente transanale, questi due tipi di contrazioni fasiche individuali sono stati studiati sia *in vivo* che *in vitro* (preparati muscolari di colon isolati) e le differenze osservate nel comportamento della muscolatura circolare e di quella longitudinale hanno fatto concludere che le contrazioni di lunga durata hanno inizio nella muscolatura longitudinale e fanno da guida a quelle di breve durata nella tonaca circolare. La frequenza delle contrazioni di breve durata risulta variare nell'uomo da 2 a 13 al minuto e di quelle di lunga durata al di sotto di 2 al minuto. Fra loro le une sono indipendenti dalle altre e rivelano una scarsa coordinazione (L.Bueno e coll.1880; J.D.Huizinga e coll.1985; S.K.Sarna 1982). Tutte le contrazioni fasiche individuali sono soggette ad un triplice controllo: miogeno, neurogeno e chimico.

Il *controllo miogeno* è dato dalle variazioni del potenziale di membrana delle cellule muscolari lisce della parete colica. Ogni cellula muscolare controlla la propria attività motoria ma le cellule vicine sono accoppiate ad essa da particolari giunzioni specializzate che consentono depolarizzazioni simultanee o del tutto indipendenti determinando così un tipo molto variabile di coordinazione.

Il potenziale negativo di base del citoplasma della cellula muscolare liscia oscilla fra -45 e -78 mV (J.Christensen e coll. ricerche del periodo 1974-1983) e si mantiene tale rispetto al potenziale ben più alto del liquido extracellulare grazie all'azione delle pompe ioniche.

La terminologia usata precedentemente agli anni ottanta nelle pubblicazioni che riguardano questo campo dell'elettrofisiologia è andata incontro ad alcuni cambiamenti: il potenziale negativo o di riposo è stato chiamato "attività elettrica di controllo" (ECA) volendo significare con tale dizione le periodiche depolarizzazioni subite dal potenziale di riposo; analogamente il potenziale d'azione o scarica di potenziale è stato rinominato "attività di risposta elettrica" (ERA). L'ERA si verifica solo nella fase di depolarizzazione dell'ECA. Anche tutti gli studi eseguiti nel campo del controllo miogeno della contrattilità in genere hanno impiegato a cominciare dalla metà degli anni ottanta queste nuove dizioni.

E' stato osservato che l'ECA controlla il tempo e la massima frequenza delle contrazioni di ogni cellula. La coordinazione delle contrazioni nelle cellule vicine dipende dalla coordinazione del loro ECA e, quando questo è fissato dal punto di vista temporale, la coordinazione che ne segue si esprime con un'ERA, cioè con una contrazione spazialmente coordinata che si propaga.

La frequenza dell'ECA nella muscolatura del colon varia fra 2 e 13 cicli/minuto, varia anche molto in ampiezza ed è disorganizzata nello spazio: ciò è quanto necessita per creare contrazioni disorganizzate di breve durata utili a mescolare e agitare il contenuto fecale.

Le contrazioni coliche di lunga durata sono controllate invece dal "complesso contrattile elettrico" espresso, nel gergo degli elettrofisiologi, con l'acronimo CEC. Questo CEC consiste in scariche intermittenti di oscillazione del potenziale di membrana con una frequenza di 25-40 cicli/minuto. Finché queste scariche si mantengono al di sotto del valore di soglia del potenziale di membrana non si verifica alcuna contrazione e viceversa. Infatti quando la soglia è superata si aprono i canali del Ca^{++} endocellulare e si ha la contrazione. In via teorica il CEC dovrebbe provocare contrazioni in numero pari a quello dei suoi cicli, invece crea un'unica contrazione di durata pari a quella del CEC, cioè una contrazione di lunga durata. L'ERA che si verifica in questo caso è stata definita da Sarna (1989) "*ERA continuo*".

Nel 1988 E.P.Burke e coll. hanno osservato che una delle componenti del potenziale di membrana a riposo è una pompa elettrogenica del Na^+ e che l'ampiezza della depolarizzazione dipende dalla grandezza del potenziale di riposo della membrana cellulare. R. Caprilli e coll.(1972) e M.Wienbeck (1971) hanno a loro volta osservato che la riduzione del Na^+ esterno riduce l'ampiezza e la frequenza dell'ECA mentre la riduzione del Ca^{++} esterno riduce le sue oscillazioni d'ampiezza. T.B.Bolton (1989) e J.V. Walsh e coll. (1980) hanno trovato che la ripolarizzazione del potenziale d'azione (ERA) è secondaria all'apertura dei canali del K^+ oppure a inattivazione di quelli del Ca^{++} .

Il *controllo nervoso* della motilità colica vede impegnati il sistema nervoso centrale (SNC), il sistema nervoso autonomo (SNA) e il sistema nervoso enterico (SNE). Le funzioni di questo complesso e plurimo controllo sono molte e vanno dalla valutazione sensitiva dello stato fisico del contenuto colico alla trasmissione a varia distanza delle informazioni sulle condizioni attuali dell'attività muscolare del colon, dal rilascio di neurotrasmettitori specifici alla trasmissione di segnali di comando per l'attività motoria degli sfinteri e altro ancora. I centri nervosi che controllano tutte queste funzioni sono tre: i neuroni dei plessi mioenterico e sottomucoso, il sistema nervoso autonomo (simpatico e vago) e il sistema nervoso centrale.

In ambedue i plessi enterici si contano raggruppamenti formati da una quarantina di neuroni e anche meno (G.Garella, 1979) che, sotto l'aspetto funzionale possono essere di tipo motorio eccitatorio e inibitore o di tipo sensitivo; questi neuroni possono essere distinti anche in intergangliari, interplesso e a tipo di pacemaker. E' stato accertato che gli assoni dei neuroni motori eccitatori impiegano come neurotrasmettitore l'acetilcolina

mentre i motori inibitori impiegano una sostanza sconosciuta. Si sono ipotizzate sostanze diverse tra quelle conosciute: ATP, VIP (polipeptide vasoattivo intestinale) e ossido d'azoto. La forma varicosa dei neuroni del colon consente il loro contatto con un alto numero di cellule muscolari lisce, ciò che facilita l'azione nervosa specifica.

Nei neuroni sensitivi – i cui assoni si proiettano verso i gangli enterici, prevertebrali e verso i centri superiori, sono state trovate la calcitonina e la sostanza P ma il ruolo di queste nella neurotrasmissione è rimasto sconosciuto. I neuroni sensitivi contano anche molte sinapsi con i neuroni motori sia eccitatori che inibitori.

I neuroni intergangliari proiettano i loro assoni in direzione orale e aborale e prendono sinapsi con numerosi gangli. Queste sinapsi sono sia di tipo eccitatorio che inibitore. Il neurotrasmettitore è l'acetilcolina. I neuroni interplesso – come dice la stessa definizione - hanno sede tra plesso di Meissner e plesso di Auerbach e proiettano i loro assoni da un plesso all'altro. E' stata ipotizzata per loro una importante funzione di coordinamento dei movimenti dell'intestino. I neuroni pacemaker – di cui si suppone con fondatezza l'esistenza anche se questa è tuttora da dimostrare – non sono ancora stati individuati anatomicamente ma è evidente che solo la loro esistenza può spiegare il fatto che il colon si contrae anche quando è completamente vuoto e i neuroni motori non ricevono alcuno stimolo meccanico né chimico (S. Sarna 1993).

Studi delicati di elettrofisiologia della parete colica sono stati condotti da T. Maruyama nel 1981, da P. Brooke e coll. nel 1987 e da P. Wade e coll. nel 1988. Queste ricerche hanno portato all'individuazione di due tipi principali di neuroni enterici: l'S/tipo I e l'AH/tipo II. I neuroni S producono un potenziale sinaptico quasi eccitatorio in risposta a stimolazioni di neuroni postsinaptici; la depolarizzazione si accompagna ad un potenziale d'azione isolato. I neuroni AH mostrano una depolarizzazione prolungata in risposta ad uno stimolo presinaptico. Il ruolo preciso di questi due tipi di neuroni non è stato scoperto e i fisiologi sopracitati non sono riusciti ad appurare se sono di tipo motorio eccitatorio o motorio inibitore. Fin qui per quanto riguarda il controllo nervoso enterico autoctono.

Il *controllo operato dal sistema nervoso autonomo* vede all'opera i nervi vaghi, i nervi pelvici del parasimpatico e i nervi lombari, splanchnici e ipogastrici dell'ortosimpatico. Ogni fibra del sistema autonomo può interessare contemporaneamente un buon numero di gangli della parete del colon (J. Christensen 1983) e una buona quota dei nervi estrinseci (rispetto al colon), specie se di origine vagale contenenti fibre sensitive afferenti. Il sistema autonomo provvede a collegare il SNC con la parete del colon e a convogliare le azioni di riflesso che sono numerose e si svolgono non solo con il SNC ma anche con altri visceri addominali ed extraaddominali e perfino con la cute. Un potentissimo riflesso inibitore colon-cutaneo è quello che si scatena immediatamente dopo una laparotomia ancora non seguita da manipolazioni viscerali.

Infine va ricordato il *controllo nervoso diretto da parte del SNC* che regola la motilità colica ininterrottamente nel corso delle 24 h. Il SNC modula la motilità intestinale in situazioni particolarmente critiche come lo stress (L. Bueno e coll. 1980; M. Gue e coll. 1987; F. Narducci e coll. 1985) oppure situazioni di normalità come la defecazione volontaria. I segnali di eccitazione e inibizione che partono dal SNC arrivano ai plessi enterici del colon attraverso le vie del sistema autonomo (simpatico e parasimpatico).

Il *controllo chimico* è quello dovuto alle sostanze secrete dalle varicosità neuronali, dalle cellule endocrino-paracrine distribuite qua e là nella parete intestinale del colon e dalle ghiandole endocrine. Il controllo chimico è stato indagato dai fisiologi e dai farmacologi sotto tre diversi aspetti, anzitutto quello fisiologico vero e proprio ma poi anche sotto l'aspetto fisiopatologico e sotto quello farmacologico. Il primo è esercitato dalle sostanze

chimiche endogene sul ritmo e sull'intensità spaziali e temporali delle contrazioni del colon nella sua funzione di mescolamento e propulsione delle feci. Il neurotrasmettitore più ben conosciuto a livello colico è l'acetilcolina che agisce sui recettori muscarinici M1 della muscolatura liscia ed M2 dei gangli intestinali nonché sui recettori nicotinici dei medesimi gangli enterici e di quelli prevertebrali. La somministrazione di atropina blocca i recettori muscarinici e l'esametonio blocca quelli nicotinici (C.T.Frantzides e coll. 1987; J.R. Grider e G. Makhoulf 1986). La noradrenalina esercita azione inibitrice sulla motilità colica. L'ATP, il VIP, l'ossido di azoto esercitano azione inibitoria discendente sulle contrazioni fasiche giganti consentendo in tal modo la rapida propulsione di grandi volumi di feci, e contemporaneamente fanno diminuire il tono dei segmenti più distali che si rilassano e si adattano per accogliere le feci voluminose in arrivo. Questa inibizione delle contrazioni fasiche giganti fa anche rilassare lo sfintere anale interno in corso di defecazione (D. Burleigh e coll. 1992; S.P. Lim e coll 1986 e altri nel periodo 1986-1988).

Subito dopo i pasti la motilità colica subisce modificazioni che sono state attribuite all'aumento fugace di peptidi diversi nel plasma ma anche – e soprattutto - a riflessi nervosi in partenza dallo stomaco e dal duodeno (come sottolineato nel 1988 da J. Wiley). Nel 1982 J.B. Furness e coll. e nel 1985 H. Gibbins hanno proposto la sostanza P, prodotta dalle cellule EC diffuse in tutto il sistema nervoso e nella parete intestinale, come neurotrasmettitore dei neuroni sensitivi. La sostanza P avrebbe un'azione postsinaptica colinergica e stimolerebbe le contrazioni del colon.

Il controllo chimico in patologia è dato dall'azione di molti peptidi sintetizzati e secreti dalle cellule dei tumori carcinoidi e tra questi vengono citati la sostanza P, il VIP, la serotonina e altri. Le grandi quantità di queste sostanze provocano notevoli modificazioni della motilità nel senso della diarrea. Lo stesso fenomeno avviene in corso di malattie infiammatorie acute e croniche dell'intestino. In questo secondo caso si aggiungono altri mediatori chimici che sono caratteristici dell'infiammazione: citochine, eicosanoidi, istamina e serotonina prodotte dalle cellule immunitarie. Anche il sanguinamento dipende da una esagerata stimolazione delle contrazioni migranti giganti.

Il *controllo farmacologico* si manifesta con accelerazione o rallentamento del transito intestinale a seconda del tipo di farmaco adottato e in genere gli studi inerenti questo tema si limitano a esaminare indirettamente la quantità dell'azione stimolante del farmaco in base alla frequenza o all'ampiezza delle contrazioni o alla combinazione di questi due parametri. S.Sarna (1993) ha auspicato invece l'impiego di una analisi della risposta farmacologica molto più sottile e sofisticata sia sotto l'aspetto temporale (frequenza, ampiezza, durata e area delle contrazioni) che sotto quello spaziale (direzione, percentuale delle contrazioni che si propagano, estensione della propagazione), non trascurando di annotare il tipo di contrazione e se le contrazioni sono stimulate o inibite in quanto ogni tipo di contrazione ha un effetto diverso sulla motilità del colon.

Gruppi Organizzati di Contrazioni.

Nella maggior parte delle specie animali le contrazioni fasiche individuali del colon sono di solito organizzate in gruppi che sono separati l'uno dall'altro da periodi di riposo. I gruppi tendono a propagarsi verso il basso ma anche verso l'alto come si verifica in diverse specie (cani, gatti, topi ecc.) non però nell'uomo. E' stato ipotizzato che questa diversità sia effetto del diverso metodo di rilevamento essendo gli animali di laboratorio sottoposti a inserzione di elettrodi sulla sierosa o di trasduttori *strain-gauge* mentre l'uomo viene studiato con tubi manometrici o trasduttori *solid-state* inseriti nel grosso intestino per via retrograda endoscopica. L'inizio di ogni gruppo organizzato di contrazioni si ha nei neuroni enterici che funzionano da pacemaker.

Contrazioni Ultrapropulsive

Sono designate dagli elettrofisiologi con l'acronimo GMC (*giant migratine contractions*). Hanno lunga durata, sono molto ampie e si propagano per una notevole lunghezza. Nelle persone sane si verificano solo nel colon destro e non più di una o due volte al giorno. Quando si verificano nel colon sinistro spingono rapidamente le feci nel retto basso e provocano una necessità imperiosa di defecazione (M. Karaus e coll, 1987). In fisiopatologia rappresentano contrazioni tipiche delle coliti acute o subacute e degli esiti di esposizione frazionata a radiazioni ionizzanti (M. Otterson e coll. 1992).

Il transito colico completo delle feci nell'uomo sano richiede in media 33 ore e nella donna sana 47 ore. La lentezza di transito rispetto al tenue è dovuta sostanzialmente alla non propagazione delle contrazioni fasiche individuali. Gli studi eseguiti da G. Bazzocchi e coll. nel 1990 e da E. Moreno-Osset e coll. nel 1989 su questo argomento indicano che il tempo di transito dipende dalla differenza degli indici di motilità nei segmenti adiacenti, il che significa che esiste un gradiente dell'indice di motilità dal colon destro al sigma anche se detto gradiente alla fine del Novecento non era stato ancora esattamente configurato. Tra gli ultimi dati forniti nel 1993 da S. Sarna va citata anche una distinzione temporale delle modificazioni della motilità colica legate ai pasti in due risposte diverse, una che precede l'ingresso di nuove feci liquide nel cieco detta "risposta postprandiale precoce" e l'altra che segue a detto ingresso ed è detta "risposta postprandiale tardiva".

Retto e Ano

L'intestino retto svolge l'importante funzione di serbatoio e di escretore delle feci solide e il canale anale provvisto di doppio sfintere interno involontario ed esterno volontario svolge la funzione della continenza e del rilassamento per la defecazione controllata dalla volontà e quindi anche da muscolatura striata. L'apparato anale opera in coordinazione con la muscolatura del pavimento pelvico (m. elevatore dell'ano e m. puborettale). Questa muscolatura si rilascia durante la defecazione e si contrae nella continenza regolata volontariamente.

Le pressioni che si generano nell'interno del canale anale ad opera dell'apparato sfinterico sono state misurate con vari sistemi da molti ricercatori: mediante palloncini (M. Schuster 1965), con trasduttori *solid-state* (W.Schouten, 1983; D.Kumar, 1989), micropalloncini (R.Miller 1989; J. Rogers 1989), infusioni d'acqua (L. Harris 1966) e perfusione capillare (P. Roberts 1990). Questa varietà di metodi spiega già da sola la diversità di dati manometrici ottenuti dai diversi sperimentatori. Un'accurata disamina su questa materia, condotta nel 1993 da J.W.Fleishman della Washington University School of Medicine di St.Louis (Missouri), ha portato a concludere che probabilmente il metodo di misurazione più accurato è quello dei trasduttori *solid-state* (pur trattandosi di una tecnica che richiede ulteriori perfezionamenti) adottando microtrasduttori che sembrano essere più adatti per un paziente ambulatoriale. Fleishman tuttavia ha riconosciuto che la tecnica più popolare era quella della perfusione idraulica capillare in catetere flessibile di 4 mm di diametro provvisto di canali radiali multipli che danno informazione continua delle pressioni radiale e longitudinale man mano che il catetere viene ritirato lungo tutto il canale anale. L'accoppiamento di un computer che converte le pressioni ad ogni altezza in curve di pressione-volume fornisce una manometria vettoriale tridimensionale. Il fisiologo inglese M. Keighley e la sua scuola, che hanno accumulato una grande esperienza in questo campo di studi, hanno sottolineato più volte dal 1981 al 1989 l'indispensabilità di un confronto continuo su soggetti normali qualsiasi sia la tecnica impiegata.

Lo sfintere anale interno provvede all'80% della pressione del canale anale a riposo. La pressione massima a riposo è di solito mantenuta tra 40 e 80 mm Hg nei soggetti normali

ma questi valori possono variare sensibilmente a seconda della tecnica manometrica impiegata. Gli studi di R.L. Cali e coll (1992) hanno dimostrato che la zona di alta pressione nel canale anale corrisponde allo sfintere interno e misura di solito da 2,5 a 5 cm di lunghezza con i valori più bassi nel sesso femminile.

Man mano che il retto si distende per l'arrivo dall'alto di feci o gas o di ambedue, lo sfintere interno si rilassa per riflesso nervoso intramurale retto-sfintere interno. Questo riflesso rettoanale è facilmente documentabile con un manometro a palloncino inserito e gonfiato nel retto. Anche una stimolazione elettrica della mucosa rettale scatena questo riflesso retto-sfintere interno, che è la chiave della continenza. Infatti appena lo sfintere interno si rilassa una immediata contrazione della muscolatura volontaria previene la fuoriuscita dall'ano di feci o gas ove il momento non sia adatto alla defecazione o all'emissione di gas. Le ricerche di R. Miller e coll. (1988) hanno dimostrato che questo riflesso retto-sfintere anale – che i fisiologi di lingua inglese chiamano “*sampling reflex*” – si verifica mediamente sette volte all'ora. Nel 1992 S. Mathers ha sottolineato il fatto che questo riflesso richiede assolutamente la conservazione della sensibilità della mucosa del canale anale dalla quale parte la sensazione che attraverso il midollo spinale arriva alla corteccia cerebrale; poi dal SNC scende una risposta involontaria per il pavimento pelvico che si contrae e, se è indispensabile, anche una risposta volontaria con la contrazione dello sfintere esterno e dello stesso pavimento pelvico.

Il volume di gas e/o di feci che distende il retto è vario da individuo a individuo a seconda della capacità di adattamento del retto a distendersi. Questa adattabilità, che può essere misurata con catetere a palloncino inserito e gonfiato progressivamente nel lume del retto, influenza direttamente la funzione anorettale nella sua capacità funzionale e frequenza. E' stato confermato da ricerche della fine degli anni ottanta che il retto non svolge una attività peristaltica sua propria nel corso della defecazione anche se è contratto perché la pressione richiesta per l'espulsione del bolo fecale è data solo dalle contrazioni muscolari della parete addominale e del diaframma.

Gli studi approfonditi di anatomia e fisiologia del pavimento pelvico hanno portato alla formulazione negli anni ottanta (A. Shafik) della “*teoria delle tre fionde*”. Questa sostiene che la parte superficiale dello sfintere esterno (volontario) stira il canale anale in avanti verso il corpo del perineo, che la sua parte profonda lo stira verso il coccige e infine che il muscolo puborettale lo stira anteriormente. Queste forti trazioni sul canale anale in opposte direzioni hanno come conseguenza immediata la sua chiusura. In realtà la contrazione contemporanea e molto forte dell'intero pavimento pelvico che fa risalire il canale anale verso la linea pubococcigea avvicinando tra loro i due lati del pavimento stesso fino a chiuderne l'apertura verso il basso, può essere un atto volontario che di solito risponde alla spinta dovuta a un colpo di tosse, a uno scoppio improvviso di risa, alla posizione eretta e ai movimenti eseguiti nel sonno. Ma anche contrazioni subconsce si verificano in vario grado per assicurare la continenza nel riposo in posizione laterale. Le ricerche di L. Li e coll. hanno rilevato nel 1992 l'esistenza di recettori di tensione nei muscoli del pavimento pelvico che mantengono un tono e un'attività di base dei muscoli stessi. L'unico altro muscolo striato volontario con queste caratteristiche è il cricofaringeo che svolge la funzione di sfintere esofageo superiore.

Da quanto finora esposto risulta evidente l'importanza dell'innervazione di queste componenti muscolari della continenza e della defecazione. Uno dei valori più interessanti è dato dal tempo di latenza motoria del n. pudendo che si determina con stimolazione transanale del nervo sopra la spina ischiatica al canale di Alcock registrando contemporaneamente i potenziali di unità motorie che ne conseguono a 4 cm di distanza nello sfintere anale (E.S. Kiff 1984): un ritardo di risposta di 2,0 secondi è normale quando

le fibre mieliniche motorie sono integre. Una eventuale demielinizzazione di esse comporta tempi di latenza superiori a 2,2 msecondi.

Nell'anno 1988 è stato tenuto il primo Simposio Internazionale di Proctografia e Defecografia, l'esame videofluoroscopico della defecazione di un clisma di solfato di bario che la pratica clinica ha constatato essere il migliore esame per valutare la normalità o meno dello svuotamento rettale. La defecografia mostra che l'angolo tra retto e canale anale aumenta nel corso della defecazione man mano che il puborettale si rilassa e il retto si collassa del tutto a evacuazione finita.

La fisiopatologia degli ultimi vent'anni del Novecento ha studiato l'incontinenza anale nelle sue varietà meccanica, neurogenica e idiopatica, le alterate funzioni anorettali da ragade anale, da prolasso rettale, da ulcera solitaria del retto, dall'*intussusceptio* interna e dalla sindrome di mancato rilassamento del m. puborettale ma questa è materia che sarà trattata nel rispettivo capitolo di patologia dell'ano-retto.

Ormoni gastrointestinali

In quanto siamo andati esponendo sulla storia della fisiologia del tubo digerente del Novecento siamo spesso incorsi nella citazione di diversi ormoni gastrointestinali. Anch'essi costituiscono un capitolo che ha la sua storia che qui ci accingiamo a raccontare.

Si tratta di sostanze elaborate sotto l'effetto di speciali stimoli chimici o meccanici su diversi livelli della mucosa che riveste l'intero tubo digerente e sono sostanze che esercitano, come già citato, effetti funzionali sul tubo medesimo. Il rilascio di questi ormoni, la cui natura è sempre proteica, segue immediatamente alla stimolazione delle aree sensibili e cessa con altrettanta rapidità una volta cessato lo stimolo. La prima segnalazione scientifica dell'esistenza di un ormone prodotto dalla parete gastrica che eccitava la secrezione dello stomaco è stata quella di J.S. Edkins pubblicata nel 1905. Questo ormone, studiato di nuovo nel 1950 da M. Grossman, è la **gastrina** che fa aumentare la produzione di acido cloridrico e – in minor misura – anche quella del pepsinogeno: l'eccitazione vagale aumenta la produzione di gastrina e la vagotomia riduce – ma non abolisce del tutto – l'attività delle cellule parietali che producono l'acido cloridrico. La giustificazione razionale della vagotomia come cura chirurgica dell'ulcera peptica è stata fondata appunto negli anni cinquanta e sessanta sulla base di queste osservazioni. Gli studi di quegli anni hanno potuto isolare la gastrina e riconoscerne la natura polipeptidica (catena lineare di 17 aminoacidi) nonché la zona di produzione da parte di cellule specializzate paracrine dette cellule **G** nella parete dell'antro gastrico dell'uomo e di altri Mammiferi ma pure nella parete del duodeno e del tenue. L'attività della gastrina è dovuta solo ai suoi ultimi quattro aminoacidi (triptofano-metionina-acido aspartico-fenilalanina).

Sono stati isolati altri polipeptidi attivi come il **G 34** detto anche "*big gastrin*" per differenziarlo dal **G 17** detto "*little gastrin*". Il G 34 infatti è composto da 34 aminoacidi, ma esistono anche gastrine composte di 13 aminoacidi e di solo 5 (pentagastrina), tutte forme biologicamente attive.

La **secretina** è il nome dato da Bayliss e Starling nel 1902 ad una ipotetica sostanza che stimola la secrezione del pancreas, argomento sul quale si era svolta la ricerca dei due fisiologi.

Nel 1931 E.U. Still pubblicò uno studio tutto dedicato alla secretina della quale era stata individuata la provenienza dalla parete del duodeno e confermò l'azione eccitatoria sulla componente esocrina del pancreas. Negli ultimi anni sessanta è stata definita la sua esatta natura chimica: la secretina è un polipeptide formato da 27 aminoacidi e perciò etichettato

come S 27; le cellule della parete duodenale che lo producono sono dette cellule **S**. Esse vengono stimulate dall'arrivo in duodeno di sostanze a pH acido ed inibite da un altro ormone del tubo digerente, la somatostatina. Le ricerche eseguite sulla secretina nella seconda metà del secolo hanno accertato che essa eccita la produzione di succo pancreatico e di bile con una prevalente composizione idrica e povertà di enzimi digestivi. Questo nell'uomo, mentre negli animali d'esperimento oltre a dette azioni la secretina ha mostrato di stimolare anche la produzione di pepsina e tripsina e il rilassamento del piloro.

Sono state sempre le ricerche della seconda metà del Novecento ad individuare nelle cellule **I** presenti nella parete di tutto l'intestino tenue e pure nel SNC e nel SNP, la matrice dell'ormone **CCK-PZ**, sigla con la quale vengono identificate due sostanze, la **pancreozimina** studiata per la prima volta da A. Harper nel 1943, e la **colecistochinina** studiata per per la prima volta da A.C. Ivy e coll. nel 1929, la quale stimola la contrazione della colecisti e fa rilasciare lo sfintere di Oddi nell'uomo, mentre negli animali di laboratorio eccita la motilità intestinale e favorisce il trofismo pancreatico. La CCK-PZ è stimolata dagli acidi grassi, dagli idrogenioni, da miscele di aminoacidi e da presenza di Ca^{++} e Mg^{++} nel lume duodenale. La sua produzione viene invece inibita dall'arrivo nel tenue di bile mista ad enzimi pancreatici. La struttura chimica è quella polipeptidica e varia a seconda del numero degli aminoacidi componenti. Si distinguono così altrettanti ormoni CCK seguiti da un numero: 33, 39, 12, 8, 4.

Nel 1925 A.C. Ivy e Farrell mentre studiavano la fisiologia dello stomaco hanno individuato la presenza e l'azione di un quarto ormone gastrointestinale al quale hanno dato il nome di **enterogastrone** perché è attivo nell'inibire la secrezione e la motilità dello stomaco. Ivy e Farrell hanno notato che la produzione di enterogastrone veniva stimolata dall'arrivo nel lume del tenue di grassi ad una concentrazione del 10-15% del chimo e di concentrazioni nello stesso ancora maggiori di zuccheri. Gli studi degli anni sessanta e settanta sono riusciti a identificare questo polipeptide costituito da 29 aminoacidi con l'attuale **Glucagone** o, meglio, con l'**Enteroglucagone** di esclusiva origine intestinale. La sua produzione avviene nel citoplasma delle cellule **A2** del pancreas, del fondo gastrico e delle ultime anse del tenue. L'enteroglucagone ha azione inibente la secrezione di acidi biliari e di bile in toto, azione iperglicemizzante in quanto è seguito da produzione di insulina, infine è causa di ispessimento della mucosa dell'intestino tenue. L'azione iperglicemizzante è stata accertata solo in esperimenti di laboratorio e non ancora nell'uomo.

Nel corso della seconda metà del Novecento alcuni ormoni ipotizzati per origine e campo d'azione come prodotti del tubo digerente – la **villichinina** segnalata da von Kokas e Ludany nel 1938, la **duocrinina** di Grossman (1950) e l'**enterocrinina** di Nasset del 1938 – non hanno trovato conferma negli ulteriori studi che in questo campo si sono andati accumulando negli anni seguenti. Ci limiteremo a citare ancora tra gli ormoni gastrointestinali solo quelli che hanno trovato riscontro in fisiologia umana perché altri fanno riferimento per ora soltanto ai risultati della fisiologia sperimentale (sostanza PP o polipeptide pancreatico, Somatostatina di cui è accertata solo l'azione farmacologica di inibizione sulla maggior parte degli ormoni gastrointestinali, la sostanza P per azioni ipotetiche ma non provate data l'impossibilità di ottenerla allo stato puro, la neurotensina e la bombesina).

Il **GIP** detto anche peptide gastroinibitore è un polipeptide formato da 43 aminoacidi; è prodotto dalle cellule **K** della parete del duodeno e del digiuno, inibisce l'azione vagale e stimola nell'uomo la liberazione di insulina, negli animali da esperimento anche quella di glucagone e di somatostatina, inibisce la secrezione e motilità gastriche e, negli animali, anche la motilità intestinale.

La **serotonina**, che ha una struttura indolica simile a quella del triptofano dal quale deriva, è un ormone che inibisce l'attività della muscolatura dello stomaco, stimola le contrazioni dell'intestino tenue, della vescica, dell'utero e dei vasi, interviene nel delicato meccanismo neuroormonico del sonno-veglia, nel comportamento emotivo e nell'affettività. La serotonina è prodotta per idrossilazione e successiva decarbossilazione delle molecole di triptofano in presenza di piridossina come coenzima, dalle cellule **EC** che hanno sede nella parete del tenue, dei bronchi e nei neuroni del SNC e SNP.

Il **VIP** (polipeptide intestinale vasoattivo formato da 28 aminoacidi) viene prodotto dalle cellule **D1** delle anse alte del tenue, del pancreas, del SNC e SNP. Il VIP stimola la secrezione di succo enterico, di succo pancreatico, di bile e – in via per ora ipotetica – di diversi altri ormoni, tra i quali sono stati indicati l'insulina, il glucagone, la prolattina. Il VIP inibisce la secrezione gastrica.

La **motilina** è un polipeptide formato da una catena di 22 aminoacidi prodotta dalle cellule **M** della parete del tenue prossimale, cellule che hanno carattere cromaffine e sono diffuse anche nel restante intestino. La motilina provoca contrazione del LES (sfintere esofageo inferiore), stimola la produzione di pepsina e la peristalsi intestinale. Inibisce lo svuotamento gastrico e la sintesi di proteine nella parete gastrica.

Fisiologia delle vie biliari e del pancreas

Cistifellea. Gli ultimi studi anatomici, confermando e ampliando quanto già noto dai secoli precedenti, ci dicono che la cistifellea o colecisti è un sacco muscolare piriforme della capacità di 35-50 ml destinato a raccogliere la bile fluida e molto ricca d'acqua prodotta dal fegato, a concentrarla per riassorbimento della componente idrica nelle fasi interdigestive e a svuotarla in coincidenza con i pasti. La mucosa è rappresentata da un epitelio ghiandolare di aspetto microvilloso ricco di ghiandole tubuloalveolari; l'innervazione è data dal n. vago attraverso il ramo epatico del tronco vagale anteriore e da rami dell'ortosimpatico provenienti dal plesso celiaco; riceve anche rami dal n. frenico di destra. I plessi nervosi autonomi parietali sono due, uno muscolare e l'altro sottomucoso. In seno a questi plessi, specie nel fondo e nel corpo del viscere, nel 1967 S.D. Sutherland ha descritto la presenza di gangli del parasimpatico.

L'**assorbimento** dell'80-90% dell'acqua della bile epatica consente alla cistifellea di contenere tutta la bile prodotta dal fegato nell'arco di 10-20 ore senza andare incontro a sovradistensione della sua normale capacità. La concentrazione che ne segue è ottenuta per trasporto attivo di cloruro di sodio e di bicarbonato attraverso le cellule della mucosa. L'acqua segue l'assorbimento degli elettroliti inorganici per osmosi. Le sostanze che rimangono nel lume della cistifellea, soprattutto quelle che hanno importanti legami organici (acidi biliari, colesterolo, bilirubina coniugata, lecitina) subiscono a loro volta una forte concentrazione perché l'epitelio della mucosa non le riassorbe. Contemporaneamente gli acidi biliari si aggregano in micelle e questo impedisce l'innalzarsi della pressione osmotica per cui la bile concentrata della colecisti rimane isotonica nei riguardi del sangue. Il pH invece scende a causa della concentrazione dei bicarbonati e può raggiungere il valore di 6. Ricerche di H.O. Wheeler del 1968 hanno dimostrato che nei colecistectomizzati si verifica nel coledoco un processo di concentrazione della bile simile a quello appena descritto. Alterazioni della composizione della bile epatica o conseguenti ad infiammazioni della parete colecistica possono provocare precipitazioni del colesterolo e formazione di calcoli del medesimo, idrolisi della bilirubina coniugata, della lecitina e degli acidi biliari coniugati e loro riassorbimento per diffusione passiva mentre il riassorbimento passivo della sola bilirubina produce il fenomeno della "bile bianca".

Nei periodi interdigestivi la maggior parte della bile epatica si raccoglie dentro la cistifellea, se però il digiuno si prolunga oltre la normale durata del periodo interdigestivo, il flusso biliare diretto in duodeno è destinato ad aumentare (G.A. Hallenbeck 1967). L'afflusso della bile epatica in cistifellea è regolato in via indiretta dalla pressione all'altezza dello sfintere di Oddi che si apre solo quando la pressione raggiunge i 12-15 cm H₂O (raramente i 23 cm). Di norma la pressione all'Oddi è superiore alla pressione endocolecistica ma inferiore a quella di secrezione epatica (29-39 cm H₂O – K. Kjellgren 1960).

Il rilascio di colecistochinina (CCK) da parte della parete duodenale dopo l'ingestione di cibo fa aumentare il flusso di bile epatica, fa contrarre la cistifellea e ridurre la pressione dell'Oddi. Tutto ciò fa arrivare bile in duodeno scaricandovi oltre il 75% della bile contenuta nella cistifellea (R.S. Fischer e coll. 1987) pur conservando questa un tono muscolare costante per circa 2-4 ore (D.J. Schoetz e coll. 1978). Questa situazione permette un rapido rifornimento passivo della colecisti nel periodo postprandiale e il mantenimento di un pool di sali biliari che garantisce la circolazione enteroepatica. Il riempimento e lo svuotamento non sono solo di tipo passivo, si verificano anche, almeno in parte, in forma attiva grazie alle contrazioni muscolari della fellea che si associano a quelle dei complessi motori migranti della parete duodenale, fenomeno che è stato registrato con la colescintigrafia (M. Neri e coll. 1990; C. Pellegrini e coll. 1986) ed è stato paragonato ai movimenti dell'alta e bassa marea (P.A. Grace 1990). Questi movimenti facilitano un graduale scambio di bile tra colecisti e coledoco, prevengono la stratificazione della bile nel lume colecistico e quindi anche la supersaturazione del colesterolo che è l'origine di sabbia biliare e microcalcoli, e mantengono l'omeostasi.

Il controllo della **motilità** è di doppia natura, endocrina e nervosa, e la distinzione tra una funzione autonoma dei molti peptidi riconosciuti come ormoni e una loro funzione come semplici neurotrasmettitori ha creato nell'ultimo ventennio del secolo una situazione non ben definita che attendeva ancora una delucidazione. In linea generale si può affermare che l'innervazione della cistifellea sembra svolgere un ruolo facilitante nei riguardi degli ormoni gastrointestinali che sarebbero i veri e propri regolatori della motilità del viscere.

L'ormone che interessa la cistifellea più da vicino è la colecistochinina (CCK). Si tratta di un ormone peptidico formato da una catena di 33 aminoacidi isolato da A.C. Ivy e E. Oldberg nel 1928 nella mucosa del tenue del maiale e prodotto dalle cellule I della serie APUD come scoperto nel 1974 da E. Solcia e coll. L'isolamento e la purificazione della CCK sono stati effettuati la prima volta dai biochimici J.E. Jorpes e coll. nel 1964. Da questa data in poi non si contano più gli studi di biochimica e di fisiologia sperimentale e umana eseguiti sulla CCK: è stata identificata la sequenza C-terminale di 8 aminoacidi che è la vera parte attiva, sono state scoperte diverse varianti (CCK-8, CCK-33, CCK-58), è stata descritta la sua inibizione in presenza di tripsina e di sali biliari in duodeno (J.C. Thompson 1975), è stato accertato che la CCK produce una contrazione della fellea dose-dipendente sia *in vivo* che *in vitro*. L'effetto contrattile dipende da un legame diretto tra CCK e un recettore specifico situato sulle fibrocellule muscolari della parete colecistica, una proteina scoperta nel 1984 da R.W. Steigewart sulla cistifellea del bovino. Nel 1991 W.E. Schmidt e coll. hanno dimostrato che bloccando il recettore proteico con un antagonista specifico (loxiglumeide) la CCK resta inattiva a qualsiasi livello (parete di colecisti, di tenue, ecc.). L'energia spesa per legare la CCK al recettore specifico è calcio-dipendente come dimostrato nel 1987 da R.F. Cruchelt e coll.

Fonte di possibile confusione è il fatto che la CCK esercita sulla colecisti anzitutto un'azione diretta sulla sua muscolatura mentre a livello del tenue agisce principalmente come neurotrasmettitore, ma anche il fatto che la CCK è stata identificata nel 1986 da

K.M. Strah e coll. nel citoplasma di neuroni vagali del plesso intramurale della cistifellea e tutto ciò ha potuto dar adito a difficoltà interpretative della sua vera azione. In ogni modo è stato accettato come sicuro che la CCK esercita anche azione di neurotrasmettitore sulle sinapsi neuromuscolari della fellea.

Alcuni fisiologi giapponesi e americani hanno sostenuto, in base alla somiglianza di struttura chimica, che la gastrina svolge un'attività colecistocinetica ma altri esperimenti eseguiti *in vitro* e *in vivo* hanno dimostrato che per ottenere una contrazione della colecisti occorrono dosi di gastrina molto più elevate di quelle della CCK e se ne è concluso (S.Tierney e coll.1993) che si tratta di effetti di interesse esclusivamente farmacologico sperimentale e privi di vero significato fisiologico. Nessun interesse poi per la fisiologia umana presenta la ceruleina, ormone molto simile per struttura alla CCK, isolato dalla cute della rana mentre è del tutto assente nell'uomo.

Nel corso dei primi anni novanta l'interesse dei fisiologi si è appuntato su diversi ormoni peptidici e agenti neurotrasmettitori di provenienza ormonale e sugli effetti della loro azione sulla cistifellea *in vivo* e *in vitro*. Riassumeremo solo i risultati più significativi: la secretina prodotta dalla parete del digiuno e del duodeno potenzia l'azione della CCK; il glucagone, che ha struttura simile a quella della secretina, non esercita azione diretta sulla colecisti anche se nel 1972 era stato osservato un aumento di volume di essa dopo aver somministrato questo peptide ad alcuni volontari (S.M.Chernish e coll); il VIP (polipeptide intestinale vasoattivo) inibisce la contrazione colecistica iniziata dalla CCK e fa da neurotrasmettitore vagale; la somatostatina (catena di 28 aminoacidi) di produzione intestinale in risposta a pasti grassi è un forte inibitore della CCK (R.S.Fischer e coll.1987; G.T.Everson 1991). La mobilina è stata vista provocare contrazione della cistifellea nel 1992 dalla équipe di M.C. Jebbinck mentre nel medesimo anno S.M.Catnach e coll. hanno scoperto l'azione agonista della mobilina da parte dell'eritromicina. Le ricerche sulla mobilina e sull'eritromicina hanno rivelato che le due sostanze agiscono in via colinergica essendo la loro azione bloccata dall'atropina. Il polipeptide pancreatico, il peptide YY e il neuropeptide Y formati tutti da residui di una catena di 36 aminoacidi esercitano sulla cistifellea azioni contrastanti: i primi due facilitano il rilasciamento delle pareti e il riempimento del sacco mentre il peptide Y, trovato nelle fibre nervose intramurali di stomaco e duodeno, lo fa contrarre. L'istamina, a seconda che si legghi ai recettori H1 o agli H2 induce contrazione nel primo caso e rilassamento nel secondo. La sostanza P e il gastrin-releasing peptide (GRP) promuovono la contrazione e il secondo è più potente del primo.

Il controllo nervoso della motilità della colecisti è svolto dal plesso nervoso intramurale che contiene neuroni colinergici, catecolaminergici, serotoninergici e peptidergici. Questi ultimi includono CCK, VIP, GRP e il neuropeptide Y. Il tono della muscolare della colecisti è regolato dal n. vago. Tutti gli esperimenti di fisiologia sugli animali e in particolare sull'uomo con infusione di acetilcolina o pilocarpina da un lato e di atropina dall'altro hanno rivelato aumenti di pressione nel primo caso e diminuzione nel secondo. Non è invece affatto chiara la funzione dell'ortosimpatico perché l'infusione di adrenalina, noradrenalina e isoproterenolo non ha rivelato alcun effetto sul viscere alle dosi fisiologiche (D.Schoetz e coll.1978)

Dati contrastanti sono stati rilevati negli animali di laboratorio e nell'uomo sia *in vivo* che *in vitro* sugli effetti delle prostaglandine e dell'indometacina sulla motilità della cistifellea.

I fisiologi hanno adottato una tecnica *in vitro* per valutare la contrattilità di strisce isolate e vitali di parete colecistica in via diretta. L'esame per via indiretta è stato fatto nell'uomo aspirando la bile dal duodeno prima e dopo stimolazione farmacologica della fellea e, in via sperimentale, osservando la distribuzione del pool dei sali biliari marcati. In campo

clinico le tecniche di valutazione usate sono state quelle dell'ecografia accoppiata a vari metodi di calcolo del volume colecistico e la colescintigrafia con tecnezio 99.

Fisiologia dello Sfintere di Oddi

Sotto la direzione di James M. Becker, nel periodo compreso tra il 1982 e il 1993, fu intrapresa e portata a termine presso la Harvard Medical School una vasta e impegnativa indagine sulla funzionalità dello sfintere di Oddi in base alle più recenti acquisizioni di natura embriologica e di anatomia comparata. Come animale da esperimento la scuola di Becker ha scelto l'opossum nel quale già nel 1937 E.A. Boyden aveva descritto uno sfintere prominente extraduodenale (perciò facilmente accessibile) con un'ampolla di Vater lunga 2-3 cm e un apparato muscolare abbastanza simile a quello dell'uomo. Sui risultati delle ricerche sperimentali di Becker e coll. ritorneremo più avanti, dopo aver ricordato i dati fisiologici rilevati nell'uomo.

Il flusso biliare delle 24 ore attraverso l'Oddi oscilla nell'uomo fra 800 e 1500 ml e l'Oddi oltre a regolare questo flusso previene il reflusso di succo duodenale nei dotti coledoco e pancreatico e, nelle fasi di sua chiusura, obbliga la bile epatica a raccogliersi nella cistifellea. Fino agli anni settanta del Novecento era largamente accettata la teoria secondo la quale lo sfintere di Oddi avrebbe avuto soltanto una funzione passiva nel regolare il flusso biliare mediante semplici cambiamenti di tono muscolare fra i periodi di digiuno e quelli postprandiali. Nel 1983 F. Moody e coll. – e cinque anni dopo F. Habib e coll. – hanno invece dimostrato con le loro ricerche manometriche la natura dinamica e fasica della motilità sfinteriale mettendo in luce un'area di alta pressione con movimenti ritmici di apertura e chiusura. Nel 1986 A. Torsoli e coll. con l'incannulazione endoscopica retrograda dello sfintere hanno confermato in pazienti svegli e senza anestesia le misurazioni intraoperatorie eseguite per via antigrada da Moody e da Habib.

L'attività dinamica continua dell'Oddi, così accertata in modo incontrovertibile, è intimamente integrata nel complesso motorio migrante dello stomaco e del tenue che abbiamo già citato a suo luogo. I dati medi rilevati nell'uomo segnalano una pressione endocoledocica superiore di 5-15 mm Hg rispetto a quella endoduodenale, e una pressione endosfinterica che supera quella coledocica di 5-15 mm Hg e la duodenale di 15-30 mm Hg. Le onde di contrazione fasiche fanno salire la pressione dello sfintere a 50 - 150 mm Hg per una durata approssimativa di 44 secondi, con una frequenza di 4-5 volte al minuto. La maggior parte di queste onde fasiche si propaga per via antigrada ma le onde si propagano anche per via retrograda. Le pressioni misurate nel dotto pancreatico hanno fornito valori medi più elevati di quelli ottenuti nel coledoco. Becker ritiene che lo sfintere proprio del dotto pancreatico abbia caratteristiche manometriche diverse da quelle dell'Oddi.

Mentre le onde fasiche antigrade funzionano da pompa peristaltica per la bile coledocica che arriva al duodeno, le retrograde ritardano l'apertura dell'Oddi e fanno riempire la cistifellea.

Studi cineradiografici condotti da J. Caroli e coll. nel 1960 e ripetuti sull'animale da Becker nel 1988 hanno dimostrato che alla pressione coledocica in fase di riposo le contrazioni dell'Oddi avvengono con la frequenza di 3-4 al minuto, ma cessano del tutto e lo sfintere si rilascia completamente quando la pressione endocoledocica sale a 40-50 cc d'acqua. Solo in questa evenienza lo sfintere è del tutto passivo.

Nell'opossum la squadra di Becker ha applicato *in vivo* tre elettrodi a diverse altezze dello sfintere e due elettrodi sulla parete duodenale oltre a una cannula manometrica nel coledoco e un'altra nella cistifellea. In condizioni di digiuno l'Oddi ha mostrato un'attività

mioelettrica ciclica con periodi di 80-120 minuti. Nel periodo immediatamente prandiale e postprandiale si è avuto un aumento di frequenza con salve mioelettriche diverse a seconda della composizione del cibo. Un miglioramento tecnico è stato ottenuto impiegando un sistema di conversione analogico-digitale con microcomputer che è stato presentato al Congresso Mondiale di Fisiologia e Ingegneria Biomedica del 1988 dai collaboratori di Becker, J.E.Parodi, M.Zenilman e W.Tarver. Con questo sistema è stato possibile riconoscere, quantificare e analizzare minutamente l'attività mioelettrica dell'Oddi e del tenue durante il digiuno e nella fase postprandiale. La punta più avanzata di questo tipo di ricerche è consistita nell'utilizzo *in vitro* di microelettrodi intra- ed extracellulari. I dati raccolti con queste metodiche hanno fatto ipotizzare una funzione di pacemaker da parte della muscolatura più alta dell'Oddi e hanno indotto Becker a concludere che l'Oddi si comporta esattamente come un organo provvisto di peristalsi e che l'unica sua funzione passiva è quella di valvola che impedisce in ogni momento, anche quando è del tutto rilasciato, il reflusso di contenuto duodenale nel coledoco.

La modulazione neurogena della motilità dell'Oddi avviene attraverso una densa rete di neuroni e cellule gangliari immersa negli strati muscolari e presente anche alla superficie dello sfintere, rete che è collegata al SNC attraverso le fibre del vago e quelle del simpatico che fanno capo al ganglio celiaco e ai segmenti midollari T7-T10. Si tratta di input eccitatori e inibitori. Tuttavia il fatto che nel 1988 I.Takahaschi e coll. abbiano dimostrato che la vagotomia non ha alcun influsso funzionale sull'attività motoria dello sfintere di Oddi esclude la possibilità che esista una comunicazione diretta tra i centri del vago nel SNC e la rete nervosa dello sfintere.

Le indagini condotte in molte specie diverse ma non nell'uomo per studiare l'azione di diversi neurotrasmettitori di origine ormonale hanno fornito dati molto interessanti. Sono state testate le seguenti sostanze: sostanza P, CCK8, neuropeptide Y e neuropeptide YY, somatostatina, metencefalina, peptide CGRP, galanina, ossido di azoto. Solo la CCK8 è stata studiata nell'uomo dove ha dimostrato di svolgere attività inibitrice sulle contrazioni fasiche dello sfintere tranne in alcuni casi – considerati patologici da W.J.Dodds e coll. che li hanno osservati nel 1990 – nei quali iniezioni endovenose di CCK8 hanno provocato aumenti paradossali delle contrazioni fasiche.

Per gli studi e i progressi scientifici che riguardano il campo della fisiopatologia dello sfintere di Oddi, della cistifellea e del tratto esofago-gastrointestinale si rinvia al capitolo della patologia del tubo digerente.

Fisiologia del Pancreas

Una rassegna bibliografica sulla fisiologia del pancreas pubblicata nel giugno del 1989 su "*Surgical Clinics of North America*" a cura di Jeffrey E. Doty e coll. della School of Medicine di Los Angeles (California) ha riportato 109 voci rilevate tra l'anno 1951 e il 1989. Nella 2° edizione della Collezione di Medicina Illustrata edita da Ernst Oppenheimer per l'industria farmaceutica CIBA nel 1967 con la collaborazione di Oscar Bodansky cattedratico di biochimica alla Cornell University di New York la bibliografia riguardante la fisiologia e fisiopatologia del pancreas nel periodo compreso fra il 1902 e il 1967 contava solo 13 voci, delle quali però alcune corrispondevano a scoperte fondamentali.

Essendo il pancreas una ghiandola a doppia funzione, esocrino-digestiva ed endocrina, ci limiteremo qui a tracciare la storia della prima che praticamente coincide per la sua durata ad un secolo intero, andando essa dalla fine dell'Ottocento a quella del Novecento. Per la storia dell'evoluzione della funzione endocrina pancreatica si rinvia invece al capitolo dedicato all'endocrinologia.

Il succo pancreatico è isotonico rispetto al liquido extracellulare qualsiasi sia il momento e la fase della sua secrezione. La concentrazione anionica complessiva è di circa 150 mEq/litro, formata in prevalenza da cloruri e bicarbonati che variano reciprocamente a seconda della quantità di secrezione. I microprelievi fatti nel 1977 da Lightwood e coll. hanno fatto ritenere che, mentre i cloruri prendono origine dalle cellule degli acini, i bicarbonati sono prodotti dalle cellule duttali. Sodio e potassio sono i cationi principali, presenti in concentrazioni uguali a quelle del plasma.

Già i dati raccolti dai fisiologi della prima metà del XX secolo – a cominciare da quelli pubblicati nel 1902 sul *Journal of Physiology* da W.M.Bayliss e Starling con il titolo di “*Meccanismo della secrezione pancreatica*” – avevano fornito valutazioni che i successivi e ripetuti controlli da parte di altri autori con mezzi d’indagine tecnicamente più avanzati hanno confermato. Espressi in mEq/litro questi dati ci dicono che i valori medi per i bicarbonati sono pari a 22, quelli dei cloruri a 110, del sodio a 106 e del potassio a 12,3 per una secrezione complessiva di 1500 ml.

Nel 1944 Miller e Wiper hanno pubblicato i dati da loro osservati in tre soggetti che erano portatori di una fistola pancreatica: pH pari a 7,5-8, proteine totali 190-340 mg/100 ml, calcio 4,4-6,4 mg, bicarbonato 60-75 mg, cloruri 213-284 mg e assenza totale di solfati. Per il potassio i valori medi della letteratura hanno sempre mostrato notevoli discrepanze da autore ad autore.

Oltre il 90% del contenuto proteico del succo pancreatico è dato da enzimi e proenzimi deputati a svolgere un ruolo di importanza capitale nella digestione del chimo. I proenzimi diventano enzimi attivi solo una volta raggiunto il lume duodenale dove l’enterochinasi prodotta dalla mucosa del duodeno converte il tripsinogeno in tripsina e quest’ultima a sua volta attiva tutti gli altri proenzimi che sono anche detti proteasi. Altri importanti enzimi come la lipasi, l’amilasi e la ribonucleasi entrano in duodeno già sotto forma attiva. Ricerche dei primi anni settanta sostenevano che i rapporti di concentrazione fra tutti questi enzimi erano costanti (Wormsley e Goldberg) ma su questo punto nel 1985 altri fisiologi (H.Sommer e coll.) sollevarono i loro dubbi.

Un componente di basso peso molecolare nel succo pancreatico è la co-lipasi, che, combinata con la lipasi, la difende dall’inattivazione da parte degli acidi biliari rendendo il pH ottimale per la lipasi tra 8,5 e 6,6 nel lume duodenale (L.Oversen e coll, 1986).

Come tutti i succhi digestivi, anche quello del pancreas è soggetto anzitutto all’azione di diversi ormoni. Già Bayliss e Starling, che avevano iniettato negli animali d’esperimento un estratto acido di mucosa duodenale, avevano osservato un netto aumento di secreto pancreatico ma l’ormone responsabile di detto incremento fu studiato e isolato e prese il nome di “*secretina*” ad opera di J.Mellanby nel 1925. Snyder e Lium nel 1936 iniettando secretina allo stato puro ottennero la secrezione di succo pancreatico abbondante, acquoso e ricco di elettroliti mentre l’eccitazione vagale negli esperimenti praticati dagli stessi fisiologi dava un succo scarso, vischioso e ricco di enzimi digestivi. Nel 1948 H. Greencard nel trattato di endocrinologia diretto da Pincus e Thimann precisava che la secretina, il cui peso molecolare si aggirava su un valore di 5000, veniva prodotta dalla mucosa duodenale, stimolava la produzione sia del succo pancreatico che della bile ma non quella degli enzimi pancreatici. Gli studi di biochimica della seconda metà del secolo hanno rivelato che la secretina è un polipeptide lineare composto da 27 aminoacidi ed elaborato dalle cellule S della mucosa duodenale; tutti i dati forniti dai precedenti ricercatori venivano pienamente confermati. La secrezione del succo pancreatico non cessa mai del tutto nel corso delle 24 ore ma varia considerevolmente fino a ridursi a poche gocce al minuto. Goetz e Piechowski nel 1952 hanno dimostrato che nell’uomo esiste un ritmo secretorio che raggiunge i suoi valori massimi ogni 55-180 minuti. Il carattere

nettamente acquoso del succo pancreatico prodotto sotto stimolazione della secretina è stato definito “*risposta idrica*” mentre quello dovuto a stimolazione vagale e/o del CCK8 è stato chiamato “*risposta ecbolica*”. Sia secretina che colecistochinina hanno un inizio d’azione molto rapido ma la loro emivita biologica è molto breve (Thompson e coll. 1975-1978).

Il VIP (polipeptide intestinale vasoattivo) scoperto da Domschke nel 1977 ha dimostrato sulla secrezione pancreatica la stessa azione della secretina ma in forma più blanda e solo sotto forma di neurotrasmettitore.

La stimolazione vagale e la somministrazione di sostanze colinergiche hanno provocato sempre una singola partecipazione di questi due fattori. Comunque è stato possibile seguire per la risposta postprandiale lo schema classico della secrezione gastrica. La fase cefalica della secrezione pancreatica è stata studiata anche nell’uomo nel 1968 da H. Sarles e nel 1971 da D. Novis e coll. ed è stato descritto un tipo di risposta “*ecbolico*” rimanendo incerta la causa della stimolazione cefalica, se cioè sia essa dovuta allo stimolo nervoso oppure alla gastrina antrale. La fase gastrica è risultata invece essere di tipo ecbolico esclusivamente neurogeno (riflesso). La fase intestinale dimostra il mantenersi di un’alta produzione di bicarbonato e proteine da parte della ghiandola in risposta ecbolica e la collaborazione postprandiale tra risposta vagale e risposta ormonale – studiata a fondo solo negli animali di laboratorio – ha rivelato difficoltà interpretative sui valori della secrezione pancreatica sotto stimolazione che origina nella parete del duodeno e del digiuno con la secretina come mediatore chimico. La forte immissione in duodeno di bicarbonati serve a neutralizzare il bolo acido che ha appena attraversato il piloro innalzando il pH duodenale fino al punto in cui la produzione pancreatica di bicarbonato cessa per controllo feed-back.

Altri componenti del pasto come aminoacidi, oligopeptidi e proteine parzialmente digerite evocano una risposta pancreatica di tipo ecbolico simile a quella da stimolo vagale e da CCK8. Diversi protocolli di fisiologia pancreatica degli anni ottanta hanno portato a ipotizzare che la presenza in duodeno di aminoacidi e acidi grassi provochi riflessi nervosi tra intestino e pancreas. La risposta con emissione di bicarbonato da parte del pancreas dovuta ad un bolo acido arrivato dallo stomaco in duodeno è molto amplificata rispetto a quella che segue all’instillazione in duodeno di una soluzione di acido cloridrico; molta parte di questa amplificazione appare dovuta a reazioni chimiche che intercorrono tra acido e altre sostanze nutritive (aminoacidi, proteine parzialmente digerite e acidi grassi).

Il ruolo di altri ormoni peptidici (YY, somatostatina, glucagone e altri) nella fase postprandiale non era stato ancora valutato alla fine degli anni ottanta anche se era nota la loro azione inibitrice sulla secrezione esocrina del pancreas.

Per quanto riguarda la funzione del secreto pancreatico nel lume intestinale, oltre alla fondamentale azione tampone esercitata dai bicarbonati che nella risposta postprandiale si trovano ad affrontare cadute improvvise del pH duodenale a valori inferiori a 4,5, è stata anche studiata l’azione glicolitica dell’amilasi pancreatica che è attiva nel rompere i legami glucosidici 1,4 della catena diretta dell’amido producendo polisaccaridi a catena corta come maltosio, maltotriosio e destrine. I restanti legami 1,6 delle destrine come quelli degli zuccheri a catena ramificata vengono scissi dagli enzimi prodotti dalle cellule intestinali. La lipasi pancreatica scinde i trigliceridi delle micelle nelle posizioni 1 e 3 (alfa) dando due molecole di acidi grassi e un betamonogliceride. Questi prodotti inibiscono un’ulteriore azione della lipasi. L’idrosolubilità della lipasi le consente di agire solo sull’interfaccia tra acqua e grasso. Le molteplici proteasi prodotte dal pancreas sono state divise in endopeptidasi (tripsina, chimotripsina ed elastasi che rompono i legami amminici al centro della catene degli aminoacidi) e in esopeptidasi (carbossipeptidasi A e B che scindono gli aminoacidi alle loro estremità).

Il succo pancreatico contiene anche la fosfolipasi che scinde la lecitina in lisolecitina e acido grasso libero; questo enzima può attaccare i fosfolipidi delle membrane cellulari e ha un suo ruolo nel meccanismo patogenetico della pancreatite. Nel 1986 H.Rinderknecht, uno studioso della biologia e delle malattie del pancreas, ha messo in dubbio che l'enzima ribonucleasi presente nel succo pancreatico svolga un ruolo fisiologico preciso.

Fisiologia della Respirazione

Regolazione chimica

La regolazione chimica della respirazione è determinata da fattori chimici che si identificano con la CO₂ e con le altre sostanze chimiche che si producono in corso di ipossia. Invece la regolazione nervosa della respirazione dipende da impulsi che partono dalla muscolatura scheletrica nel corso del lavoro muscolare e raggiungono i centri respiratori senza la mediazione di sostanze chimiche. Queste nozioni di ordine generale facevano già parte della fisiologia studiata dai ricercatori dell'Ottocento come A.W.Volkmann (1841), Paul Flourens (1842), F.Pflüger (1868) e M.Markwald (1890) i quali avevano individuato la sede anatomica dei centri respiratori nella formazione reticolare del midollo allungato. Intorno però al 1900 non erano ancora stati individuati i punti di attacco degli stimoli chimici (CO₂ e carenza di O₂) che avevano un influsso diretto sulla ventilazione polmonare e non erano nemmeno note le sedi dei chemocettori. Si apriva quindi un vasto campo di ricerca che nel corso del Novecento a quasi tutti questi problemi ha fornito risposte adeguate.

La prima grande scoperta fu fatta nel 1901 da Louis Fredericq che la pubblicò con un titolo che parlava delle cause dell'apnea. Il fisiologo dava così conto delle ricerche eseguite con una metodica destinata a diventare classica per tutti gli studi che sarebbero seguiti sulla fisiologia della respirazione. Fredericq anastomizzò, cioè mise in diretta comunicazione tra loro, i vasi del collo di due cani narcotizzati in modo da far circolare nella testa del cane B il sangue proveniente dal cuore del cane A. La successiva chiusura delle vie aeree del cane A faceva aumentare subito la frequenza respiratoria del cane B mentre diminuiva consensualmente quella del cane A. Questo esperimento di circolazione crociata del settore cefalico di due soggetti ha dato una duplice dimostrazione: 1°- una modificazione chimica del sangue produce un aumento della respirazione 2°- la sede di eventuali chemocettori sensibili alle variazioni chimiche del sangue deve trovarsi più in alto del livello dell'incrocio vasale praticato da Fredericq. Era comunque accertata l'esistenza di una chemosensibilità centrale.

Il secondo passo negli studi di fisiologia della respirazione è stato di carattere tecnico ed è consistito nell'elaborazione dei metodi per la raccolta e l'analisi chimica dell'aria alveolare ad opera di J.S.Haldane e di J.G.Priestley nel 1905. Questa nuova tecnica è stata poi utilizzata da molti altri fisiologi negli anni successivi e soprattutto nel periodo 1911-1923 quando si cominciò a ritenere importante soprattutto determinare i rapporti quantitativi tra tassi di CO₂ e deficit di O₂ da un lato e attività respiratoria dall'altro (J.Barcroft, A.Krogh, H.Winterstein)

Nel 1911 Winterstein in un suo articolo intitolato "*Regolazione del respiro mediante il sangue*" ipotizzò la presenza di un agente chimico comune per spiegare gli effetti sulla ventilazione polmonare dell'eccesso di CO₂ e della carenza di O₂ avendo osservato che il CO₂ combinandosi con l'acqua dà origine ad H₂CO₃ che poi produce ioni H⁺ e avendo pure osservato che nell'ipossia si forma nei tessuti acido lattico il quale produce a sua volta ioni H⁺. Per Winterstein dunque c'era un unico stimolo chimico per la respirazione

identificabile con l'ione H^+ (idrogenione). L'ipotesi di Winterstein fu chiamata "teoria della reazione".

Nel 1935 Haldane con il libro intitolato "*Respiration*" pubblicato ad Oxford aprì la strada alla ricerca quantitativa sostenendo che la determinazione dei valori di pressione parziale di CO_2 e di O_2 nell'aria alveolare permetteva, con buona approssimazione, di trarre valutazioni sulla pressione di CO_2 e di O_2 nel sangue arterioso. Diventava così possibile per la prima volta valutare il rapporto quantitativo tra stimolo chimico (pressione di CO_2 e rispettivamente di O_2) e risposta sotto forma di ventilazione (numero degli atti respiratori)

Nel 1936 il fisiologo scandinavo M. Nielsen dimostrò che l'alta concentrazione idrogenionica prodotta da iniezione nel sangue di acido acetico e acido cloridrico eccitava sì la risposta ventilatoria ma molto meno della concentrazione idrogenionica dovuta a inspirazione di CO_2 e concluse che la risposta ventilatoria al carico di CO_2 è di tipo "specifico", non legata dunque semplicemente e solo alla concentrazione di ioni idrogeno nel sangue arterioso. Del resto Winterstein, già nel 1921, aveva osservato una maggiore diffusibilità in tutti i tessuti del CO_2 rispetto a quella degli acidi fissi, e nel 1953 ipotizzò un analogo comportamento per quanto riguarda la diffusibilità nel liquor cerebrospinale.

Nel 1959 il fisiologo americano J.S. Gray formulò la "teoria dei fattori multipli" secondo la quale è possibile fare previsioni esatte sulle modificazioni del respiro se, con un sistema di equazioni, si attribuisce a ciascuno dei tre agenti chimici (CO_2 , H^+ , O_2) un'azione indipendente. Infatti in presenza di alte pressioni di O_2 la risposta alle pressioni di CO_2 e alla concentrazione di H^+ si riduce rispetto alla respirazione a riposo del 60% e del 40%.

Nel 1951 Nielsen e H. Smith definirono l'azione contemporanea di CO_2 , H^+ e O_2 in condizioni di ipossia acuta e nel 1958 furono pubblicate le determinazioni analitiche di B.B.Lloyd e coll. che studiarono anche gli effetti di variazioni del pH del liquido cefalorachidiano.

Da quando è stata applicata la teoria di Gray dei fattori multipli si ottennero, nell'alto numero di sperimentazioni eseguite, dati molto esatti perché riferiti non più a quelli desumibili dall'analisi dell'aria alveolare, bensì direttamente dal sangue, anche se non si aggiunse nulla alla conoscenza dei meccanismi intimi della chemosensibilità periferica e centrale, due importantissimi ambiti di ricerca di cui si tenterà di tracciare qui di seguito l'evoluzione storica.

Per quanto riguarda gli studi sui chemocettori periferici bisogna riferirsi anzitutto a quelli di C.Heimans e J.J. Bouckaert pubblicati nel 1939 sotto il titolo di "*chemorecettori del seno carotideo*", immediatamente seguiti (anno 1940) da quelli di U.S. von Euler e coll. sullo stesso argomento: questi ricercatori dimostrarono che i glomi carotidei e aortici formati da uno speciale tessuto che gli anatomici definirono "*paragangliare*" per la presenza di sinusoidi, erano i luoghi di partenza di chemoriflessi con effetti sulla respirazione e sulla circolazione, erano cioè sede di chemocettori. Per queste ricerche Heymans usò ancora la circolazione crociata di Fredericq tra cane A e cane B e concluse che la partecipazione dei glomi carotidei all'aumento di CO_2 era considerevole esplicandosi subito con una iperventilazione da parte del cane B. Fu però anche osservato che la sensibilità all'aumento di CO_2 persisteva, pur indebolita, anche dopo sezione di tutti i rami vagali e del nervo di Hering, ramo dell'ipoglosso, deputato all'afferenza ai centri bulbari del respiro.

Nel 1965 J.H.Comroe, lavorando su glomo carotideo isolato e perfuso con sangue arricchito di CO_2 confermò che le oscillazioni fisiologiche del tasso di CO_2 nel sangue arterioso hanno scarso riflesso sulla ventilazione mentre agiscono più intensamente sulla chemosensibilità centrale che resta efficiente anche dopo esclusione sperimentale dei glomi

carotidei. Le ricerche più recenti di T.F.Hornbein e di A.Roos (1963) hanno individuato negli idrogenioni liberati dall' H_2CO_3 l'agente stimolatore dei chemocettori periferici (nodo del seno e glomo carotideo). Il metabolismo dei glomi carotidei misurato come consumo di O_2 è risultato molto alto con un sangue venoso refluo saturo di O_2 (B.Daly e coll.1954)

Dal punto di vista anatomico i glomi carotidei presentano come loro elementi caratteristici due tipi di cellule: le prime circondano le seconde e il loro insieme è stato interpretato come una singola unità funzionale. Questi gruppi di cellule appaiono disseminati in un reticolo di vasi sanguigni piuttosto ampi con la parete tipica dei capillari. Sono stati definiti sinusoidi.

Nel 1952 il fisiologo scandinavo A.Astrom, partendo dall'osservazione che in narcosi la sensibilità al CO_2 è molto diminuita mentre quella all' O_2 è perfettamente conservata, concluse che la chemosensibilità e il comando della ventilazione non dovevano avere la stessa sede. Ipotizzò dunque l'esistenza di due centri diversi, un "centro respiratorio riflesso" e un "chemocentro respiratorio". Due anni prima J.Leusen perfondendo i ventricoli cerebrali con soluzioni acide aveva osservato un aumento della ventilazione polmonare e viceversa una diminuzione usando soluzioni alcaline. H.Loeschke e coll., perfondendo un anestetico locale sul quarto ventricolo, osservarono una netta diminuzione della ventilazione polmonare che arrivò fino all'arresto respiratorio. Infine nel 1963 R.A.Mitchell e coll. insistendo con la perfusione e la toccatura con anestetici locali di zone molto circoscritte del quarto ventricolo confermarono che la sede della chemosensibilità centrale corrispondeva alla superficie ventrolaterale del midollo allungato molto vicino alle radici dei nervi cranici IX e X. Le toccature con sostanze acide creavano polipnea e lo stesso effetto davano l'acetilcolina e la nicotina; l'anestesia locale invece provocava depressione respiratoria. La zona studiata da Mitchell fu chiamata da allora "*area di Mitchell*" e Loeschke e altri la stimolarono nel 1970 con impulsi elettrici rettangolari ottenendo una polipnea.

C.O.Trouth e coll. nel 1973 ottennero polipnea con identica stimolazione elettrica delle radici del nervo ipoglosso (XII nervo cranico) a una profondità di 0,3 mm. sulle sezioni istologiche praticate multipolari. A tutte queste ricerche vanno aggiunti i risultati di quelle condotte nel periodo 1969-1979 da M.E.Schlafke e coll. i quali riuscirono a registrare i potenziali d'azione di queste strutture chemiosensibili del midollo allungato: la perfusione di liquor acido (pH 7,0 a 37°) aumentava la frequenza dei potenziali d'azione e il fenomeno inverso si osservava con perfusione di liquor alcalino (pH 7,6 a 37°) e a quel livello fu identificato per la prima volta un gruppo caratteristico di cellule nervose gangliari.

La valutazione e le interpretazioni tratte dall'insieme di tutte queste ricerche sperimentali sulla chemosensibilità delle strutture cerebrali in rapporto con la respirazione hanno portato in definitiva a confermare per la chemosensibilità centrale la "teoria della reazione" di Winterstein e cioè che non è il CO_2 a possedere un'azione specifica ma gli idrogenioni che con la loro concentrazione determinano l'attività del substrato chimico. Le ricerche di Def e Loeschke del 1979 e quelle di Fukuda e Loeschke del medesimo anno hanno rivelato che l'azione degli idrogenioni sul respiro si esercita a livello della trasmissione dell'eccitamento da parte dell'acetilcolina che intensifica la scarica delle cellule nervose dei centri chemosensibili bulbari, fenomeno che si blocca invece dopo applicazione di atropina. Sia J.K. Pappenheimer e coll nel 1965 e R.S. Kronenberg e coll. nel 1968 sugli animali di laboratorio, sia V.Fenci sull'uomo dimostrarono che il ritmo della ventilazione è strettamente correlato al pH del liquor cerebrospinale, che il pH di questo è identico a quello del liquido extracellulare dei centri respiratori bulbari e che le modificazioni

dell'uno si ripetono identiche nell'altro e che quindi l'alta sensibilità dei chemocettori centrali è non solo molto più intensa e immediata di fronte a variazioni della concentrazione idrogenionica rispetto alla chemosensibilità dei glomi carotidei e del nodo del seno ma ne è anche del tutto indipendente,

Alla fine del Novecento gli studi proseguivano nell'intento di identificare l'importanza di altri ioni, potassio e calcio soprattutto, nei riguardi della chemosensibilità centrale.

La prima conclusione che si può trarre in termini generali dai risultati di tutti questi studi sulla chemosensibilità periferica e centrale e circa le sue conseguenze sulla ventilazione polmonare è che il pH del liquido extracellulare del cervello e del midollo è regolato dai centri chemosensibili del midollo allungato o bulbo spinale, mentre la pressione parziale di O₂ nel sangue è regolata dai chemocettori periferici (nodo del seno e glomi carotidei).

Con questo duplice sistema di controllo la ventilazione polmonare (comandata in via riflessa) può, aumentando, abbassare la pressione parziale di CO₂, diminuire l'acidità e innalzare la pressione parziale di O₂. In questo meccanismo riflesso gli impulsi (potenziali d'azione) che partono dai chemocettori si trasformano in impulsi nervosi alla muscolatura respiratoria (muscoli intercostali, diaframma e muscoli ausiliari).

La seconda conclusione è che la ventilazione polmonare si adatta immediatamente, sempre in via riflessa, alla necessità di mantenere costante il pH del liquido extracellulare del cervello in tutte quelle condizioni in cui l'aumento di metabolismo da lavoro muscolare, eventuali ostacoli alla ventilazione, diminuita pressione di O₂ in alta montagna, aumentata formazione di acidi nel metabolismo della madre e del feto in gravidanza tendono a modificare il pH nel liquor cerebrospinale e nello spazio extracellulare del cervello e del midollo spinale.

Un terzo aspetto da considerare è quello dell'introduzione per via orale e della conseguente produzione metabolica di sostanze acide che provocano una perdita di basi tampone nel sangue circolante. La rapida restituzione del tasso normale di basi tampone e del pH normale di tutti i liquidi extracellulari è opera del rene che ha diverse possibilità di eliminare gli eccessi di acidi e di basi.

Se la correzione immediata del pH del liquido extracellulare del cervello, indispensabile alla sua omeostasi e quindi alla vita, avviene nei perturbamenti acuti del pH ad opera della ventilazione polmonare, la correzione definitiva delle alterazioni del pH ematico è opera del rene.

Infine chiudiamo questo paragrafo sulla regolazione chimica della respirazione con un'ultima precisazione: la costanza del pH nel liquido extracellulare del cervello e del midollo è regolata – come abbiamo visto – da un meccanismo complesso ed estremamente preciso che coopera in modo obbligato con altri processi regolatori come la temperatura corporea, la pressione osmotica e le concentrazioni di sodio e potassio.

Distribuzione Polmonare dei Gas e del Sangue

Tra il 1955 e il 1973 i fisiologi del mondo scientifico anglosassone hanno prestato particolare attenzione alla distribuzione intrapolmonare dei gas e del piccolo circolo in due condizioni poste a raffronto: nell'uomo sano e sveglio e nell'uomo anestetizzato esaminandolo in diverse posture (eretta, supina, in decubito laterale). Lo stimolo a intraprendere questo genere di studi era stato fornito da osservazioni di ipossia tissutale con ritenzione di CO₂ in soggetti narcotizzati con la conseguente necessità di correggere queste alterazioni aumentando la concentrazione dell'ossigeno nell'aria inspirata e la frequenza della ventilazione polmonare (T.Gordh e coll.1958; H. Bendixen e coll. 1963; J. Nunn 1964). La prima interpretazione che è stata data a questo fenomeno è stata quella di

una modificazione dei rapporti tra ventilazione e perfusione. S.J.Webb e J.F. Nunn identificarono le cause di queste alterazioni nella perfusione di alveoli non ventilati o di ventilazione di aree alveolari non perfuse nonché in shunts attraverso i canali arterovenosi. La ricerca dunque è stata diretta per quanto riguarda la distribuzione dei gas su due direttrici: l'influsso esercitato dal volume polmonare sulla distribuzione dei gas e quello dovuto alla frequenza respiratoria.

Influsso del volume polmonare sulla distribuzione dei gas

Nel soggetto normale e sveglio la distribuzione gassosa non è uniforme. Alla fine di una normale espirazione si osservano differenze regionali tra zone più espanse e ben aeree e altre meno espanse da gas residuo e queste differenze di volume sono attribuite a differenze della pressione endopleurica fra la parte alta e quella bassa del torace e quindi alla non linearità della curva pressione/volume del polmone. L'inspirazione che ha inizio alla fine dell'espirazione normale avviene infatti in presenza di una pressione endopleurica apicale di -10 cm H₂O contro una pressione endopleurica diaframmatica di -2-5 cm H₂O. Questo corrisponde ad una pressione transpolmonare di 7,5 cm maggiore all'apice del polmone rispetto alla sua base: gli alveoli del lobo superiore nella parte più apicale si espandono dunque molto più di quelli del lobo inferiore nella sua parte più diaframmatica. Quando invece l'inspirazione ha inizio alla fine di una espirazione forzata massima, cioè a partire dalla sola aria residua, le pressioni endopleuriche saranno di -4 cm H₂O all'apice e di + 3,5 al diaframma, una pressione che supera cioè quella endobronchiale. Di conseguenza si verificherà una chiusura delle vie aeree finché la pressione transpolmonare non sarà tanto alta da farle riaprire (J. Milic-Emili e coll. 1966).

Burger e Macklem che nel 1968 hanno studiato il fenomeno della chiusura delle vie aeree (*airway closure* degli autori anglosassoni), lo hanno fatto coincidere con il volume polmonare che esiste nel momento in cui le regioni polmonari ipoventilate cessano di contribuire al gas dell'espirazione totale e questi stessi fisiologi hanno dimostrato che esso si verifica in diverse zone del polmone dei soggetti normali che hanno scambio di bassi volumi d'aria in posizione eretta. Il fenomeno della chiusura delle vie aeree dipende dall'età (N.R.Anthonisen e coll. 1969-70) e dalla posizione del corpo (P.Lebland e coll. 1970). J.M. Hughes ha fornito nello stesso anno la dimostrazione istologica delle aree polmonari in fase di chiusura delle vie aeree. D.B.Craig e coll. nel 1971 hanno posto in evidenza il rapporto che corre tra chiusura delle vie aeree e lo scambio gassoso polmonare nonché la quantità niente affatto trascurabile dei volumi di gas intrappolati che possono superare i valori della capacità funzionale residua.

Nel corso degli anni settanta restava aperto il dibattito sul fenomeno della chiusura delle vie aeree e soprattutto sul fatto che esso corrisponda o meno ad una chiusura completa ovvero parziale. Milic-Emili e i suoi collaboratori si dichiaravano a favore della prima ipotesi mentre Hyatt e Okeson ritenevano trattarsi più di una compressione che non di una chiusura completa delle vie aeree nelle zone basse o dipendenti del polmone.

Influsso della Quantità/Secondi Inspiratoria sulla distribuzione dei gas

Questo tema è stato particolarmente studiato nel 1969 da P.C.Robertson e coll. Nell'uomo normale lo Xenon 133 inalato dal volume residuo si distribuisce più uniformemente se il ritmo respiratorio è veloce (da 3 a 5 litri al secondo) anziché quando il ritmo è più lento (0,2-0,3 litri al secondo). I fisiologi degli anni settanta hanno ritenuto questi dati compatibili con la teoria dell'*airway closure*. Infatti con inspirazioni lente le regioni polmonari sopradiaframmatiche non si aprono finché la quantità di Xenon 133 non è stata del tutto inspirata. Viceversa l'alta pressione transpolmonare che accompagna le

inspirazioni veloci apre le vie aeree alla base del polmone già durante i primi atti inspiratori.

Distribuzione intrapolmonare del sangue

Hughes e coll. hanno trovato che il polmone può essere diviso in quattro zone in base ai relativi dati delle pressioni alveolare, arteriosa polmonare, venosa polmonare e interstiziale. In zona 1 la pressione alveolare supera quella arteriosa e molto verosimilmente ciò fa collassare i vasi impedendo il flusso sanguigno. In zona 2 la pressione arteriosa supera quella alveolare che a sua volta supera la venosa: la circolazione sanguigna in questa zona è stata paragonata a quella di una cascata d'acqua e dipende dalla differenza che corre tra pressione alveolare e pressione arteriosa. In zona 3 la pressione venosa supera quella alveolare e poiché la pressione arteriosa è più alta di quella venosa la circolazione del sangue dipende da questa differenza. In zona 4 la diminuzione di flusso sanguigno (in regione polmonare sopradiaframmatica) è stata attribuita ad aumento della pressione interstiziale con conseguente aumento della resistenza nei riguardi del flusso del sangue. Il trapasso da una zona all'altra può essere evidenziato da nette modificazioni del flusso sanguigno.

Altre forze non gravitazionali possono interferire sulla distribuzione del sangue nelle varie aree del polmone. Nel soggetto normale in posizione eretta per ogni alveolo sono state dimostrate tre zone di perfusione (Anthonisen 1966) e la perfusione regionale (perialveolare) dipende dal volume polmonare (K.Rehder e A.D. Sessler 1973).

Fisiologia dello scambio polmonare dei gas

Nel mese di ottobre del 1974 in un simposio del “*Surgical Clinics of North America*” John F.Neville dell'Upstate Medical Center dell'università di New York ha trattato in modo approfondito questo tema esponendo tutte le conoscenze che si erano venute accumulando nel corso dei primi settanta anni del XX secolo. Nel testo che segue si è fatto riferimento in modo riassuntivo a quanto esposto da Neville.

Per ottenere uno scambio dei gas respiratori efficiente ai fini metabolici è indispensabile la perfetta integrazione di due processi di per sé indipendenti, quello della ventilazione alveolare (V_a) e quello della perfusione capillare del polmone (Q_c).

Ventilazione. L'entità di ventilazione necessaria è determinata dalla necessità di rimuovere dal sangue il CO_2 allo stesso ritmo e nella medesima quantità con cui viene prodotto dai processi metabolici e di sostituire l' O_2 allo stesso ritmo e con la stessa quantità con la quale viene consumato. La quantità di CO_2 che si accumula nei polmoni in un minuto è pari alla sua concentrazione nell'aria inspirata moltiplicata per il volume del gas inspirato. La quantità di CO_2 che abbandona i polmoni al minuto equivale alla sua concentrazione nell'aria espirata moltiplicata per il volume del gas espirato. La differenza tra questi due valori rappresenta la quantità di CO_2 rimosso. Quando il volume è espresso in litri/minuto si ha la quantità di CO_2 rimossa. Lo stesso dicasi per lo scambio dell' O_2 . Nel calcolare la ventilazione alveolare si deve tenere conto della ventilazione dello spazio morto (cioè di quella quota di vie aeree che non partecipa allo scambio gassoso) che va sottratta da quella totale. Poiché lo scambio gassoso si verifica solo negli alveoli le due equazioni sopracitate possono essere modificate sostituendo ai volumi inspiratorio ed espiratorio il volume alveolare e sostituendo ai volumi di CO_2 e di O_2 le rispettive pressioni parziali dei due gas. Le equazioni così modificate rispondono più correttamente all'evento fisiologico di cui trattiamo perché è la ventilazione alveolare (e non quella totale) che regola il gradiente

pressorio tra i gas dentro l'alveolo e gli stessi nel sangue capillare, gradiente necessario perché avvenga lo scambio attraverso la membrana alveolo-capillare. L'equilibrio è assicurato dalle qualità fisiche di questa membrana, dalla geometria particolare dei capillari polmonari e dal tempo necessario al sangue per transitare lungo il letto capillare dalla sezione arteriosa a quella venosa del piccolo circolo. I meccanismi di trasporto ematico dei gas determinano il rapporto tra la variazione di pressione parziale dei gas e quella del contenuto gassoso.

Trasporto di CO₂ e O₂. Gli studi *in vitro* eseguiti su questo tema si sono avvalsi della tonometria su sottili pellicole di sangue esposte a gas di composizione costante. I gas nel sangue sono trasportati con due modalità diverse: in soluzione oppure sotto forma di combinazione chimica. Per ogni gas la quantità sciolta è proporzionale alla solubilità del gas e alla sua pressione parziale e per i gas inerti come l'azoto la soluzione fisica è l'unico mezzo di trasporto. CO₂ e O₂ hanno invece un basso indice di solubilità alle loro pressioni normali e perciò il CO₂ viene trasportato in combinazione chimica con l'emoglobina e anche come HCO₃ e la quantità di carbossiemoglobina è maggiore di quella dell'ossiemoglobina. L'enzima anidrasi carbonica catalizza l'idratazione e la disidratazione di CO₂. Se mancasse detto enzima la reazione reversibile del CO₂ con gli idrogenioni sarebbe troppo lenta per consentire una riserva prontamente disponibile per il CO₂.

L'O₂ è trasportato solo sotto forma di ossiemoglobina (ogni grammo di emoglobina può trasportare 1,39 ml di O₂). Quando tutta l'emoglobina (Hb) è legata all'O₂ si dice che l'emoglobina è satura. La curva di saturazione raggiunge rapidamente il 91% quando la pressione alveolare di O₂ è di 60 mm Hg ma per arrivare al 97% occorre una pressione di O₂ pari a 97 mm Hg. La quantità totale di ossigeno nel sangue dipende dalla percentuale di saturazione dell'emoglobina (HbO₂), dalla quantità di Hb e dalla quantità di O₂ in soluzione.

La curva del CO₂ è completamente diversa da quella dell'ossigeno perché non esiste per il CO₂ il fenomeno della saturazione e quando la pCO₂ è di circa 20 mm Hg l'inclinazione è sostanzialmente lineare. La posizione della curva dipende dalla saturazione dell'O₂: il sangue venoso normale contiene 50 volumi % di CO₂ quando la sua pressione parziale è di 46 mm Hg mentre scende a 48 volumi % se la pressione è pari a 40 mm Hg. Basta una variazione di appena 6 mm Hg di pressione parziale di CO₂ per rimuovere una normale quantità di CO₂ dal sangue venoso e una variazione di 12 mm Hg ne rimuove una quantità doppia.

Il sangue che lascia il letto capillare dei polmoni ha pCO₂ e pO₂ determinate dalle pressioni dei due gas dentro gli alveoli e la quantità dei due gas presenti nel sangue a queste pressioni è data dalle rispettive curve di dissociazione, ma, per l'O₂, anche dalla concentrazione dell'Hb.

Miscelando campioni di sangue con differenti contenuti di CO₂ si producono solo variazioni minime della pCO₂ nella miscela mentre le stesse variazioni del contenuto di O₂ producono forti cambiamenti di pO₂. L'importanza di questo fatto risiede nella conclusione pratica che la determinazione della pO₂ arteriosa rappresenta un indice molto sensibile degli effetti della miscela e molto attendibile nel valutare la ventilazione alveolare totale.

La quantità dei gas scambiati a livello polmonare deve essere uguale a quella dello scambio gassoso a livello tissutale. Le equazioni predisposte dai fisiologi per la valutazione del rapporto ventilazione/perfusione dimostrano che le pressioni alveolari dei gas e le quantità di gas presenti nel sangue capillare del polmone sono date da questo rapporto in ogni situazione metabolica del soggetto normale. Le pressioni dei gas nel

sangue arterioso a questi valori quantitativi sono determinate dalle rispettive curve di dissociazioni per i due gas.

Fin qui le basi teoriche elaborate nel corso della prima metà del secolo XX per la fisiologia degli scambi gassosi della respirazione e tutto questo viene applicato ad un modello di polmone che assomiglia molto da vicino - ma non del tutto - a quello reale dell'apparato polmonare dell'uomo ma a quest'ultimo mancano alcune condizioni-base del modello teorico. Infatti questo presuppone una ventilazione alveolare continua, una distribuzione uniforme dell'aria inspirata e lo stesso per quanto riguarda la circolazione sanguigna intesa come uniforme e continua. Ora i rapporti fin qui descritti tra i diversi fattori della respirazione subiscono nella realtà una differenziazione a seconda delle diverse zone del polmone e in funzione del tempo. L'effetto delle variazioni che si verificano nella realtà fisiologica ha lo scopo di permettere lo scambio gassoso così come è richiesto in ogni istante della variabile attività metabolica. In realtà la natura intermittente della ventilazione alveolare fa sì che la $p\text{CO}_2$ scenda e la $p\text{O}_2$ salga nell'inspirazione mentre succede l'inverso nell'espirazione. A queste variazioni corrispondono altrettante variazioni istantanee nella pressione dei gas nel sangue. Così l'effetto dell'aria corrente (*tidal volume*) sulle pressioni alveolari dei gas dipende dal volume polmonare totale all'inizio dell'inspirazione e dalla composizione dei gas ispirati e di quelli alveolari: maggiore è questo volume, meno si modifica la composizione dei gas alveolari per un'aria corrente di una data quantità.

A sua volta la natura intermittente del flusso sanguigno capillare modifica la quantità istantanea dello scambio gassoso e quindi dei gas nel sangue. Questi due parametri variabili nel tempo provocano una variazione tempo-dipendente dei gas del sangue delle vene polmonari che viene definita "*mixing effect*" (effetto miscela) per cui nelle quattro vene polmonari che affluiscono all'atrio sinistro del cuore, nello stesso atrio e nel ventricolo sinistro arriva sangue di composizione variabile. La conseguenza di questo fenomeno sulla pressione arteriosa di CO_2 è trascurabile considerate le caratteristiche della curva di dissociazione del CO_2 mentre sarà nettamente più sensibile sulla pressione arteriosa di O_2 in quanto periodi di elevata pressione alveolare di O_2 non possono compensare la quantità di O_2 non assunta nei periodi di $p\text{O}_2$ relativamente bassa.

Fattori che regolano la Ventilazione

Sono stati identificati nella *compliance* locale, nel gradiente di pressione trasmurale necessario a distendere il polmone e nella resistenza endobronchiale al flusso d'aria inspirato. A questi tre elementi i fisiologi hanno aggiunto il gradiente di pressione necessario per superare le resistenze esistenti e il tempo disponibile per il flusso inspiratorio e per quello espiratorio. Ne derivano in pratica quattro possibili evenienze descritte da Neville nel modo seguente: 1°- le zone del polmone con scarsa *compliance* ma con bassa resistenza al flusso d'aria risulteranno ben ventilate perché la variazione di volume di aria alveolare, dato il gradiente di pressione trasmurale, è alto e la bassa resistenza endobronchiale facilita la rapidità del flusso aereo. 2°- le zone con alta *compliance* e bassa resistenza ricevono l'aria prima che la pressione salga al punto di soddisfare i requisiti di altre zone con caratteristiche diverse. 3°- le zone con bassa *compliance* e alta resistenza, cioè con le condizioni inverse a quelle dell'esempio n°2, potranno riempirsi d'aria solo se l'inspirazione verrà prolungata 4°-le zone con alta *compliance* e alta resistenza possono o meno soddisfare i loro requisiti di pressione-volume entro il tempo disponibile per l'inspirazione.

Fattori che regolano la Perfusione

La distribuzione del flusso di sangue capillare nei polmoni non è uniforme. In posizione seduta la pressione arteriosa del piccolo circolo non è sufficiente a perfondere la rete capillare degli apici polmonari, consente una perfusione intermittente dei campi polmonari medio-alti mentre la forza di gravità facilita la perfusione completa della rete capillare delle basi polmonari. Altre posture provocano altre varianti di alternanza tra aree ottimamente perfuse e aree con perfusione ridotta o addirittura assente.

Un'altra variabile della circolazione del sangue nei polmoni è quella della resistenza arteriolare che è molto sensibile alle variazioni delle pressioni parziali dei gas respiratori perché aumenta quando la pO_2 è bassa e la pCO_2 è alta, situazione che equivale all'ipoventilazione. Tutti gli stati di acidosi comportanti aumento del CO_2 nel sangue arterioso della circolazione sistemica fanno anch'essi aumentare la resistenza arteriolare polmonare e il mediatore di questa vasocostrizione è stato indicato nel 1974 da G.Racz nella norepinefrina, un mediatore tipico dell'ortosimpatico. Nel 1954 G.Dawes e J.Comroe avevano infatti dimostrato l'influsso del SNC sulla circolazione polmonare.

A.Bronwell e coll nel 1968 e D.Webre e coll nel 1972 hanno sostenuto che un aumento della pressione endocranica può causare edema polmonare per spasmo delle vene polmonari e conseguente stasi sanguigna a monte con trasudazione in tutto il piccolo circolo. Inoltre sono noti molti farmaci che possono produrre un aumento delle resistenze vascolari nella circolazione polmonare e tra queste la meperidina, la clorpromazina, la procaina, la tetracaina, il propranololo.

Studi Microscopici della Circolazione Polmonare *in situ*

La prima osservazione microscopica diretta della microcircolazione polmonare con l'impiego della transilluminazione è stata fatta nel 1925 dal fisiologo inglese H.Hall. La prima descrizione dettagliata della circolazione polmonare usando un microscopio capillare Zeiss è stata quella pubblicata nel 1930 da D.M. Olkon e M.Joannides. La prima documentazione microfotografica a 500 ingrandimenti usando la transilluminazione è stata fatta nel 1954 dagli anatomici J.Irwin e coll. Un intensificarsi di ricerche in questo campo si è poi verificato tra il 1964 e il 1974, anno in cui W.R.Webbs e coll. dell'Upstate Medical Center dell'Università di New York hanno dato alle stampe i risultati delle loro ricerche condotte con metodi originali sul polmone del cane in condizioni normali e di shock tossico ed emorragico. L'esame condotto *in situ* con particolari accorgimenti tecnici è stato fatto a 900 ingrandimenti e le microfotografie a colori sono state scattate a 450 ingrandimenti. Queste ricerche hanno confermato la netta differenza di microcircolazione tra le aree alte del polmone e quelle basse (dette anche "dipendenti"). Gli alveoli sono stati descritti come aventi forma poliedrica con un diametro di 60 micron circa, le arteriole sono state viste pulsare vicino ai sottili punti di ingresso arteriosi. Questo aspetto si modifica gradualmente fino al punto in cui il flusso appare uniforme man mano che avanza distalmente. I vasi si dividono più volte per avvolgere l'alveolo e metter fuori rami ancora più sottili ad angolo retto che formano la rete capillare. La quantità del flusso diminuisce proporzionalmente alla distanza dai punti di arrivo arterioli. L'osservazione più comune è stata quella di 4-7 capillari ben identificabili nel cui lume si è vista transitare una sola fila di globuli rossi. Questo flusso si interrompe nei periodi intermittenti di chiusura dei capillari (durata da 1 a 5 minuti) contemporaneamente all'apertura di capillari vicini. Le venule in cui sboccano i capillari hanno diametri che R.Greep ha valutato tra 20 micron e 1 mm (1966).

Nelle zone polmonari basse o dipendenti Webb e coll. hanno osservato l'effetto della pressione idrostatica di pochi mm di Hg evidente in tutte le componenti della vascolarizzazione (arteriose, capillari e venule) interessate simultaneamente e tutte piene di sangue. I capillari presentavano una maggior tortuosità rispetto alle zone del polmone non dipendenti e un maggior lume tanto da permettere il transito contemporaneo di più file di eritrociti.

Queste chiare differenze di circolazione tra aree dipendenti e non dipendenti (basse e alte) del polmone hanno fornito la conferma - fatta con il microscopio applicato *in situ* nell'animale vivo - di quanto già accertato dai fisiologi della seconda metà del Novecento con altri metodi di ricerca.

I Meccanismi del Lavoro Respiratorio

Nel partecipare al già citato Simposio di fisiologia e fisiopatologia della respirazione del 1974 Richard M. Peters, insegnante di bioingegneria presso l'Università di California, ha svolto il tema dei meccanismi normali e patologici del lavoro respiratorio. Quanto segue si basa sul contenuto e sulla bibliografia della relazione di Peters.

Il lavoro respiratorio corrisponde alla variazione di volume polmonare moltiplicata per la pressione espressa in centimetri d'acqua. Poiché la pressione endoesofagea è pressoché uguale a quella endopleurica, la forza che agisce sui polmoni può essere misurata con la differenza che corre tra pressione endoesofagea e pressione registrata all'altezza della bocca o di un eventuale stoma tracheale. E' impossibile invece misurare le forze che agiscono sulla gabbia toracica durante la ventilazione spontanea perché una valutazione di questo tipo richiederebbe la misurazione di tutte le forze applicate da ogni singolo gruppo muscolare che agisce sulla gabbia stessa. Come tutte le strutture elastiche i polmoni e la gabbia toracica richiedono una forza estensiva direttamente proporzionale alla variazione di volume: man mano che il volume aumenta anche la forza aumenta, ed è la *compliance* dei polmoni a definire la forza o la pressione richieste per unità di variazione di volume. Se il volume non si modifica anche le forze applicate su polmoni e torace equivalgono a zero. La pressione necessaria a vincere il lavoro elastico cambia continuamente durante l'inspirazione. Il lavoro elastico fatto per estendere il polmone nell'inspirazione viene immagazzinato come energia potenziale nelle componenti estese e allungate del viscere. A inspirazione finita questa energia potenziale viene sfruttata nel lavoro dell'espirazione.

Viene fatto lavoro anche per superare la resistenza al flusso nelle vie aeree e la piccola resistenza da attrito offerta dai tessuti. Si tratta di resistenze che variano nel corso del ciclo respiratorio. Nell'inspirazione la pressione esistente all'interno dell'albero tracheobronchiale è più alta di quella del polmone circostante. Questa forza tende ad aumentare la superficie delle vie aeree e ad abbassare la resistenza. Nell'espirazione il riparto delle due pressioni è invertito tanto che le vie aeree tendono a collassare e la resistenza è maggiore.

Quando il soggetto normale respira tranquillamente, l'energia potenziale aumentata in seno al tessuto polmonare espanso dal lavoro inspiratorio offre forza sufficiente per superare la resistenza respiratoria dell'albero tracheobronchiale. Invece se si verifica iperventilazione l'energia immagazzinata nel polmone espanso può essere insufficiente a fornire la forza espiratoria richiesta per cui si rende necessario l'apporto di uno sforzo muscolare aggiuntivo che fa innalzare la pressione endopleurica al di sopra dei valori della pressione atmosferica cosicché aumenta la differenza tra le pressioni esistenti dentro e attorno alle vie aeree. Dunque anche nel soggetto normale l'iperventilazione, indipendentemente dalla

sua causa, aumenta il lavoro per unità di ventilazione, cioè sia il lavoro/litro che il lavoro/minuto.

Il sistema della ventilazione è simile ad un motore che diventa meno efficiente quando la velocità del movimento aumenta. Il momento critico, che corrisponde ad una iperventilazione eccessiva, viene segnalato dalla comparsa della dispnea. Questa è infatti il segnale che indica che il lavoro deve diminuire pena la crisi del sistema.

Le misurazioni del lavoro meccanico della respirazione sono date da quella del lavoro respiratorio/minuto e da quelle della resistenza e della *compliance*. Per questi calcoli piuttosto complessi sono disponibili processori digitali e analogici. Come tutte le misurazioni di alta precisione anche queste trovano un'applicazione molto utile in pratica clinica.

La quantità di lavoro richiesta ai muscoli della respirazione dipende da quattro fattori: 1- dalla quantità di scambio gassoso richiesta 2- dall'efficienza meccanica della gabbia toracica e del diaframma 3- dalle caratteristiche meccaniche del polmone 4- dall'azione coordinata di ventilazione e perfusione.

Aspetti fisiologici del Surfattante Polmonare

Il surfattante polmonare (SP) è un materiale tensioattivo che ricopre come un film l'epitelio alveolare dei mammiferi e che possiede qualità fisiche uniche che giovano sostanzialmente alla stabilità meccanica degli alveoli. L'identificazione di queste proprietà e funzioni del SP sono state descritte per la prima volta in maniera completa dal fisiologo R.E. Pattle nel 1955, il quale ha riconosciuto l'origine del SP dalle cellule alveolari. Già un anno prima C.C. Macklin aveva fatto stampare sulla rivista inglese "*Lancet*" un articolo sul "*film mucoide alveolare e gli pneumociti*". Però della "*tensione superficiale della superficie alveolare*" si era interessato per primo nel 1929 il fisiologo tedesco K. Von Neegard. Mentre Macklin riteneva che la pellicola del SP fosse costituita da mucoproteine, I. Greenfield nel 1974 dava come definitivamente accertato che il SP è un complesso lipoproteico contenente dipalmitolo-lecitina. Tierney D.F. e coll. (1967) che hanno studiato il ricambio del SP hanno calcolato che la vita media della lecitina satura che lo forma non supera le 14 ore e hanno concluso che questa rapidità di vita media dimostra che la sua produzione deve essere strettamente locale. Del resto già nel 1960 il fisiologo francese M. Champiche che aveva studiato la natura delle inclusioni lamellari delle cellule alveolari aveva avanzato l'ipotesi che la sintesi del surfattante fosse opera delle cellule alveolari tipo II data la composizione fosfolipidica delle inclusioni lamellari. Nel 1967 Scarpelli che si è dedicato allo studio dei liquidi dell'apparato respiratorio e del metabolismo lipidico del feto impiegando il radioisotopo C14palmitato, ha osservato la rapida entrata del tracciante nei liquidi polmonari del feto e negli strati epiteliali di rivestimento del polmone dell'adulto. Nell'anno precedente S. Buckingham e coll. avevano documentato la rapida entrata del tracciante nel citoplasma delle cellule alveolari. I risultati delle ricerche di Scarpelli sul feto hanno fornito la base per il test di Gluck (1971) che permette di trarre dall'esame del liquido amniotico (valutazione del rapporto lecitina/sfingomielina) l'indice di maturità del feto e anche la diagnosi prenatale della sindrome di insufficienza respiratoria fetale.

Fisiologia respiratoria dell'anziano

La funzione respiratoria valutata in tutti i suoi usuali parametri diminuisce con l'età: gli anziani perdono la capacità di proteggere efficacemente le vie aeree e la loro risposta

all'ipossia e ipercapnia è diminuita. Una delle prime cause è rappresentata dalla diminuzione di forza della muscolatura respiratoria, un'altra non meno importante è data dall'irrigidimento della mobilità costale a livello delle articolazioni costovertebrali per riduzione degli spazi intervertebrali e a livello della cartilagini costali che vanno incontro a ossificazione; un terzo fattore spesso presente negli anziani, pur perfettamente sani dal punto di vista respiratorio, è dato dalla presenza di obesità addominale con conseguente riduzione della escursione diaframmatica. La conseguenza di questi fattori negativi è un modesto aumento del volume residuo e una diminuzione della *compliance* (W.M. Wamba 1983). L'aumento del volume residuo è dovuto alla riduzione da senescenza tissutale delle forze elastiche del polmone (M.S. Tockman, 1990).

Quanto fin qui descritto ha come conseguenza diretta una riduzione progressiva della pressione parziale di ossigeno arterioso, un aumento dello spazio morto e una diminuzione consensuale di volume espirato e di frequenza del respiro. Inoltre nell'anziano è stata documentata una riduzione della funzione ciliare dell'epitelio bronchiale e del meccanismo generale di difesa rappresentato dai linfociti T.

Fisiologia della Circolazione

Il fondatore della fisiologia della circolazione fu senza dubbio nel 1628 l'inglese William Harvey il quale dimostrò per primo che il sangue circola dalle arterie alle vene e da queste ritorna al cuore che con le sue pulsazioni lo rilancia nelle arterie. Le successive tappe scientifiche più importanti che separano la scoperta di Harvey dalle scoperte dei fisiologi del Novecento sono state nell'ordine le seguenti: nel 1733 Stephen Hales dimostrò nell'organismo vivente l'enorme differenza di pressione misurata in millimetri di mercurio tra sistema arterioso e sistema venoso; nel 1846 J.L.M. Poiseuille mentre studiava il flusso d'acqua entro tubi di diametro molto ridotto scoprì che dimezzando il raggio del tubo la resistenza aumentava di sedici volte e ne concluse che la resistenza è in funzione della lunghezza del tubo o, più esattamente, del suo raggio elevato alla quarta potenza; nello stesso anno 1846 C. Ludwig introdusse l'uso del chirografo che consentì per la prima volta di registrare su carta l'andamento della pressione arteriosa nel tempo e la frequenza cardiaca; nello stesso periodo (1845-1846) i fratelli E.H. e E.F. Weber di Lipsia descrissero per primi il rallentamento della frequenza cardiaca da stimolazione dei rami cardiaci del nervo vago e l'accelerazione ottenuta stimolando i rami del simpatico. Nel 1852 Claude Bernard e C.E. Brown-Séquard dimostrarono sperimentalmente l'attività vasocostrittrice del simpatico cervicale. L'origine delle fibre simpatiche vasocostrittrici fu identificata dalla scuola di fisiologia di Lipsia diretta da Ludwig nei fasci laterali del midollo spinale. L'identificazione del centro vasomotore nel bulbo spinale o midollo allungato fu fatta in anni successivi da Dittmar e da altri allievi di Ludwig. Nel 1866 lo stesso Ludwig e Cyon dimostrarono per primi che le terminazioni delle fibre nervose afferenti dell'area cardio-aortica inducevano in via riflessa, se stimulate, bradicardia e ipotensione e le interpretarono come facenti parte di un sistema di autoregolazione riflessa. Nel 1870, dopo molte ricerche, A. Fick riuscì per primo a calcolare nel cane da esperimento la gittata cardiaca in 5,4 L/minuto avvicinandosi molto al valore calcolato in seguito nell'uomo di 5,6 L/minuto. Nel 1898 N. Zuntz e O. Hagemann introdussero la tecnica del cateterismo del cuore destro nel cavallo, tecnica che sarà trasposta nell'uomo solo negli anni quaranta del Novecento. La tecnica sperimentale inventata da Fick nel 1870 per valutare la gittata cardiaca restò in uso anche per l'uomo fino al **1953** quando W.F. **Hamilton** inventò il metodo della diluizione di un colorante, una delle più importanti scoperte del Novecento nel campo della fisiologia della circolazione. La misurazione della pressione sanguigna nei diversi punti strategici della circolazione ebbe inizio negli ultimi anni del secolo XIX, allorché si scoprì

che la pressione arteriosa media dall'aorta alle arterie periferiche scendeva di 0,2 mm Hg. La pressione delle vene più piccole cateterizzabili fu valutata, dopo molte misurazioni eseguite nel corso dei primi anni del Novecento, tra 5 e 10 mm Hg.

Nel 1930 E.M. Landis misurò direttamente per la prima volta con micropipette la pressione capillare in diversi animali e nell'uomo (30-35 mm Hg all'estremo arteriolare e 10-15 mm Hg a quello venulare dei capillari) dimostrando che essa dipende dal grado di vasocostrizione delle arteriole precapillari a loro volta influenzate dall'attività dei nervi simpatici locali. Un'altra scoperta di Landis fu la lentezza (0,3-0,5 mm/secondo) e la continuità del flusso capillare che non è più pulsante. Questi risultati, insieme a quelli delle ricerche pubblicate da Pappenheimer e Soto-Rivera nel 1948 confermarono in modo inoppugnabile e definitivo la validità dell'ipotesi pubblicata da E.H. Starling nel 1896 secondo la quale in condizioni normali esiste un equilibrio tra la pressione idrostatica tendente a far uscire il liquido dai capillari nello spazio extracellulare e la pressione osmotica data dalla presenza di proteine nel sangue. Quando questo equilibrio si rompe il volume del sangue subisce variazioni che possono anche essere notevoli. Due esempi classici di patologia sono da un lato l'edema che si forma per diminuzione del normale tasso proteico del sangue (malattie renali croniche) o per eccesso di pressione idrostatica endocapillare da aumento della pressione venosa o per dilatazione arteriosa, e, dall'altro, il forte richiamo di liquido extracellulare nel lume dei capillari come avviene subito dopo una improvvisa e forte emorragia.

Pappenheimer e Soto-Rivera definirono – sempre nel 1948 – l'equazione che regola i valori della pressione capillare con una formula che è data dalla somma della pressione idrostatica precapillare e postcapillare divisa per il rapporto tra le due resistenze pre- e postcapillari. Questi studi hanno dimostrato che nelle 24 ore escono dal letto capillare umano 20 litri di liquido di cui 16-18 rientrano per la via venosa nella circolazione generale e 2-4 vi rientrano attraverso la via linfatica. Dal 1953 sappiamo inoltre, sempre da parte di Pappenheimer, che ben 80.000 litri di liquido attraversano i pori del sistema capillare nelle 24 ore e che ciò è possibile perché: 1°- esiste equilibrio fra l'influsso precapillare del simpatico che tende ad aumentare la diffusione del liquido extracellulare e gli influssi chimici locali che agiscono in senso contrario., 2°- i capillari non sono contrattili e non sono innervati, 3°- dell'area totale del letto capillare pari a 700-1000 m² solo il 25% è normalmente pervio.

Gli studi condotti sul sistema venoso nel corso del Novecento hanno messo in luce che la sua importanza consiste sostanzialmente nella capacità di variare la sua ricettività complessiva.

Gli effetti della postura sul sistema venoso dell'uomo, dovuti soprattutto all'azione delle forze di gravità, sono state oggetto di accurati studi da parte di A.A.Pollack e E.H.Wood i quali dimostrarono che 1°- in posizione eretta la pressione venosa in una vena dorsale del piede si aggira intorno a 90 mm Hg, scende quando il soggetto cammina fino a 15 mm Hg per risalire di nuovo a 90 quando si ferma. 2°- nel passaggio rapido dalla posizione orizzontale a quella eretta l'aumento altrettanto rapido della pressione venosa fa aumentare l'area della sezione trasversa delle vene facendo diminuire la quantità di sangue che ritorna al cuore e questo è il momento in cui il soggetto avverte un po' di vertigine.

Le ricerche pubblicate da Burton nel 1972 hanno dimostrato le variazioni di forma delle vene nelle varie condizioni di pressione trasmurale: quando questa è bassa le vene, semicollassate, assumono una forma ellittica; man mano che la pressione sale l'area di sezione da ellittica diventa ovale, poi da ovale passa a rotonda e, se la pressione aumenta ancora, la vena si dilata mantenendo la sezione perfettamente rotonda.

Ricerche anatomiche del primo Novecento hanno completato le conoscenze sul sistema di conduzione autonomo del cuore rivelando la presenza del cosiddetto “nodo seno-atriale”, un’area di forma stellare situata sulla parete dell’atrio destro le cui cellule specializzate tipo pace-maker danno origine agli impulsi elettrici destinati a far contrarre gli atri. L’impulso corre alla velocità di 1 metro al secondo e raggiunge le cellule – anch’esse del tipo pace-maker - del nodo atrioventricolare che a loro volta trasmettono l’impulso al tessuto specializzato del Purkinje del setto interventricolare e alle ultime branche della parete dei due ventricoli. Ogni ciclo cardiaco dura 0,85 secondi ed è composto dai 0,3 secondi della sistole ventricolare e dai 0,55 secondi della diastole ventricolare. La contrazione contemporanea degli atri dura 0,1 secondi. In condizioni di riposo il cuore pulsa con una frequenza media di 70 battiti al minuto espellendo per ogni battito dal cuore sinistro 80 ml di sangue.

Anche lo studio anatomico dei nervi efferenti cardiaci è stato completato nel corso della prima metà del Novecento. Le terminazioni vagali hanno sede in stretta vicinanza del nodo senoatriale, del nodo atrioventricolare e delle fibre della muscolatura atriale. I ventricoli non ricevono terminazioni vagali. La stimolazione del nucleo motore dorsale del vago o anche di una sua branca periferica sezionata può fermare il cuore per inibizione dell’attività pace-maker del nodo senoatriale. La sezione dei due nervi vaghi fa aumentare la frequenza cardiaca.

Le terminazioni del simpatico cardiaco derivano – con l’interposizione del ganglio stellato - dai segmenti midollari toracici 2 e 3, arrivano al tessuto del nodo senoatriale e alla muscolatura atriale e ventricolare. Se stimulate le fibre cardiache del simpatico accelerano le pulsazioni e fanno aumentare la forza contrattile dei ventricoli. Come i muscoli scheletrici il cuore ha una forza contrattile che corrisponde alla sua lunghezza a riposo: più questa è grande, più forte è la contrazione. Se viene aggiunta noradrenalina la forza e la velocità di contrazione aumentano. Queste nozioni fanno parte della fisiologia del cuore già dal 1918, anno in cui Starling pubblicò a Londra la celebre “*Linacre lecture of the law of the heart*” in cui rese noti i risultati delle sue ricerche eseguite in un preparato isolato cuore-polmone dimostrando che la forza della contrazione ventricolare dipende dalla lunghezza diastolica delle fibre muscolari dei ventricoli. Nel 1962 E.H. Sonnenblick pubblicò altre ricerche che approfondirono questo tema. Egli usò un muscolo papillare ventricolare di gatto isolato e sospeso in ambiente liquido, fissato per una estremità ad una piattaforma rigida e per l’altra estremità ad un trasduttore meccanico che registrava la tensione sviluppata dal muscolo sotto stimolo elettrico e/o chimico con noradrenalina. Sonnenblick poté provare così che quando si varia la lunghezza di riposo del muscolo cardiaco, la forza di contrazione aumenta man mano che la lunghezza di riposo è aumentata e che l’aggiunta di noradrenalina fa aumentare ancor più la velocità e la forza di contrazione ventricolare. Ciò è importante perché la noradrenalina è la sostanza liberata dalle terminazioni simpatiche cardiache.

Gli esperimenti condotti su preparati isolati cuore-polmone da S.J.Sarnoff, R.J.Linden e altri sono serviti a chiarire il ruolo delle fibre simpatiche che innervano il cuore. Ogni aumento dello stimolo simpatico fa aumentare forza e velocità della contrazione dei ventricoli e fa diminuire la quantità di sangue che resta nel ventricolo a fine sistole. Sono stati spiegati anche gli svantaggi e i pericoli legati alla tachicardia, cioè all’aumento delle pulsazioni nell’unità di tempo. Periodi protratti di tachicardia comportano periodi diastolici ridotti e quindi riempimento venoso del cuore destro ridotto fino al limite dell’insufficienza e le sistoli troppo ravvicinate fanno diminuire l’apporto coronario di ossigeno al muscolo cardiaco da cui l’insorgenza del tipico dolore precordiale descritto con il termine latino di “*angina pectoris*”. Ad evitare queste spiacevoli conseguenze provvede il tono vagale che rallenta l’attività sistolica del cuore. Il tono vagale è il riflesso di tipo inibitorio scatenato

dai recettori vagali dell'arco aortico e dei due seni carotidei che avvertono il nucleo dorsale motorio del vago il quale invia gli stimoli inibitori lungo le fibre vagali effetttrici al cuore. Questa attività vagale riflessa si effettua in continuazione insieme a quella del simpatico e ambedue subiscono variazioni quando si modifica la pressione arteriosa. Se questa sale il cuore rallenta il suo ritmo per predominio degli impulsi vagali e viceversa quando la pressione arteriosa diminuisce il cuore accelera per aumento dell'attività simpatica.

Nel 1915 F.A.Bainbridge, che aveva studiato a fondo l'influsso che il riempimento venoso del cuore esercita sul ritmo delle pulsazioni, aveva descritto il riflesso – oggi detto “riflesso di Bainbridge” – consistente nella tachicardia provocata da un improvviso aumento del ritorno venoso. Linden e collaboratori nel 1968 ne diedero la spiegazione su base anatomica e fisiologica avendo scoperto che le terminazioni del vago sul punto di congiunzione tra atrio destro e vena cava superiore da un lato e tra atrio sinistro e vene polmonari dall'altro funzionano come “recettori da distensione”. La loro eccitazione data dal riempimento degli atri e delle vene nella sistole atriale e nel momento del ritorno venoso provoca in via riflessa l'accelerazione del cuore. La via efferente di questo riflesso è quella delle fibre simpatiche che terminano sul nodo senoatriale.

Per quanto riguarda la circolazione vascolare sistemica e il suo controllo nervoso i molteplici studi eseguiti nel corso dei primi settanta anni del Novecento hanno consentito di raccogliere una notevole quantità di dati di cui qui verranno ricordati solo quelli di maggior rilievo.

Il tessuto muscolare, come pure le ossa, il tessuto connettivo, il tessuto adiposo, la pelle e altri tessuti offre un'alta resistenza alla circolazione del sangue ma, a differenza degli altri tessuti appena citati, consente un rapido e notevole aumento di circolazione nel corso dell'esercizio muscolare per l'azione vasodilatatrice diretta svolta dai metaboliti chimici elaborati dalla fibrocellula muscolare: ioni potassio e idrogeno, derivati dell'adenosina e sostanze osmoticamente attive si raccolgono nel liquido extracellulare ed esercitano un'azione rilassante sulla muscolatura liscia dei vasi arteriosi precapillari, azione che annulla il forte tono simpatico di quei vasi.

E' stato rilevato dalle ricerche del flusso/minuto e del flusso/peso/minuto che la circolazione sanguigna è improntata ad un preciso criterio di economia: cervello, cuore, fegato e reni che non superano i 3,5% Kg in tutto ricevono circa i 2/3 della gittata cardiaca nell'uomo in stato di riposo. La restrizione che tocca agli altri tessuti è garantita dal tono delle fibre simpatiche vasocostrittrici. Queste ultime abbondano soprattutto sulle pareti delle arterie più piccole e delle arteriole mentre i capillari ne sono del tutto sprovvisti., e poche fibre simpatiche raggiungono le pareti delle venule e delle vene. E' stato osservato che, a riposo, queste fibre mantengono un'attività di 1-2 impulsi al secondo. Solo in caso di forti scariche si arriva a superare i 10 impulsi al secondo. Questo tono simpatico è l'espressione periferica dell'attività tonica dei neuroni del centro vasomotorio bulbare. Questa è mantenuta a sua volta dal traffico in arrivo dei nervi afferenti le cui terminazioni, come già detto, hanno sede sull'arco aortico e sui due seni carotidei che rappresentano l'origine delle due arterie carotidi interne alla biforcazione delle carotidi comuni.. Questi recettori sono detti “da stiramento” perché sotto l'aumento di pressione corrispondente ad ogni sistole lanciano il loro segnale al centro vasomotorio del midollo allungato.

Gli studi eseguiti da C. Heymans e E.Neil nel 1958 hanno evidenziato che aumentando la pressione sanguigna isolatamente a livello dei seni carotidei si provoca un immediato abbassamento della pressione arteriosa sistemica in via riflessa e questo aumento provoca a sua volta rapida riduzione dell'attività afferente dei nervi vago-aortici che di norma esercitano un'azione tonica inibitoria sui neuroni del midollo allungato. Studi combinati sui nervi del seno carotideo e sui nervi vago-aortici pubblicati nel 1971 dagli inglesi C.A.

Keele e coll. hanno rivelato che queste due famiglie di nervi afferenti agiscono in mutuo accordo come un'unica "entità funzionale". Per questa loro funzione sono stati anche chiamati "*nervi tampone*". Quando la pressione sanguigna cade (emorragie) l'attività afferente di questi nervi diminuisce e questo libera il centro vasomotore che aumenta la scarica simpatica vasocostrittrice e tachicardizzante. Se invece si verifica un'ipertensione da improvviso aumento della gittata sistolica o da una forte scarica simpatica da emozione, i nervi tampone agiscono sul centro vasomotore attenuando l'ipertensione. I nervi tampone costituiscono dunque un sistema di servocontrollo della circolazione perfettamente studiato nella seconda metà del Novecento, periodo in cui fu pure studiata l'azione eccitatoria del centro vasomotore da parte delle fibre efferenti dei chemocettori per O₂, CO₂ e acidosi presenti nei glomi carotidei e in quelli aortici, che si verifica subito in carenza di ossigeno. Tutte le tre forme di ipossia (anossica, anemica e stagnante) fanno scattare l'avvertimento chemocettorio che dà origine alla vasocostrizione riflessa.

Studi importanti sono stati anche quelli sulla carenza cronica di O₂ negli abitanti di regioni situate a elevate altitudini. La risposta, ovviamente lenta e progressiva, è in questo caso rappresentata dalla produzione di eritropoietina – una glicoproteina – da parte del rene. L'eritropoietina eccita il midollo a produrre globuli rossi fino a dare una policitemia, cioè un aumento del numero di eritrociti circolanti, per equilibrare il deficit di ossigeno. Naturalmente l'ipossia acuta non può giovare di questo meccanismo di carattere ormonale piuttosto lento.

Nel 1910 i fisiologi J.P. Karplus e A. Kreidl hanno introdotto il concetto del controllo della circolazione da parte dell'ipotalamo avendo osservato per la prima volta che la stimolazione dell'ipotalamo provocava modificazioni della frequenza cardiaca e della pressione arteriosa. Altre ricerche su questo tema condotte da P. Bard nel 1928 e da W.R. Hess confermarono i risultati pubblicati da Karplus e da Kreidl e in più accertarono che l'ipotalamo contiene numerosi centri la cui eccitazione provoca immediate risposte specifiche e perfettamente coordinate in cui sono coinvolti il sistema somatomotorio, le vie del sistema nervoso autonomo e diversi ormoni. I centri ipotalamici che influenzano la circolazione sono però sottoposti al controllo dei neuroni corticali dai quali prendono origine gli stimoli in via normale. Le aree corticali di questi neuroni sono state individuate nel sistema limbico che circonda a guisa d'anello il talamo e l'ipotalamo (giro anteriore del cingolo, insula, corteccia posteriore orbitale e nucleo dell'amigdala).

I meccanismi cortico-talamici presiedono a due modelli comportamentali caratterizzati da modificazioni cardiovascolari: la reazione di difesa e la morte simulata.

La *reazione di difesa*, che davanti a modesta intensità dello stimolo, si annuncia con l'aspetto esteriore della cosiddetta "reazione di allarme" in cui sono già presenti tachicardia e aumento della gittata sistolica, diventa molto più evidente quando la stimolazione è forte: in questo caso aumentano improvvisamente e fortemente la tachicardia, che può avvicinarsi al pericoloso limite di 180 battiti al minuto, la gittata cardiaca e la pressione arteriosa. Contemporaneamente si osservano forte vasocostrizione cutanea (pallore estremo) con piloerezione e vasodilatazione muscolare che rappresenta una salvaguardia per il miocardio che si trova improvvisamente ad affrontare un superlavoro davanti ad un aumento delle resistenze periferiche. La vasodilatazione muscolare è stata anche interpretata come un aiuto alla lotta o alla fuga che fanno parte dello schema della reazione di difesa sia nell'animale che nell'uomo primitivo. La reazione di difesa è stata particolarmente studiata da V.C. Abrahamson e collaboratori nel periodo 1960-1964 e la vasodilatazione muscolare della reazione di difesa con tutte le sue implicazioni funzionali è stata oggetto di specifici studi da parte della scuola svedese di fisiologia (S. Eliasson e coll. nel 1951; Folkow B. 1971).

La *reazione di morte simulata* tipica di alcuni animali (opossum soprattutto ma anche i cerbiatti) consiste in una accentuata bradicardia improvvisa e in ipotensione, forte caduta del tono muscolare e caduta a terra. Nell'animale questa è una reazione a fronte di un pericolo improvviso e imminente. L'equivalente nell'uomo è dato dalla svenimento da shock emotivo. Il fisiologo scandinavo Lofking ha dimostrato trattarsi della conseguenza di una forte e improvvisa stimolazione del giro anteriore del cingolo a livello del limbo con trasmissione della scarica lungo una via corticoipotalamica ben individuata in fibre di collegamento con il nucleo vasomotore dorsale del vago nel midollo allungato.

L'*omeotermia* dei Mammiferi dipende dall'integrità dell'ipotalamo e delle sue connessioni di tipo efferente ed afferente con tutta la periferia corporea. Un aumento di temperatura corporea provoca un'eccitazione ipotalamica anteriore che inibisce le fibre simpatiche adrenergiche vasocostrittrici della pelle ed eccita la scarica di neuroni colinergici postgangliari alle ghiandole sudoripare. Ne consegue vasodilatazione cutanea, aiutata anche dalla produzione di bradichinina.

Una caduta di temperatura corporea aumenta invece l'attività dei neuroni dell'ipotalamo posteriore che a loro volta stimolano le fibre vasocostrittrici simpatiche della cute.

Gli studi eseguiti nel Novecento in questo ambito hanno dimostrato che anche se esistono nervi vasodilatatori, essi hanno scarsa importanza nel controllo della circolazione, e che la vasocostrizione di origine neurologica centrale (ipotalamica) è dovuta soltanto a una riduzione e inibizione del tono simpatico vasocostrittore.

Elettrofisiologia del Cuore

Questa branca della fisiologia cardiaca si è sviluppata quasi esclusivamente nel corso del Novecento: studia i meccanismi fondamentali dell'eccitazione, della propagazione dell'impulso contrattile da una fibrocellula muscolare ad un'altra, dei potenziali di riposo e d'azione delle fibre stesse, dei fenomeni chimico-fisici collegati.

L'elettrometro capillare già nel 1883 aveva consentito, con un elettrodo inserito nella membrana (sarcolemma) della fibra miocardica, di registrare per la prima volta i potenziali d'azione delle fibre del cuore (J.Bourdon-Sanderson e F.J.M.Page). Il fisiologo E. Overton nel 1902 pubblicò i risultati dei suoi studi sulla fisiologia di muscoli e nervi, tra i quali fu particolarmente importante la scoperta della indispensabilità della presenza del sodio per l'eccitazione. Nel 1912 le ricerche di J. Bernstein dimostrarono che il potenziale di riposo che segue a quello d'azione è strettamente dipendente dalla concentrazione del potassio nel liquido extracellulare e dalla temperatura. In seguito le ricerche sul potenziale d'azione cardiaco e sull'eccitabilità del cuore fecero molti progressi che furono oggetto di esame critico complessivo nel 1936 da parte del fisiologo tedesco E.Schütz. Un nuovo e forte impulso all'elettrofisiologia cardiaca si verificò negli anni cinquanta grazie all'introduzione di nuove tecniche che allargarono e approfondirono straordinariamente le possibilità d'indagine fino allora limitate dall'impiego di tecniche e metodi che non permettevano all'elettrofisiologia il passaggio da scienza prevalentemente qualitativa e descrittiva a scienza quantitativa. I nuovi strumenti disponibili furono il microelettrodo di Ling-Gerard impiegato per lo studio dei potenziali di riposo e d'azione delle fibre miocardiche ventricolari di rana nel 1951 dagli inglesi L.A. Woodbury e collaboratori, la tecnica dei traccianti e la fotometria a fiamma con la quale vennero studiati i movimenti ionici e la quantificazione di ioni a basse concentrazioni. Nel 1952 A.L. Hodgkin e A. Huxley pubblicarono una descrizione quantitativa della corrente di membrana e la sua applicazione alla conduzione ed eccitazione nel nervo. Nello stesso anno essi dettero alle stampe altri tre lavori riguardanti sempre questo argomento. Quella da loro elaborata fu la

“teoria ionica dell’eccitazione nel nervo” che per la prima volta spiegò quantitativamente lo *spike* della fibra nervosa con il flusso di ioni K e Na attraverso la membrana cellulare. Nel 1956 S. Weidmann e nel 1962 D. Noble e coll. applicarono la teoria ionica di Hodgkin e Huxley al potenziale d’azione cardiaco inaugurando un campo di studi che alla fine del Novecento era ancora aperto.

I dati che ora andremo esponendo in modo più conciso possibile sono quelli che corrispondono ai risultati degli studi di elettrofisiologia compiuti dagli anni cinquanta in poi.

Il potenziale di membrana della fibra miocardica nella diastole, detto “potenziale di riposo” corrisponde ad una differenza di 80-90 millivolts tra la negatività intracellulare e la positività extracellulare. La fase sistolica ha inizio con l’innalzamento di circa 1 millisecondo (ms) del potenziale per circa 25 millivolts e l’interno della fibrocellula diventa positivo. Segue un *plateau* di circa 200 ms e infine la ripolarizzazione finale che riporta al potenziale di riposo. La durata del potenziale d’azione varia con la frequenza delle contrazioni, abbreviandosi quando la frequenza aumenta.

La forma dell’onda del potenziale d’azione è diversa nei diversi tessuti del cuore e risente molto delle variazioni di temperatura, pH, composizione ionica extracellulare e tasso di ossigeno nel sangue arterioso (Hoffman, Trautwein e coll dal 1954 al 1963).

Nelle fibrocellule dotate di autoeccitabilità (nodo del seno, nodo atrioventricolare, fibre di Purkinje) il potenziale di riposo, a differenza delle altre fibre miocardiche, non è costante e la depolarizzazione è lenta per cui il potenziale di riposo di queste fibre speciali è detto “*potenziale pace-maker*”. La sua frequenza scende passando dal nodo del seno al nodo atrioventricolare e da questo alle fibre del Purkinje.

La depolarizzazione del pace maker è continuamente controllata dall’innervazione. La diminuzione della temperatura riduce la velocità di depolarizzazione. La frequenza del pace maker è ridotta dall’aumento del K nel liquido extracellulare e dalla diminuzione del Na nel liquido intracellulare. Lo stiramento del nodo del seno e delle fibre di Purkinje fa aumentare la velocità di depolarizzazione (Brady e Hecht, Trautwein e coll., Weidmann, Hofman et al., Vassalle e Carpentier, Coraboeuf e coll. dal 1954 al 1972).

Resistenza e capacità elettriche della membrana cellulare e resistenza del citoplasma costituiscono le “costanti di fibre” che influenzano eccitabilità, eccitazione e propagazione del potenziale d’azione da fibrocellula a fibrocellula. Anche se le membrane cellulari sono una notevole barriera che si oppone alla diffusione dei potenziali d’azione, gli ioni diffondono da una cellula all’altra con una relativa libertà. Sono stati proposti diversi modelli elettrici sperimentali (Weidmann 1952; Fozzard 1966; Dudel e coll. 1966) per interpretare quello fisiologico delle fibrocellule di Purkinje che hanno dimostrato di avere effetti elettrici simili a quelli di un cavo, e il modello di Freytang e Trautwein del 1970 è quello che è riuscito a riprodurre meglio degli altri l’anatomia delle fibrocellule di Purkinje che consiste in connessioni laterali e longitudinali di una struttura detta “*nexus*”. La capacità elettrica in questo modello è dunque orientata sia in senso radiale che longitudinale, e il *nexus* è la via di bassa resistenza intercellulare necessaria alla rapida propagazione dell’impulso.

Il potenziale di riposo dipende dalla permeabilità della membrana cellulare agli ioni sodio, potassio e cloro e il valore è stato espresso da Goldman nel 1943 con una equazione che reca il suo nome e dove il potenziale di membrana risulta pari al rapporto tra la somma dei coefficienti di permeabilità dei tre ioni all’interno della cellula e la somma di quelli all’esterno della stessa. Come previsto dall’equazione di Goldman il potenziale di riposo varia con la concentrazione del potassio extracellulare mentre le variazioni di sodio e cloro

non hanno influsso alcuno. Ogniqualevolta si verifica una variazione del potenziale di membrana se ne modifica anche la permeabilità ad uno o più ioni e quindi si formano correnti ioniche che attraversano la membrana stessa. Durante l'eccitazione il potenziale di membrana va dai -90 mV dello stato di riposo ai +50 mV del potenziale interno vicino ai valori del potenziale d'equilibrio del sodio. Questa forte variazione di potenziale corrisponde ad un aumento transitorio di permeabilità al sodio che aumenta la sua concentrazione all'interno della fibrocellula. Durante il plateau del potenziale d'azione il sodio e/o il calcio vengono trasportati dentro la cellula. Segue, nella fase di ripolarizzazione, il fenomeno inverso.

Lo studio delle correnti depolarizzanti verso l'interno della membrana (corrente rapida del sodio verso l'interno, corrente lenta del calcio verso l'interno e corrente di potassio verso l'esterno) e le correnti verso l'esterno in relazione al plateau e al potenziale pace-maker studiate anche con la tecnica del blocco di voltaggio e con l'impiego di ioni radioattivi hanno occupato fino alla fine del secolo XX diversi gruppi di studi specializzati in questa materia. Possiamo citare qui alcuni tra i risultati più notevoli di queste più recenti ricerche: **1-** la conduttanza nel tessuto del miocardio è molto diversa di quanto avviene nelle fibre nervose perché diminuisce nella fase di depolarizzazione e l'aumento con il tempo è più lento e più ridotto; la corrente verso l'esterno – a differenza di quella dei nervi - rimane costante e non aumenta nella fase di depolarizzazione; **2-** la corrente lenta verso l'interno è data dal trasporto di ioni calcio dentro la fibra ed è una corrente di depolarizzazione di lunga durata responsabile del plateau successivo al picco del potenziale d'azione; **3-** la corrente eccitatoria del sodio rappresenta lo stimolo per la cellula adiacente che è ancora in stato di riposo e ciò è dimostrato dal fatto che la riduzione del sodio extracellulare sotto il 10% della concentrazione normale rende il miocardio inecitabile; **4-** gli ioni calcio esercitano azione stabilizzante sulla membrana rendendola meno permeabile agli altri ioni. A concentrazioni elevate di calcio la frequenza cardiaca diminuisce perché la diastole si allunga, ed è richiesta una maggior depolarizzazione ed una maggior corrente di stimolo prima che la fibra miocardica risponda. La contrazione cardiaca è fortemente influenzata dalla concentrazione extracellulare del calcio. In una soluzione priva di calcio la contrazione scende quasi a zero dopo pochi battiti. Esiste anche una netta correlazione tra l'ampiezza della corrente del calcio e l'ampiezza della concentrazione extracellulare dell'ione calcio; **5-** gli ioni potassio depolarizzano le fibre del cuore e la conduttanza della membrana cellulare è direttamente proporzionale alla concentrazione extracellulare del potassio. Il potenziale d'azione si abbrevia se aumenta il potassio extracellulare; **6-** la distribuzione degli anioni cloruro non contribuisce sostanzialmente al potenziale di riposo perché la loro permeabilità è solo il 10% di quella del potassio. Il movimento passivo degli anioni attraverso la membrana contribuisce invece alla configurazione del potenziale d'azione. **7-** il periodo compreso tra la fine della refrattarietà assoluta (plateau e inizio della ripolarizzazione) e il momento in cui la fibrocellula miocardica ritorna eccitabile, detto "periodo di refrattarietà relativa", consente una eccitabilità da stimoli che danno potenziali d'azione con ascesa lenta e durata minore. Lo stato di refrattarietà è legato all'inattivazione del sodio nella fibra depolarizzata. Questa è una condizione che può verificarsi quando c'è un'elevata concentrazione extracellulare di potassio o per carenza di ossigeno nel muscolo; **8-** la propagazione dell'impulso è legata al rapporto tra la bassa resistenza delle connessioni cellulari del sincizio miocardico e del citoplasma delle miofibre da un lato e la resistenza della membrana citoplasmatica dall'altro. Nel miocardio dei Mammiferi la velocità di conduzione varia da 0,5 m/s con valori però due o tre volte superiori nelle fibre di Purkinje; **9-** all'altissima rapidità di conduzione dell'eccitazione dal nodo del seno al nodo atrioventricolare (0,5-0,8 m/s) segue una trasmissione molto più lenta da questo al fascio di His e alle fibre di Purkinje (0,05 m/s). La bassa velocità di conduzione del nodo atrioventricolare è dovuta al piccolo diametro delle fibre e alla particolare geometria del

sincizio. La propagazione lungo le branche del fascio di His e le fibre di Purkinje è invece molto rapida: in circa 30 m/s l'eccitazione raggiunge tutte le parti dei ventricoli.

Le mappe che riportano le registrazioni della direzione della diffusione e della latenza d'eccitazione dentro i ventricoli hanno fornito risultati simili per il cuore di cane, di scimmia e di uomo. La diffusione avviene da dentro a fuori e dall'alto al basso. Le fibre della parete interna dei ventricoli che sono attivate prima di quelle esterne hanno un potenziale d'azione più lungo di queste, cioè si ripolarizzano per ultime e questo si rivela con l'onda T positiva dell'ECG. Il processo di ripolarizzazione che segue il modello detto da Weidmann del "*tutto o nulla*" e che è stato osservato sia nelle fibre di Purkinje sia nel miocardio è un processo di tipo propagato.

Chiudiamo questo capitolo con un ultimo sguardo agli effetti dell'innervazione vagale e simpatica del cuore.

Le ultime **fibre vagali** postsinaptiche che innervano il seno, gli atri e il nodo atrioventricolare entrano direttamente nelle cellule muscolari e, se stimolate, vi liberano acetilcolina. Questa influenza molto la permeabilità di membrana delle cellule del seno, degli atri e del nodo atrioventricolare (Trautwein 1963). Le cellule del sistema di Purkinje e le cellule miocardiche dei ventricoli non sono invece influenzate dall'acetilcolina (Schmidt 1958). L'effetto più drammatico è l'arresto del cuore quando la stimolazione vagale è molto intensa. Essa sopprime il potenziale pace maker e iperpolarizza la fibrocellula del seno venoso. Se la stimolazione è meno forte si ha solo una depressione del potenziale pace-maker che raggiunge la soglia di propagazione dello stimolo in ritardo e ne consegue che la frequenza del seno è rallentata. Un altro effetto è l'accorciamento del potenziale d'azione. Il ritardo della trasmissione atrioventricolare dovuto all'acetilcolina diventa visibile nell'ECG con il prolungamento del tratto PQ. Il meccanismo d'azione dell'acetilcolina consiste nell'aumentata permeabilità al potassio che è stata dimostrata sia elettrofisiologicamente da Trautwein e Dudel nel 1958 sia con l'impiego di radioisotopi da parte dei fisiologi Harris e Hutter nel 1956. Questi sperimentatori hanno anche dimostrato che il blocco dell'effetto vagale da parte dell'atropina annulla l'efflusso di ioni potassio rinormalizzando la permeabilità di membrana verso questo elemento.

Non c'è parte del cuore che non sia riccamente innervata dal **simpatico** le cui fibre sotto stimolazione rilasciano noradrenalina e adrenalina, sostanze che esaltano l'attività del seno e quindi provocano tachicardia per più veloce depolarizzazione diastolica. L'esaltazione non si limita a livello del seno, ma influisce anche sul nodo atrioventricolare e sulle fibre di Purkinje (Otsuka 1958). La velocità di conduzione e l'eccitabilità vengono migliorate dall'adrenalina e dalla noradrenalina solo nel miocardio deteriorato da anossia (Engstfeld e coll. 1961) mentre nel miocardio sano l'adrenalina non ha influssi sulla propagazione dell'impulso a livello ventricolare, limitandosi l'aumento della velocità di conduzione solo al nodo atrioventricolare. L'effetto della stimolazione del simpatico interessa anche la forza di contrazione che risulta molto aumentata. Il meccanismo intimo dell'adrenalina sulla fibrocellula miocardica, ancora non completamente esplorato alla fine del secolo, sembrava legato al passaggio di una maggiore quantità di ioni calcio all'interno della cellula nel corso del potenziale d'azione. Mentre aumenta l'ampiezza di questa corrente lenta del calcio verso l'interno della cellula, aumenta anche l'ampiezza della contrazione. Sono anche stati descritti un aumentato efflusso di ioni sodio e una assunzione di ioni potassio e anche il fatto importante che l'adrenalina attiva l'enzima adenilciclasi della membrana cellulare, primo passo di una serie di attività di enzimi intracellulari. Alla fine del Novecento erano in corso studi sul metabolismo degli ioni delle fibrocellule del miocardio.

Il Tono Vasale

Questa materia, che ha visto il suo sviluppo scientifico in fisiologia sperimentale nella seconda metà del XX secolo e in massima parte dopo il 1980, può essere considerata, più che una continuazione, un corollario obbligato degli studi sull'ipertensione arteriosa che hanno occupato molte scuole di fisiologia umana nei primi anni ottanta del Novecento.

Il tono vasale è soggetto all'azione di fattori vascolari vasoattivi prodotti dalle cellule dell'endotelio come è stato scoperto per la prima volta nel 1980 da R.F.Furchgott e J.W. Zawadzki (azione dilatante dei vasi da acetilcolina prodotta dalle cellule endoteliali). Ma ben prima del 1980 erano noti effetti vasocostrittori e vasodilatatori (O.Loewi, 1936; U.S.Euler 1946; D.A.Blair e coll. 1959) dovuti ad una regolazione neuromorale che fu studiata a fondo dal 1975 fino alla fine del secolo. La materia, nel suo sviluppo storico, verrà dunque divisa in due capitoli: i fattori vascolari vasoattivi e la regolazione neuromorale.

Fattori Vascolari Vasoattivi

Se Furchgott e Zawadzki hanno scoperto nel 1980 che le cellule endoteliali secernono acetilcolina la quale induce vasodilatazione, pochi anni dopo è stato scoperto un altro prodotto rilassante secreto dalle stesse cellule, l'*Endothelium-Derived Relaxing Factor* (EDRF). Nel 1976 Moncada e coll. avevano scoperto a loro volta che le cellule endoteliali producono e rilasciano prostaciclina che esercita anch'essa azione rilassante. Nel 1987 è stata scoperta l'azione rilassante dell'ossido nitrico da parte di Ignaro e coll. e di Palmer e coll. Nel 1988 Feletou e Vanhoutte hanno scoperto il fattore iperpolarizzante. Nel 1990 Sudoh et al. hanno dimostrato l'azione vasodilatatrice del peptide C natriuretico. Infine nel 1992 sono stati clonati i geni dell'enzima ossidonitrico-sintasi da parte di Dinerman e coll. Questo per quanto riguarda i fattori che provocano vasodilatazione

Per quanto invece attiene alla vasocostrizione i primi a scoprire che le cellule endoteliali sono capaci di produrre e rilasciare sostanze che inducono vasocostrizione sono stati nel 1982 De Mey e Vanhoutte: tra queste sostanze si annoverano la prostaglandina H₂, il trombossano A₂ e gli anioni superossido scoperti da Katusic e Vanhoutte nel 1989. Due anni prima Kifor e Dzau avevano dimostrato che le cellule endoteliali sono capaci di produrre angiotensina II e Yanagisawa e coll. nel 1988 avevano scoperto un potente vasocostrittore di natura peptidica isolato dal materiale di cultura di cellule endoteliali e gli avevano dato il nome di *Endotelina*.

Il secolo XX si è chiuso con una visione ancora non ben definita del ruolo che tutte queste sostanze svolgono nella normale regolazione del tono vasale arterioso mentre è stato accertato che uno squilibrio tra fattori rilassanti e sostanze vasocostrittrici può contribuire in modo sostanziale alla genesi e al peggioramento progressivo di molte malattie vascolari.

Esamineremo ora nella maniera più sintetica possibile gli effetti, il comportamento e l'elaborazione delle sostanze vasodilatatrici e vasocostrittrici che sono state appena citate.

Dilatazioni endotelio-dipendenti

A – Prostaciclina: è prodotta dalle cellule endoteliali solo su stimolazione meccanica e chimica dopo attivazione dell'acido arachidonico tramite la via chimica della cicloossigenasi. E' un vasodilatatore più locale che sistemico data la sua bassa concentrazione nel plasma. E' anche inibitore dell'aggregazione delle piastrine, nelle quali

l'attivazione della via della cicloossigenasi provoca la produzione del vasocostrittore trombossano A2. L'equilibrio tra prostaciclina prodotta dalle cellule endoteliali e il trombossano A2 prodotto dalle piastrine ha un ruolo importante nella regolazione del tono vasale e dell'emostasi.

Normalmente la prostaciclina ha un'emivita breve (3 minuti a 37° C e pH 7,5).

B – Ossido Nitrico (NO): se ne conoscevano a fine secolo tre forme codificate da tre geni diversi, delle quali una è quella prodotta dalle cellule endoteliali a partire dall'arginina attivata e dall'enzima NO-ossidasi. La biosintesi del NO dentro la cellula endoteliale è avviata dal Ca^{++} endocellulare. L'NO è poco stabile e ha un'emivita tra i 4 e i 50 secondi. Essendo liposolubile diffonde subito dalla cellula endoteliale che lo produce alla cellula muscolare sottostante e la fa rilassare attivando l'enzima guanilatociclasasi. L'acetilcolina che, come è ben noto, è il prodotto delle terminazioni nervose colinergiche, è un potente attivatore chimico che fa produrre NO alle cellule endoteliali. Sono stati scoperti due fenomeni particolari e ben localizzati: 1° - nelle arterie coronarie l'acetilcolina stimola fortemente la produzione di NO da parte dell' endotelio (Brotten e coll. 1992) 2° - nel cervello le cellule dell'endotelio sono capaci di sintetizzare l'acetilcolina che, appena liberata, stimola le stesse cellule a produrre NO (Gonzalez e Santos-Benito 1987).

C – Anioni Superossido. L'anione superossido è un radicale libero dell'ossigeno formatosi per riduzione monovalente dell'ossigeno molecolare. Nell'endotelio viene prodotto per l'azione di diversi enzimi e interagisce subito con l'ossido nitrico dando vita ad un forte ossidante detto "perossinitrito" capace di causare seri danni ossidativi se in natura non fosse riconvertibile in ossido nitrico grazie all'azione dell'enzima superossido-dismutasi che è indispensabile per liberare l'NO e per consentire l'azione coronarodilatatrice del nitroprussiato e della nitroglicerina.

Ricerche di Villa e coll. (1994) hanno dimostrato che una esposizione ripetuta e prolungata al perossinitrito causa disfunzioni vascolari e inibizione degli agenti vasodilatatori. Nelle arterie aterosclerotiche è stato osservato aumento della produzione di anioni superossido.

D – Fattore iperpolarizzante (EDHF): è prodotto dalle cellule endoteliali, iperpolarizza la cellula muscolare liscia attraverso i canali del potassio. La sua formula chimica era ancora sconosciuta alla fine del Novecento.

E – Peptidi C – natriuretici: sono tre dei quali solo uno, il CNP è prodotto dalla cellula endoteliale. E' un potente vasodilatatore. E' stato trovato in grandi quantità nel plasma dei pazienti in preda a shock settico e si suppone una sua azione patogenetica in quella forma morbosa.

Contrazioni Endotelio-dipendenti

A – Prodotti della Cicloossigenasi: sono stati De Mey e Vanhoutte nel 1982 a dimostrare per primi che le cellule endoteliali erano in grado di far contrarre i vasi sanguigni isolati in vene di animali da esperimento. E' stato isolato l'acido arachidonico che aumenta l'azione contratturante dell'adrenalina solo in presenza di endotelio. Non si conosce il meccanismo esatto del rilascio dei prodotti della cicloossigenasi da parte dell'endotelio e non si conosce nemmeno l'esatto ruolo fisiologico delle contrazioni endotelio-dipendenti nel regolare il sistema cardiovascolare ma questo non toglie che il fenomeno esiste e deve quindi spiegare un suo specifico ruolo. L'unico dato certo è che le contrazioni endotelio-dipendenti sono più marcate in condizioni patologiche (forte ipertensione e alte concentrazioni di glucosio nel sangue).

Anche la clinica conferma questi dati sperimentali essendo stato dimostrato che l'endotelio umano funziona male negli ipertesi e nei diabetici. L'aumentata produzione di prostanoide associata a inattivazione accelerata di ossido nitrico da parte di anioni superossido fa aumentare il tono arterioso (Katusic e Shepherd 1991).

B – Angiotensina II: finora il fatto che le cellule endoteliali dell'aorta possono secernere angiotensina II la quale attiva direttamente in loco le cellule della tonaca muscolare è stata dimostrata solo nei bovini (Kifor et al. 1987).

C – Endotelina: nell'uomo esistono tre diverse isoforme di endotelina codificate da tre diversi geni. Di queste solo la ET-1 è prodotta dalle cellule dell'endotelio. Il tasso basso della sua produzione e la lunga emivita fa supporre un'azione vasocostrittrice di lunga durata e di risposta lenta. E' stato ipotizzato che l'ET-1 possa essere coinvolto nell'infarto miocardico acuto, nell'insufficienza renale acuta, nel vasospasmo cerebrale e in quello delle coronarie.

Regolazione neuromorale

Il primo a esprimere il concetto di neurotrasmissione chimica è stato nel 1936 O.Loewi il quale aveva osservato le variazioni di frequenza cardiaca dopo stimolazione del vago e del simpatico nel cuore isolato di rana. Loewi ipotizzò che la tachicardia da stimolazione del simpatico fosse mediata dall'adrenalina. Studi successivi hanno dimostrato che non solo le terminazioni del simpatico oltre all'adrenalina rilasciano anche ATP, neuropeptide Y e un polipeptide intestinale vasoattivo (VIP) ma pure che altre terminazioni nervose rilasciano ossido nitrico vasodilatante (nervi nitrossidergici di Toda e Okamura 1989-1993) e che i vasi sanguigni ricevono fibre sensitive e motorie che a loro volta rilasciano peptidi vasoattivi. Molti dati pubblicati negli ultimi anni novanta del Novecento hanno rivelato che molti neurotrasmettitori del sistema autonomo raggiungono le cellule endoteliali e ne attivano recettori di membrana specifici che fanno rilasciare paracoidi vasoattivi. Sui recettori agiscono anche alcuni ormoni. Insomma si è venuto delineando un quadro molto complesso di interazioni locali, umorali e nervose tra giunzioni neuroeffetttrici ed endotelio, e il tono vasomotore di ogni sistema vascolare appare oggi regolato dall'azione combinata di tutti gli agenti citati nonché dalle variazioni di questi sistemi dovute all'invecchiamento.

Fisiologia cardiovascolare dell'Anziano

Invecchiamento, aterosclerosi e altre malattie nonché altri fattori legati allo stile di vita interagiscono e modificano la fisiologia cardiovascolare dell'anziano sotto diversi aspetti e per diverse vie che è molto difficile separare e distinguere nettamente le une dalle altre (E.G. Lakatta, 1993). La sclerosi delle pareti aortiche e delle arterie più periferiche è una delle cause della diminuita dilatazione al passaggio della corrente ematica lanciata dalla sistole. La resistenza vascolare periferica non varia sensibilmente con l'avanzare dell'età nelle persone sane a riposo ma presenta sensibili differenze da soggetto a soggetto e aumenta considerevolmente nei soggetti ipertesi. L'ipertensione e la malattia coronarica esagerano l'ispessimento della parete del ventricolo sinistro che si riscontra sempre nell'anziano sano in misura modesta. Il rilassamento del miocardio nella diastole è prolungato e il riempimento diastolico ha tempi più lunghi con l'avanzare dell'età. Il volume del ventricolo sinistro a fine diastole tende ad aumentare perché il riempimento è più rapido nella fase finale della diastole in presenza di ingrandimento dell'atrio sinistro e di un maggior effetto della contrazione atriale. La frequenza cardiaca a riposo e quella intrinseca del nodo del seno diminuisce con l'età, mentre il tratto P-R si allunga leggermente forse per un ritardo di conduzione all'altezza della giunzione atrioventricolare

(J.L. Fleg e coll. 1990). La frazione di gittata a riposo non è modificata mentre il volume di gittata aumenta lievemente accompagnandosi ad un aumento dell'indice di volume a fine diastole. La pressione dell'arteria polmonare a riposo e la resistenza vascolare del piccolo circolo aumentano leggermente con l'età in individui perfettamente sani dal punto di vista cardiaco (W.R.Davidson e coll. 1990). In assenza di malattia aterosclerotica le alterazioni di circolazione nel sistema muscolare, nel cervello e midollo spinale e nelle coronarie sono minime mentre sono state riscontrate diminuzioni di circolo del 40% e più a carico del fegato e dei reni con una netta sproporzione tra massa tissutale conservata e quantità di perfusione sanguigna (A.D. Bender 1965; N.K. Hollenberg e coll. 1974).

La risposta ad infusione di fenilepinefrina provocante un aumento di pressione di 30 mm. Hg in individui anziani sani è alterata rispetto a quella dei soggetti giovani e di media età perché si verifica una netta dilatazione del ventricolo sinistro e la contrazione prende inizio da un maggiore precarico rispetto ai soggetti giovani rivelando così una diminuzione della riserva contrattile del cuore (F.C.P.Yin e coll., 1978). La frequenza cardiaca massima sotto sforzo diminuisce sensibilmente nell'anziano, mentre le modificazioni del volume di gittata sono variabili e l'indice cardiaco tende a scendere. Sotto sforzo l'indice cardiaco viene mantenuto da un aumento del volume di gittata che è normale negli anziani sani mentre diminuisce parecchio nei vecchi ipertesi. Nel 1964 T. Strandell osservò che l'incidenza delle alterazioni elettrocardiografiche sotto e dopo massimo sforzo aumentavano con l'età ed erano molto maggiori di quelle riscontrate a riposo. Anche la concentrazione media di lattato arterioso era aumentata nell'anziano ad una data frequenza cardiaca o carico di lavoro. Nel 1993 E.G. Lakatta ha osservato che gli effetti inotropico, cronotropico e vasodilatatore delle sostanze beta-adrenergiche diminuisce con l'avanzare dell'età. Nel 1992 J.R. Stratton e coll. hanno trattato volontari anziani perfettamente sani dal punto di vista cardiovascolare con infusione di isoproterenolo e hanno trovato che, rispetto ai soggetti giovani, si verificava un minore aumento della frequenza cardiaca, della frazione di gittata del ventricolo sinistro e dell'indice cardiaco.

La prima risposta ad una lesione tissutale è sempre diretta a mantenere e a rimettere in ordine la perfusione degli organi vitali ma, nell'anziano, l'efficacia di questa risposta nei momenti critici è meno efficace che nel soggetto giovane o di media età. Infatti l'arrivo di ossigeno ai tessuti può essere diminuito nell'anziano in qualsiasi punto di passaggio del trasporto del gas. La capacità di mantenere l'omeostasi cardiovascolare può essere limitata dalla diminuita sensibilità dei baroriflessi, dall'alterazione della funzione autonoma, dalla diminuita sensibilità alle catecolamine e ad una insufficiente vasocostrizione.

Quindi le persone anziane sono predisposte più dei giovani e degli altri adulti di media età ai danni emodinamici correlati a tachiaritmie, ischemia e aumento del postcarico cardiaco, nonché al fatto di non riuscire ad aumentare l'apporto di ossigeno di fronte ad una improvvisa richiesta di aumento.

Fisiologia dell'Apparato Uropoietico

La trattazione lasciataci dagli anatomici e fisiologi degli ultimi anni dell'Ottocento di quella che allora era chiamata la "*istofisiologia del tubulo urinifero*" sottolineava il concetto di filtro nei riguardi della funzione del glomerulo del Malpighi precisando che questo meccanismo filtrante non doveva essere inteso come una semplice dialisi bensì come il risultato di un'attività specifica secretoria dell'epitelio glomerulare. Le ricerche di Nussbaum (1878), di Gurwitz e di Halsen avevano dimostrato per la prima volta che l'acqua filtrata dal glomerulo conteneva una certa quantità di sali identici a quelli che si trovavano normalmente nella composizione dell'urina. Lo studio della secrezione dell'epitelio dei tubuli renali, iniziato con l'iniezione di indacocarminio da parte di Heidenhain il quale aveva ritrovato il colorante nelle cellule e nel lume dei tubuli, si era

concluso nel primo decennio del Novecento con la conferma della “*secrezione dei principi specifici o materie estrattive dell’urina*” da parte dell’epitelio dei tubuli contorti, della porzione larga o ascendente dell’ansa di Henle e del tratto intercalare o intermedio.

Nel 1922 l’anatomico di Torino G.A.Sperino, nella revisione del famoso trattato di anatomia umana descrittiva di L. Testut, scriveva che “*alcuni istologi emisero l’opinione che l’urina si modificasse nella sua costituzione chimica durante il suo decorso nel tubulo renale. Hanno ammesso, specialmente, che una parte della sua acqua di costituzione venisse riassorbita nel ramo piccolo o porzione discendente dell’ansa di Henle*” ma negava attendibilità a questa ipotesi che, a suo parere, era del tutto contraria alla realtà dei fatti fino a quel momento conosciuti. Dunque l’accertamento scientifico dell’attività di riassorbimento della “preurina” (100 litri pro die per metro quadro) aveva dovuto attendere i risultati delle ricerche condotte alla fine degli anni venti e nel corso degli anni trenta, quando si scoprì che il 99% dell’acqua emunta dal glomerulo veniva riassorbito nei tubuli renali e per la massima parte in quelli prossimali.

Gli studi portati nei decenni centrali del secolo sulla fisiologia del “**nefrone**”, cioè dell’unità funzionale di base del rene costituita da corpuscolo renale, tubulo prossimale, ansa di Henle, tubulo distale e dotto collettore, hanno definito con la massima precisione - dovuta anche all’impiego del microscopio elettronico, della biochimica e della biologia molecolare - la funzione tubulare, cioè il riassorbimento e la secrezione tubulare, i meccanismi della concentrazione e diluizione urinaria, i meccanismi moltiplicatori controcorrente e infine le importantissime funzioni ormonali del rene (sistema renina-angiotensina-aldosterone, produzione di eritropoietina, le prostaglandine e sistema callicreina-chinina).. Tutta questa materia è stata riassunta nel **1984** con grande competenza da Ralph E. **Cutler** della Loma Linda University e a questa sintesi abbiamo fatto riferimento per quanto stiamo per esporre.

Concetto di clearance e misurazioni della velocità di filtrazione glomerulare (VFG). I soluti del sangue eliminati nella preurina non vengono mai eliminati del tutto e ogni soluto ha una diversa velocità di eliminazione. Da questa duplice considerazione è derivato il concetto di **clearance** che può essere definito “*la quantità di plasma che deve passare attraverso i nefroni in un dato periodo di tempo per fornire all’urina la quantità di una determinata sostanza*”. Quando una sostanza viene eliminata velocemente si dice che ha una clearance elevata e viceversa. La formula della clearance è espressa dal rapporto tra tasso di escrezione di una data sostanza e la concentrazione di questa nel plasma. Le sostanze che non vengono secrete dall’epitelio tubulare e non vengono riassorbite nel transito dal glomerulo al bacinetto renale hanno una clearance che corrisponde esattamente alla velocità di filtrazione glomerulare (VFG) e una di queste sostanze particolarmente adatta per misurare la VFG è l’inulina che è un polimero del fruttosio. La VFG misurata con l’iniezione endovenosa di inulina è di 125 ml/min. nell’adulto giovane e sano.

Facendo il paragone della clearance renale di qualsiasi sostanza soluta nel plasma con quella dell’inulina si possono ottenere utili informazioni sul trasporto di quella sostanza da parte dei tubuli del neurone. In clinica molto usata è la clearance della creatinina endogena che deriva dalla creatina muscolare: quando la concentrazione plasmatica di creatinina sale mentre l’escrezione urinaria totale resta costante si deduce che ci si trova di fronte a una diminuzione del numero dei nefroni funzionanti.

Funzione tubulare (riassorbimento e secrezione). Il trasporto di acqua e soluti attraverso l’epitelio tubulare dal lume al fluido intestiziale è detto riassorbimento mentre il termine di secrezione significa il movimento in senso contrario. Per molti soluti il trasporto avviene in ambo le direzioni nello stesso tempo pur esistendo di solito il predominio di una delle due direzioni e in questo caso si parla di “trasporto netto”. Il trasporto può avere due differenti

aspetti: quando il movimento avviene contro un gradiente di concentrazione chimica o di potenziale elettrico si verifica consumo di energia e si parla di “trasporto attivo”. Quando invece una sostanza si muove per effetto di un gradiente elettrochimico dovuto al trasporto attivo di un’altra sostanza si parla di “trasporto passivo”. La funzione tubulare assolve il compito essenziale di conservare l’acqua e certe sostanze essenziali come il sodio e il bicarbonato eliminando invece i prodotti di scarto. La regolazione della complessa funzione tubulare legata all’azione dell’ormone antidiuretico (ADH) e dell’aldosterone avviene a livello del tubulo distale (parti convolute e dotti collettori) che è capace di operare il riassorbimento e la secrezione contro gradienti forti. L’ADH coadiuva al riassorbimento dell’acqua e l’aldosterone facilita quello del sodio mentre avviene la secrezione di potassio e idrogenioni. Anche il tubulo prossimale partecipa alla funzione di riassorbimento e secrezione ma quella definitiva che fissa la caratteristica composizione dell’urina è l’attività del tubulo distale.

Riassorbimento del glucosio. Si realizza con un trasporto attivo di capacità limitata per cui se la quantità di glucosio plasmatico e di glucosio filtrato dal glomerulo è normale esso viene completamente riassorbito. Al contrario, essendo il meccanismo di trasporto attraverso l’epitelio tubulare limitato a un valore massimo nell’unità di tempo, se la quantità filtrata dal glomerulo è superiore alla norma il glucosio comincia ad apparire nell’urina. La stessa limitazione di trasporto transepiteliale nell’unità di tempo vale anche per altre sostanze come gli aminoacidi e altre sostanze organiche e inorganiche. La capacità di riassorbimento dei fosfati è sottoposta al controllo dell’ormone antidiuretico. Molti processi di trasporto transepiteliale del tubulo sono mediati da sostanze e da ormoni tuttora sconosciuti.

Riassorbimento dell’urea e del sodio. L’urea viene riassorbita passivamente come l’acqua e subisce quindi ampie oscillazioni di riassorbimento a seconda che il soggetto normale si trovi in condizioni di iperidratazione e quindi di diuresi abbondante in cui un terzo dell’urea soltanto viene riassorbito o invece sia in stato di disidratazione quando la diuresi è ridottissima e ha un’alta concentrazione. In questo secondo caso l’urea può essere riassorbita anche fino all’80%. Per motivi fisiologici ancora non perfettamente conosciuti la frazione di sodio filtrato riassorbito dal tubulo prossimale tende a rimanere costante anche davanti a modificazioni acute e improvvise della velocità di filtrazione glomerulare e questo fenomeno è stato etichettato come “*equilibrio glomerulotubulare*”

Nel passaggio del tubulo prossimale il sodio e l’acqua vengono contemporaneamente riassorbiti fino a ridurre del 60-80% il volume del filtrato glomerulare. In questa fase il riassorbimento del sodio è attivo mentre quello dell’acqua è passivo. La proporzione tra acqua, sodio e cloruri è regolata dall’osmolarità del plasma perché c’è isosmolarità tra acqua e sodio sia nel lume tubulare prossimale che nei capillari peritubulari. Quando però dentro il tubulo prossimale esistono grandi quantità di sostanze sciolte non riassorbite come glucosio e mannitolo il riassorbimento di sodio e acqua diminuisce e si verifica un aumento anche molto forte della diuresi che in questo caso è detta “*diuresi osmotica*”. Nel tubulo distale il sodio viene riassorbito contro alti gradienti per trasporto attivo regolato dall’aldosterone

Secrezione tubulare. Abbiamo già detto che la secrezione tubulare è stata notata per la prima volta e istologicamente accertata nei primi due decenni del XX secolo. Oggi le conoscenze in proposito sono notevolmente accresciute. Basi organiche esogene e la maggior parte degli acidi organici vengono secreti dall’epitelio tubulare. I processi di secrezione tubulare interessano anche la maggior quantità di trasporto. Il sodio-paramminoippurato (PAH) viene secreto in modo talmente esclusivo dal tubulo renale che viene rapidamente eliminato dal plasma anche quando i livelli plasmatici sono ancora ben

lontani dalla saturazione. In una sola circolazione del sangue lo si trova già tutto eliminato dal plasma. Questo fatto è stato opportunamente sfruttato per fare la stima della circolazione sanguigna del rene.

Secrezione tubulare del potassio e degli idrogenioni. La normale quantità giornaliera di potassio nella dieta di un adulto oscilla da 50 mEq a 100 mEq. Il 90% circa del potassio presente nel filtrato glomerulare viene riassorbito dall'epitelio del tubulo prossimale insieme al 60-80% del fluido complessivo in arrivo dal glomerulo. Nonostante questo forte riassorbimento il potassio nel tubulo distale compare in concentrazione superiore a quella della potassiemia grazie alla sua escrezione operata dall'epitelio di questa parte bassa del nefrone. Anche quando in una dieta molto povera di sodio la concentrazione di sodio nell'urina è pari a zero, il potassio non è mai inferiore ad una concentrazione urinaria inferiore a 5-10 mEq litro. Solo l'alcalosi metabolica provoca una deplezione grave di potassio mentre l'acidosi metabolica, la deprivazione di potassio e un eccesso di aldosterone possono provocare una deplezione moderata. L'alcalosi respiratoria e la deprivazione di sodio non comporta alcuna modificazione dell'equilibrio del potassio.

Rispetto alla escrezione respiratoria degli idrogenioni quella renale è molto inferiore: 50-100 mEq pro die contro 15.000 mEq pro die per cui mentre bastano pochi minuti per creare uno stato di acidosi respiratoria nei gravi disordini dell'apparato respiratorio, prima che una acidosi di origine renale possa instaurarsi devono passare parecchi giorni. Quindi la funzione del rene nel mantenimento dell'equilibrio del pH del sangue circolante è relativa se paragonata a quella dell'apparato respiratorio.

Escrezione dell'ammonio. L'ammoniaca (NH_3) presente nell'epitelio tubulare deriva dalla glutamina e da altre sostanze che partecipano alla formazione degli aminoacidi. La glutamina, che penetra facilmente nelle cellule tubulari ed è priva di carica elettrica, unendosi agli idrogenioni forma ioni ammonio (NH_4) altamente solubili e di lenta penetrazione nelle membrane cellulari. Questa differenza tra la facile penetrazione di NH_3 e difficile penetrazione di NH_4 è detta "*diffusione non ionica*", fenomeno legato alla differenza di pH tra liquido dei tubuli collettori e sangue venoso del rene. Più si abbassa il pH dell'urina dei collettori più NH_4 è presente in detta urina. Il pH del sangue arterioso regola la produzione di NH_3 da glutamina e quindi la quantità di NH_4 escreto: l'acidosi metabolica le fa aumentare e l'alcalosi le fa inibire. Questa attività del tubulo renale è molto importante nel processo di regolazione continua del pH ematico.

Per quanto riguarda la titolabilità dell'acidità urinaria intervengono sugli idrogenioni presenti nel liquido tubulare diverse sostanze tampone (acidi deboli, fosfati e, quando il pH urinario oscilla tra 4,5 e 5, intervengono anche la creatinina e gli urati).

Riassorbimento di bicarbonato (HCO_3). Il tasso plasmatico di HCO_3 è pari a circa 25 mEq litro e deve rimanere costante. I glomeruli filtrano circa 4.000 mEq di HCO_3 pro die, una quantità tale che se non fosse riassorbita subito dai tubuli, provocherebbe una acidosi fortissima e mortale. I tubuli riassorbono tutto l' HCO_3 in forma attiva in modo da evitare che esso compaia nell'urina. La cellula dell'epitelio tubulare possiede l'enzima anidrase carbonica che catalizza l'idratazione del CO_2 trasformandolo in acido carbonico (H_2CO_3). Questo HCO_3 esce passivamente dalla cellula nel fluido tubulare. L'idrogenione rimanente viene secreto nel tubulo e reagisce con l' HCO_3 dando H_2CO_3 . Questo poi si scinde in acqua e CO_2 . Il CO_2 rientra nella cellula e chiude il ciclo ricostituendo con l'acqua del citoplasma l' H_2CO_3 . Questo si scinde in un idrogenione e in HCO_3 che dalla cellula passa al liquido interstiziale peritubulare e da qui nel sangue venoso. Gli idrogenioni che

intervengono in questo complesso procedimento di riassorbimento del bicarbonato sono molto più numerosi di quelli che producono nuovo HCO_3 .

Concentrazione e diluizione dell'urina. L'osmolarità urinaria dipende da tre funzioni del nefrone: 1° - permeabilità variabile rispetto all'acqua a livello dell'ansa di Henle e dei collettori 2° - riassorbimento attivo del cloruro di sodio dal lume del tubulo 3° - cooperazione tra vasa recta, ansa di Henle e tubuli collettori nella produzione del meccanismo moltiplicatore controcorrente e del sistema di scambio. A questa terza funzione partecipano solo i nefroni juxtamidollari mentre gli altri nefroni danno un'urina diluita perché il trasporto transepiteliale del cloruro di sodio avviene senza diffusione passiva di acqua.

Meccanismo moltiplicatore controcorrente. Dal confine tra corticale e midollare del rene e la papilla del collettore c'è un gradiente osmotico. Nei nefroni juxtamidollari alla fine del percorso del tubulo prossimale il liquido filtrato dal glomerulo si è enormemente ridotto di volume ma ha mantenuto costante la sua osmolarità. Questa invece aumenta di quattro volte quando il liquido raggiunge la curva dell'ansa di Henle per poi ridiscendere quando arriva al tubulo convoluto distale fino a valori ipotonici rispetto a quelli del plasma e del liquido interstiziale. Si tratta dunque di una ipertonicità midollare perché comincia a verificarsi nel passaggio dal confine tra corticale e midollare alla ansa di Henle per poi diminuire progressivamente mentre risale la porzione ascendente dell'ansa stessa. L'ipertonicità midollare è un effetto delle differenze chimiche in cloruro di sodio e urea tra interstizio e lume dell'ansa di Henle, differenze di concentrazione dovute dapprima ad una estrusione attiva di cloruro di sodio e poi ad un afflusso passivo dello stesso sale

Mentre il tubulo convoluto distale è impermeabile all'acqua in modo del tutto indipendente dalla presenza o meno di ormone antidiuretico, questo influenza invece notevolmente il riassorbimento d'acqua da parte dei tubuli collettori che possono diventare fortemente permeabili in presenza dell'ormone ADH. Quando esistono alti titoli di ADH il riassorbimento di acqua da parte dell'epitelio del collettore è così elevato che l'urina finale che esce dalla papilla è ipertonica rispetto al plasma arterioso o corticale.

La posizione anatomica dei *vasa recta* è fatta per facilitare gli scambi controcorrente e mantenere un interstizio ipertonico. Quando il vaso scende nell'ansa capillare diventa ipertonico come l'ambiente che lo circonda per perdita di acqua e concentrazione di cloruro di sodio, il contrario avviene quando risale in direzione della corticale del rene perdendo i soluti e ricaricandosi di acqua. Le anse vascolari controcorrente sono quindi una fonte di ossigeno e di altre sostanze nutritive per l'interstizio e le pareti dei tubuli, preservano le piramidi renali dalla eccessiva perdita di soluti e forniscono loro l'acqua necessaria al loro metabolismo.

Processo di diluizione. Inizia nel tratto spesso dell'estremità ascendente dell'ansa di Henle dove il cloruro di sodio viene rimosso dal fluido endotubulare senza diffusione passiva di acqua. L'urina che poi attraversa il tubulo convoluto distale si mantiene dunque sempre ipotonica. Essa rimane tale anche nel tubo collettore quando il titolo di ADH è basso perché in tal caso la parete del collettore diventa impermeabile all'acqua. Dunque l'esatta diluizione dell'urina finale dipende dalla quantità di sodio riassorbita dal tubulo distale senza contemporaneo riassorbimento d'acqua e dal titolo di ADH esistente quando l'urina attraversa il tubulo collettore.

Funzioni Ormonali del Rene.

Il rene è organo-bersaglio di alcuni ormoni (ADH, aldosterone) e partecipa attivamente al metabolismo di altri ormoni (insulina e vitamina D). A sua volta il rene funziona anche da

vera e propria ghiandola endocrina con la produzione di renina, di eritropoietina e di callicreina.

Sistema renina-angiotensina-aldosterone. La renina è un enzima proteolitico che si forma nell'apparato juxtaglomerulare (AIG) deputato alla regolazione della volemia e della pressione sanguigna. La renina catalizza la trasformazione dell'angiotensinogeno che è una proteina del plasma in angiotensina I. Questa è una sostanza inattiva che un enzima presente nello stesso rene ma anche nel polmone e nel cervello trasforma a sua volta in angiotensina II la quale stimola la produzione di aldosterone. La secrezione di **renina** è regolata da quattro meccanismi: 1° - un recettore vascolare renale della tensione della parete dell'arteriola afferente del glomerulo 2° - recettore della macula densa che registra le variazioni della concentrazione di cloruro di sodio nel tubulo contorto distale 3° - azione feed-back negativa dell'angiotensina circolante sulla produzione di renina 4° - azione del SNC direttamente sul rene e indirettamente tramite catecolamine di produzione surrenale e vasopressina di produzione ipofisaria.

In linea generale i fattori che bloccano gli adrenocettori beta o che producono un aumento della volemia ematica e della pressione provocano vasocostrizione dell'arteriola afferente e inibiscono la produzione di renina. Un calo dell'interstizio o della stimolazione da adrenocettori beta provoca la vasodilatazione renale e quindi la produzione di renina.

Produzione di Eritropoietina. E' stata data la dimostrazione sperimentale, con la perfusione arteriosa *in vitro* del rene isolato, che il sangue arterioso ipoossico eccita un recettore renale specifico che fa produrre al rene l'eritropoietina che – come dice il suo stesso nome – è una sostanza proteica che eccita a sua volta il midollo osseo a produrre globuli rossi. Alla fine del Novecento non era ancora chiara qual'era la sede intrarenale delle cellule che producono l'ormone, se nella corticale o nella midollare dell'organo. Si sostiene la teoria che recettore e produzione di eritropoietina abbiano sede nella medesima cellula. L'ipoproduzione anche molto spinta di eritropoietina è tipica dell'insufficienza renale e proporzionale alla sua gravità ma una certa produzione di eritropoietina persiste e la sede di questa produzione residua, anche se minima, sembra essere stata identificata negli epatociti o nelle cellule di Kupffer del fegato. Iperproduzione di eritropoietina è stata osservata anche in caso di tumori e cisti renali, malattia policistica dei reni e si è spiegato questo fenomeno con la ipoossia da compressione del tessuto renale sano di questi malati.

Le Prostaglandine e l'apparato renale. Le prostaglandine (PG) sono acidi grassi ciclici isolati originariamente come estratti liposolubili dalla prostata di montone e umana e ritrovate poi in quasi tutti i tessuti dei Mammiferi. Il loro capostipite è l'acido prostanoico costituito da una catena di 20 atomi di C con un anello di ciclopentano. Le molteplici PG hanno differenti doppi legami e gruppi idrossilici. La PGA agisce soprattutto sul sistema circolatorio e su quello renale. Le prostaglandine vengono prodotte in tutti i tessuti dell'organismo partendo dagli acidi grassi insaturi ma i luoghi di produzione più importanti sono gli epitelii della midollare del rene e quelli delle vescicole seminali. Aspirina, indometacina e i farmaci antinfiammatori non steroidei inibiscono la produzione di PG.

La produzione di PGA₂ e di PGE₂ nella midollare del rene del ratto ha dimostrato per la prima volta che il rene ha un'attività endocrina vasodilatatrice cioè antiipertensiva. Queste PG e le PGD₂ e PGI₂ di recente scoperta hanno importanti effetti sulla regolazione della perfusione renale e sull'escrezione del sodio, dell'acqua e della renina. Non è ancora del tutto accertato se l'azione vasodilatatrice sul rene da parte delle PG sia di tipo diretto o indiretto. Negli anni ottanta del Novecento si tendeva a credere che fosse indiretto nel senso che le PG ostacolerebbero la vasocostrizione renale dell'angiotensina, della noradrenalina e della stenosi e ostruzione dell'arteria renale come pure quella della stimolazione dell'ortosimpatico. Non è nemmeno chiaro se le PG abbiano una

partecipazione attiva nel metabolismo renale del sodio. Sono stati comunque osservati un aumento di PGA nel plasma e di PGE nell'urina nei casi di ipovolemia plasmatica legata a dieta povera di sodio. Le PGE a loro volta possono ridurre l'attività dell'adenilciclasi e quindi il riassorbimento tubulare dell'acqua.

La **minzione** è quella parte della fisiologia dell'apparato uropoietico che nella seconda metà del XX secolo si è avvalsa delle ricerche fondamentali di M. Emanuel, il quale, basandosi sui nuovi dati anatomici forniti nel 1952 da E. Bors e nel 1960 da L. T. Pennington e coll. e da R.T. Woodburne, ha proposto nel 1965 la teoria di un "*unico sfintere*" consistente in una estensione tubulare del detrusore vescicale accompagnata da un rivestimento esterno di fibre muscolari striate prevalentemente concentrate laddove il canale uretrale attraversa il diaframma muscolare urogenitale che corrisponde al tradizionale "*sfintere esterno*" delle vecchie descrizioni anatomiche. Nel maschio questo sfintere unico è situato a 9 mm. sotto il veru montanum come descritto nel 1949 da H. Rolnick e da F. Arnheim, nella femmina interessa invece il terzo medio e il terzo distale dell'uretra e ha una consistenza minore.

Emanuel e Woodburne, pur ammettendo la sottile distribuzione di fibre muscolari striate nel collo vescicale e nel trigono già descritta da Bors, hanno sostenuto che un vero e proprio "*sfintere interno*" così come allora sostenuto dai precedenti anatomici, non esiste perché tutte le ricerche effettuate per individuare la presenza di una struttura muscolare striata indipendente all'altezza del collo vescicale hanno sempre dato esito negativo.

Nel 1933 Denny-Brown e Robertson, e nel 1958 J. Lapides e altri, hanno sostenuto che il detrusore può essere contratto e rilasciato volontariamente per iniziare e arrestare la minzione. L'ausilio offerto dalla muscolatura del pavimento pelvico e del perineo è stata considerata da questi fisiologi non essenziale anche se l'interruzione della minzione ne risulta facilitata. Viceversa S.R. Muellner nel 1951 ha negato la possibilità di un controllo volontario della muscolatura liscia del detrusore e ha descritto una prima fase "*somatica*" della minzione nella quale un aumento modesto della pressione endoaddominale diretto sul collo della vescica dovuto all'azione del diaframma e della muscolatura addominale associata a rilassamento del muscolo pubococcigeo e del muscolo ileococcigeo ("*pavimento pelvico*") fa abbassare il collo della vescica e sarebbe questo spostamento a far scattare il riflesso neurovegetativo che fa contrarre il detrusore. Per Muellner il collo vescicale è l'*area trigger* da cui partono gli impulsi al detrusore, dapprima al bassofondo vescicale, poi alle pareti della vescica e infine alla cupola. Il secondo tempo, quello che interrompe l'atto della minzione, sarebbe anch'esso volontario consistendo nella contrazione della muscolatura striata dell'elevatore dell'ano, contrazione che fa risalire il collo della vescica e, in via riflessa, arresta le contrazioni del detrusore.

Indipendentemente da queste due diverse interpretazioni del meccanismo minzionale, i dati fisiologici accertati sono per Emanuel i seguenti: il collo vescicale a riposo conserva una posizione elevata dentro il bacino; con l'inizio della minzione il pavimento pelvico si rilascia e il collo scende. Il detrusore e la propaggine muscolare dell'uretra si contraggono contemporaneamente aprendo il collo della vescica. L'uretra si accorcia e la porzione striata dello sfintere all'altezza del diaframma perineale si rilascia per permettere il libero flusso uretrale. Le registrazioni elettromiografiche della muscolatura striata in questa fase non segnalano alcuna attività, che peraltro può riprendere subito nel momento in cui i muscoli si contraggono per arrestare la minzione e riportare in alto il collo vescicale.

Gli AA non concordano su due punti: su quale delle due formazioni muscolari (detrusore e sfintere) interrompe la minzione per prima e se lo sfintere possa essere rilassato volontariamente.

La **continenza** presenta due aspetti: passiva o incosciente e attiva o cosciente.

La continenza passiva, studiata nel 1958 da M. Caine e D. Edwards con una ricca documentazione cineradiografica, dipende dall'uretra sfinterica chiusa per 3 cm o più da una tensione endouretrale dovuta alla muscolatura liscia, al tessuto elastico e al tono della muscolatura striata. La sospensione dell'uretra la mantiene tesa, stretta e sufficientemente lunga per creare un angolo ottuso con il bassofondo vescicale. Un ausilio aggiunto è dato dal turgore della mucosa uretrale normale.

J.L. Berry, trattando nel 1965 il tema dell'incontinenza urinaria, sosteneva che le caratteristiche anatomiche dell'uretra prossimale (strati di tessuto elastico, fibre sparse di muscolatura striata e liscia e mucosa di tipo transizionale) assicurano sufficienti tono e resilienza all'uretra stessa e concludeva la sua argomentazione con queste parole: *"...le pareti uretrali collabiscono tra loro, la mucosa forma delle rughe e l'intero complesso mucoso-elastico-fibroso-muscolare crea con un tono normale una conduttura che è involontariamente a perfetta tenuta d'acqua e che offre in condizioni normali una resistenza sufficiente a garantire la continenza urinaria."*

La continenza attiva, a differenza di quella passiva, richiede sforzo e dipende dalla contrazione volontaria della componente striata dello sfintere. Questa forza contrattile si esaurisce abbastanza rapidamente. Una contrazione massimale non dura più di pochi secondi (J.S. Elliot, 1954; M. Emanuel, 1963) mentre contrazioni meno impegnative possono essere mantenute con una certa difficoltà e disagio per uno o più minuti. E' sempre necessario un breve riposo per poter esercitare una seconda contrazione massimale. La successione di queste brevi contrazioni massimali consente di tenere schiacciata l'uretra finché cessano o vengono inibite le contrazioni del detrusore.

L'eiaculazione del seme avviene per contrazione della muscolatura liscia simultanea di epididimi, vasi deferenti, vescicole seminali, dotti eiaculatori e prostata per impulsi di provenienza ortosimpatica che fanno contrarre anche il collo vescicale e la parte distale del trigono così da creare uno stop che impedisce il flusso retrogrado del liquido seminale (S.S. Rose, 1953). Segue una seconda fase detta "*somatica*" con contrazione della muscolatura perineale compresa la porzione striata dello sfintere che spinge il liquido seminale nell'uretra piena da dove il m. bulbocavernoso provvede a vuotarla.

PATOLOGIA GENERALE

Patologia della Cellula

Introducendo questo tema M.Aloisi nel 1973 faceva notare che quando si parla di cellule di organismi viventi multicellulari non appare lecito riferirsi ad un concetto di cellule generiche senza tenere conto della loro differenziazione che le rende specifiche e del fatto che è proprio questa loro specificità ad influenzare le modalità della loro patologia. E' ben vero che certi aspetti della patologia riscontrabili nelle cellule degli organismi complessi si possono osservare anche in cellule isolate e negli organismi non cellulari, come ad esempio un eccesso di lipidi o la gelificazione o le vacuolizzazioni del citoplasma, ma nulla autorizza a ritenere che si tratti del medesimo processo patologico.

L'evoluzione storica delle concezioni che riguardano la patologia cellulare a partire dalla teoria cellulare di Theodor Schwann (1839), in virtù della quale gli organismi viventi dovevano essere considerati come la somma delle attività fisiologiche delle loro singole cellule, ha visto il susseguirsi della teoria cellulare di Rudolf Virchow (1858). La patologia umana era per Virchow la patologia delle cellule del corpo umano, di volta in volta distribuita ed estesa in molti modi diversi.

Queste vecchie concezioni sono state convenientemente e felicemente corrette dal processo sintetizzante di Claude Bernard. Ma il Novecento, con la scoperta delle funzioni specifiche dei vari organuli endocellulari grazie al grande ausilio offerto dalla microscopia elettronica, con l'analisi strutturale-biochimica, tuttora in corso, delle varie componenti cellulari, con l'individuazione dei caratteri della patologia nucleare, mitocondriale, delle membrane, dei lisosomi e del reticolo endoplasmatico liscio e rugoso e via dicendo, fino al riconoscimento di una vera e propria "*patologia molecolare*", ha completamente rivoluzionato il campo concettuale che riguarda lo studio della patologia generale. L'aggiornamento di natura interpretativa e sperimentale apportato dagli studi di patologia generale del Novecento non ha però demolito e nemmeno intaccato alla base le categorie classiche della patologia cellulare che restano nominalmente quelle note fin dagli anni della loro individuazione morfologica con la microscopia ottica, ma, arricchendole con le nuove conoscenze, ha anche modificato l'angolo visuale con cui queste categorie sono state reinterpretate.

Tra le modificazioni sostanziali che distinguono l'attuale punto di vista da quello della seconda metà dell'Ottocento e delle prime decadi del Novecento prevale il relativismo che si è impadronito del limite fumoso ed incerto tra fisiologia e patologia, cioè tra quanto è da considerare fisiologico e quanto è invece sicuramente e nettamente patologico. E' nato infatti nel Novecento il concetto di "*fisiopatologia*", neologismo con il quale un evento patologico viene inteso come una devianza della fisiologia. In pratica si tratta di una netta rivalutazione delle conoscenze aggiornate di fisiologia nella loro applicazione allo studio dei fenomeni morbosi.

Un primo concetto-base rivoluzionario di questo nuovo modo di intendere la patologia cellulare riguarda la lesione o *noxa* che oggi, di per sé, non è più descrivibile come patologia. L'applicazione improvvisa all'organismo di un'azione violenta e specifica tale da rendere impossibile una reazione bio-omeostatica e ogni tentativo di adattamento (azioni fisiche e chimiche massimali e letali – invasione cellulare massiva da parassiti) non può essere considerata "malattia", ma solo "lesione".

Una seconda novità è data dal fatto, ormai ampiamente dimostrato, che nell'organismo si verificano continuamente modificazioni cellulari di tipo reversibile dovute al contatto con l'ambiente ma di entità tale da non manifestarsi come malattia. In alcuni tessuti regressione e morte delle cellule sono la regola; ad esse fa seguito immediatamente la sostituzione con nuovi elementi che hanno le stesse caratteristiche, in altri tessuti invece le cellule vanno incontro a senescenza insieme a quella dell'intero organismo.

La terza considerazione è che spesso i fatti patologici sono solo deviazioni quantitative di alcune parti della fisiologia cellulare oppure sono fenomeni che intervengono fuori tempo e fuori luogo rispetto al normale svolgimento della vita cellulare.

Le modificazioni dell'equilibrio dinamico cellulare che si verificano in patologia sono molto spesso reversibili e a questo proposito si distingue una reversibilità cellulare e una reversibilità tissutale nel senso che le cellule morenti di un tessuto possono essere rapidamente sostituite da cellule sane. Un secondo grado nella scala ingravescente della patologia cellulare è quello rappresentato da un compenso parziale allorché la modificazione dell'equilibrio dinamico cellulare non ottiene una reversibilità fisiologica completa. Il terzo ed ultimo grado è quello dell'irreversibilità della lesione, particolarmente facile a verificarsi quando si tratta di una cellula isolata e indifesa. L'irreversibilità finisce con la morte della cellula.

Queste diverse evenienze con cui può essere contrassegnata una patologia portano a distinguere due classi di fenomeni, quelli regressivi e quelli progressivi, intendendo con questi ultimi tutti i fenomeni di compenso, di riparazione e di raggiungimento di un nuovo equilibrio dinamico.

La seconda metà del XX secolo ha indotto gli studiosi di patologia generale ad abbandonare progressivamente e in parte lo studio delle modificazioni morfologiche al quale la microscopia ha già dato contributi enormi e pressoché esaustivi, per imboccare un indirizzo prevalentemente biochimico. Consci del fatto che la patologia della cellula ne compromette seriamente la funzionalità quando sono colpiti i meccanismi intimi di produzione e conservazione dell'energia, i patologi sono arrivati a distinguere i casi in cui la *noxa* colpisce un processo metabolico a livello genetico (difetti genetici che danno una malattia inizialmente monomolecolare) e quelli in cui essa colpisce il punto di confluenza dei tre metabolismi (proteico, lipidico e glucidico) provocando una lesione direttamente mortale.

Ovviamente ogni tessuto ha una sua specifica patologia generale che riguarda sotto l'aspetto morfologico e funzionale i prodotti chimici del suo peculiare metabolismo, e questa è una legge che dipende dall'alta specificità dei tessuti.

Se si tengono schematicamente suddivisi i tre settori fondamentali della vita cellulare, quelli cioè deputati a creare e conservare i necessari gradienti di energia indispensabili per le reazioni chimiche interne alla cellula e fra cellula e mondo esterno ad essa (settore A), quelli che riguardano il metabolismo specifico della cellula rappresentato dall'apparato canalicolare e dagli adattamenti enzimatici (settore B) e quelli dei meccanismi riproduttivi (settore C), riesce più facile secondo Aloisi classificare correttamente tutti i fenomeni-base della patologia generale. Si potranno così distinguere: 1° - i processi che alterano i rapporti tra la cellula e l'esterno (processi disnutritivi); 2° - le deviazioni dei meccanismi della moltiplicazione cellulare (ipoplasia, iperplasia, trasformazione neoplastica) 3° - l'arresto o l'ipersviluppo della differenziazione e della competenza immunitaria e infine 4° - tutte le alterazioni della macchina energetica (degenerazioni, tesarismosi, necrobiosi, autolisi).

Della prima e seconda di queste quattro classi specifiche della patologia generale spontanea della cellula fanno parte le *atrofie*, *ipotrofie*, *ipertrofie* (quadri disnutritivi) e le

ipo- e iperplasie. Quando la cellula è iponutrita per qualsivoglia motivo – nutrizionale, ormonale, termico – diminuisce di volume e, con essa, anche tutte le altre cellule di quel tessuto e questa condizione è detta *ipotrofia*. Quando l'ipotrofia arriva al suo massimo grado si verifica l'*atrofia*, preludio della morte cellulare. Se però la capacità di duplicazione è intatta l'ipotrofia delle cellule comporterà una *ipoplasia* del tessuto. Quando invece l'attivazione metabolica della cellula è accentuata si verifica aumento volumetrico sia delle cellule che del tessuto: *ipertrofia* e *iperplasia* rispettivamente. Quando questi fenomeni interessano cellule altamente differenziate come ad esempio le fibrocellule muscolari, l'ipoplasia e l'iperplasia possono anche avvenire solo a livello subcellulare ove la noxa colpisce strutture specifiche all'interno della cellula come miofibrille e miofilamenti. Comunque anche in questi casi il processo coinvolge sempre mitocondri, apparato del Golgi, reticolo liscio e rugoso, lisosomi e altro, tanto che, accanto a ipoplasia del prodotto differenziato, si può osservare ipertrofia dei mitocondri o di altre componenti della cellula. Ipotrofie, ipoplasie, aplasie sono fenomeni che avvengono di regola nella fisiologia dello sviluppo embrionale, fetale e – per i mammiferi – anche nella vita extrauterina (atrofia del timo nell'adolescenza, del midollo osseo emopoietico e di certe strutture muscolari, ossee e cutanee nella senescenza). L'esemplificazione di ipotrofie-ipoplasie e di ipertrofie-iperplasie in fisiologia può essere molto vasta, da ciò che si verifica nell'apparato genitale e nel seno della donna gravida all'ipertrofia di cuore secondaria a vizio valvolare, dalle callosità da attrito cutaneo all'ipertrofia vicariante compensatoria di un rene dopo asportazione del gemello controlaterale, dall'atrofia muscolare da denervazione a quella dovuta al non uso, e molti altri casi ancora. Convenzionalmente si considerano patologiche le ipertrofie e iperplasie dovute ad un evento morboso anche se in realtà il più delle volte si tratta di una risposta che segue fedelmente la variabilità morfologico-funzionale della fisiologia.

Della terza classe di Aloisi fanno parte le alterazioni qualitative della differenziazione: *differenziazione e anaplasia, differenziazione abnorme* che possono interessare singole cellule o un'intera popolazione cellulare. I prodotti di una differenziazione abnorme sono anche definiti “mostruosità”; esempi rari sono la presenza di ciglia vibratili nei tubuli renali o nei canalicoli biliari, manifestazioni reversibili dovute all'oscillazione dell'equilibrio tra agenti repressivi e derepressivi del sistema genetico della cellula come dimostrato nel 1964 da Harris. Nelle cellule tumorali maligne si osserva invece la perdita di tutti i caratteri della differenziazione (anaplasia) che le cellule madri possedevano prima del tralignamento. Anomalie della differenziazione possono interessare anche gli stessi prodotti cellulari: formazione di osso ectopico, blocco maturativo delle fibre collagene da avitaminosi C, ecc.

Alla quarta classe di Aloisi fanno capo le *degenerazioni cellulari e distrofie tissutali*. Si tratta di disordini della composizione citoplasmatica e del metabolismo citoplasmatico e nucleare che provocano alterazioni più o meno gravi di morfologia e di struttura. Anche se il più delle volte queste alterazioni sono reversibili la possibilità di un esito letale della cellula per l'instaurarsi di un circolo vizioso (eccessivo abbassamento del pH citoplasmatico, fughe ioniche, inibizione o esaltazione di processi biochimici per abnorme consumo di O₂, diminuzione del rifornimento energetico che attiva i lisosomi e ulteriore peggioramento del pH e ripetizione del ciclo negativo) è sempre possibile quando la noxa avvia un processo disnutritivo di estrema gravità.

Tra le degenerazioni si distinguono i seguenti quadri:

A – Rigonfiamento torbido, degenerazione vacuolare e idropica. E' un processo che interessa principalmente la membrana citoplasmatica, il sistema canalicolare e vacuolare che ha continuità con lo spazio extracellulare e i mitocondri. La notevole plasticità e

mutabilità delle membrane dei vari componenti endocellulari permette i fenomeni di *esocitosi* (aderenza alla membrana citoplasmatica, fusione con essa e seguente distacco nell'ambiente extracellulare sotto forma di vacuolo) e di *exocitosi*, fenomeno che è proprio delle cellule secretive (estroflessioni di piccole porzioni di secreto rivestite dalla membrana citoplasmatica e successivo distacco sotto forma di vacuolo nel liquido extracellulare) come descritto nel 1971 da La Via e Hill jr.

L'anossia provoca un rigonfiamento dei mitocondri eccessivo rispetto a quello fisiologico che corrisponde al loro stato di riposo; questo fenomeno può diventare irreversibile con perdita del controllo del trasporto ionico e rottura della membrana mitocondriale. La membrana citoplasmatica si deforma per eccessiva gemmazione exotropica, per alterazione della sua componente fosfolipidica e perdita del controllo volumetrico della cellula da eccessiva entrata di acqua (degenerazione idropica) che di solito precede la necrobiosi irreversibile, comparsa di un numero eccessivo di vacuoli (degenerazione vacuolare) come nell'epitelio tubulare del rene dopo eccessiva somministrazione di mannitolo o saccarosio (nefrosi osmotica).

Quando i mitocondri vanno incontro ad un rigonfiamento fanno assumere talvolta alla cellula l'aspetto del rigonfiamento torbido a causa della granulosità mitocondriale che si rende più evidente alla visione microscopica. Condizioni tossiche o tossiniche o infettive o da anossia o da eccesso di tiroxina danno questo tipo di rigonfiamento torbido che di solito è di tipo reversibile. Tipico poi è il rigonfiamento torbido degli epitelii renali da ipertermia e da iperlavoro.

B – Degenerazione grassa, steatosi. Fisiologica è la comparsa di grasso nelle cellule nervose, cartilaginee, ecc. per senescenza. Il meccanismo di questa comparsa è sempre dovuto ad una introduzione di acidi grassi e/o di grassi neutri in quantità superiori alle possibilità di utilizzo da parte della cellula oppure per una attività lipogenetica anomala a partenza dagli aminoacidi o dagli idrati di carbonio ovvero – e questa è la peggiore manifestazione – da distruzione della struttura lipoproteica delle membrane cellulari. Quest'ultimo caso, se è evidente al microscopio ottico, è segnale di imminente morte cellulare.

La cellula che meglio si presta per studiare la degenerazione grassa è la cellula epatica. Alcolismo acuto o cronico, anossie, anemie, diabete, epatiti virali, tbc epatica, iperalimentazione lipidica, kwashiorkor, carenze alimentari sono altrettante cause di infiltrazione epatica di trigliceridi, cioè di steatosi. In tutti i casi qui citati si verifica una incapacità della cellula epatica a liberarsi di questi grassi o per un arrivo quantitativamente eccessivo di complessi chilomicronici dall'intestino nelle diete iperlipidiche o per una mobilitazione di grassi dalle riserve adipose nel digiuno protratto o per una dieta troppo ipoproteica come nello kwashiorkor o perché uno stato di ipossia non consente una buona disponibilità energetica. Una causa particolare di steatosi epatica è la carenza di fattori detti "lipotropi" come la colina, un aminoacido essenziale che quando è carente comporta anche una ridotta produzione di fosfolipidi.

Altre cellule differenziate che possono andare incontro a steatosi sono quelle del miocardio nella difterite, del rene nella nefrosi lipoidea, dei villi intestinali nell'alterato trasporto dei lipidi e anche le cellule dell'infiammazione nei diversi stadi di questa.

C – Degenerazione glicogenica. Il citoplasma di molte cellule differenziate del corpo animale possono andare incontro ad accumuli straordinari di glucosio o di glicogeno nel diabete e nelle tesaurismosi glicogeniche dette anche glicogenosi, alterazioni genetiche di cui si tratterà in seguito.

D - Degenerazione ialina. Le cellule che vanno incontro a questo tipo di degenerazione mostrano al microscopio ottico un deposito di sostanza acidofila, trasparente e uniforme dato dall'accumularsi di sostanze proteiche o glicoproteiche in quantità eccessiva. Le cellule epatiche mostrano corpi ialini nel loro citoplasma nella cirrosi alcolica, quelle dei tubuli renali diventano ialine quando riassorbono proteine patologicamente rilasciate dai glomeruli nelle glomerulonefriti e glomerulonefrosi. Sostanze ialine sono tipiche delle fibrocellule muscolari di molte malattie distrofiche (zolle di Zenker date dal mioplasma coagulato). Anche gli ammassi piastrinici e le plasmacellule troppo stimolate assumono aspetti ialini.

E – Degenerazione mucosa e mucoide. La mucina è un conglomerato di proteine coniugate con mono- e polisaccaridi ed è il prodotto tipico delle cellule mucipare caliciformi e di altri elementi epiteliali delle mucose. La sostanza mucoide è anche glicoproteica ed è la sostanza fondamentale del mesenchima. Dunque la presenza di una quantità moderata di mucina nelle cellule mucipare fa parte della fisiologia, ma una sua eccessiva presenza accompagnata da evidenti fenomeni regressivi della cellula costituisce un fatto patologico che da possibilmente regressivo può anche diventare irreversibile e condurre al disfacimento cellulare.

La sostanza mucoide, se prodotta in quantità abnormemente elevata, può penetrare nelle cellule e diventare visibile entro vacuoli citoplasmatici o entro i fagosomi o nel reticolo endoplasmatico.

F – Aspetti patologici delle cellule nervose. Nella fisiologica senescenza della cellula nervosa fanno comparsa nel suo citoplasma cromolipidi, che sono lipidi perossidati. Quando si interrompe l'assone la cellula nervosa va incontro alla "cromatolisi" che consiste nella scomparsa della sostanza ribosomiale e di tutto l'RNA, mentre nel moncone periferico dell'assone tagliato avviene la cosiddetta "degenerazione walleriana" (disgregazione e autofagia del rivestimento mielinico e della fibra nervosa ad opera delle cellule di Schwann).

G – Attacco di anticorpi alla membrana cellulare. Quando anticorpi di qualsiasi tipo ad azione anticellulare nei riguardi di determinate cellule le raggiungono e si attaccano ai recettori antigeni specifici si forma un complesso antigene-anticorpo che, una volta raggiunto dalle frazioni complementari del siero, provoca la lisi cellulare. Si tratta dunque di un grave fenomeno immunitario che nel caso dei globuli rossi dà una rottura di membrana con emolisi.

H – Patologia nucleare e nucleolare. Il rigonfiamento e frammentazione del nucleo sono detti "cariolisi"; il contrario del rigonfiamento è detto "picnosi"; l'accumulo di lipidi o glicogeno schiaccia la cromatina contro la membrana nucleare. Un altro tipo di patologia è l'inclusione di virus. Un'alterazione particolare è quella data dall'ingrandimento del nucleo e del nucleolo con la cromatina che si dispone tutta a ridosso di quest'ultimo come nelle cellule muscolari i cui nuclei vengono "attivati" in condizioni che accennano ad una rigenerazione.

Alterazioni importanti possono esserci a carico del genoma per cui si formano cromosomi in eccesso (sindrome di Down e sindrome di Klinefelter) o mancano pezzi di cromosomi (delezioni parziali) o mancano cromosomi sessuali interi (sindrome di Turner). Ne conseguono alterazioni fenotipiche. Molte alterazioni del genoma avvengono con la meiosi e quindi sono trasmissibili al prodotto del concepimento. Temin nel 1972 ha scoperto che alterazioni genomiche possono verificarsi anche nel corso della vita extrauterina per gli stimoli più vari come radiazioni ionizzanti, virus e protovirus. Queste alterazioni sono il frutto di una frequenza abnorme delle mitosi e, per quanto riguarda i tumori, in cellule che

sono già diventate neoplastiche. Nel 1962 Nowell e Hungerford hanno dimostrato in pazienti affetti da leucemia mieloide cronica una elevata percentuale di casi con un cromosoma alterato (più spesso il cromosoma 21) per delezione di un pezzo. Questo cromosoma è stato chiamato “Philadelphia” o “Ph1”.

I – Patologia da difetti genetici del metabolismo. Trattasi sempre di alterazioni della parte del genoma che si esprime fenotipicamente. Alcune di queste forme sono ereditabili. Si distinguono: 1° - Tesaurosismi glicogeniche. Nel 1965 Hers ha identificato la causa di questo difetto genetico nella mancanza della maltasi acida che provoca un rigonfiamento abnorme della cellula da lisosomi stracarichi di glicogeno non scindibile in glucosio (glicogenosi tipo II di Cori o morbo di Pompe). Un'altra glicogenosi è quella da difetto congenito della glucosio-6-fosfatasi con alterazione conseguente del parenchima epatico e renale (morbo di von Gierke) o della fosforilasi dei muscoli (malattia di McArdle) o del fegato (malattia di Hers). Esistono anche glicogenosi da glicogeno abnorme quando il polisaccaride si modifica nell'architettura molecolare prima di polimerizzarsi del tutto. Sono tutte forme tipiche di “*patologia molecolare*”. 2° - tesaurosismi lipidiche colesteroliche (malattia di Niemann-Pick) e da cerebrosidi (malattia di Gaucher) e tesaurosismi glicoproteiche da accumulo di mucopolisaccaridi (malattia di Hurler, malattia di Morquio, malattia di Sanfilippo e lipodistrofia intestinale detta anche malattia di Whipple). Dingle e Fell nel 1969 e Hers nel 1965 hanno osservato che spesso l'accumulo di queste sostanze avviene in seno ai lisosomi.

3° - emoglobine patologiche (eccesso di emoglobina fetale che provoca la talassemia microcitica e la talassemia emolitica; l'emoglobina S che ha l'aminoacido valina al posto dell'acido glutammico nella molecola della globina e dà i globuli rossi “falciformi”. Anche in questi casi si tratta di patologie molecolari da difetto genetico ed ereditabile. 4° - molti altri disordini genetici possono riguardare tutti gli organi e quindi tutte le cellule differenziate come le fibre muscolari striate (distrofia muscolare progressiva di Erb) o, per alterazioni enzimatiche, gli epitelii renali (difetti dell'attività riassorbente e secretiva).

L – Infiltrazioni corpuscolari esogene. Polveri inalate inerti come il carbone o altamente lesive come il silicio e l'amianto vengono fagocitate ma non digerite e rimangono per tempo indefinito nell'apparato respiratorio, alcune causando processo infiammatorio persistente. Infiltrazione esogena è anche quella dei virus, batteri, protozoi, miceti e riguarda non solo le cellule della fagocitosi ma anche tutte le cellule differenziate dei parenchimi nobili. Un tipico esempio di corpo estraneo incluso è quello dei corpi del Negri nelle cellule nervose degli animali morti per rabbia. Quando la reazione di difesa da parte della cellula invasa e la forza offensiva da parte del soggetto estraneo entrato nel suo citoplasma raggiunge una posizione di equilibrio la cellula si trasforma in modo molto vistoso diventando una “cellula gigante plurinucleata”.

Le cellule del mesenchima che partecipano alla flogosi e che sono dette “cellule dell'infiammazione” (granulociti polimorfonucleati, linfociti e monociti) e, tra esse, quelle che danno il via al processo immunitario (monociti e linfociti) subiscono tutte le forme di degenerazione legate alla loro attività e alla conseguente trasformazione metabolica. Le cellule immunocompetenti che accolgono dai monociti trasportatori il materiale antigene vanno incontro alla trasformazione detta “blastica” cioè quella dovuta alla produzione di anticorpi. Se succedono fenomeni di ipersensibilità di origine immunologica cellulo-mediata le cellule dell'infiammazione vanno incontro a fatti regressivi.

M – Infiltrazioni endogene. Sono i pigmenti endogeni dell'organismo (ematina e emosiderina dopo copiose emorragie, porfirine e pigmenti biliari negli itteri protratti e intensi) che vanno a depositarsi nel citoplasma di cellule ben diverse da quelle in cui si

sono formati. L'infiltrazione calcarea o calcificazione cellulare, espressione più spesso di necrosi cellulare, è dovuta ad accumulo di fosfati di calcio nei mitocondri.

N – Trasformazione neoplastica. Le alterazioni del nucleo e nucleolo della cellula neoplastica rientrano nei quadri qui descritti per le cellule neoplastiche.

L'essenza patologica della cellula neoplastica maligna è data dalla rottura del controllo moltiplicativo, fenomeno non irreversibile per molti cloni cellulari della produzione tumorale, ma permanente per alcuni di essi da cui proviene appunto la malignità.

La trasformazione tumorale della cellula è stata descritta in maniera magistrale da H. Pinkus nel 1972. Eccone i vari aspetti: 1° - graduale e improvvisa perdita dei rapporti epitelio-stromali dell'ontogenesi normale 2° - diminuzione e perdita della coesione intercellulare e microinvasività della cellula preneoplastica da micropseudopodi cellulari. Questi fenomeni sono legati a perdita della capacità di legare ioni Ca^{++} da parte della membrana cellulare che perde in elettronegatività 3° - diminuzione dell'effetto inibente della densità cellulare sulla proliferazione 4° - creazione di stipiti cellulari capaci di moltiplicarsi indefinitamente 5° - perdita o acquisto di caratteristiche antigeniche verso le cellule normali (D.W.Weiss 1971).

Nel concetto di atipia si deve distinguere tra atipia cellulare e atipia sovracellulare (Aloisi, 1973), ambedue conseguenza della malignità, ma solo la seconda rappresenta *“la più genuina espressione dell'aberrazione ontogenetica, intercellulare e intertissutale che caratterizza la malignità”*, mentre l'atipia cellulare può anche essere del tutto assente in cellule che fanno parte di un tumore veramente maligno.

O - Patologia delle sostanze intercellulari. Le sostanze intercellulari sono anche dette “interstizio” o “spazio extracellulare” e sono ciò che le cellule stesse concorrono a costruire e a determinarne la funzione. L'interstizio è continuamente percorso dai fluidi vitali indispensabili alla vita delle cellule e dei tessuti. La patologia generale descrive anche qui gli stessi fenomeni già descritti per la cellula, e cioè fenomeni di ipotrofia e ipertrofia, di ipoplasia e iperplasia che qui verranno dette “interstiziali” o “collagene” e potranno essere “coerenti” quando a livello cellulare avviene lo stesso fenomeno o, invece, “sostitutive” quando la cellula subisce il fenomeno contrario (ipoplasia cellulare contro iperplasia interstiziale). Per esempio nelle cicatrici prevalgono le fibre collagene sulla componente cellulare. Si può verificare anche metaplasia della sostanza interstiziale e di questa l'esempio tipico è dato dalle ossificazioni patologiche eterotopiche.

I fenomeni degenerativi della sostanza interstiziale sono qualitativamente anche più numerosi di quelli delle cellule:

A – Ialinosi. È la degenerazione tipica della sostanza fondamentale dei tessuti connettivi dei muscoli lisci e dei vasi (arteriosclerosi, glomerulopatie, miocardiosclerosi, miopatie degenerative). Al microscopio ottico si osserva una imbibizione di sostanza acidofila che alla microscopia elettronica appare elettronico-densa.

B – Degenerazione Amiloide. Un complesso mucopolisaccaridico proteico infiltra tutta la sostanza interstiziale di solito come conseguenza di suppurazioni croniche, di stati iperimmuni per abnorme produzione di mucoproteine dell'interstizio oppure come esito di un'alterazione metabolica esclusivamente interstiziale. La conseguenza grave della degenerazione amiloide è che questa sostanza viene riassorbita nel sangue e trasportata in altre sedi come rene, fegato, milza, ecc. dove finisce per distruggere le cellule proprie di quei parenchimi.

C – Degenerazione mucoide ed elastotica. E' data da una abnorme quantità di mucopolisaccaridi depositati nell'interstizio che da acidofilo diventa basofilo. La si osserva nelle lesioni precancerose e nei tumori benigni

D – Infiltrazione grassa. E' data dal deposito di colesterolo e di altri lipidi nel tessuto connettivale dei vasi arteriosi in corso di aterosclerosi. Può andare incontro a depositi calcarei (infiltrazione calcarea).

E - Infiltrazione calcarea. Tipica delle pareti arteriose aterosclerotiche e di molti tessuti necrotici per depositi di idrossiapatite in cui si trasformano i prodotti fosforilati della necrosi.

F – Infiltrazione di pigmenti. Polveri inerti di carbone, derivati dell'emoglobina, composti silicei o calcarei possono essere depositati nell'interstizio dai fagociti. Si tratta di corpi estranei che danno una stimolazione cronica alla iperplasia del collagene che finisce in degenerazione ialina.

P – Necrosi. La necrosi fa perdere alla cellula tutte le sue strutture e al microscopio appare omogenea e il medesimo aspetto indifferenziato assume l'interstizio che però è del tutto simile a quello che si ha per una sovrabbondanza di mucopolisaccaridi in un interstizio che peraltro è vivo.

Nella necrosi si deve distinguere la “*necrobiosi*” caratterizzata da una progressiva scomparsa nel tempo degli organi cellulari dalla “*necrosi immediata*” quale è quella prodotta dalla fissazione di un tessuto in formalina o in alcool a scopo di esame microscopico, oppure per azione di calore eccessivo o di acidi e alcali forti o di scariche elettriche

Per la necrobiosi si riconoscono le seguenti cause: mancata irrorazione sanguigna (anossia e mancato trasporto metabolico), fattori fisici come eccessivo calore ma non tale da creare ustioni, congelamento che produce cristallizzazione di acqua, spostamento ionico da correnti elettriche, energia radiante (radiazioni ultraviolette e ionizzanti), sali di metalli pesanti che si attaccano alle proteine delle membrane cellulari, parassiti, virus, eso- ed endotossine, fattori infiammatori e immunitari.

Riproduzione Sperimentale - Analisi della Patologia Cellulare

E' questo un campo dove il patologo generale, combinando l'osservazione al microscopio elettronico con l'impiego sperimentale di sostanze ad azione enzimatica conosciuta, è riuscito nel corso del Novecento a realizzare quadri patologici sperimentali molto utili come modelli di patologia simili a quelli della patologia umana spontanea di cui così si sono conosciute le strade obbligate di percorso. Le ricerche di R.A. Peters e N. Gavrilescu sull'avitaminosi B1 del piccione nel 1931 e quelle successive dello stesso Peters con l'impiego del fluoroacetato hanno rappresentato le prime dimostrazioni di come una interruzione ben localizzata di un processo biochimico, cioè di una catena metabolica, crea una specifica patologia. Questa interruzione metabolica crea un accumulo di metaboliti a monte dell'interruzione e il mancato proseguimento del normale iter biochimico a valle. Dopo gli esperimenti di Peters le ricerche si moltiplicarono e così si scoprirono innumerevoli sostanze chimiche, per lo più corrispondenti ad altrettanti enzimi, capaci di bloccare una determinata operazione metabolica del normale organismo. E' nato così nel Novecento il concetto di “*lesione biochimica*” che supera e rovescia il concetto virchowiano di patologia cellulare nel senso che la lesione biochimica non conosce confini tissutali o cellulari, può interessare qualsiasi cellula vivente quando il danno riguarda un ciclo biochimico fondamentale (ad esempio il ciclo di Krebs). Il progresso concettuale

avvenuto in seguito a queste ricerche sperimentali ha portato a riconoscere che la qualità del quadro patologico singolo non è mai il risultato esclusivo della sola lesione biochimica, bensì quello della lesione biochimica e di fattori aggiunti come la permeabilità di membrana, il patrimonio enzimatico mitocondriale, l'attività del reticolo endoplasmatico, ecc. Esamineremo ora rapidamente le alterazioni strutturali di questi fattori aggiunti.

1° - Alterazioni della membrana cellulare e delle giunzioni intercellulari. Sono aspetti della patologia sperimentale studiati nel 1968 da Allison e nel 1971 da La Via e Hill jr. Questi studiosi hanno scoperto che esistono almeno tre cause diverse che provocano lo scioglimento dei legami intercellulari favorendo la separazione delle cellule fra loro: la tripsinazione di cellule normali, sostanze che legano gli ioni Ca^{++} con forza e li asportano dalla membrana cellulare, distacco spontaneo delle cellule tumorali. Nella seconda delle evenienze qui citate se la rimozione degli ioni Ca^{++} è eccessiva si producono danni alla permeabilità di membrana che conducono alla morte cellulare. Questo tipo di lesioni della permeabilità di membrana possono essere date anche da alterazioni o soppressioni dei fosfolipidi costituenti la membrana stessa, da anestetici, da detergenti, da fosfolipasi in genere (Trump e coll., 1970). Due condizioni, l'avitaminosi E e l'irradiazione ultravioletta hanno dimostrato sperimentalmente di causarle per ossidazione lipidica e anche qui si giunge ad alterazioni di membrana. Altre alterazioni di membrana possono essere date da virus sia in ingresso che in uscita dalla cellula, nonché per azione litica del complemento su anticorpi specifici adesi alla membrana.

2° - Alterazioni degli scambi ionico-acquosi con immediati riflessi negativi sul volume cellulare e sulla produzione di vacuoli. Ciò avviene quando la membrana cellulare perde la capacità di legare ioni Na^+ o K^+ .

3° - Alterazioni mitocondriali. Anossia ischemica o avvelenamento da sostanze che bloccano il trasporto elettronico fanno perdere ai mitocondri la loro capacità di mantenere il rapporto ATP/ADP in perfetto equilibrio strutturale e funzionale per cui i mitocondri si rigonfiano ed entrano nel processo di distruzione. Rigonfiamenti notevoli dei mitocondri gravati da prognosi altrettanto severa possono anche dipendere dall'azione della tiroxina o da interferenza con i lipidi che sono parte della struttura mitocondriale.

4° - Alterazioni del Reticolo Endoplasmatico. Si ripete qui sul piano anatomico la struttura trilaminare ricca di fosfolipidi della membrana cellulare e naturalmente si ripetono gli stessi danni dovuti alle fosfolipasi e alla perossidazione da detergenti. Se si tratta del reticolo rugoso la separazione delle molecole che compongono la membrana fa cadere i ribosomi e disaggregare i poliribosomi. L'aspetto microscopico è quello della dilatazione delle cisterne contenenti accumuli di materiale glicoproteico. Il batterio *Clostridium welchii* ha una fosfolipasi che rimuove tutti i fosfolipidi delle membrane del reticolo endoplasmatico e altera anche molte altre attività enzimatiche associate. Sono state descritte iperplasie del reticolo endoplasmatico delle cellule muscolari nei primi tempi dopo denervazione e nelle cellule epatiche impegnate nella detossificazione da ormoni steroidi.

5° - Alterazioni dei lisosomi. La rottura della membrana dei lisosomi, se avviene dentro ai vacuoli di fagocitosi detti fagosomi, provoca la digestione endocellulare del materiale fagocitato, ma se avviene in citoplasma libero comporta la fuoriuscita degli enzimi acido-idrolasici che distruggono rapidamente la cellula.

6° - Alterazioni del Sistema Ribosomiale e dell'RNA del citoplasma. La prima lesione grave sperimentale dell'RNA citoplasmatico è stata quella provocata dal tetracloruro di carbonio per ossidazione delle membrane del reticolo rugoso e si è così dimostrato che è questa la lesione primitiva e non, come ritenuto in passato, quella dei mitocondri, la quale

avviene solo successivamente a causa dei perossidi formati a spese del reticolo. Vi è in questa lesione del reticolo un doppio danno: alle sintesi proteiche e alla ricarica energetica. Si è poi visto che anche altre sostanze agiscono in modo analogo come la puomicina e l'etionina. La necrosi della cellula epatica e la cirrosi che ne consegue come espressione cicatriziale di detta necrosi è stata vista sperimentalmente essere provocata con altri meccanismi dalla acetilnitrosoamina, dall'acido orotico e da altre sostanze.

7° - Danni alla differenziazione e alle strutture differenziate. Plasmocid e altri derivati chinolinici, un eccesso di corticosteroidi e l'avitaminosi E provocano, certamente per fenomeni iperossidativi magari ancora non del tutto chiariti nei minimi passaggi, necrosi primitive delle fibrocellule muscolari striate. Composti organofosforici (alchil- o aril-fosfati) spesso usati in agricoltura come anticrittogamici provocano la cromatolisi delle cellule nervose. Nel 1969 furono osservate queste conseguenze gravissime anche per azione di sostanze chimiche molto diverse. L'idrazide dell'acido isonicotinico, molto usata in passato nella cura della tbc, provoca demielinizzazione sia di fibre nervose centrali che periferiche. Nel 1971 Herken ha trovato che altri antimetaboliti della nicotinamide come la 6-AN producono lesioni gravissime delle cellule nervose e anche della nevroglia. Altre sostanze chimiche inibiscono la maturazione del collagene (amino-acetonitrile e simili) con conseguenze gravi sulla consistenza del tessuto scheletrico e dei tessuti fibrosi e cartilaginei (Levene 1971).

8° - Alterazioni nucleari e nucleolari. Queste possono essere prodotte da molte sostanze cancerogene, da antimetaboliti e da agenti fisici. Fiume e Laschi nel 1965 hanno isolato e testato sperimentalmente l'azione tossica del polipeptide alfa-amanitina del fungo velenoso *Amanita phalloides*. La sua azione negativa sul nucleolo è dovuta all'interferenza in determinate condizioni ioniche sull'enzima RNA-polimerasi.

Conclusioni sui meccanismi che provocano la necrobiosi cellulare sperimentale: **A** – la sperimentazione con i vari agenti lesivi conosciuti ha permesso di riconoscere come e perché un processo lesivo da essi iniziato evolve verso una condizione che non è più reversibile constatando nello stesso tempo che tutti i fenomeni degenerativi non avvengono e non si sviluppano mai senza che la cellula non reagisca fin dall'inizio cercando di riparare o supplire ai danni inferti ricostituendo un equilibrio omeostatico. Segni evidenti di recuperi funzionali sono stati sempre osservati prima che la rottura dell'equilibrio omeostatico divenga irreparabile e la necrobiosi inevitabile. **B** – la sperimentazione ha fatto anche constatare che nelle lesioni del meccanismo ribosomiale della sintesi proteica citoplasmatica si può verificare – sotto l'azione di certi agenti tossici come la cicloheximide – la continuazione della sintesi proteica dentro i mitocondri il che consente la sopravvivenza della cellula, fenomeno dissociativo che non è certo possibile quando l'agente lesivo esercita l'inibizione primaria del DNA. **C** – la sperimentazione ha dimostrato che il modo di rispondere delle cellule differenziate all'agente lesivo è diverso a seconda del tipo di cellula dall'inizio dell'azione lesiva fino al punto di irreversibilità, punto che varia anch'esso a seconda del tipo di cellula e del momento funzionale in cui essa viene attaccata.

Rigenerazione cellulare

Questa consiste nella capacità di ricostituire le componenti cellulari danneggiate. La rigenerazione cellulare è possibile in tutte le fasi del processo lesivo che non riesce a superare il punto di non ritorno. Una rigenerazione tissutale è pure possibile quando la sua popolazione cellulare è in fase di crescita continua fisiologica come è il caso della cute, delle mucose, delle ghiandole o quando il danno colpisce un serbatoio cellulare a riposo e ancora indifferenziato (cellule satelliti dei muscoli) o, infine, per ritorno moltiplicativo di cellule differenziate considerate ormai stabili come è il caso di quelle epatiche

(rigenerazione dopo epatectomie parziali). Alla fine del Novecento il campo di studi sulla rigenerazione cellulare e tissutale era in piena attività e l'ipotesi più condivisa era quella dell'esistenza di canali informativi locali legati al danno tissutale e alla quantità distrutta che starebbero alla base dello stimolo rigenerativo e del controllo e limitazione di questo stesso processo. Si ammette dunque l'esistenza di fattori rigenerativi circolanti che nel caso di lesioni neuromuscolari darebbero il via ad un processo interdipendente di rigenerazione rispettando l'interdipendenza delle due parti nervosa e muscolare tipica della fisiologia.

Immunologia Generale

Già negli ultimi decenni dell'Ottocento certe osservazioni fatte da E.A. Behring e S. Kitasato nel 1890 a proposito dell'immunità antitetanica ottenuta con la vaccinazione contro il *Clostridium tetani* avevano fatto prospettare l'origine dell'immunità nella costruzione biologica di un fattore neutralizzante l'azione offensiva degli agenti patogeni e a questo ipotetico fattore era stato dato il nome di "*anticorpo*". Del resto ancora nei secoli precedenti era stata fatta molte volte l'osservazione dell'immunità acquisita verso una specifica malattia infettiva in persone che, colpite da peste o da altre malattie infettive e contagiose, erano sopravvissute e avevano attraversato indenni le successive epidemie della medesima malattia della quale erano state affette ed erano poi guarite. Tra tutti i fenomeni biologici che nella seconda metà dell'Ottocento avevano rivelato un tipo di difesa naturale contro agenti estranei va ricordata la fagocitosi che Metchnikoff ha magistralmente descritto dopo averla osservata nei leucociti polimorfonucleati.

Nella prima metà del Novecento il problema della produzione degli anticorpi è sempre stato oggetto di studi ma soprattutto di teorie, la prima delle quali fu quella formulata nel 1905 da Paul Ehrlich e dominò incontrastata per tutto il primo trentennio. Era la teoria detta delle "*catene laterali*", una teoria di tipo selettivo che presupponeva che non fosse l'antigene a dare la informazione necessaria per la produzione degli anticorpi bensì che l'informazione preesistesse nell'organismo attaccato dall'antigene.

La teoria di Ehrlich venne abbandonata nel 1930, allorché F. Breinl e F. Haurowitz formularono la teoria detta "*dello stampo*" sec. la quale le cellule che producono gli anticorpi possiederebbero uno stampo o modello di globulina adatto e già pronto per formarne altre identiche. Insomma sullo stampo interverrebbe l'antigene causando la produzione di molecole configurate in modo da far coincidere esattamente la propria forma (*paratope*) a quella dell'antigene (*epitome*). Per la prima volta si spiegava così il fenomeno dell'alta specificità delle reazioni tra antigene e anticorpo.

Nel 1955 si ebbe un ritorno al criterio selettivo di Ehrlich con la teoria detta della "*preesistenza dei più svariati anticorpi*" elaborata da N.K.Jerne secondo il quale l'antigene che penetra nell'organismo si legherebbe alle poche molecole di anticorpo specifico preesistenti; il complesso così formato verrebbe a sua volta inglobato da una cellula capace di fabbricare anticorpi. Sarebbe insomma una molecola che, una volta eccitata, produrrebbe un'elevata quantità di molecole identiche a quelle dell'anticorpo legato all'antigene.

Da questa teoria detta anche "della selezione naturale" ha preso le mosse nel 1969 M.Burnet che ha formulato l'ipotesi della "*selezione clonale*" immaginando che nei Vertebrati esistano diversi cloni di cellule mesenchimali che hanno in superficie configurazioni reattive in senso immunologico e diverse da clone a clone per cui ognuno di questi può venire in contatto con uno specifico antigene; una volta avvenuto l'incontro, il clone, eccitato, inizierebbe immediatamente a proliferare producendo anticorpi specifici.

Negli anni settanta del Novecento l'ipotesi di Burnet è stata universalmente accettata perché era ormai acquisito che la diversità delle immunoglobuline – di cui fra poco diremo – riconosceva una base genetica ed era già presente nelle cellule. Infatti si conosceva già l'esistenza dei recettori di superficie e il fatto che ogni cellula immunitaria possiede recettori specifici di un solo tipo e anche perché era stato accertato definitivamente nel corso degli anni sessanta che l'antigene seleziona le cellule e ne condiziona la proliferazione. L'unico punto debole della teoria di Burnet rimaneva quello della preesistenza di un numero di recettori specifici (e quindi diversi fra loro) per quanti sono i possibili antigeni.

Se questo è, a grandi linee, lo sviluppo cronologico della parte speculativa che ha accompagnato l'evoluzione delle conoscenze di immunologia nel corso del Novecento, quanto andremo esponendo nel modo più sintetico possibile rappresenta invece il bagaglio di teorie e di conoscenze di immunologia così come risultavano verso la fine del XX secolo, un insieme di visioni e di scoperte accumulate sostanzialmente dal 1940 alla fine degli anni novanta ma con una punta di massima concentrazione negli anni sessanta, settanta e ottanta.

Una delle questioni più appassionanti che hanno interessato a fondo biologi, embriologi e genetisti è stata quella della origine dell'immunità nei Vertebrati. In proposito sono state formulate diverse interpretazioni e costruzioni ipotetiche pubblicate tra il 1966 e il 1971. Citeremo anzitutto quella “evoluzionistica” di W. Boyd secondo la quale nel corso dell'evoluzione ogni specie ha dovuto provvedersi di armi di difesa e di offesa e subire processi di adattamento, compreso quello di specie parassitata, cioè di una specie che sopravvive pur ospitando specie parassitarie perché si è munita di mezzi idonei a controllarne la nocività. Questi processi di adattamento sarebbero rappresentati sec. Boyd dall'inizio dei fenomeni immunitari. Viceversa lo studioso italiano L. Califano, osservando che gli Invertebrati si sono fermati ad un sistema difensivo prevalentemente di tipo fagocitario mentre i Vertebrati hanno fatto prevalere il sistema immunitario, ha sostenuto che l'immunità non deve essere considerata come l'esito di un adattamento agli agenti infettivi, bensì come il mezzo per proteggere e conservare la biospecificità della specie.

Oltre al pericolo rappresentato dalle invasioni dei microrganismi, ci si è resi conto negli anni settanta e ottanta di quello non meno grave delle possibili mutazioni cellulari che nel continuo rinnovamento delle popolazioni cellulari dell'organismo dei Vertebrati comporta un certo margine di errore nella copiatura del DNA, errore che in certi casi fa morire la cellula mal copiata e in altri casi invece dà vita a cellule mutate che devono essere tempestivamente individuate ed eliminate, pena la crescita di vaste popolazioni cellulari non funzionanti o male funzionanti. Esiste poi la più rara evenienza che una somma di molteplici mutazioni dia luogo a popolazioni cellulari dal comportamento anomalo nonché alla loro moltiplicazione incontrollata, cioè alla nascita di una neoplasia. Gli organismi dei Vertebrati davanti a questi gravi pericoli hanno creato dei sistemi di controllo che hanno il compito di riconoscere immediatamente le proteine estranee.

Questi sistemi, individuati verso la fine del secolo XX, sono stati chiamati “*Complesso Maggiore di Istocompatibilità*” che nell'uomo diventa “*Sistema HLA*” (*Human Leukocyte Antigen*) e di esso tratteremo più avanti. La penetrazione dello spermatozoo nell'ovocita, seguita da morte dello spermatozoo a fecondazione avvenuta, è l'espressione con la quale la legge immunitaria dell'istocompatibilità è applicata alla riproduzione animale ed è applicata in modo tale che tra i tessuti e le cellule della madre e quelli del feto non c'è fusione e i due individui rimangono, in virtù di questa legge immunitaria, due individui separati e immunologicamente ben distinti.

Nel 1971 R.A.Good e D.W.Fisher hanno prospettato una origine dell'immunità nella assoluta necessità di controllare la proliferazione dei tessuti sempre più differenziati quando sono comparsi i primi Vertebrati. Per Good – che è stato lo scienziato che più degli altri si è dedicato allo studio dello sviluppo dei sistemi linfatici – la comparsa di questi sistemi nel periodo evolutivo fu dovuta anzitutto alla necessità di eliminare antigeni prodotti dall'organismo stesso e ciò avrebbe consentito di conservare la continuità e la fissità della specie.

Nel corso del XX secolo le ricerche sull'immunità hanno seguito due direttrici di marcia: una di tipo funzionale ha percorso nella prima metà del secolo tutte le tappe dei fenomeni immunitari dalla introduzione dell'antigene nel corpo animale alla produzione degli anticorpi, la seconda, di tipo strutturale, ha svelato nel solo decennio degli anni sessanta la struttura degli anticorpi e l'identità dei singoli frammenti di essi. Queste due linee di ricerca hanno permesso di configurare la risposta immunitaria in una successione temporale fatta di tre fasi: nella prima fase, detta “*afferente*” l'antigene introdotto nel corpo di un vertebrato viene immediatamente aggredito e presentato ai macrofagi mentre ha inizio la produzione degli anticorpi specifici, la seconda detta “*centrale*” è quella contrassegnata dalla attività delle cellule linfatiche e dell'informazione genetica per la produzione degli anticorpi, la terza fase detta “*efferente*” vede la moltiplicazione e differenziazione dei linfociti e la massima produzione di anticorpi.

I meccanismi operativi impegnati nelle strategie operative del sistema immunitario sono sostanzialmente due: 1° - l'**immunità aspecifica** data da molecole e da sistemi di molecole del plasma e del siero a forte azione antimicrobica e questa forma di immunità è anche detta “*componente umorale*”. Essa è anche contrassegnata dalla trasformazione dei monociti in macrofagi e dai granulociti, tutte cellule che uccidono rapidamente i microrganismi patogeni dopo aver riconosciuto alcune loro proprietà caratteristiche e generiche e questo aspetto dell'immunità è detto “*componente cellulare*”. 2° - l'**immunità specifica** che è data dai linfociti T e B la cui azione contro l'antigene è molto più sofisticata e verrà descritta in dettaglio più avanti.

Gli studi eseguiti sugli antigeni ne hanno rivelato le proprietà che consistono nella eterogeneità rispetto alla specie in cui vengono introdotti, la lenta eliminazione da parte degli organismi che li ospitano, la notevole grandezza della loro molecola e la protrusione alla superficie di questa di numerosi “*determinanti*” formati, nel caso che l'antigene sia una molecola proteica, da sequenze di non meno sette aminoacidi e, invece, nel caso che l'antigene sia un polisaccaride, da 4-6 unità glucidiche. I determinanti sono fatti in modo da potersi combinare con nicchie speculari che sono presenti sulle molecole dell'anticorpo e che sono chiamate “*siti combinatori*”. Gli immunologi a queste formazioni hanno anche dato due nomi di origine greca: “*epitome*” per indicare il determinante e “*paratope*” per indicare il sito combinatorio. Dunque soltanto sostanze proteiche e glucidiche possono costituire gli antigeni mentre i lipidi e gli acidi nucleici sono stati definiti “*apteri*” perché incapaci di provocare la formazione di anticorpi, pur possedendo la capacità di reagire con anticorpi preesistenti.

Ogni antigene ha una parte della sua molecola che è sede della sua specificità e che partecipa alla reazione con l'anticorpo e una parte vettrice detta “*carrier*” o pezzo di trasporto.

In linea generale ogni organismo non crea anticorpi verso le molecole che lo costituiscono salvo il caso delle malattie autoimmuni che dipendono dal formarsi di “*autoanticorpi*”, grande scoperta della metà del secolo XX, e che tratteremo nel capitolo dell'immunopatologia.

Esistono invece normalmente i cosiddetti “*isoanticorpi*” e gli “*isoantigeni*”. I primi reagiscono con i secondi che sono presenti in individui della stessa specie ma non nell’organismo in cui si formano: gli isoantigeni più importanti sono quelli esistenti nei globuli rossi distinguibili in 4 gruppi sanguigni, ma esistono anche nei leucociti e soprattutto nei linfociti.

Alla fine degli anni cinquanta sono iniziati gli studi sulle **immunoglobuline** che in pochi anni hanno portato alla scoperta della struttura chimica degli anticorpi con i quali oggi esse vengono identificate. Queste ricerche di importanza fondamentale per l’immunologia e per la clinica sono state condotte dagli immunochimici R.R. Porter, G.M. Edelman, A. Nisonoff e altri. Si deve a questi ricercatori la conoscenza della struttura-base della molecola d’un anticorpo, consistente in quattro catene polipeptidiche, due pesanti contrassegnate con la lettera H e due leggere contrassegnate con la lettera L. Le classi delle diverse immunoglobuline studiate sono cinque e sono diverse fra loro per le differenti caratteristiche fisico-chimiche, ossia per i diversi antigeni presenti nelle catene pesanti i cui determinanti sono stati identificati con le lettere dell’alfabeto greco gamma, mi, alfa, delta, epsilon. A questi determinanti corrispondono le immunoglobuline IgG, IgM, IgA, IgD e IgE. Le catene leggere a loro volta sono state distinte in due tipi contrassegnati dalle lettere dell’alfabeto greco lamda e chi. Alla fine degli anni settanta erano stati descritti dieci tipi di catene leggere a seconda delle diverse combinazioni in sottoclassi (quattro per le IgG e due per le IgA). La classe più studiata è stata quella delle **IgG** perché si tratta delle immunoglobuline numericamente più presenti nell’organismo dei Mammiferi. Il loro peso molecolare è di 160.000. Possono attraversare la placenta e possiedono un frammento *Fab* che ha due siti combinatori per fissare gli antigeni e un frammento *Fc* che può fissare il complemento. Le **IgM**, con peso molecolare 900.000, aumentano rapidamente di numero in corso di immunizzazione artificiale, possono fissare il complemento e sono costituite da cinque subunità uguali che formano un polimero fatto di 20 catene polipeptidiche. Vengono oggi considerate i primi anticorpi comparsi nell’evoluzione dei Vertebrati. Le **IgA** di peso molecolare 170.000 vengono continuamente prodotte dalla mucosa intestinale e sono particolarmente presenti nella saliva dove, rispetto alle IgG, hanno un rapporto di 20:1. Le IgA di tipo “secretorio” hanno un pezzo aggiunto di peso molecolare 60.000 che è una proteina molto ricca di zuccheri e di acido sialico che la rende molto resistente agli enzimi proteolitici. Le IgA sono la prima linea di difesa verso i microbi che penetrano continuamente nelle vie respiratorie, nei dotti ghiandolari e nell’intestino. Le **IgD** di peso molecolare 150.000, scoperte nel 1965, sono presenti sulla superficie dei linfociti B e hanno funzione recettoriale. Le **IgE** di peso molecolare 160.000 hanno nell’organismo la presenza numericamente più scarsa rispetto a tutte le altre immunoglobuline; possono essere molto abbondanti nel siero di sangue di soggetti sensibili al polline di graminacee e ad altri antigeni di tipo allergenico come quelli di natura penicillinica. Per l’11% del loro peso molecolare sono costituite da carboidrati, valore questo molto elevato rispetto alle altre immunoglobuline. Le IgE sono responsabili delle manifestazioni allergiche.

Gli studi portati avanti sulle immunoglobuline alla fine degli anni sessanta hanno rivelato diversità del carattere antigenico in seno alle singole classi e a queste diversità è stato dato il nome di *allotipi*. Questi sono presenti in quantità diverse in tutti i Mammiferi e nell’uomo assommano ad una trentina. Oltre a differenziarsi fra loro per gli allotipi, le immunoglobuline presentano varianti idiotipiche nella sequenza dei 12 o 14 aminoacidi che formano il sito combinatorio e si tratta di variazioni individuali. Si riteneva alla fine del Novecento che queste disomogeneità delle immunoglobuline fossero dovute alla risposta provocata dagli antigeni avendo osservato che alcuni antigeni danno luogo solo a produzione di immunoglobuline M, altri invece a produzione di immunoglobuline G, oppure di quelle A o di una successione temporale di IgM seguita da quella di IgG.

Ancora agli inizi degli anni sessanta si riteneva che i **linfociti** – di cui era già ben nota l'importanza nel sistema difensivo dei Mammiferi – derivassero dalle cellule epiteliali del timo. Sono stati gli esperimenti di M.A.S.Moore a dimostrare che all'inizio nell'embrione il timo è solo epiteliale e che viene colonizzato da grandi cellule emocitoblastiche solo in un secondo tempo. Negli anni settanta queste grandi cellule multipotenti e capaci di generare globuli rossi, mielociti e linfociti furono chiamate *cellule staminali*. Esse sono anche le vere progenitrici dei linfociti timici. Alla fine degli anni sessanta si ammetteva l'esistenza di tre compartimenti del *sistema linfatico*: il midollo osseo, il timo e l'anello linfatico orofaringeo, e, in parte, l'insieme dei cosiddetti organi linfatici periferici (placche di Payer dell'intestino tenue, appendice ileocecale, linfonodi, milza). L'importanza del timo in immunologia è stata dimostrata in modo magistrale e inoppugnabile dalle sperimentazioni di timectomia nel topo pubblicate da J.F.Miller nel 1965. A far distinguere i due tipi di linfociti, quelli dipendenti dal timo e indicati con la lettera T e quelli indipendenti indicati con la lettera B, sono stati gli esami istologici eseguiti nel corso della risposta immunitaria ad antigeni di vario tipo.

Si è distinto così non solo la loro diversa azione immunitaria – cellulare mediata per i linfociti T e formativa di anticorpi per i linfociti B – ma anche le loro diverse sedi: i linfociti T sono presenti nel tessuto linfatico diffuso mentre i linfociti B hanno sede nei centri germinali degli organi linfatici. E' stato anche accertato che le plasmacellule, in precedenza ritenute cellule a sé stanti del sistema sanguigno e midollare, sono un prodotto di trasformazione dei linfociti B che passa attraverso le fasi successive di immunoblasta e di plasmoblasta, ultimo passaggio prima di diventare plasmacellula che produce le immunoglobuline e le secerne dando così la carica anticorpale al siero.

Nel corso degli anni sessanta sono stati anche individuati altri tipi di linfociti con citoplasma molto abbondante e ricco di ribosomi che producono le catene leggere e pesanti delle immunoglobuline o anticorpi. Questa categoria di linfociti che producono anticorpi è chiamata convenzionalmente CFA cioè "*cellule che formano anticorpi*". Un'altra categoria di linfociti è detta CRA, che significa "*cellule reattive all'antigene*" e questo gruppo a sua volta si divide in cellule "vergini" perché mai venute a contatto con un antigene e cellule "della memoria" che viceversa hanno avuto contatto con un antigene. Queste scoperte sono state fatte da H.N.Claman e da J.F.Miller che le hanno pubblicate tra il 1965 e il 1970 identificando le cellule CFA come un prodotto dei linfociti B e le CRA dei linfociti T.

Gli studi eseguiti con il microscopio elettronico e con le tecniche di immunofluorescenza hanno consentito a O.J.Plescia e coll., a K.Rajewsky e coll. di individuare negli anni compresi tra 1965 e 1969 l'azione di aiuto che le cellule T – dette per questo motivo *helpers* – esercitano nei riguardi delle cellule B grazie ai loro recettori di superficie che portano l'antigene in posizione ottimale per il contatto con le cellule B inducendole alla risposta immunitaria. Queste scoperte hanno suffragato la tesi, già nata con le vecchie ricerche di J.L.Gowans, secondo la quale la risposta immunitaria contempla una fase primitiva in cui intervengono i linfociti circolanti, cioè le cellule T, mentre la risposta secondaria è svolta dalle cellule B che hanno sede stabile nei tessuti linfatici.

Nei primi anni settanta è stata individuata una terza classe di linfociti detti *null* perché nel loro comportamento differiscono dai linfociti T e B e intervengono solo nei fenomeni di ipersensibilità ritardata.

Alla fine degli anni novanta le ulteriori scoperte dei decenni precedenti hanno consentito non solo di comprovare l'esattezza della teoria di Gowans ma anche di completare e modificare parzialmente molte delle nozioni esposte fino a questo punto.

Nel processo di riarrangiamento genetico che interessa da vicino la maturazione dei linfociti T e B il ruolo della casualità nel consentire difetti di trascrizione non è di poco conto per cui esiste sempre la possibilità che ciò avvenga rendendo indispensabili meccanismi di controllo e correzione.

Convinti che la regola fondamentale di un sistema immunitario maturo è che questo deve comprendere il minimo possibile di cloni inutili e deve eliminare o almeno controllare quelli dannosi che pure si presentano in ogni **processo di maturazione** cellulare, gli immunologi di fine secolo XX hanno molto approfondito le ricerche sui processi di maturazione dei linfociti T e dei linfociti B. E' stato così assodato che questi distinti processi di maturazione si svolgono ambedue con una fase di selezione positiva e con una di selezione negativa.

I recettori dei linfociti T reagiscono con un complesso dato da un peptide e dalla molecola di istocompatibilità detta MHC (*Major Histocompatibility Complex*) che ha la funzione di presentarlo(v.pag.195). Ora la selezione dei cloni T, sia nella sua fase positiva che in quella negativa, avviene nel contatto dei recettori di questi linfociti T con complessi di proteine derivati da proteine "proprie" e da molecole MHC "proprie". Gli esperimenti *in vitro* degli anni ottanta e novanta sulle colture di tessuto timico hanno messo in luce due aspetti interessanti: 1° - la eliminazione per autodistruzione di quei linfociti T che in corso di maturazione non esprimono recettori anticomplesso MHC-peptidi delle cellule della matrice timica (Suhr e Sprent, 1994); 2° - la maturazione e la proliferazione continuano solo per i linfociti che esprimono detti recettori.

Questi due aspetti connotano la fase positiva della selezione. Succede ora il processo di selezione negativa che vede l'eliminazione di quei linfociti già salvati dalla selezione positiva e caratterizzati da alta affinità per il complesso MHC-peptidi e che per questo motivo, a maturazione terminata, sarebbero capaci di dar luogo a fenomeni di autoimmunità. Dunque normalmente la popolazione di linfociti T che lascia il timo a maturazione finita e che entra a colonizzare gli organi linfatici periferici ha una bassa affinità per il complesso MHC-peptidi "propri" e non può produrre fenomeni autoimmunitari anche se talvolta si accompagna a qualche clone ad alta affinità per molecole MHC proprie e peptidi derivati da agenti estranei che sono sfuggiti all'esame di selezione negativa.

Un altro aspetto del processo selettivo è dato dalla possibilità che cloni di linfociti T provvisori di recettori di bassa affinità per i complessi MHC-peptidi propri abbiano invece un'alta affinità per complessi fatti da molecole MHC simili ma non identiche alle proprie e peptidi uguali a quelli di produzione timica (Blackman e coll. 1990; Ashton-Rickardt e Tongawa, 1994; Nossal, 1994; von Boehmer 1994). In questo caso trattasi di cloni detti *cross-reattivi* e cioè di un fenomeno di *allogenicità* perché il linfocita T reagisce fortemente con cellule che hanno molecole MHC modificate da geni alleli presenti nella stessa specie. Comunque la selezione negativa consente in via generale che tutte le proteine presenti nelle cellule dell'organismo siano protette, diventando queste solo di rado autoantigeni (vedi più avanti lupus eritematoso sistemico). Questo tipo di protezione è detto tolleranza immunitaria centrale.

Laddove la tolleranza centrale non può essere efficace come nel caso che ci siano antigeni espressi da cellule molto periferiche in quantità così scarsa da non raggiungere il timo in tempo e quantità tali da partecipare con un certo peso alla selezione negativa dei linfociti T indispensabile per ottenere la tolleranza centrale, subentra la tolleranza periferica. L'esistenza di questa è stata dimostrata in esperimenti condotti sulle cellule insulari del pancreas di topo di diverse linee germinali da Boorly e coll. nel 1990. A differenza della tolleranza centrale, nella periferica i cloni T autoreattivi non vengono distrutti ma solo

inattivati, resi cioè *anergici*. Divengono incapaci di reagire con gli antigeni pur conservando i recettori. Sono state fatte diverse ipotesi per spiegare il meccanismo di questa inattivazione e Kuchroo e coll. nel 1995 e, pure nello stesso anno, Waterhouse, hanno evidenziato nei topo la responsabilità di una particolare molecola etichettata CTLA-4 omologa del corecettore CD28, capace di inattivare le risposte dei linfociti T contro autoantigeni. Tuttavia alla fine del XX secolo il meccanismo non era stato ancora chiarito del tutto.

La tolleranza periferica è meno stabile di quella centrale per il fatto che i linfociti T anergici non vengono distrutti e possono attivarsi anche dopo molto tempo come succede nelle malattie autoimmuni della tiroide (vedi avanti). Inoltre la sperimentazione animale ha dimostrato la possibilità di meccanismi di delezione clonale di linfociti T anergici.

Quando la tolleranza cede il passo alla reazione autoimmunitaria, il sistema immunitario ricorre alla sua ultima arma: l'*immunosoppressione*. E' questa un meccanismo di autoregolazione che limita le reazioni immunitarie eccessive o troppo prolungate come è il caso della lebbra tra le malattie infettive croniche e di molte malattie autoimmuni. Gli agenti dell'immunosoppressione sono i linfociti T della sottopopolazione CD8 cui partecipano anche quelli della CD4 che eliminano e rendono anergici i linfociti T delle reazioni autoimmunitarie

L'immunosoppressione è specifica ma le sue basi d'ordine molecolare erano ancora oggetto di studio allo spirare del Novecento. In conclusione va sottolineata l'importanza dei linfociti T per quanto riguarda l'autoimmunità anche perché essi sono indispensabili come coadiuvanti dei linfociti B nel processo produttivo degli anticorpi in generale, compresi quelli contro gli autoantigeni.

Anche i recettori clonali per antigeni dei linfociti B sono prodotti sotto controllo di geni che – analogamente a quanto succede per i linfociti T - vanno incontro a rielaborazioni somatiche esposte al fattore “casualità”. Ciò postula, come per i linfociti T, l'assoluta necessità di una selezione dei cloni B sia positiva che negativa. Le differenze rispetto alla selezione dei linfociti T sono due: 1° - i recettori dei linfociti B reagiscono direttamente contro l'antigene e non abbisognano di preparazione da parte della molecola MHC; 2° - i geni per i recettori dei linfociti B hanno sede nel midollo osseo e nei centri germinativi dei tessuti linfatici periferici.

I linfociti B non sono stimolati dall'antigene direttamente bensì in via mediata attraverso i linfociti T specifici per lo stesso antigene, e sono i linfociti B che preparano poi frammenti dell'antigene per presentarlo alle cellule T cooperanti usando le molecole MHC di classe II (vedi avanti nel paragrafo dell'istocompatibilità) di cui sono provvisti.

Nel midollo osseo l'unica selezione possibile è quella negativa (quella positiva non è necessaria) e le sperimentazioni l'hanno dimostrata nei topi transgenici. Gli esiti possibili della selezione negativa delle cellule B sono la loro morte per autodistruzione (apoptosi) e il recupero con adozione di una catena Ig leggera diversa da quella del primo recettore autoreattivo. Alla fine della selezione negativa il midollo osseo ha prodotto una popolazione di linfociti B omogenea e ricca di recettori che reagiscono con antigeni estranei all'organismo con bassa affinità.

Nei centri germinativi linfatici le cellule B acquisiscono recettori ad alta affinità, sotto selezione positiva, per gli antigeni estranei all'organismo. La particolare disposizione dei complessi antigene-anticorpo sulla superficie delle cellule dendritiche del centro germinativo determina una rapida selezione positiva. Qui è possibile che avvenga anche una produzione di recettori autoreattivi ma questi linfociti B potenzialmente capaci di

innescare l'autoimmunità, vanno incontro ad autodistruzione di cui è possibile osservare le tracce al microscopio (selezione negativa).

Nei tessuti periferici si può poi verificare una “tolleranza periferica” per linfociti B anergici molto simile a quella dei linfociti T.

Nonostante i molteplici e ripetuti controlli a diversi livelli che di solito impediscono la sopravvivenza di elementi capaci di dar luogo all'autoimmunità, qualche difetto nelle maglie di questa rete di prevenzione può sempre verificarsi e rendersi più evidente nell'invecchiamento del sistema immunitario.

Nella trattazione che segue, allo scopo di preparare alla comprensione del testo finale di questo capitolo, si rende indispensabile riassumere l'evoluzione cronologica delle scoperte di fine secolo nell'ambito dell'istocompatibilità.

Istocompatibilità

Quando l'organismo è aggredito da un antigene risponde – come già detto – anzitutto in modo aspecifico essendo facilitata la “presentazione” dell'antigene e quindi questo viene più efficacemente fagocitato dai macrofagi (di cui tratteremo più avanti) e dalle cellule che lo presentano (*Antigen Presenting Cells* = *APC*). Il microrganismo viene digerito nel vacuolo di queste cellule che lo hanno fagocitato e parti dei suoi aminoacidi vengono presentate sulla membrana cellulare insieme alle glicoproteine di classe I di cui le APC sono molto ricche. Se invece il microrganismo penetrato nel citoplasma non viene distrutto ma sopravvive i peptidi delle sue proteine saranno presentati sulla membrana cellulare insieme alle glicoproteine di classe I. Questa seconda eventualità è tipica delle proteine virali e cellulari prodotte in eccesso.

I linfociti T che circolano ovunque nei tessuti e stazionano a periodi nelle regioni più esterne dei linfonodi, interagiscono mediante i loro recettori di membrana con le molecole delle glicoproteine HLA e questo avviene soprattutto nel linfonodi dove arrivano anche le APC.

Le ricerche degli anni settanta e ottanta hanno scoperto che il recettore CD4 dei linfociti T lega la parte delle HLA di I classe che è costante in tutti gli individui mentre il recettore CD8 lega le HLA di II classe. Gli studi di C.Benoist e D.Mathis pubblicati nel 1992 hanno messo in luce il fatto che, mentre i recettori CD4 e CD8 sono uguali in tutti i linfociti T, ogni linfocita T ha un recettore diverso destinato a riconoscere l'antigene (*T cell receptor* = *TCR*) e che questo TCR è composto di due catene di aminoacidi (alfa e beta oppure gamma e delta) molto più corte di quelle delle immunoglobuline. La parte esterna di questa catena cambia da linfocita a linfocita. Il TCR comunque è fatto in modo tale da legare con forte indice di affinità solo le glicoproteine HLA di un estraneo, mantenendo invece una bassa affinità per le molecole HLA del *self*. Il legame forte con le HLA di tipo estraneo rappresenta il momento di preattivazione del linfocita T. Perché l'attivazione diventi completa entrano in funzione altri segnali che sono l'interazione tra i recettori CD28 e CTLA-4 del linfocita T con le molecole CD80 e CD86 della membrana dell'APC. Anche l'interazione tra la molecola CD45 dell'APC e i recettori del linfocita è necessaria per attivarlo del tutto. Questa è la fase della costimolazione indispensabile a che il linfocita T preattivato non muoia (apoptosi) o rimanga bloccato. Una volta attivati, i linfociti T proliferano velocemente e producono un clone di cellule figlie tutte identiche provviste della stessa TCR del linfocita attivato che le ha generate; tutti questi linfociti T, se hanno il recettore CD4 (sono detti CD4+) secernono varie citochine, come l'IL2, utili per attivare i linfociti T che hanno il recettore CD8 (detti CD8+) che si trovano in stato di preattivazione. Poiché i linfociti CD4+ fanno da guida con le loro linfocine all'azione dei macrofagi, dei linfociti B e delle cellule *natural killer* (NK) sono stati etichettati come

linfociti T *helper*, ossia esercitanti funzioni d'ausilio. Questi linfociti T CD4⁺ possono andare incontro alla distinzione in *helper zero*, *helper 1* e *helper 2* a seconda della quantità e qualità delle linfocine che secernono, dipendendo questo dalla carica maggiore o minore di proteine estranee più HLA nella membrana dell'APC che ha indotto l'attivazione. Invece i linfociti T CD8⁺ diventano per la maggior parte cellule killer che secernono le cosiddette "perforine", sostanze che lesionano a fondo la membrana della cellula-bersaglio e la fanno suicidare inducendola a produrre il *Tumor Necrosis Factor*, azione fondamentale per eliminare cellule estranee, mutate, infettate da microrganismi e da virus. I linfociti T CD8 rappresentano uno dei più importanti mezzi di difesa contro le infezioni da virus.

Le ricerche degli anni ottanta hanno dimostrato che i linfociti B, a differenza dei linfociti T, riconoscono l'antigene non per i peptidi estranei della glicoproteina HLA come avviene per i T, bensì per la forma tridimensionale dell'antigene stesso. Questo riconoscimento inizia con l'interazione tra l'antigene e il BCR del linfocita B fatto di IgM e IgD monometriche e questa fase è quella della preattivazione. Il linfocita B così preattivato si comporta come una cellula APC perché l'antigene viene accolto nel citoplasma del linfocita B, lì viene digerito e alcuni peptidi che ne residuano vengono espressi a livello della membrana cellulare insieme a glicoproteine HLA di classe II. Un linfocita T CD4⁺ riconosce con il suo TCR il peptide estraneo sulla membrana del linfocita B e interagisce immediatamente in modo molto intenso. Il linfocita T a questo punto secerne molte linfocine (IL-2, IL-4, IL-5) che sono altrettanti segnali di costimolazione e il linfocita B si attiva e prolifera dando luogo ad un clone numeroso di cellule che si differenziano in due tipi: plasmacellule e cellule della memoria. Le plasmacellule producono subito una grande quantità di immunoglobuline.

Le **cellule fagocitarie** si distinguono in *microfagi* che sono i leucociti polimorfonucleati capaci di catturare antigeni che si presentano sotto forma di molecole semplici o di complessi antigene+anticorpo, e in *macrofagi* che sono stati particolarmente studiati da N.Fishman, da Ford e collaboratori, da B.A. Askonas (1965) e da G. Nossal e G. Ada (1971).

I leucociti vanno ad aderire fortemente alle pareti vasali dell'area colpita dall'antigene, attraversano l'endotelio e, attratti dai segnali chimici lanciati dalla difesa umorale e da quelli emessi dall'antigene stesso, migrano verso il punto di maggior pericolo. I granulociti neutrofili ed eosinofili sono i primi ad arrivare e fagocitano subito i microrganismi opsonizzati dal complemento (v. avanti a pag. 193) uccidendoli con i radicali reattivi dell'ossigeno e con una cascata di enzimi proteolitici. E' stata poi anche osservata una loro azione killer ottenuta rilasciando all'esterno i granuli del proprio citoplasma che sono ricchi di enzimi proteolitici. Un'altra attività contemporanea dei granulociti è data dalla secrezione di molte citochine e di altre sostanze che aiutano la chemiotassi di altri leucociti. Gli eosinofili sono selettivamente richiamati da antigeni di natura parassitaria avendo essi un corredo enzimatico specificamente adatto nei loro confronti. Per il resto si comportano come i neutrofili. I basofili e le mastcellule sono le sentinelle presenti dentro i tessuti in modo stabile nei punti di più facile penetrazione microbica. Le sostanze che secernono (istamina, serotonina, eparina, leucotrieni, prostaglandine, ecc.) dipendono dalla qualità del tessuto dove mastcellule e granulociti basofili risiedono.

I macrofagi maturano dai loro progenitori midollari ed entrano nel sangue circolante sotto forma di monociti i quali, in seno ai diversi tessuti, subiscono una differenziazione che finisce per dare loro una forma e delle caratteristiche funzionali ben distinte da tessuto a tessuto: sono stati infatti descritti macrofagi alveolari, pleurici, peritoneali, fissi della milza e liberi nella circolazione interna della milza, istiociti del connettivo, cellule di Kupffer del fegato, cellule della microglia, cellule cutanee di Langerhans e osteoclasti del tessuto osseo

e periostale, un lungo elenco di macrofagi dunque che è andato arricchendosi nel corso di tutto il secolo XX.

I macrofagi in attività immunitaria mostrano una notevole aderenza ai substrati e una grande mobilità della loro membrana citoplasmatica, consumano molto ossigeno e molto glucosio, secernono molti metaboliti dell'acido arachidonico e molte molecole importanti per il sistema immunitario. Oltre alla potente difesa immunitaria che è loro propria, i macrofagi rimangono in attività anche nella fase di spegnimento dell'infezione perché rimuovono definitivamente tutti i frammenti dell'antigene ucciso e le cellule morte mentre la contemporanea fibrinolisi provvede a rimuovere tutti i coaguli che si sono formati nelle aree dell'infiammazione.

Dagli studi degli anni sessanta e settanta era risultato che tra macrofagi e molecola antigene il legame è costituito da IgG dette *citofile*. La maggior parte dell'antigene che viene digerita nel citoplasma del macrofago si riduce a frammenti di 8-15 aminoacidi. Questi residui aminoacidici dell'antigene digerito si legano alla tasca delle glicoproteine HLA che sono espresse sulla membrana del macrofago affinché i frammenti dell'antigene possano essere subito riconosciuti dai linfociti T. In questo modo i macrofagi permettono il collegamento tra l'immunità aspecifica e quella specifica.

Le ricerche di fine secolo hanno dimostrato che sia *in vitro* che *in vivo* la presenza dei macrofagi è necessaria per la produzione di anticorpi. Da un punto di vista filogenetico le immunoglobuline del siero sono la componente più evoluta del complesso sistema immunitario come è dimostrato dal fatto che negli animali inferiori la difesa immunitaria è affidata soltanto alla fagocitosi, che Cavallo (1972) ritiene, insieme ad altri immunologi, essere il primo sistema difensivo della filogenesi. Negli animali superiori e nell'uomo oltre alla fagocitosi e al complemento – di cui parleremo tra poco e che è presente negli Invertebrati – sono attive, come abbiamo già detto, la immunità mediata da cellule e quella umorale specifica delle immunoglobuline. Questi quattro sistemi cooperano nel formare un complesso sistema integrato che fornisce una difesa molto efficace ma che non deve danneggiare i normali costituenti dell'organismo pur fornendo nello stesso tempo la memoria immunitaria e un'attività regolata in modo da non nuocere all'organismo.

Nel 1945 Owen scoprì il fenomeno della **tolleranza** dell'antigene che ebbe modo di osservare in gemelli bovini con unica placenta, i quali per tutto il corso della loro vita avevano tollerato la copresenza di eritrociti del gemello B nel sangue del gemello A e viceversa. M.Burnet spiegò il fenomeno ipotizzando che tutte le sostanze che vengono a contatto con il sistema linfatico del feto sopprimono la possibilità di una risposta immunitaria futura. Nel 1958 P.B. Medwark e collaboratori hanno dimostrato sperimentalmente la esattezza dell'ipotesi di Burnet. Nel 1964 N.A.Mitchison ha approfondito lo studio della tolleranza dell'antigene scoprendo altre tre cause oltre a quella del contatto antigene-sistema linfatico del feto: il trattamento prolungato con antigeni molto deboli, l'iniezione di macromolecole antigeniche allo stato monomero e il preventivo trattamento con raggi X dell'animale da esperimento. Alla luce di queste nuove acquisizioni gli immunologi hanno cominciato a distinguere gli antigeni in "*tollerogeni*" e "*immunogeni*". Ritorniamo sul tema della tolleranza nel capitolo dell'autoimmunità e delle malattie autoimmuni.

A questo punto ci limitiamo a ricordare che negli anni sessanta e settanta del Novecento molti studiosi hanno elaborato teorie interpretative della *immunogenicità*: P.A.Bretscher e coll.(1968), G.E. Roelants e coll.(1970), W.O. Weigle (1971) furono appunto autori di altrettante costruzioni teoriche sull'immunogenicità. Ciò che sembra di poter dedurre da queste teorie e dai risultati delle sperimentazioni che stanno alla loro base è che gli antigeni più solubili e che passano più agevolmente negli spazi intercellulari possiedono un potere

immunogeno che si svela solo dopo che hanno preso contatto con un macrofago e quindi sono anche i più disposti a diventare tollerogeni, mentre gli antigeni cellulari come batteri e certi virus sembrano venire più facilmente a contatto contemporaneo con i linfociti B e T e perciò hanno scarsa possibilità di diventare tollerogeni.

Il fenomeno della *paralisi immunitaria* osservato e descritto per la prima volta da W.M.Chase è quello dovuto alla mancata produzione di immunoglobuline specifiche dopo iniezione di alte dosi di antigene. Weigle ha spiegato questo fenomeno con il fatto che l'eccesso di antigene occupa tutta la capacità produttiva di anticorpi delle cellule immunitarie non lasciandone libere nemmeno una che possa fissare la memoria dell'antigene. In questo caso una eventuale iniezione di antigene per richiamo non può provocare più produzione di anticorpi essendone assente la memoria.

Fin dal 1880 i ricercatori avevano più volte e concordemente osservato che il calore faceva diminuire il potere battericida del siero umano e animale fresco e avevano ipotizzato l'inattivazione di una sostanza a loro ignota alla quale fu dato il nome di "*alessina*" sostituito poi da quello di "*complemento*" proposto da Ehrlich. Il **complemento** è stato oggetto di molte ricerche che nel corso del Novecento hanno segnato quattro tappe successive. Nel 1905 l'italiano A. Ferrata ha dimostrato che il complemento è composto di due sostanze diverse le quali, una volta separate, perdono l'attività specifica. Nel 1940 M.Heidelberg ha introdotto il metodo per titolare il complemento e ha corretto la definizione di Ferrata descrivendo a sua volta quattro componenti del complemento. Nel 1958 si è scoperto che la terza componente del complemento (**C3**) è a sua volta composta da sostanze diverse. Nel corso degli anni sessanta è stata definita la composizione del complesso come un raggruppamento di undici proteine del siero e nel 1978, dopo il riordino operato da una commissione internazionale, la struttura del complemento fu da tutti riconosciuta in nove componenti la cui sigla è data dalla lettera **C** seguita da un numero che va da 1 a 9. La componente C1 – che è stata la più studiata – è una macromolecola composta da tre subunità contrassegnate dalle lettere q, r, s; esse si dissociano solo in presenza di una sostanza chelante. Il **C1q** è l'unico componente identificato con una immunoglobulina ed è quello che opera la fissazione del C1 al complesso immune perché può coordinarsi con le IgG e con le IgM, svolge attività enzimatica ed è termolabile. Tutte le nove componenti del complemento hanno una frazione di carboidrati (esosi) per il 2-4% tranne il C1q che ne contiene il 10%. Gli studi eseguiti sulla composizione del complemento negli anni sessanta e settanta hanno scoperto alcune attività specifiche legate a certi componenti: il C4 ha rivelato attività contrattile sulla muscolatura uterina, il C2 un'attività farmacologica simile al chinino, il C3 e il C5 un'attività anafilotossica, il C7 in unione con C5 e C6 un'attività chemiotattica. Come si può facilmente arguire da quanto siamo andati esponendo il complemento può avere funzioni molteplici e alcune anche niente affatto innocue come lo scatenamento di una reazione di ipersensibilità immediata da C3 + C5, tuttavia la sua azione principale è il danneggiamento della membrana cellulare dei batteri che è il punto di partenza della loro citolisi. Per svolgere la sua azione il complemento deve essere attivato e questa attivazione può avvenire con due diverse modalità, quella definita "*classica*" e quella detta properdinica o "*alternativa*".

L'attivazione del complemento sec. lo schema *classico* si svolge per il C1 quando viene a contatto con una immunoglobulina o con un complesso plasmatico mentre tutti gli altri componenti, di per sé inattivi, si attivano per azione di uno di loro su un altro: una volta fissato e reso attivo il C3, vengono attivati anche C5, C6 e C7 che vengono a formare così un complesso molto efficace. A questo punto intervengono nella sequenza C8 e C9 che si fissano al complesso ma il vero agente della rottura della membrana batterica è solo il C8 mentre il C9 non fa altro che accelerarne l'azione.

Tutte queste conoscenze sono state ottenute approfondendo lo studio delle otto tappe dell'emolisi immunitaria che hanno dimostrato come l'anticorpo si limita a riconoscere nella prima tappa la cellula che deve essere distrutta mentre la distruzione vera e propria è compito del complemento. Le ultime due tappe (la settima e l'ottava) sono state particolarmente studiate da W.F. Resse e coll. nel 1966. Questi ricercatori hanno scoperto che l'entità e il numero delle lesioni cellulari dipendono dalla natura del complemento e non dall'anticorpo. Nel medesimo anno Kinsky e coll., lavorando su membrane sintetiche, hanno osservato che la rottura della componente lipidica della membrana è opera del C8. Nel caso dei batteri gramnegativi la distruzione della membrana cellulare avviene per opera del complemento anche in assenza di anticorpi.

La properdina è una proteina del siero scoperta da L. Pillemer nel 1954. La properdina può essere attivata da varie sostanze tra cui anche quelle della membrana batterica. Una volta attivata, con l'intervento di tre fattori proteici del siero che portano le sigle A, B e D, la properdina scinde il C3 che così dà inizio all'attivazione del complemento. Questa è la *via properdinica o alternativa* di attivazione del complemento che abbiamo citato poco fa. La rapida attivazione della via alternativa e la grande efficacia della sua azione antibatterica fanno del complemento una parte importante della reattività immunitaria aspecifica.

In patologia generale è stato dimostrato che la infiammazione si svolge in due fasi, la prima delle quali avviene sotto l'azione dei componenti del complemento, i quali, grazie alla loro chemiotassi, attirano i leucociti sul posto dove il complemento è stato attivato.

Nella seconda fase la produzione di anafilotossine fa aumentare la permeabilità vascolare e questo a sua volta fa aumentare l'arrivo di anticorpi specifici sul punto infetto.

Il complemento agisce in modo aspecifico, ma anche un enzima scoperto nel primo Novecento da A. Fleming, il **lisozima** – presente in grandi quantità in molti liquidi organici – contribuisce in maniera aspecifica alle difese immunitarie contro le infezioni e soprattutto contro quelle sostenute da batteri saprofiti grampositivi nella loro parete cellulare e da batteri gramnegativi nella loro parte più intima. Questo enzima lisa quasi tutti i germi saprofiti grampositivi ma non i patogeni il cui rivestimento è inattaccabile dal Lisozima. Gli studi eseguiti nella seconda metà del secolo hanno svelato che l'azione *killer* rapida e forte del lisozima è dovuta alla scissione del legame 1-4 tra acido N-acetilmurammico e N-acetilglucosamina che sono presenti in alcuni polisaccaridi batterici.

Altri fattori aspecifici dell'immunità sono le **Batteriocidine**, sostanze studiate da Q.H. Myrvik che sotto questo nome ha compreso tutti i fattori presenti nel siero dei Mammiferi con azione battericida indipendente sia dal lisozima che dal complemento. Tra le batteriocidine sono comprese le Leukine prodotte dai leucociti e le Plachino prodotte dalle piastrine.

Negli anni novanta del Novecento Forni aggiornava quest'ultimo paragrafo con la citazione di altri meccanismi presenti nei liquidi organici e capaci, dopo rapida attivazione, di uccidere i microrganismi o di impedirne la moltiplicazione: si tratta delle proteine cationiche **beta-lisine** rilasciate dalle piastrine e dai granulociti, della **tufsina** che è un tetrapeptide della digestione delle catene pesanti delle immunoglobuline e che ha un'azione favorente la fagocitosi da parte dei macrofagi, del sistema **lattoperossidasi-tiocianato-H₂O₂** che possiede una forte e vasta azione *killer* su molti microrganismi, degli **interferoni IFN-alfa e IFN-beta** che bloccano la proliferazione dei virus, delle cosiddette **“proteine della fase acuta”** che attivano il complemento e favoriscono la fagocitosi, del complesso sistema della coagulazione, di quello della fibrinolisi e di quello della chinina (bradichinina e lisilbradichinina).

Alcuni di questi sistemi sono simili a quelli del complemento e vengono attivati con meccanismi sequenziali detti “a cascata”.

Autoimmunità e Malattie Autoimmuni - Generalità

Già nell'anno 1900 Paul Ehrlich e J. Morgenroth avevano ammesso la possibilità che l'organismo creasse anticorpi che agiscono contro i suoi stessi tessuti normali funzionando cioè da autoanticorpi, e avevano definito questa situazione, allora ipotetica, con la definizione latina di “*horror autotoxicus*”. Essi supposero anche l'esistenza – non ancora dimostrata - di meccanismi di autoregolazione (omeostatici) capaci di difendere l'organismo dai pericolosi fenomeni dell'autotossicità.

Nel 1941 F.M.Burnet e F. Fenner hanno spiegato questa autodifesa con la teoria dell'autoidentificazione, secondo la quale gli antigeni autologhi, quali sono quelli espressi da ogni specifico tessuto dell'organismo, sarebbero dotati di un contrassegno che ne consente l'immediata identificazione da parte delle cellule del sistema immunitario

.

Alla fine del Novecento la definizione delle malattie autoimmuni generalmente accettata dagli studiosi di questa materia, era ancora quella espressa nel 1967 da G.L.Asherson il quale aveva riconosciuto a queste particolari forme morbose quattro attributi essenziali: 1° – perdita della tolleranza immunitaria verso i normali organi e tessuti dell'organismo con produzione di autoanticorpi; 2° – infiltrazione infiammatoria dell'organo interessato; 3° – profilassi dei danni da autoanticorpi con impiego di farmaci immunosoppressori; 4° – trasmissione passiva della malattia autoimmune iniettando siero o linfociti del soggetto malato in un soggetto sano.

Per spiegare il complesso problema della tolleranza immunitaria, nel periodo compreso tra il 1940 (L. Pauling) e il 1960 (D.J. Goldstein) sono state elaborate diverse teorie che i trattatisti della materia hanno diviso in due gruppi, quello delle teorie *istruttive* secondo le quali sono gli stessi antigeni a indurre la produzione di immunoglobuline le quali verrebbero ad avere una loro specifica affinità per un solo tipo di antigene, e il gruppo delle teorie *selettive*, secondo le quali il *pool* di cellule immunocompetenti di ogni organismo è talmente ricco che consta di cellule che possono reagire specificamente con qualsiasi tipo di antigene. Diversi studiosi hanno contribuito a creare in questo ambito ulteriori varianti teoriche sulle quali ora non sembra il caso di soffermarsi. Anche sul meccanismo con il quale si formano gli *autoanticorpi* sono state prospettate nella seconda metà del secolo diverse interpretazioni. Ricorderemo in proposito solo quelle che si basano su incontrovertibili risultati sperimentali.

Già nel 1907 K.Landsteiner e coll. avevano dimostrato che l'anticorpo della reazione di Wassermann riscontrabile nel siero dei luetici reagiva non solo con il fegato dei feti ereditari ma anche con fegato e miocardio di soggetti normali. Oggi si sa pure che gli streptococchi beta-emolitici del gruppo A hanno un antigene capace di stimolare la produzione di autoanticorpi antimiocardi. Si tratta di ciò che la teoria – oggi più condivisa dagli immunologi – detta della “*immunizzazione crociata*” spiega nel modo seguente: antigeni eterologhi, cioè di natura estranea a quella dell'organismo, possono avere attività antigenica in comune con alcuni tessuti dell'ospite e questo può condurre alla formazione di anticorpi che attaccano quei tessuti comportandosi come autoanticorpi. Un esempio di immunizzazione crociata che è rimasto classico è quella ottenuta da Asherson e coll.

sperimentalmente nel coniglio reso immune mediante vaccino preparato con germi di provenienza intestinale che producono autoanticorpi che reagiscono specificamente con la mucosa intestinale del coniglio.

L'immunizzazione crociata è stata vista prodursi anche per somiglianza tra antigeni di batteri e antigeni tissutali, come succede per esempio tra streptococchi beta-emolitici di tipo A e membrana basale dei glomeruli renali dell'uomo. In queste persone le vaccinazioni con quel tipo di streptococco provocano una glomerulonefrite (Ascenzi e coll. 1972). La tolleranza immunitaria può essere elusa anche dal contatto con antigeni eterologhi come sostanze chimiche semplici che, una volta entrate nell'organismo, si uniscono a proteine dei tessuti formando antigeni che danno luogo ad autoanticorpi come, ad esempio, l'apronalide che, venuta a contatto con le piastrine, ne provoca l'agglutinazione. Altre sostanze, come l'idralazina e l'amide procainica, possono provocare la sindrome lupoida (J.Vaughan e coll. 1969) e l'uso terapeutico di alfa-metildopa può scatenare la malattia emolitica (S.M.Worlledge e coll. 1966). Anche le cellule di un tumore maligno in fase di sviluppo possono provocare fenomeni autoimmuni. Nella maggior parte delle persone che sono o sono state affette da malattia reumatica il siero contiene il cosiddetto "*fattore reumatoide*" che è il prodotto di denaturazione dell'anticorpo dopo aver reagito con l'antigene. Questo processo che rende immunogeno un anticorpo denaturato non è affatto esclusivo della malattia reumatica, può essere presente nella bronchite cronica, nella lebbra, nell'epatite virale, ecc.

La vasta sperimentazione immunologia portata avanti a partire dal 1945 (P. ed E. Cavelti) fino agli anni settanta del Novecento ha dimostrato che è facile produrre una malattia autoimmune iniettando nell'animale estratti di tessuto omologo addizionati di lisati di streptococco oppure dell'adiuvante di Freund o di svariati tipi di microbi.

Burnet ha osservato che diversi componenti di una famiglia avevano alterazioni sierologiche tipiche di un fenomeno autoimmune e quindi ha formulato l'ipotesi che l'autoimmunità può formarsi anche per via genetica o ereditaria. Riscontri sperimentali successivi hanno confermato l'esattezza di questa ipotesi. Anche il fatto di essere portatori di virus è stato visto interferire con i processi proliferativi degli organi linfatici dando origine a produzione di autoanticorpi (R.C.Mellors e coll. 1966). Dixon nel 1972 ha dimostrato che l'infezione è capace di accelerare o ritardare la comparsa di manifestazioni immunologiche di origine genetica.

L'attenzione degli immunologi negli ultimi decenni del Novecento si è appuntata sui fenomeni che avvengono nella maturazione e selezione clonale dei linfociti T, cioè dei principali agenti cellulari, in seno al tessuto del timo fetale. E' stato così osservato che nel processo di riarrangiamento genetico che avviene nel periodo di maturazione dei linfociti il ruolo della casualità è essenziale non solo per la produzione di popolazioni linfocitiche con recettori capaci di reagire contro antigeni diversi come sono quelli degli agenti infettivi estranei all'organismo ma anche per la produzione di cloni provvisti di recettori del tutto inutili o addirittura dannosi perché capaci di reagire contro gli antigeni propri dell'organismo. Ora la regola-base di un sistema immunitario maturo è che esso deve comprendere il minimo possibile di cloni inutili e deve controllare ed eliminare quelli dannosi. L'organismo cerca di soddisfare questa esigenza praticando processi di selezione positiva e negativa che si diversificano per i due tipi di linfociti T e B. Gli esperimenti *in vitro* degli anni ottanta e novanta su colture di tessuto timico fetale hanno fatto scoprire due aspetti molto interessanti: 1° - la eliminazione per autodistruzione dei linfociti che in corso di maturazione non esprimono recettori anticomplesso MHC+peptidi della cellula matrice timica (C.Suhr e Sprent, 1994); 2° - la maturazione e la proliferazione continuano solo per i linfociti che esprimono detti recettori. Queste due osservazioni sperimentali sono

quelle che connotano la cosiddetta “selezione positiva”. A questa fa seguito il processo detto di “selezione negativa” che vede l’eliminazione di linfociti salvati dalla selezione positiva ma caratterizzati da alta affinità per il complesso cellule MHC+peptidi e che sarebbero capaci a maturazione finita di dar luogo a fenomeni di autoimmunità. Dunque, una volta terminata la selezione nelle sue due fasi positiva e negativa, i linfociti T che lasciano il timo e vanno a colonizzare gli organi linfatici periferici devono avere una bassa affinità per i complessi cellule MHC+peptidi “propri” così da non produrre fenomeni autoimmunitari. Tuttavia può succedere che escano a maturazione finita anche cloni di linfociti T aventi alta affinità per le molecole MHC proprie e per i peptidi derivati da agenti estranei (virus, batteri) e sfuggiti all’esame di selezione negativa. Un altro aspetto del sistema selettivo è dato dalla possibilità che cloni di linfociti T provvisti di recettori a bassa affinità per il complesso MHC+peptidi propri abbiano anche un’alta affinità per i complessi fatti da molecole MHC simili ma non identiche alle proprie e peptidi uguali a quelli di produzione timica (Blackman e coll. 1990, P.Ashton-Rickardt e S.Tongawa 1994; G.Nossal 1994; H.von Boehmer 1994). In questo caso si tratta di cloni detti *cross-reattivi* e cioè di un fenomeno che è chiamato *allogenicità* perché il linfocita T reagisce fortemente con cellule che hanno molecole MHC codificate da geni alleli presenti nella medesima specie.

Comunque la selezione negativa consente in linea generale che tutte le proteine presenti nelle cellule dell’organismo siano protette, diventando queste solo di rado autoantigeni (vedi lupus eritematoso sistemico).

Riprenderemo più avanti questo argomento approfondendolo a proposito della tolleranza centrale e periferica. E’ venuto invece il momento di soffermarsi sui risultati degli studi genetici che negli anni ottanta e novanta hanno scandagliato i misteri dell’istocompatibilità.

I recettori dei linfociti T reagiscono con un complesso molecolare dato da un peptide e dalla molecola di istocompatibilità detta MHC, acronimo che significa Major Histocompatibility Complex (v.pag.186). La molecola MHC ha la funzione di “presentare” il peptide. L’MHC è stato identificato con una sigla specifica di ogni specie; quella dell’uomo è HLA. E’ stato nel 1972 che B.Benacerraf e H.O.Devitt hanno per primi scoperto la partecipazione dell’MHC di tutte le specie nella regolazione della risposta immunitaria. In precedenza c’era stata solo la scoperta fatta nel 1937 da Peter Gores in Inghilterra della presenza nel genoma del topo di una regione genetica chiamata H-2 responsabile del rigetto di cellule o tessuti trapiantati da altri individui della stessa specie. Dunque, come avremo modo di illustrare ampiamente più avanti, l’**istocompatibilità** è un aspetto fondamentale non solo dell’immunologia ma anche di quanto riguarda i trapianti.

Gli studi di J.Trowsdale nel periodo 1993-1995 e di R.Campbell e coll. nel 1993 hanno accertato che la densità di geni nella regione HLA del braccio corto del cromosoma 6 lunga 4.000.000 di nucleotidi è pari ad un gene ogni 20.000 nucleotidi. Questi geni, studiati tra 1987 e 1993 da P.Bjorkman e coll, da Brown e coll., da Geraghty e da altri, sono stati suddivisi in geni HLA di classe I situati nella parte telomerica della regione HLA e in geni di classe II situati nella parte centrale. I primi sono tre: HLA-A, HLA-B e HLA-C e i loro prodotti si associano ad una proteina dando rispettivamente tre molecole HLA di classe I dette A,B e C. I geni HLA di classe II sono disposti a coppie che sono formate da un gene A e da un gene B i quali controllano due catene proteiche diverse (alfa e beta) che si associano formando eterodimeri (proteine composte di due subunità diverse). Le molecole espresse dagli HLA di classe II sono tre: DP, DQ, DR.

Le caratteristiche comuni delle molecole HLA delle due classi sono la natura glicoproteica con quattro domini proteici ma con diversa distribuzione dei dimeri, la medesima struttura

con due sequenze di aminoacidi disposti ad elica e divisi da una fenditura o insenatura dove va a inserirsi il peptide antigenico che è formato da non più di trenta aminoacidi e rappresenta la sua derivazione da un batterio o da un virus. Nel momento in cui il peptide estraneo entra nella fenditura presenta in seconda e ultima posizione aminoacidi che vanno a inserirsi in tasche specifiche della fenditura stessa ancorandovisi in modo stabile. Una volta che il peptide si è fissato nella fenditura ha inizio la risposta immunitaria di difesa. Ogni molecola HLA è capace di effettuare questi legami forti purché nelle cosiddette “posizioni-ancora” vi siano quei determinati aminoacidi. Se, per effetto di una mutazione, la composizione aminoacidica del peptide ha subito variazioni e le posizioni-ancora non sono più occupate dagli aminoacidi necessari all’ancoraggio, ci si troverà di fronte a un ceppo batterico o virale resistente perché sfugge alla difesa immunitaria (L.Stern e coll. 1994).

Per ovviare a questa possibile evenienza l’evoluzione della specie ha selezionato per ogni gene HLA molte forme diverse, tanto che il sistema HLA è oggi considerato il sistema più polimorfico che l’uomo possiede. Nella specie umana esistono strutture capaci di riconoscere un numero elevatissimo di peptidi e questa grande capacità difensiva che finora ha assicurato e continua ad assicurare la sopravvivenza della specie a devastanti epidemie, è affidata alle sei diverse molecole di classe I e alle sei-otto molecole di classe II espresse dalle due diverse forme di geni esistenti nel braccio corto del cromosoma 6 (J.Hammer e coll. 1993; M.Kronenberg e coll 1994)

I ricercatori degli anni novanta hanno potuto concludere i risultati dei loro studi nei seguenti sei punti essenziali: 1° - l’incontro tra molecola HLA e peptide è sempre endocellulare e il complesso che ne risulta viene poi presentato sulla membrana cellulare perché sia a sua volta riconosciuto dagli altri elementi del sistema immunitario ma le modalità dell’incontro tra molecola HLA e peptide differiscono tra le molecole HLA delle due classi.

2° - Le molecole HLA di classe I legano un peptide che è composto da non più di 11 aminoacidi e le estremità di questo rimangono nascoste nella fenditura. Invece le molecole di classe II legano peptidi composti da un massimo di 30 aminoacidi e le estremità del peptide sporgono dalla fenditura. D.Madden e coll hanno dimostrato nel 1992 che queste diversità di comportamento chimico corrispondono a differenze funzionali.

3° - Dentro al citoplasma della cellula l’incontro della molecola classe I e peptide avviene in seno al reticolo endoplasmatico mentre quello della molecola classe II e peptide avviene dentro ad un vacuolo apposito del citoplasma. Nel primo caso il peptide è di origine virale, nel secondo è di origine batterica. Questo spiega perché le molecole di classe I sono presenti in tutte le cellule nucleate esclusi i globuli rossi mentre le molecole di classe II sono presenti solo nel citoplasma di cellule specializzate nel meccanismo della presentazione antigenica che sono i macrofagi, le cellule dendritiche dei linfonodi e i linfociti B.

4° - La biosintesi delle molecole HLA di classe I è un processo molto complicato che vede implicate diverse componenti e processi chimici. Ci limitiamo a enumerare le molecole *chaperon*, le proteine da trasporto che, oltre a trasportare i peptidi, perforano o scavano canali nella membrana del reticolo endoplasmatico, il processo di glicosilazione della molecola HLA dentro l’apparato del Golgi e il consumo di ATP per l’azione di trasporto dei peptidi di origine virale e delle molecole HLA classe I (Sette e coll. 1987; Powis e coll. 1993).

5° - La biosintesi delle molecole HLA classe II è molto simile alla precedente ma, a differenza di questa, la molecola di classe II appena sintetizzata entra in contatto con una

proteina detta “catena invariante” che occupa il posto dove verrà ad attaccarsi il peptide di origine batterica e ciò avviene perappare temporaneamente il sito onde evitare che contragga legami con proteine della cellula ossia con proteine endogene. Al momento opportuno la catena invariante libera il sito perché nel frattempo la molecola HLA classe II è già entrata nell'interno della vescicola dove avverrà anche l'incontro con il peptide.

6° - L'ultimo atto delle molecole HLA delle due classi è dato dal loro riconoscimento da parte di due sottogruppi dei linfociti T, i linfociti T CD28 o citotossici per le HLA di classe I, incontro che termina rapidamente con la distruzione della cellula ospite per l'azione distruttiva dei prodotti dei linfociti citotossici e i linfociti T CD4 o *helper* che producendo le citochine fanno proliferare i linfociti B dando la risposta anticorpale che è un processo più lungo e più complesso di quello che riguarda le molecole HLA classe I

Gli studi di genetica di fine secolo, che avevano avuto l'*incipit* con la scoperta della natura genetica del rigetto dei trapianti nel lontano 1937, hanno analizzato a fondo e in modo preferenziale la regione HLA del braccio corto del cromosoma 6 fino a farne una unità non solo fisica ma anche e soprattutto funzionale, un'unità preposta al controllo dei meccanismi iniziali della risposta immunitaria. Si è calcolato che questa regione HLA contenga un massimo di 200 geni, in massima parte deputati alla funzione immunitaria ma non esclusivamente. Vi sono stati individuati infatti geni che codificano diversi enzimi, componenti del collagene e altri dalle funzioni tuttora sconosciute. Tuttavia tra i geni delle funzione immunitaria, oltre a quelli che codificano le molecole HLA di classe I e classe II sono stati individuati anche due geni LMP (1 e 7) che controllano due subunità proteiche che insieme ad altre dodici o quattordici formano il cosiddetto “*proteasoma*” che è una struttura cilindrica di attività proteolitica. La produzione delle due subunità espresse da LMP1 e da LMP7 aumenta in corso di infezioni che abbiano già prodotto una certa quota di gamma-interferone. A questo punto si formerebbe un circuito che, iniziato con la produzione di gamma-interferone prosegue con l'aumento di produzione di molecole HLA di classe I e II e delle molecole LMP2 e LMP7 che svolgono funzione adiuvante nel processo di presentazione del peptide batterico o virale da parte delle stesse molecole HLA.

Nel cromosoma 6 è stata studiata anche la regione III dove esistono altri geni coinvolti nel processo immunitario: sono geni che codificano i diversi fattori del complemento, proteine HSP 70 (*Heat Shock Proteins 70*) che fanno da *chaperon* ad altre proteine nel corso della loro sintesi o in caso di stress termico, i TNF (*Tumor Necrosis Factor*) alfa e beta e i geni LTB che codificano le citochine in corso di infiammazione.

Negli ultimi anni del Novecento i genetisti hanno scoperto nella regione dei geni HLA di classe I altri geni di cui non si conosceva ancora la funzione. Si è poi accertato che si trattava di nuovi geni HLA di classe I etichettati come HLA-E, HLA-G e altri ancora. Gli ultimi ad essere identificati sono stati i geni MIC (MHC-classe I-related) strutturalmente simili ai geni HLA classici ma di funzione ancora ignota.

Tolleranza - Immunosoppressione - Malattie Autoimmuni

La protezione offerta dai severi processi di selezione negativa è stata definita “tolleranza immunitaria centrale”. Laddove questa non risulta efficace come avviene nel caso di antigeni espressi da cellule molto periferiche in quantità così scarsa da non raggiungere il timo del feto in tempo e in quantità tali da partecipare alla selezione negativa dei cloni T per dare la tolleranza centrale, subentra la “tolleranza periferica”. L'esistenza di questo tipo di tolleranza è stata dimostrata da esperimenti condotti sulle cellule insulari del pancreas di topi di diverse linee germinali da L.C.Burkly e coll. nel 1990. A differenza della tolleranza

centrale, nella periferica i cloni T antireattivi non vengono distrutti per apoptosi ma solo inattivati, resi cioè “anergici”. Diventano incapaci di reagire con gli antigeni pur conservando i recettori. Sono state fatte diverse ipotesi per spiegare il meccanismo di questa inattivazione e V.Kuchroo e coll. nel 1995 e – nello stesso anno – anche P.Waterhose hanno portato a termine esperimenti sui topi che dimostrerebbero la responsabilità di una particolare molecola etichettata CTLA-4 omologa del corecettore CD28, capace di inattivare le risposte dei linfociti T contro autoantigeni. Tuttavia alla fine del secolo il meccanismo non era stato ancora del tutto chiarito. La tolleranza periferica è meno stabile di quella centrale per il fatto che i linfociti T anergici non vengono distrutti e possono attivarsi anche dopo molto tempo come avviene nelle malattie autoimmuni della tiroide. Inoltre la sperimentazione animale ha dimostrato anche l’evenienza di meccanismi di delezione clonale dei linfociti T anergici.

Quando la tolleranza cede il passo alla reazione autoimmunitaria il sistema immunitario ricorre alla sua ultima arma: l’immunosoppressione. E’ questa un meccanismo di autoregolazione che limita le reazioni immunitarie eccessive e troppo prolungate come è il caso della lebbra tra le malattie infettive croniche e anche di molte malattie autoimmuni. Gli agenti dell’immunosoppressione sono i linfociti T della sottopopolazione CD8 con la compartecipazione di quelli della CD4 eliminando e rendendo anergici i linfociti T che hanno causato la reazione autoimmunitaria

L’immunosoppressione è specifica ma le sue basi molecolari alla fine del Novecento erano ancora oggetto di approfondimento.

In conclusione la fitta attività di indagine su questi temi di immunologia ha fornito una messe di risultati che porta a sottolineare l’importanza delle cellule T in tutto quanto riguarda l’autoimmunità anche per la loro funzione adiuvante indispensabile per i linfociti B nel processo di produzione degli anticorpi in genere compresi quelli contro gli autoantigeni. Infatti anche i recettori clonali per antigeni dei linfociti B vengono prodotti sotto controllo di geni che sono soggetti a rielaborazioni somatiche esposte al fattore “casualità”. Questo postula – come per i linfociti T – l’assoluta necessità di una selezione dei cloni B sia positiva che negativa.

Le differenze rispetto alla selezione dei cloni T sono due: 1° - i recettori dei linfociti B reagiscono direttamente contro l’antigene e non abbisognano di alcuna preparazione da parte delle molecole MHC 2° - i geni per i recettori dei linfociti B risiedono nel midollo osseo e nei centri germinativi degli organi linfatici periferici e quindi la selezione non avviene nel timo.

I linfociti B non sono stimolati direttamente dall’antigene ma in via secondaria attraverso i linfociti T specifici per quel determinato antigene, e sono i linfociti B che preparano i frammenti dell’antigene per presentarli alle cellule T cooperanti usando molecole MHC di classe II di cui sono provvisti.

Nel midollo osseo l’unica selezione possibile è quella negativa (la positiva non è necessaria) ed è stata dimostrata con la sperimentazione in topi transgenici. Gli esiti della selezione negativa per le cellule B sono due: la morte per autodistruzione (apoptosi) e il recupero con adozione di una catena immunoglobulinica leggera diversa da quella del primo recettore autoreattivo. Alla fine di questa selezione negativa il midollo osseo ha prodotto una popolazione di cellule B omogenea ricca di recettori che reagiscono con antigeni estranei all’organismo con bassa affinità.

Nei centri germinativi linfatici le cellule B acquisiscono recettori ad alta affinità sotto selezione positiva degli antigeni estranei all’organismo. La particolare deposizione dei complessi antigene-anticorpo sulla superficie delle cellule dendritiche del centro

germinativo determina una rapida selezione positiva. Qui è possibile che avvenga anche una produzione di recettori autoreattivi ma questi linfociti potenzialmente capaci di innescare l'autoimmunità, vanno incontro ad autodistruzione di cui si possono osservare le tracce al microscopio (selezione negativa).

Nei tessuti periferici si può poi verificare una "tolleranza periferica" per cellule B anergiche molto simile a quella dei linfociti T.

Nonostante i molteplici e ripetuti controlli a diversi livelli che di solito impediscono la sopravvivenza di elementi capaci di innescare l'**autoimmunità**, qualche difetto nelle maglie di questa rete di prevenzione può sempre verificarsi e rendersi più evidente nel processo di invecchiamento del sistema immunitario.

La cronologia dello studio delle malattie autoimmuni ci riporta ora alla metà del Novecento, all'epoca in cui gli studiosi di immunologia si sono sforzati di riconoscere e codificare le condizioni e le situazioni che portano ad una malattia autoimmune avendo riscontrato diversi casi in cui la presenza di autoanticorpi solubili nel siero di sangue non si accompagnava a nessuna manifestazione di natura autoimmune. Le situazioni in cui si verifica questo fenomeno, apparentemente assurdo, sono risultate essere quelle in cui l'organo bersaglio è inaccessibile per gli autoanticorpi essendo isolato dalla circolazione sanguigna oppure quando la sede intracellulare dell'antigene diviene irraggiungibile per gli autoanticorpi che da soli – cioè senza il complemento attivato - non riescono a superare il forte ostacolo della membrana cellulare integra.

Una volta conosciuti i meccanismi lesivi di tipo diretto e indiretto e quelli dell'ipersensibilità ritardata (v.pag.206), gli studiosi si sono posti il problema della identificazione dei criteri che contraddistinguono una malattia autoimmune e quindi della possibilità di giungere ad una classificazione logica delle malattie autoimmuni dell'uomo.

Già nel 1959 E.Witebsky aveva postulato alcuni criteri identificativi ma la prima distinzione storica tra autoanticorpi patogeni e fisiogeni, la cui presenza non provoca stato di malattia, è stata proposta nel 1964 da H. Kunkel e E.M.Tan. Tre anni dopo Asherson, in base ai risultati di una raccolta complessiva di tutta la sperimentazione animale portata a termine fino a quell'anno, ha dato una formulazione dei caratteri comuni delle varie forme di autoimmunità che era destinata a tenere il campo fino alla fine del secolo XX. (v.sopra). Nel 1971 J.Roitt ha diviso le malattie autoimmuni in organospecifiche, intermedie e generalizzate. L'esempio più tipico di malattia autoimmune organospecifica è dato dalla tiroidite di Hashimoto mentre un classico esempio di malattia autoimmune generalizzata è il lupus eritematoso sistemico.

I meccanismi immunitari di queste malattie sono la citotossicità, l'ipersensibilità mediata da complessi immuni (v.pag.205) e l'ipersensibilità ritardata (v.pag.206).

Un'ulteriore distinzione nel campo delle malattie autoimmuni è quella che riguarda le alterazioni o lo stato di normalità dei tessuti che danno origine alla produzione di autoanticorpi. Nel primo caso – che è pure l'evenienza più frequente – è abbastanza facile riconoscere quali sono i tessuti alterati e risalire alla causa della loro modificazione (diversi agenti fisici, chimici, biologici). Nel secondo caso l'autoimmunità rappresentata da autoanticorpi verso costituenti normali non alterati dell'organismo viene interpretata dalla teoria di Burnet con un turbamento dell'immunogenesi che farebbe produrre cloni di linfociti che rispondono agli stimoli prodotti dai componenti normali. Un'altra teoria invoca l'intervento di un "*superstimolo*", cioè di una induzione anomala come è dimostrato dalla produzione di autoanticorpi che si può ottenere sperimentalmente iniettando un estratto dell'organo addizionato di un'emulsione di minerali con micobatteri uccisi detta "*adiuvante di Freund*" dal nome dello scienziato che l'ha inventata.

Negli anni settanta Ascenzi e Bosman hanno pubblicato un doppio elenco di malattie autoimmuni, cioè uno di quelle sistemiche dove iscrivevano come certamente autoimmuni il lupus eritematoso, l'artrite reumatoide e la sindrome di Sjögren oltre ad altre quattro forme morbose allora non ancora sicuramente autoimmuni, e l'altro di quelle interessanti singoli organi e apparati. In questo secondo elenco erano citate come sicuramente autoimmuni le anemie emolitiche acquisite, la sclerosi a placche, la colite ulcerosa criptogenetica, l'anemia perniciosa, la tiroidite di Hashimoto, il morbo di Flajani-Basedow, il pemfigo, le glomerulonefriti, due rare malattie dell'occhio (uveite facogenica e oftalmia simpatica). Molto più sostanzioso era l'elenco delle malattie autoimmuni che a quell'epoca avevano una natura e patogenesi non ancora bene accertate e che tuttavia erano indicate come probabilmente di natura autoimmune e tra queste merita di ricordare la sclerodermia, il morbo celiaco, l'enterite di Crohn, la cirrosi biliare primitiva, la sindrome surrenalica di Cushing, il diabete mellito, la sterilità e la miastenia.

Alla fine del secolo XX erano note più di 40 malattie dell'uomo sicuramente autoimmuni la cui incidenza globale risultava pari al 5-7% della popolazione. Tra quelle che interessano le ghiandole endocrine ricordiamo la tiroidite di Hashimoto, il diabete giovanile e il m. di Addison che si è accertato dipendere da autoreattività dei linfociti T e B. Tra le malattie autoimmuni del sangue, tutte dipendenti da autoreattività dei linfociti B, venivano enumerate le anemie emolitiche autoimmuni, l'emoglobinuria parossistica da freddo, le piastrinopenie e le discoagulopatie autoimmuni.

Malattie autoimmuni molto diffuse erano considerate l'artrite reumatoide e le spondiloartropatie infiammatorie oltre al lupus eritematoso sistemico, alla sclerodermia e alla sclerosi multipla per citare solo le più importanti e conosciute.

Tutte le malattie autoimmuni hanno dimostrato di avere due caratteristiche in comune: 1° - la frequente associazione con alleli dei geni che controllano le molecole di istocompatibilità (MHC) 2° - le prime manifestazioni avvengono sempre dopo un episodio infettivo batterico o virale.

I linfociti CD4+ quando incontrano gli autoantigeni danno luogo ad una reazione infiammatoria di sensibilità ritardata (v.pag.206) per liberazione di citochine e attivazione di macrofagi.

I linfociti CD28+ uccidono direttamente le cellule-bersaglio come se fossero cellule infettate da virus. Gli autoanticorpi provocano lisi degli eritrociti attivando il complemento oppure fanno agglutinare le piastrine o anche bloccano i recettori cellulari o ancora possono stimolarli: questi sono tutti meccanismi con i quali gli autoanticorpi provocano danni tissutali. Inoltre c'è sempre la possibilità che, data la coesistenza di una notevole quantità di autoantigeni, se l'affinità è sufficiente si venga a formare un'elevata quota di immunocomplessi che sono causa di danni al sistema vascolare, renale e articolare.

L'ultima classificazione delle malattie autoimmuni in ordine di tempo e data alle stampe nel **1997** distingueva tra forme "organospecifiche" e "non organospecifiche". Le prime erano così chiamate perché contrassegnate da distruzione dei tessuti specifici di determinati organi (tiroiditi autoimmuni, diabete giovanile insulinoindipendente, artrite reumatoide e altre); le non organospecifiche erano così chiamate perché colpivano organi diversi come nel caso del lupus eritematoso sistemico (v. anche sopra la storia delle classificazioni delle malattie autoimmuni). E a proposito della associazione frequente tra malattie autoimmuni e alleli HLA veniva segnalata la presenza dell'allele HLA-B27 nel 95% dei malati di spondilite anchilosante contro la sua presenza solo nel 5% dei soggetti sani. Anche per il diabete giovanile si era arrivati progressivamente a riconoscerne la causa

in una associazione con alleli rivelata dall'assenza di acido aspartico nella posizione 57 della catena genetica DQbeta che partecipa alla formazione della fenditura della molecola HLA dove si fissa il peptide.

Quanto è stato scoperto nell'ultimo trentennio del secolo XX in materia di autoimmunità è dovuto in massima parte agli studi eseguiti sulle malattie autoimmuni spontanee e provocate degli animali da esperimento (topi e ratti).

Quando a dare l'abnorme proliferazione sono le plasmacellule si può osservare la crescita di un tumore maligno detto plasmocitoma o anche mieloma oppure la crescita di un tumore benigno non progressivo e che non richiede una terapia particolare (Waldenstrom, 1972). Si tratta in questi casi di due malattie immunoproliferative. Quando la produzione eccessiva di immunociti riguarda i globuli bianchi le malattie immunoproliferative che ne conseguono vengono etichettate con il termine generico di "*linfomi*" comprendendo con questa dizione diverse forme morbose benigne e maligne come leucemia linfatica, linfadenosi aleucemica, linfosarcoma. Altri linfomi nei quali oltre alla forte partecipazione linfocitica è riconoscibile la iperproduzione di cellule del reticoloendotelio e di cellule giganti sono il morbo di Hodgkin o linfogranuloma maligno, il reticolo- o retotelsarcoma, l'iperplasia gigantocellulare e altre forme morbose ancora. I materiali proliferativi di queste malattie si sono rivelati utilissimi per lo studio della loro composizione biochimica e in particolare delle immunoglobuline perché queste speciali proteine quando sono prodotte da cellule neoplastiche sono perfettamente omogenee. Lo studio dettagliato della composizione aminoacidica delle loro catene leggere e pesanti è stato immensamente favorito non solo dalla disponibilità in questi casi di abbondante materiale umano di studio ma anche dal perfezionamento di metodi di ricerca adatti all'uopo come l'immuno-elettroforesi (ricerche di Tiselius e di Grabar), la precipitazione in agar per diffusione doppia in piastra (ricerche di Ouchterlony) e l'ultracentrifugazione (ricerche di Th. Svedberg). Gli studi sulle proteine mielomatose sono stati di grande aiuto nel corso degli anni settanta per risolvere i problemi connessi con altri campi della medicina come quelli delle allergie, delle malattie da freddo e delle neoplasie.

Per l'approfondimento su alcune delle più importanti e diffuse malattie autoimmuni e immunoproliferative e sulla loro storia nel corso del Novecento si rinvia ai paragrafi in cui la loro storia è stata descritta tra le patologie di interesse chirurgico e quelle di interesse internistico.

IPERSENSIBILITA' IMMUNITARIA e IMMUNOLOGIA dei TRAPIANTI

Fin dal primo diffondersi della profilassi e della terapia di tipo immunitario sono stati osservati importanti e gravi fenomeni di ipersensibilità dovuti alla inoculazione ripetuta di un vaccino o di un siero in persone che già erano state immunizzate in precedenza con lo stesso vaccino o con il medesimo siero. A questi fenomeni fu dato fin dai primi anni del Novecento il nome di **ipersensibilità**. Nei primi quarant'anni del XX secolo vennero descritti in modo compiuto i quadri clinici dell'anafilassi e delle malattie allergiche e questo stimolò una vivace ricerca in campo farmacologico. Tuttavia gli studi sui fenomeni di ipersensibilità immunitaria hanno visto la loro massima concentrazione nel corso degli anni sessanta e settanta del secolo XX. Nel 1971 J. Roitt, dopo un'accurata revisione degli studi eseguiti fino a quella data, ha proposto la seguente sistemazione della complessa materia. L'ipersensibilità immunitaria sec. Roitt può essere di cinque tipi diversi: 1° - di tipo anafilattico 2° - di origine citotossica 3° - dovuta a complessi immunitari 4° - di tipo ritardato 5° - di origine stimolatoria. Questa classificazione, generalmente accettata, è stata lievemente modificata due anni dopo da G.Cavallo che ha accolto anafilassi e allergia in un'unica categoria detta della "ipersensibilità immediata" aggiungendo le categorie dell'ipersensibilità che si manifesta con il rigetto del trapianto e dell'ipersensibilità verso terapia immunosoppressiva.

Nel 1985 P. van Aradel dell'Università di Washington ha ulteriormente modificato queste classificazioni perché esse non prendevano in considerazione la possibilità che si instaurino contemporaneamente più risposte di natura immunitaria o che più di un tipo di risposta sia necessario per provocare il danno immunologico. Per questi motivi ha suggerito di riferirsi alla classificazione di Gell e Coombs che pur non diversificando sostanzialmente dalle precedenti sembra prestarsi meglio ai fini dell'utilità pratica in clinica medica. Nella classificazione di Gell e Coombs le reazioni di ipersensibilità sono quattro: reazioni di tipo I che comprendono quelle già definite di tipo immediato cioè le atopiche e le anafilattiche mediate da IgE, reazioni di tipo II che sono le vecchie citotossiche, reazioni di tipo III o di ipersensibilità da immunocomplessi o da complessi solubili e le reazioni di tipo IV che corrispondono all'ipersensibilità ritardata.

L'**anafilassi**, che fa parte delle reazioni di tipo I e che si svolge in tre fasi – fissazione dell'anticorpo all'antigene, liberazione di sostanze attive, forti effetti su muscolatura e capillari sanguigni – è una tipica manifestazione di *ipersensibilità immediata* legata nell'uomo ad alcune immunoglobuline G ed E e soprattutto a queste ultime. Le IgE si fissano in questo caso sui leucociti basofili del sangue circolante e sulle mastcellule dei tessuti per mezzo del loro frammento Fc modificandone la configurazione di superficie in presenza dell'antigene specifico e, con un meccanismo complesso in cui è interessata la formazione dell'AMP ciclico cui è dovuta la stabilità delle mastcellule, danno luogo alla rapida liberazione di almeno cinque mediatori dell'ipersensibilità immediata che sono istamina, serotonina, bradichinina e SRS-A (*slow reacting substance*) e fattore chemiotattico degli eosinofili (ECF). Fatta eccezione per la bradichinina che si è vista formarsi da una alfa globulina del plasma sotto azione della callicreina, le altre sostanze sono date dalle mastcellule del connettivo che circonda i vasi. Di questi cinque mediatori chimici l'SRS-A è risultato essere il più attivo. Le ricerche di farmacologia degli anni sessanta hanno individuato per ognuno di questi mediatori una sostanza capace di inibirlo: la dietilcarbamazina inibisce appunto l'SRS-A, il cromoglicato sodico inibisce l'istamina e l'SRS-A e, contro tutti i mediatori dell'ipersensibilità immediata, si sono dimostrate molto efficaci tutte le sostanze che fanno aumentare il livello endocellulare dell'AMP ciclico come l'isoproterenolo, la metilxantina, la teofillina e gli stessi derivati alchilici dell'AMP ciclico.

L'anafilassi oltre che da iniezione di sieri specifici può essere causata da punture di insetti, da una iniezione di penicillina, dalla rottura in cavo peritoneale o pleurico di una cisti d'echinococco..

Il gruppo piuttosto ampio delle **malattie allergiche**, dette anche atopiche, è il secondo rappresentante dell'ipersensibilità immediata o di tipo I e riguarda ben il 10% di tutta l'umanità. Gli antigeni che provocano l'allergia detti allergeni sono i più vari: pollini, foglie secche, polveri di varia composizione, peli di animali diversi,ecc. anche se si tratta di sostanze che possiedono solo una parte delle caratteristiche di un antigene vero e proprio: per questo motivo si preferisce chiamarle "allergeni" o anche "apteri". Esse provocano la reazione tipo I solo nei soggetti allergici ossia atopici. Le malattie che ne conseguono recano nomi diversi come asma bronchiale, febbre da fieno o da pollini, orticaria acuta, dermatite da contatto o allergia fisica, allergia gastrointestinale provocata da determinati cibi o farmaci assunti per os, malattie allergiche oculari e ipersensibilità a farmaci. Il soggetto atopico è portatore di IgE specifiche che possono essere dosate nel siero del paziente il quale dà risposta positiva al test cutaneo di Prausnitz-Küstner (inoculazione intradermica di una quantità minima di siero di soggetto atopico in un soggetto sano, pratica alla quale si ricorre solo nei casi eccezionali di dermatite generalizzata o di dermatografismo del soggetto allergico). Nel 1971 è stato dimostrato che questa prova può essere bloccata se il soggetto atopico è affetto da mieloma. Sempre nei primi anni settanta è stato osservato che i soggetti atopici hanno una minore predisposizione ad ammalare di tumori rispetto ai soggetti normali. A spiegazione di questo riscontro è stata invocata la maggiore capacità degli atopici di fabbricare anticorpi verso antigeni molto deboli come sono considerati quelli tumorali.

L'**ipersensibilità citotossica o reazioni di tipo II** si verifica quando l'anticorpo reagisce con parti antigeniche di una cellula o di elementi tissutali o con un antigene intimamente legato a cellule o a tessuti. Questa ipersensibilità è caratterizzata da aderenza a tutta la superficie della cellula da parte degli anticorpi (fenomeno detto "immunoaderenza") e questo si verifica solo dopo attivazione del complemento fino a C3. Segue la fase della fagocitosi della cellula o l'attivazione di tutto il sistema del complemento che dà citolisi o danno tissutale. La distruzione della cellula però può avvenire anche con altre modalità: per azione diretta dei macrofagi dopo fissazione tra anticorpo e antigene oppure per azione delle cellule linfatiche normali quando vengono a contatto con cellule in cui si è formato già un complesso immune. Quest'ultima modalità è stata osservata per la prima volta *in vitro* da P. Perman. Esempi di ipersensibilità citotossica sono le anemie emolitiche Coombs-positive, la leucopenia, il pemfigo e il pemfigoide, la miastenia grave, la malattia di Graves, l'anemia perniciosa, le reazioni trasfusionali, quelle dovute agli antigeni Rh, le reazioni ai trapianti.

L'**ipersensibilità da immunocomplessi o reazioni di tipo III** derivano da complessi circolanti solubili antigene-anticorpo (immunocomplessi) nella circolazione sanguigna e nei tessuti. Su questi complessi immunitari si fissano parti del complemento che si scindono in C3 e C5 formando anafilotossine che a loro volta liberano istamina con gli stessi risultati della reazione di tipo I (ipersensibilità immediata). Si possono anche verificare richiamo e conseguente accumulo di leucociti polimorfonucleati vicino al complesso immune e si può anche verificare la produzione del cosiddetto "fattore di Hagemann" che dà il via alla produzione delle chinine. Negli anni settanta questo tipo III di ipersensibilità è stato visto differenziarsi nel caso in cui c'è un eccesso di anticorpi che fa precipitare i complessi là dove si trova l'antigene e, nel caso contrario, dove i complessi immuni rimangono solubili dando reazioni generali e non locali. La prima evenienza, cioè quella data dall'eccesso anticorpale, è nota fin dai primi anni trenta sotto il nome di "*Fenomeno di Arthus*" che consiste in una forte reazione infiammatoria locale dovuta alla

inoculazione intradermica di una minima quantità di antigene in un animale già immunizzato e ricco di anticorpi in eccesso.

Un'altra manifestazione dovuta ad eccesso anticorpale è la “*Sindrome di Farmer*” che consiste in dispnea acuta a 6-8 ore di distanza da esposizione a polvere di fieno, che contiene actinomiceti termofili, di soggetti già sensibilizzati da questi. Un tipico esempio invece da eccesso di antigene è la grave malattia da siero che avviene in soggetti trattati con siero immune per la prima volta e la cui comparsa si verifica a distanza di 10 giorni circa dall'iniezione. La malattia da siero si manifesta con orticaria, febbre, albuminuria, infiammazione dei linfonodi e delle articolazioni. Altre manifestazioni morbose da eccesso di antigene sono alcune glomerulonefriti come quelle che insorgono nel lupus eritematoso sistemico dove i glomeruli renali ospitano complessi immuni fatti da DNA-siero e antiDNA-complemento.

L'**ipersensibilità ritardata** o cellulomediata o di tipo tubercolinico o **reazione di tipo IV** è l'antitesi dell'ipersensibilità immediata sia per la diversità delle lesioni sia perché si tratta di reazioni provocate da linfociti T sensibilizzati dopo il contatto con l'antigene. Si tratta di reazione da citotossicità diretta o da liberazione di linfocine o per combinazione di questi due meccanismi. Qui gli anticorpi sono fuori causa perché la responsabilità della reazione di tipo IV è tutta dei linfociti T sensibilizzati. Dal punto di vista morfologico la ritardata differisce dalla immediata per il fatto che la reazione si esplica in un addensamento di macrofagi e linfociti T mentre nell'immediata la reazione locale è connotata da edema che contiene scarse cellule. Poiché la ritardata non è causata da anticorpi non può essere trasferita da un soggetto all'altro trasfondendo il siero del primo soggetto nel secondo. Gli anticorpi della ritardata non sono umorali ma sessili, ben fissati cioè sulla superficie dei linfociti. Solo alcuni gruppi di microrganismi sono capaci di produrre un'ipersensibilità ritardata e questi sono i micobatteri tra i quali l'agente della tbc, le brucelle e le listerie. Anche malattie virali come la parotite epidemica e le parassitosi come l'idatidosi danno spesso fenomeni di ipersensibilità ritardata. Questa dunque fa comparsa in una serie abbastanza varia e numerosa di forme morbose e si può affermare che anche gli studi eseguiti su di essa sono stati fra i più numerosi e anche quelli che datano da più tempo, fin dai primi anni del Novecento. Negli ultimi anni molti ricercatori si sono dedicati ad approfondire le conoscenze sull'ipersensibilità ritardata da micobatterio della tubercolosi, da *pasteurella tularense* e da *listeria monocitogena*: questi agenti infettivi vengono inglobati e distrutti da linfociti e macrofagi attivati. Questi ultimi – soprattutto se venuti a contatto con il bacillo di Koch - si arricchiscono di mitocondri, si muovono più liberamente, sono più rapidi nel fagocitare i bacilli e mostrano un metabolismo accelerato. Di tipo ritardato è anche l'ipersensibilità da contatto che si manifesta in molte dermatiti allergiche. Le osservazioni fatte fino agli ultimi decenni del secolo hanno fatto considerare come verosimile il seguente meccanismo dell'ipersensibilità ritardata: sotto l'azione di un antigene i linfociti elaborano i fattori dell'ipersensibilità ritardata detti “mediatori linfocitari” (ne sono stati descritti almeno dodici); uno di questi mediatori fissa i macrofagi nel luogo dove i linfociti hanno reagito con il batterio-antigene e lì si svolge poi l'azione fagocitarla che distrugge il bacillo. La specificità di questo meccanismo sarebbe dunque tutta linfocitica mentre l'azione fagocitarla dei macrofagi rimarrebbe aspecifica. Sono state distinte tre fasi successive di cui la prima è quella in cui avviene il riconoscimento dell'antigene, la seconda vede la proliferazione cellulare, la terza e ultima è dominata dalle cellule immunogene attive che migrano verso l'antigene. La seconda fase ha sede nelle linfoghiandole ed è fino a questo punto che si può parlare di una reazione specifica. Nel 1971 K.R.David ha scoperto che i linfociti sensibilizzati (quelli della terza fase) una volta arrivati a contatto con l'antigene producono una proteina che blocca i macrofagi in arrivo impedendo loro di allontanarsi dalla zona che circonda l'antigene. David ha dato a questa

proteina la sigla MIF (fattore inibente la migrazione dei macrofagi) di cui abbiamo già fatto cenno. David ha anche calcolato che è sufficiente la quantità di MIF secreta da un solo linfocita per trattenere in situ ben 99 macrofagi.

I linfociti provvisti di attività specifica oltre al MIF producono altre sostanze proteiche studiate da D.C.Dumonde nel 1969, il quale ha dato loro il nome di *linfocchine*. Oltre a queste il linfocita sensibilizzato produce anche anticorpi specifici, interferone e il *transfer factor* di Lawrence che consente il trasferimento dell'ipersensibilità a soggetti normali.

Immunologia dei Trapianti

I trapianti sono il trasferimento di tessuti vivi o di cellule vive da un individuo ad un altro con lo scopo di mantenerne la vitalità e integrità funzionale. La storia dei trapianti, che risale a ripetuti tentativi seguiti da insuccessi in periodi molto lontani e precedenti il XX secolo, ha trovato in questo la codificazione delle leggi naturali che ne limitano grandemente e ne regolano le possibilità pratiche di attuazione con buone probabilità di successo. L'ostacolo principale infatti è la **reazione di rigetto** che distrugge il tessuto trapiantato poco tempo dopo il trapianto fatta eccezione per i trapianti di cornea e per quelli tra gemelli omozigoti, quindi identici. Nel 1946 Medawar fu il primo ad attribuire il fenomeno del rigetto a certi antigeni presenti nei leucociti del topo; è seguita dopo poco tempo la scoperta dei medesimi antigeni anche nell'uomo e, grazie agli studi di R. Cappellini, di J.van Rood e di J.R.Paine, si è accertato che le popolazioni si dividono in gruppi leucocitari diversi analogamente alle differenze dei gruppi sanguigni e che la loro importanza per i trapianti era identica a quella di questi gruppi. Gli antigeni dei gruppi linfocitari umani e di altre specie animali che danno l'esca al rigetto del trapianto sono stati ritenuti specifici e si è ipotizzato che tale diversità avesse un'origine genetica. Negli studi eseguiti alla fine degli anni cinquanta si è visto che gli antigeni che sono responsabili del rigetto si distinguono in deboli e forti con una conseguente azione di rigetto parimenti debole e forte. L'individuazione degli antigeni forti ha condotto alla loro origine nella espressione di geni del sistema HLA del braccio corto del cromosoma 6 dove sono stati riconosciuti due sottoloci da cui vengono espressi da uno a sei e dall'altro cinque antigeni forti. Le ricerche proseguite negli anni sessanta hanno dimostrato che un omotrapianto poteva essere tentato con probabilità di successo se tra donatore e ricevente gli antigeni forti erano identici perché per quanto riguarda gli antigeni deboli e la loro capacità di scatenare il rigetto era sufficiente deprimerli con i cortisonici, con l'azatioprina e la ciclofosfamide. L'individuazione delle fasi dell'ipersensibilità ritardata che si realizzano anche nel caso di rigetto del trapianto sono state ben descritte nel 1967 da J.Turk e D. Willoughby e ulteriormente precisate da K.R.David nel 1971 come ricordato più sopra a proposito dell'ipersensibilità ritardata. Tra i prodotti tossici dei linfociti attivati il più importante per la reazione di rigetto è risultato essere la *linfotossina* (LT) di peso molecolare 80.000-90.000 che provoca la distruzione finale delle cellule bersaglio come scoperto da G.A.Granger e coll. Nel 1961 B. Waksman ha scoperto il siero antilinfocitario che si è dimostrato efficace nell'inibire i fenomeni dell'ipersensibilità ritardata. Nei primi anni ottanta erano ancora in corso ricerche indirizzate a potenziare l'azione di questo siero limitando il bersaglio ai linfociti T e soprattutto alle sostanze da loro prodotte. Contemporaneamente la ricerca farmacologica si è puntata sull'obiettivo di una vera immunosoppressione specifica, ossia verso la distruzione selettiva delle sole cellule immunopotenti. Nel 1974 Cavallo scriveva che *“l'aspetto che oggi interessa di più gli immunologi è quello della fase finale dell'ipersensibilità ritardata identificabile nel momento in cui si verifica il danno”*.

Le conoscenze ottenute dalle ricerche sull'istocompatibilità (v. a pag.190 paragrafo apposito in questo stesso capitolo) hanno spiegato i meccanismi più intimi della reazione di rigetto e hanno postulato l'esecuzione in ogni programma di trapianto dell'esame di istocompatibilità o **tipizzazione**. Questa si prefigge di identificare sierologicamente gli antigeni HLA-A, B e C e, mediante una adeguata selezione dei donatori, di rendere minime le differenze antigeniche tra un possibile donatore e il ricevente. La concordanza di istocompatibilità degli antigeni HLA-A e B ha notevolmente aumentato la percentuale di sopravvivenza degli organi trapiantati tra individui imparentati. Negli ultimi decenni del Novecento si è inserito nei programmi di ricerca di istocompatibilità lo studio dell'antigene HLA-DR che, per quanto riguarda i trapianti di rene, sembra aver prodotto un tasso di sopravvivenza migliore nei pazienti che hanno dimostrato uno o due antigeni HLA-DR in comune con il donatore. Le tecniche di tipizzazione si sono arricchite di molte utili novità negli ultimi decenni del secolo come l'utilizzo di siero di donne pluripare ricco di anticorpi contro antigeni di trapianto fetale, di siero di pazienti che hanno già sofferto di un rigetto di precedente trapianto e l'uso di tecniche di ibridomi per produrre anticorpi monoclonali che sono fonte rapida e ricca di antisieri monospecifici per la tipizzazione.

Immunopatologia

Questa è una nuova branca della patologia generale che ha visto un rigoglioso sviluppo negli ultimi quaranta anni del Novecento. Essa studia i fenomeni dannosi acuti e le malattie dipendenti da alterato comportamento delle cellule immunocompetenti che producono le immunoglobuline. Sono infatti ben noti gli stati di deficit immunitario, le malattie immunoproliferative e i fenomeni di ipersensibilità di cui abbiamo appena parlato, nonché i deficit di tolleranza immunitaria che comprendono le "malattie autoimmuni" particolarmente studiate tra gli anni sessanta e novanta e da noi ricordate nel paragrafo dell'immunologia (vedi pag.201).

Ecco ora in sintesi la cronistoria e i dati tecnici che riguardano questi gruppi fatta eccezione per quelli già trattati in precedenza.

A – Deficit immunitari. Le conoscenze di fine secolo in questo campo sono principalmente dovute agli studi di R.A.Good e della sua scuola che hanno sistematizzato questo capitolo dell'immunopatologia arricchendolo anche con interessanti e fondamentali studi sull'immunologia di base. La ripartizione dovuta a Good distingue: 1° - ipogammaglobulinemia linfopenica detta "*di tipo svizzero*" che non permette la sopravvivenza al di là del primo anno di vita e che dipende dalla mancata evoluzione degli organi linfatici, l'immunodeficienza atasso-teleangectasica da mancata maturazione dei linfociti T e assenza totale delle IgA e sindrome di Di George in bambini che nascono senza timo e senza paratiroidi e che presentano sintomi molto gravi di ipoparatiroidismo (*tetania postnatale*); le ultime due sindromi citate espongono questi piccoli pazienti a un deficit immunitario verso i trapianti; 2° - ipogammaglobulinemie acquisite dell'adolescente e dell'adulto; 3° - deficit immunitari dovuti a tumori dei tessuti linfatici e del sistema reticolo-endoteliale.

B – Deficit della tolleranza: le malattie autoimmuni. Di questo argomento abbiamo già trattato nel paragrafo di pag.193 e seguenti intitolato "Tolleranza – Immunosoppressione – Malattie autoimmuni".

L' Infiammazione

Gli storici della medicina hanno raccolto molte prove del fatto che l'infiammazione era ben nota ai medici delle civiltà più antiche come quella mesopotamica o egiziana. Dai grandi medici romani Celso e Galeno è stata tramandata in tutti i testi di medicina fino ai giorni nostri la famosa sequenza di nomi latini che corrispondono ai cinque sintomi obbiettivi dell'infiammazione: *rubor, calor, tumor, dolor et functio laesa*. Il grande clinico olandese Boerhaave è stato il primo a ipotizzare che l'infiammazione è il risultato di una alterazione circolatoria dei piccoli vasi da impedimento del flusso ematico: era l'anno 1708. Poi nell'Ottocento ecco fronteggiarsi due grandi teorie contrapposte, quella di Virchow (1858) e quella di Cohnheim (1873). La prima, sostenuta con grandissima autorità sulla base di prolungate osservazioni microscopiche e sperimentali, riconosceva l'origine dell'infiammazione nelle lesioni delle cellule del tessuto malato e considerava l'essudato (siero o pus, fenomeni immancabili di ogni tipo di infiammazione) come una loro semplice conseguenza. Immaginando l'infiammazione come un bersaglio rotondo di un tiro a segno il centro era occupato dalla necrosi, il primo anello che lo circondava era dato dalle cellule in degenerazione, il secondo anello dall'essudato e l'ultimo anello, il più esterno, dall'iperemia o vasodilatazione.

La teoria molecolare di Cohnheim sosteneva invece che la prima lesione (il centro del bersaglio) consisteva in una modificazione fisico-chimica della parete dei capillari della zona infiammata mentre il primo anello che la circondava corrispondeva all'essudazione cellulare, cioè al passaggio di leucociti attraverso la parete vascolare alterata nella sua struttura fisico-chimica.

Queste due teorie hanno contato sostenitori fino a buona parte della prima metà del Novecento, e il loro dissidio ha cominciato a ridursi negli anni quaranta quando i patologi hanno preso a studiare l'infiammazione con la microscopia ottica *in vivo* così da poter seguire e valutare il comportamento della circolazione sanguigna nei vari momenti evolutivi della flogosi (Paget, 1948).

Il diffondersi dell'impiego della microscopia elettronica ha portato negli anni cinquanta a riconoscere esattamente le modificazioni ultrastrutturali delle cellule dei piccoli vasi nel corso dell'infiammazione ma a questo si sono aggiunte le nuove conoscenze sui mediatori chimici dell'infiammazione, sulla chemiotassi leucocitaria, sulle sostanze definite "*proflogistiche*", sulla fibroplasia infiammatoria e sulla displasia infiammatoria.

Seguiamo ora l'evoluzione storica delle conoscenze su essudazione, tessuto di granulazione, displasie e fibroplasia in base ad uno schema adottato dal patologo italiano contemporaneo Patrio Caselli nel periodo 1974-1975, riservandoci di completare poi l'iter degli studi sull'infiammazione da tale data alla fine del XX secolo.

L'**essudazione** si distingue quantitativamente dalla fisiologica trasudazione dai piccoli vasi verso l'interstizio e nelle cavità sierose con ricircolazione linfomonocitica continua per il pronunciato passaggio di liquido e cellule dal sangue ai tessuti e alle cavità sierose. L'essudazione si differenzia però anche per la composizione dell'essudato che, a differenza del trasudato, è particolarmente ricco di leucociti e proteine, specie nella fase acuta dell'infiammazione e ancor più nelle cosiddette "*angioflogosi*".

Nel 1953 P. Caselli e A. Caputo hanno puntualizzato la forte presenza di glicoproteine negli essudati, sostanze che sono invece del tutto assenti nel siero e nei trasudati. Questi stessi AA ma pure M. Campani nel 1942 e G.F. Baggi nel 1954 hanno osservato che la ialuronidasi riduce la viscosità tipica degli essudati e hanno quindi ritenuto di individuare nell'acido ialuronico, che è un polisaccaride macromolecolare di struttura lineare e alto

peso molecolare, il componente glucidico dei colloidi che produce la viscosità tipica di tutti gli essudati.

Uno dei problemi che è stato risolto nei primi anni sessanta è stato quello della individuazione della sede di filtrazione plasmatica e di migrazione leucocitaria. Vi si sono dedicati nel 1961 H.W. Florey e L.H. Grant, nel 1962 V.T. Marchesi e nello stesso anno G. Majno. Questi ricercatori sono riusciti a scoprire che il fenomeno essudatizio avviene prevalentemente a livello della parete delle venule. La sequenza dei momenti che portano all'essudazione è risultata essere la seguente: dapprima si forma un'iperemia attiva che è seguita da dilatazione delle arteriole e da apertura contemporanea dei cortocircuiti della rete capillare. Successivamente si osserva l'instaurarsi di alterazioni della parete delle venule come il distacco di tratti di endotelio e l'aggregazione piastrinica e leucocitaria accompagnata da piccole emorragie. Queste alterazioni ostacolano il deflusso venulare che esita in ristagno di sangue nel letto capillare a monte. I capillari allora si dilatano a causa di detto ristagno venoso e il plasma comincia a trapelare, dalla parete venulare già alterata, nell'interstizio.

L'osservazione di questi fenomeni al microscopio elettronico *in vivo* ha consentito nel 1964 a R.S. Cotran e coll. e nel 1970 a Marchesi di accertare che il passaggio del liquido avviene per allargamento dei tratti giunzionali delle cellule dell'endotelio delle venule. Majno e Palade nel 1969 e Florey nel 1970 hanno anche visto un aumento di microvescicole citoplasmatiche nelle cellule dell'endotelio e le hanno interpretate come effetto dell'aumentato passaggio transparietale di plasma. Gli stessi AA nel medesimo periodo hanno ipotizzato che il passaggio dell'essudato attraverso i tratti giunzionali avvenga per un allargamento di questi secondario a contrazione delle cellule endoteliali. Anche i leucociti passano attraverso gli spazi giunzionali della parete venulare.

Mentre il passaggio dei globuli rossi dal sangue circolante ai tessuti avviene per spostamento passivo, i leucociti migrano grazie ai loro movimenti ameboidi e, nel fenomeno detto "*marginazione*" che rappresenta il primo stadio della flogosi, aderiscono alla parete della vena fino a formare uno strato continuo che copre le cellule endoteliali. Diversi ricercatori hanno cercato di dare una spiegazione a questo fenomeno: i fattori che lo promuovono sono stati individuati nel 1957 da Mc Govern nella perdita di elettronegatività dell'endotelio, da Thompson e coll. nel 1967 nell'azione chelante degli ioni Ca^{++} e da Berthrong e Cluff nel 1958 nell'effetto esercitato sui leucociti dalle endotossine.

La microscopia elettronica ha documentato chiaramente il successivo impegno dei leucociti nell'attraversare le giunzioni intercellulari dell'endotelio fino a raggiungere lo stroma che divide l'endotelio dal peritelio. Williamson e Grisham nel 1961 hanno constatato che, a passaggio dei leucociti avvenuto, la riparazione della membrana basale avviene rapidamente. Segue un lento movimento dei leucociti e del plasma stravasato nell'interstizio in direzione dei vasi linfatici più vicini.

Quando la flogosi è determinata da germi piogeni (stafilococchi, streptococchi e in genere i germi produttori di pus) il processo di migrazione dei leucociti polimorfonucleati dura a lungo, se invece lo stimolo infiammatorio non è di natura piogena la durata si abbrevia ed è seguita da una migrazione di linfociti e monociti.

Nelle fasi più tardive della flogosi la presenza dei leucociti polimorfonucleati è molto ridotta e si riscontra invece la prevalenza di elementi linfocitici e fibroblastici specialmente alla periferia del focolaio. Nel 1970 Smith e coll. hanno documentato una stretta correlazione tra numero e tipo di leucociti presenti e composizione cellulare della linfa del distretto interessato dalla flogosi dove questa ha dato inizio ad un'esaltazione del

ricircolo della linfa. Nello stesso anno (1970) Koster e McGregor hanno portato la loro osservazione sui “*piccoli linfociti di vita breve*” che si accumulano nell’essudato flogistico dopo aver attraversato i piccoli vasi sanguigni in seno al tessuto infiammato: una volta preso contatto con la cellula endoteliale, questa solleva una parte del suo citoplasma per abbracciare il piccolo linfocita che così viene a trovarsi in posizione per così dire “intraendoteliale”; a questo punto il linfocita viene spostato verso la periferia e qui liberato dall’abbraccio della cellula endoteliale che lo rilascia nel connettivo perivascolare dove il linfocita tende a fermarsi più a lungo dei leucociti polimorfonucleati i quali invece si allontanano rapidamente dalla struttura perivascolare. Questo modo di attraversare la barriera endoteliale da parte dei piccoli linfociti è dunque completamente diverso da quello dei polimorfonucleati che la attraversano passando per le giunzioni rilassate.(v.sopra).

In tutti i focolai infiammatori l’osservazione microscopica rileva la presenza di caratteristici manicotti perivascolari formati in prevalenza da linfociti e monociti con pochi o pochissimi polimorfonucleati. Nelle infiammazioni croniche delle mucose e soprattutto di quella vaginale e vescicale è sempre presente una componente epiteliale da sfaldamento e lo stesso fenomeno si vede negli essudati delle sierose (pleurica, peritoneale,ecc.) dove si osservano grandi elementi mesoteliali; questi e l’epitelio dello strato basale della mucosa vaginale possono trarre in inganno un osservatore poco esperto perché simulano molto da vicino le cellule neoplastiche.

Negli anni cinquanta e sessanta sono stati intensamente studiati i mediatori chimici prodotti dai tessuti sede di flogosi, sostanze che sono responsabili dei vari aspetti dell’infiammazione: istamina e 5-idrossitriptamina vengono liberate dalla fibrinolisi e dall’anafilotossina (Ungar, 1956; Rocha e Silva, 1956) nonché dalla C1-esterasi (Rattnoff e Lepow, 1963), le chinine derivate dalle alfa-2-globuline (Spector, 1951), le prostaglandine che intervengono nella fase tardiva della flogosi dopo l’azione dell’istamina e delle chinine (De Rosa e coll., 1971), il fattore linfonodale LNPF che aumenta la permeabilità vascolare in molti tessuti ma specialmente in quelli del timo e dei linfonodi (Walters e Willoughby, 1965; Lykke e coll., 1967), i complessi antigene-anticorpo con attivazione del complemento nelle reazioni allergiche (Osler e coll. 1959 e 1961; Bier 1962; Ward e coll. 1965) e infine il complemento che diventa mediatore di lesioni flogistiche non allergiche quando certe sostanze come silice, trementina e carragenina lo fissano pur non avendo caratteri di antigene (Ferina e Caselli, 1961; Willoughby e coll., 1969).

La *chemiotassi*, termine introdotto nel 1891 da Leber, è la forza di attrazione chimica che induce i leucociti ad addensarsi nel connettivo perivascolare in area di flogosi. Le sostanze che provocano la chemiotassi sono state chiamate nel 1946 da McCutcheon “*citotassine*”. La chemiotassi riguarda la direzione del movimento dei leucociti e non la velocità del loro spostamento. I batteri sia vivi che morti rappresentano *in vivo* uno stimolo chemiotattico positivo, ma non tutti lo dimostrano anche *in vitro*. Molti polisaccaridi, come il glicogeno e l’amido, possiedono azione chemiotattica positiva ma si conoscono molte altre sostanze chimiche che possiedono tale capacità (v.avanti). Quelle che esercitano chemiotassi sui polimorfonucleati hanno un peso molecolare che oscilla tra 5000 e 35.000 daltons mentre le citotassine che fanno muovere i mononucleati hanno un peso molecolare molto più elevato, arrivando anche sopra i 200.000 daltons. Ci occuperemo di queste sostanze più avanti nel paragrafo dedicato ai mediatori cellulari e subcellulari dell’infiammazione acuta.

Quando tra gli elementi cellulari migrati nel focolaio flogistico prevalgono linfociti e monociti il tessuto connettivo perivascolare riceve un forte stimolo a proliferare dando vita a cellule di tipo istiocitario, fibroblastico ed endoteliale, cioè ad un tessuto patologico che è chiamato **tessuto di granulazione**. Lo studio al microscopio elettronico *in vitro* e *in vivo* ha consentito a J.Smith e coll. di seguire nei minimi dettagli il processo di migrazione di

sempre nuovi elementi per lo più mononucleati dal sangue al focolaio infiammatorio e lo allontanamento dallo stesso degli elementi polimorfonucleati dirigendoli verso i vasi linfatici. Infatti la composizione del tessuto di granulazione cambia progressivamente e sostanzialmente dall'inizio alla fine della flogosi. Da una netta prevalenza iniziale di polimorfonucleati si passa nell'arco di dieci giorni ad una composizione stabile fatta di monociti, fibroblasti, cellule periteliali. L'aumento progressivo della quota di mononucleati è in parte un fenomeno assoluto perché numerico e in parte relativo perché legato alla diminuzione dei polimorfonucleati. Il tessuto di granulazione è fatto di una doppia maglia larga di capillari sanguigni e linfatici strettamente connessi con un'altra rete a maglie strette formata da fibre reticolari e collagene. E' nelle lacune lasciate libere da queste due maglie che abitano gli elementi cellulari del tessuto di granulazione.

L'intenso traffico cellulare caratteristico di questo tessuto neoformato è stato studiato nel 1959 in maniera magistrale dal patologo tedesco E. Letterer, il quale ne ha descritto due fasi, la prima caratterizzata da incremento cellulare in arrivo dal sangue e la seconda da decremento cellulare con presenza di materiali necrotici e migrazione verso le vie linfatiche. La nutrizione del tessuto di granulazione, che risponde a notevoli esigenze metaboliche rispetto al tessuto connettivale normale, è garantita dalla neoformazione di piccoli vasi che nelle mucose e nella cute possono assumere aspetti pseudoangiomatosi. Letterer si è soffermato sul caratteristico aspetto granulare e sui minuti caratteri del singolo "*granulum*" di tessuto flogistico neoformato. Quando il tessuto di granulazione non è più giovane prepondera la presenza di fibroblasti e di fibre collagene mentre la componente vascolare si è rarefatta. Quando capita di osservare un certo equilibrio fra elementi in arrivo dal sangue e numero delle cellule che scompaiono, questo è dovuto alla lentezza di evolvere del processo di guarigione. I cheloidi sono la tipica manifestazione di un tessuto di granulazione esuberante che continua ad arricchirsi di fibre collagene mentre la componente cellulare rimane ferma intorno ai vasi.

Numerosissimi sono i fattori trofici del tessuto di granulazione finora riconosciuti. Hanno cominciato a parlarne A.Boivin e A.Delanoy nel 1948 dopo averne studiato la natura chimica da essi riconosciuta nei nucleoprotidi, ribonucleici e nucleotidi. Nel 1962 H.Rosen e coll. hanno descritto *in vitro* l'accelerazione della genesi dei fibroblasti in ultrafiltrato di liquidi del tessuto di granulazione in ferite sperimentali praticate sui cani. Negli anni 1966 e 1967 Y. Ichikawa e coll. hanno studiato *in vitro* il meccanismo che regola lo sviluppo di colonie di macrofagi e granulociti, scoprendo un fattore prodotto dai macrofagi che inibisce lo sviluppo di altre cellule nel focolaio flogistico ma anche fattori di crescita per i macrofagi prodotti dai fibroblasti. Negli stessi anni Q.L.Jones ha descritto la trasformazione blastoide dei linfociti in seno a colture miste di leucociti per effetto di sostanze elaborate dai polimorfonucleati: questa trasformazione blastoide diventava poi a sua volta responsabile della formazione di plasmacellule e di macrofagi. Nel 1969 A. Heppleston, studiando il tessuto flogistico provocato da silicio, ha individuato un fattore prodotto da macrofagi che stimola i fibroblasti a produrre fibre collagene. Nel 1970 P. Stastny e M. Ziff hanno identificato un fattore che inibisce la migrazione dei macrofagi, sostanza che è termolabile e dializzabile e che ha un peso molecolare di circa 4000 daltons. Nel medesimo anno R. Bouček e T. Alvarez hanno riconosciuto per primi nella 5-idrossitriptamina un potente fattore di crescita per i fibroblasti.

La composizione citologica di un tessuto di granulazione è per P. Caselli (1975) "*la somma algebrica degli effetti positivi e negativi dei numerosi fattori che influenzano il decorso con andamento subacuto o cronico*". Quest'ultimo è stato identificato nel 1966 da W. Spector e A. Lykke nella persistenza di macrofagi e fibroblasti. I focolai di flogosi delle forme allergiche sono particolarmente ricchi di cellule eosinofile che si raggruppano insieme ad istiociti e cellule giganti polinucleate. H. Spencer che si è particolarmente

dedicato alla patologia del tessuto polmonare ha descritto nel 1968 focolai flogistici ricchi di eosinofili nelle infestazione da ascaridi e da filaria, nelle allergie ai pollini e verso altre sostanze chimiche e vegetali. Questo tipo di flogosi eosinofila del polmone è anche nota come “*sindrome di Loeffler*” dal nome del famoso batteriologo tedesco vissuto tra il 1855 e il 1915, che ottenne per primo in coltura pura il bacillo della difterite che reca anch’esso il suo nome.

La mobilitazione dei leucociti eosinofili dal midollo osseo è operata dall’*eosinophil releasing factor* che compare nel sangue dopo inoculazione di larve di elminti come descritto da C. Spry nel 1971, il quale ha anche osservato che la durata del ciclo maturativo degli eosinofili in seno al midollo osseo è ridotta sotto stimolo elmintico ad un terzo del tempo normale. Nel 1964 Litt e nel 1966 Ward hanno prospettato l’ipotesi che l’iperproduzione di eosinofili sia anche da attribuire allo stimolo chemiotattico dato dal complesso antigene-anticorpo in presenza del complemento attivato. Nelle flogosi allergiche di tipo IV (ipersensibilità ritardata) Wolf-Jürgensen ha descritto, accanto a quella degli eosinofili, una forte presenza di mastcellule con le caratteristiche granulazioni basofile del loro citoplasma ben evidenziate dal blu di toluidina e dalla tionina. Nel 1969 Mann ha osservato come gli eosinofili tendono a collocarsi intorno alle mastcellule e a fagocitarne i granuli che esse scaricano nello spazio extracellulare. Nel 1972 Dvorak e Mihm hanno sostenuto in base alle loro ricerche *in vitro* che l’interazione tra linfociti sensibilizzati ed antigene costituiscono nel tessuto di granulazione un fattore di attrazione per i basofili. D’altra parte le altre numerose ricerche condotte *in vitro* nel corso degli anni sessanta e settanta hanno dimostrato che proprio in seno al tessuto di granulazione avviene la trasformazione dei linfociti sensibilizzati in mastcellule e dei monociti in istiociti.

La cronicizzazione di un tessuto di granulazione è stata a lungo studiata da W.G. Spector che ha pubblicato i risultati delle sue ricerche su questo tema nel 1968. Spector ha riconosciuto il meccanismo patogenetico nel persistere della sostituzione degli elementi cellulari prossimi alla necrobiosi da parte di nuovi elementi che migrano dal sangue o che vengono prodotti in seno allo stesso focolaio flogistico. Ciò è stato dimostrato con la timidina marcata che viene captata elettivamente dagli elementi cellulari che si trovano nella fase di sintesi premitotica. Questa continua moltiplicazione di istiociti, che sono il risultato della modulazione dei monociti in seno al focolaio, produce un tessuto di granulazione di struttura compatta. Le cause di questa evoluzione verso la cronicità sono state individuate da Spector nelle flogosi provocate da macromolecole o da materiale polveroso insolubile o dalla persistenza di lesioni distruttive incluse nel tessuto di granulazione. Le altre possibili cause studiate e riconosciute possibili da Spector sono l’intervento di fenomeni immunitari che complicano la flogosi e dipendono dal carattere antigenico dell’agente patogeno o dalla capacità dei tessuti lesi di assumere caratteri antigenici, la presenza nel focolaio flogistico di materiali non biodegradabili e infine l’esistenza di alterazioni circolatorie ematiche e linfatiche.

La riparazione delle ferite che è prevalentemente dovuta all’attività proliferativa del tessuto di granulazione è anche in parte il risultato di un restringimento dei margini di ferita detto “*contrazione delle ferite*”. Il suo meccanismo è stato oggetto nel 1971 di ricerche soprattutto da parte di G. Majno e della sua scuola. Questi AA hanno scoperto che il fenomeno del restringimento dei bordi delle ferite ha inizio dal secondo giorno, cioè dal momento in cui l’essudato comincia a diventare tessuto di granulazione e che la capacità di contrarsi di questo tessuto va ricondotta alla sua ricchezza di strutture vascolari. Gli elementi che esercitano questa particolare attività contengono actinmiosina ma non sotto forma di fibrille parallele come si osserva normalmente in seno al tessuto muscolare striato. Majno e coll. hanno osservato che su questi elementi del tessuto di granulazione esercitano stimoli a contrazione le stesse sostanze che producono la contrazione nel tessuto

muscolare liscio. Per tutti questi motivi hanno proposto di denominare questi elementi ad attività contrattile “miofibroblasti”.

Quando un processo flogistico si prolunga nel tempo si possono osservare risultati di diversa forma ed entità: l'ipertrofia flogistica che interessa particolarmente le mucose, la metaplasia che interessa particolarmente il collo uterino e le displasie infiammatorie che comprendono accrescimenti cellulari benigni dei tessuti connettivali fibrosi collageni, ossei, periostei, peridontali, ghiandolari e cutanei. Quello delle **displasie infiammatorie** delle quali ora ci occuperemo è un campo vastissimo di manifestazioni postinfiammatorie che deve questa sua denominazione ai patologi italiani P.Redaeli e a C. Cavallero che l'hanno proposta nel 1950.

Tra le molte forme di displasia flogistica gli studiosi di questa materia (anatomopatologi, dermatologi, ginecologi, ecc.) hanno contribuito con i loro studi a dare dignità di displasie autonome e ben differenziate tra loro sul piano clinico e su quello istologico a molte forme di comune e di più rara osservazione. Una grande messe di pubblicazioni su questo tema porta le firme – soprattutto nel corso degli anni cinquanta – di gran parte degli AA italiani: il granuloma teleangectasico della cute delle parti scoperte e la caruncola del meato uretrale femminile hanno un tessuto di granulazione caratteristicamente ricco di lacune vascolari e di plasmacellule; il cheloide – più frequente nelle razze negre e negli europei meridionali – è caratterizzato da un eccesso di fibre collagene in ialinosi ed è stata ipotizzata la sua origine da scarsa produzione di ormoni corticosurrenali; le epulidi del paradenzio sono ricche di cellule giganti plurinucleate e di goccioline lipidiche; i “tumori bruni” delle ossa sono così detti per il particolare colore scuro del loro tessuto di granulazione. La distinzione istologica fondamentale fra polipi adenomatosi (molto frequenti quelli della mucosa nasale, intestinale e uterina) e papillomi consiste nella diversa disposizione dello stroma infiammatorio che nel polipo è disordinato mentre nel papilloma ha una disposizione coordinata multipla secondo assi ben delimitati dagli strati epiteliali; gli accrescimenti verrucosi sono dovuti ad un eccessivo sviluppo distrofico dell'epitelio sollecitato da continui stimoli da parte del connettivo sottostante che è sede di flogosi cronica; tra queste discheratosi è stata più volte segnalata la possibilità di errori diagnostici tra cheratoacantoma o pseudoepitelioma seborroico ed epitelioma spinocellulare. Nel 1958 F.Ghadially ha descritto l'evoluzione progressiva del tessuto di granulazione del cheratoacantoma in tessuto cicatriziale fibrosclerotico.

La **fibroplasia** è stata considerata da P. Caselli (1976) il risultato dell'aggregazione di colloidali collageni in fibrille reticolari e collagene dentro tessuti alterati da flogosi cronica. Gli studi che sono stati eseguiti sulla patogenesi della fibroplasia – che si esprime nei cheloidi cicatriziali e nelle lesioni croniche da silice - hanno di volta in volta individuato i fattori causali dell'essudazione linfocitica (A.Dumont 1965) per la facile trasformazione dei linfociti in fibroblasti, in una interazione fra macrofagi e fibroblasti (W. Spector, 1973), nei fattori H da idrossiprolina isolati nel liquido dove è avvenuta la fagocitosi da silice (A. Heppleston, 1967 e 1969). L'ipotesi patogenetica di Heppleston, che è basata su lunghe ricerche intorno alla formazione delle fibrosclerosi da silice, è quella che sembra meglio adattarsi a spiegare anche la fibroclosi da lesioni tubercolari e quella da elminti.

Mediatori cellulari e subcellulari dell'infiammazione acuta

Gli studi di biochimica condotti sui mediatori dell'infiammazione acuta nel periodo 1970-1983 hanno prodotto un'enorme messe di risultati che ha consentito di conoscere a livello molecolare i meccanismi che regolano la risposta infiammatoria. Nel 1983 J.Solomkin e R.Simmons hanno raccolto i contenuti essenziali di questi studi nei seguenti principi generali: 1° - ogni componente della risposta infiammatoria non cellulare è inserito in una catena di proenzimi che vengono attivati in enzimi nel corso di un processo che ha due fasi

che si susseguono, il riconoscimento e l'amplificazione; 2° - Fra i molti componenti enzimatici del processo flogistico si verificano interazioni molteplici che modulano esattamente la risposta infiammatoria; 3° - la risposta infiammatoria è una fase-gel che avviene entro una matrice collagena (fibrina) che rappresenta un ottimo mezzo per impedire la diffusione batterica e rendere più efficace l'azione della risposta cellulare. Questa piattaforma macromolecolare fissa è indispensabile per l'attivazione del fattore di Hagemann, della cascata enzimatica della coagulazione e del complemento; 4° - la prima risposta infiammatoria è in buona parte aspecifica e viene indotta dagli antigeni indipendentemente dal fatto che il sistema immunitario conosca o meno l'antigene. Questo comporta anche il rischio di distruzione di tessuto locale sano vicino alla sede della flogosi.

Le ricerche pubblicate da R. Wiggins e coll. nel 1979, da C. Cochrane e coll. nello stesso anno e da M. Silverberg e coll. nel 1980 hanno messo in luce un fenomeno della fase di riconoscimento che è stato denominato "attivazione da contatto" (*contact activation*) del plasma dovuta al depositarsi sulla superficie endoteliale a carica elettrica negativa di un complesso macromolecolare formato da quattro sostanze proteiche normalmente presenti nel plasma stesso: il fattore di Hagemann, la precallieina, il chininogeno di alto peso molecolare (HMW) e il fattore XI della coagulazione. Di queste quattro sostanze proteiche la prima ad attivarsi a contatto con la superficie elettricamente negativa dell'endotelio è il fattore di Hagemann o fattore XII della coagulazione che si attiva in due forme, una di 30.000 daltons che è un potente attivatore della precallieina, l'altra più debole che attiva il fattore XI della coagulazione e il complemento C1. La precallieina attivata libera la callicreina che a sua volta attiva il chininogeno HMW dando la bradichinina, il plasminogeno che dà la plasmina e la prorenina che si trasforma in renina che a sua volta trasforma l'angiotensinogeno in angiotensina I. La bradichinina produce vasodilatazione, aumento della permeabilità capillare e forte dolore locale. Nel 1981 B. Ghebrehiwet e coll. hanno scoperto che il fattore di Hagemann attivato – probabilmente nella sua forma alfa - attiva la via classica del complemento come la plasmina con la conseguente produzione di C3a, C4a e C5a che sono altrettante potenti anafilotossine. Fin qui i meccanismi enzimatici che presiedono alla fase detta del riconoscimento della lesione tissutale raggiungendo il massimo della loro espressione nell'attivazione del complemento che fa da ponte di passaggio dalla fase umorale a quella cellulare dei meccanismi di difesa e dalla fase di riconoscimento a quella di amplificazione.

La attivazione della via classica del complemento crea la risposta vascolare locale alla contaminazione batterica (M.Frank, 1979; T.Hugli, 1979). La via alternativa o properdinica del complemento è stata vista entrare in funzione quando non esistono per l'antigene immunoglobuline specifiche preformate come è il caso delle infezioni da germi Gram-negativi (K.Whaley e coll. 1981). Gli studi di M.Pangburn e coll. e di K.Whaley e coll. pubblicati rispettivamente nel 1977 e nel 1981 e riguardanti la cascata enzimatica della via alternativa del complemento hanno dimostrato che l'attivazione del frammento C3 da parte della C3-convertasi rappresenta il passaggio enzimatico centrale nel regolare l'attivazione del complemento. Se l'attivazione sfugge a questo controllo potrebbero verificarsi danni tissutali importanti ma contro questa evenienza sono presenti diversi inibitori dei quali il più diffuso è quello siglato C1 INH.

Il reclutamento dei fattori cellulari dell'infiammazione rappresenta la seconda e tarda forma della risposta infiammatoria acuta. Il fatto più importante di questo reclutamento è la produzione del frammento C5a del complemento. Nel 1981 D.Chenoweth e coll. hanno puntualizzato che, anche se C5a è un'anafilotossina molto potente, appena essa si diffonde liberamente nello spazio vascolare viene trasformata da una carbossipeptidasi circolante in C5a *des arg* per distacco di una molecola residua di arginina dalla sua terminazione azotata. Questa C5a *des arg* perde ogni attività vasomotoria ma conserva il 10% della

capacità originaria di legare i leucociti neutrofili ai quali aderisce rapidamente nel sangue circolante per mezzo di recettori specifici. Nel 1979 C.Smith e coll. e nel 1980 Fletcher e coll. hanno esposto neutrofili normali a concentrazioni di C5a submassimali per la chemiotassi e hanno visto un aumento del movimento leucocitario non direzionale ma anche un incremento di aggregazione e aderenza con una disseminazione (esocitosi) ridotta del loro contenuto granulare. S. Zigmond che nel 1978 si è pure dedicato allo studio della chemiotassi dei leucociti ha osservato che, sotto l'azione di fattori chemiotattici, essi modificano la loro forma presentando una parte anteriore larga e una coda sottile con una nuova disposizione dei recettori i quali si allineano tutti sul davanti. Dalle ricerche di B.West e coll. pubblicate nel 1974 e di G.Weissmann e coll. pubblicate nel 1980 si evince che i neutrofili dell'uomo contengono almeno due gruppi separati di granuli, ognuno dei quali resi attivi da stimoli diversi: i granuli primari detti anche azzurrofilo sono i veri e propri fagolisosomi contenenti enzimi per la digestione degli organismi fagocitati e i granuli secondari che contengono lattoferrina, una proteina che lega la vitamina B12, l'enzima collagenasi, alcune proteasi neutre e altre sostanze destinate ad essere esocitate. Se esposti a stimoli solubili di vario genere i leucociti neutrofili scaricano anzitutto i granuli secondari sotto azione della frazione del complemento C5a (R.Snyderman e coll. 1970). Anche la comparsa di nuovi recettori sulla superficie esterna dei leucociti è espressione del superficializzarsi dei granuli secondari ad opera di C5a; questi recettori sono glicoproteine inserite nella membrana lipidica del leucocita. Si deve a molti AA degli anni settanta il riconoscimento che tutte le funzioni dei leucociti neutrofili sono mediate dalle molecole dei recettori disposti sulla loro superficie esterna e l'identificazione tra questi recettori di quelli specifici per C5a, per prodotti di C3, per immunoglobuline e peptidi-N-formilati. Nel 1975 E.Schiffman e coll. hanno descritto questi ultimi come peptidi formilmetionilici (FMLP) prodotti dai batteri e dotati di fortissima azione chemiotattica. Nel 1980 G.Weissmann e coll. hanno osservato che l'attacco tra le parti "leganti" della molecola immunologicamente importante e il recettore produce la trasduzione del segnale al citoplasma modificando la permeabilità di membrana e alterando il pH, l'AMP ciclico e la concentrazione degli ioni Ca^{++} endocellulari.

La degranulazione del neutrofilo che segue a basse concentrazioni di C5a fa aumentare il numero di recettori per i peptidi formilmetionilici; E.Goetz e coll. hanno dimostrato a questo proposito che le basse concentrazioni di C5a fanno aumentare il numero dei recettori specifici C3b (opsonici). Le capacità chemiotattica, fagocitaria e microbica che seguono all'azione di C5a possono essere controllate modificando il numero di recettori sulla faccia esterna della membrana del leucocita neutrofilo.

Tra 1974 e 1980 molti AA, tra i quali T.Stossel, S.Silverstein, D.van Epps, I.Goldstein, J.Gallin e i rispettivi collaboratori, hanno pubblicato interessanti studi sui meccanismi più intimi della fagocitosi e da essi si apprende che per essere fagocitato un microorganismo per prima cosa deve venire rivestito con immunoglobuline oppure con il prodotto C3b del complemento attivato. E' infatti questo rivestimento che con i propri C3b può legarsi ai recettori di superficie del neutrofilo targato C3b. Se il numero di recettori legati è sufficiente il leucocita comincia a muoversi per circondare il microorganismo e inglobarlo dentro ad un vacuolo chiamato "fagosoma". I granuli primari azzurrofilo si fondono allora con il fagosoma e vi scaricano dentro il loro contenuto. Aumentando il numero dei recettori opsonici (IgG e C3b) sulla superficie del neutrofilo o facendo un grappolo di tutti i recettori presenti, la pregressa esposizione a C5a fa aumentare la velocità della fagocitosi e della capacità microbica di una popolazione di neutrofili e questo è stato ottenuto *in vitro* dopo esposizione a C5a o ai FMLP.

Nello studiare i fenomeni di disattivazione della chemiotassi da parte dei neutrofili umani R.Nelson e coll. hanno scoperto nel 1979 che la disattivazione aspecifica è il risultato di

una iperstimolazione che fa degranulare anzitempo gli azzurrofilo nello spazio extracellulare cosicché le conseguenti reazioni ossidative danneggiano la membrana cellulare dei neutrofili. Sarebbero questi danni e la ultrapolimerizzazione dei microtubuli citoplasmatici a provocare in definitiva la disattivazione della chemiotassi leucocitaria.

Nel 1983 Solomkin e Simmons, alla luce di tutte le scoperte fatte in questo campo fino allora, riassumevano così gli effetti dell'attivazione leucocitaria provocata dai mediatori proteici della flogosi: 1° - alterazione dell'ambiente microvascolare locale (bradichinina e altre chinine, prodotti di degradazione del fibrinogeno e azione di C3a, C4a, C5a), 2° - costruzione di una trama di fibrina per i mediatori cellulari della flogosi (cascata estrinseca e intrinseca della coagulazione), 3° - sostanze che creano chemiotassi locale (C5a, chinine, C5a *des arg*), 4° - produzione di segnali sistemici per attivare i leucociti del sangue circolante.

Le ricerche personali di questi due AA hanno poi portato all'inattesa scoperta che la risposta infiammatoria alle ustioni estese e alle gravi sepsi addominali può essere soppressa – con esito spesso letale - da grave disfunzione leucocitaria dovuta a ridottissima chemiotassi e rivelabile dai minimi tassi di chemiluminescenza pur in presenza di livelli plasmatici molto alti di C5a. Del resto già nel 1977 P.Craddock e coll. e nel 1981 K.Skubitz e coll.- avevano osservato i medesimi fenomeni apparentemente paradossi a livello polmonare dopo emodialisi. Infine Hammerschmidt e coll. avevano a loro volta descritto elevati tassi di C5a in pazienti che poi sarebbero andati incontro alla sindrome da insufficienza respiratoria acuta dell'adulto di ben nota gravità prognostica. Rimane dunque accertato, grazie a queste ultime scoperte, che esiste un rapporto inversamente proporzionale tra chemiotassi efficiente e tasso plasmatico di C5a (almeno quando quest'ultimo è molto elevato) con notevoli ripercussioni negative sul piano clinico.

Leucociti e Piastrine - Leucotrieni e Prostaglandine

Nel 1924 E. Starling ed E. Verney nel perfondere un rene isolato con sangue defibrinato hanno notato che la resistenza vascolare del rene aumentava mentre la diuresi si riduceva rapidamente e questi due fenomeni scomparivano quando i polmoni dell'animale venivano reinseriti nel circuito vascolare che interessava il rene. I due ricercatori hanno ipotizzato che il polmone faceva da filtro eliminando sostanze tossiche o altri metabolici responsabili della diuresi ridotta e dell'aumento della resistenza vascolare.

Nel 1981 S.Coughlin e coll. hanno dimostrato che l'endotelio dei capillari polmonari produce sostanze molto attive sulle fibrocellule muscolari lisce dei bovini con produzione finale di prostaciclina – ossia della prostaglandina PGI₂ – che aumenta il flusso sanguigno mantenendo fluido il sangue. Si è spiegato così a 57 anni di distanza il fenomeno osservato da Starling e Verney e ha preso corpo la loro vecchia tesi che ora – anche se non ancora sufficientemente suffragata da reperti anatomopatologici univoci e da osservazione di sequestri di microaggregati nel filtro polmonare – è condivisa da altri AA come Herbert Hechtman della Harvard Medical School (1983). Infatti le sepsi, le tossiemie di origine metabolica, la dialisi renale e altre condizioni patologiche producono intrappolamenti di piastrine e leucociti nei polmoni come è stato dimostrato rilevando la netta diminuzione di numero di questi elementi nel sangue venoso che lascia il piccolo circolo per raggiungere il cuore sinistro.

Il gruppo delle **prostaglandine (PG)** di cui la prostaciclina (PGI₂) fa parte e al quale abbiamo già accennato a pag.216, svolge un suo ruolo anche nell'infiammazione contemporaneamente a quello svolto dai leucotrieni, pur essi derivati dal catabolismo dell'acido arachidonico dei fosfolipidi di membrana (un acido grasso insaturo essenziale presente nei depositi di grasso e nei fosfolipidi di membrana di moltissimi tessuti dei

Vertebrati). La liberazione di acido arachidonico dai fosfolipidi di membrana è operata dalla fosfolipasi con la collaborazione del monofosfato di adenosina e di ioni Ca^{++} ; quando, a sua volta, l'acido arachidonico così liberato viene catalizzato dalla lipoossigenasi si verifica la cascata enzimatica che conduce ai prodotti terminali chiamati leucotrieni (LT) tipici mediatori della risposta infiammatoria dei leucociti; quando invece la trasformazione dell'acido arachidonico è operata dalla cicloossigenasi i prodotti terminali sono le prostaglandine (PG) e i trombossani (Tx).

Le ricerche di biochimica condotte nella seconda metà del Novecento hanno portato all'identificazione delle prostaglandine PGA_1 , PGA_2 , PGE_1 , PGE_2 , PGD , PGD_2 , PGF , $\text{PGF}_2\alpha$ e PGI_2 detta anche **prostaciclina**.

Il trombossano TxA_2 deriva direttamente dalla prostaglandina PGG_2 per catalisi operata dalla trombossanosintetasi. Dal TxA_2 deriva il TxB_2 che è una sostanza molto più stabile del TxA_2 che viene prodotto dalle piastrine e dai leucociti. Le mastcellule e i leucociti basofili producono la PGD_2 mentre i linfociti e i monociti danno la PGE_2 . Il tessuto polmonare elabora la prostaciclina (PGI_2), il trombossano A_2 e diversi leucotrieni (LTC_4 e LTD_4) i quali, analogamente al loro precursore HETE, sono fortemente vaso- e broncoattivi e compongono la cosiddetta “sostanza di reazione lenta” dell'anafilassi.

Dunque leucociti, piastrine e tessuto polmonare sono ben attivi nella risposta infiammatoria, in quella immunitaria e inoltre producono effetti metabolici, endocrini, ematologici, cardiocircolatori e renali di non poco rilievo.

Daremo ora alcuni cenni sull'apporto dato a questo vasto tema non ancora ben definito dagli studi e dalle molte ricerche sperimentali delle ultime decadi del Novecento.

H.Hechtmann nel 1983 ha pubblicato i risultati dei suoi studi sull'aderenza delle piastrine al tessuto sottoendoteliale e dei margini endoteliali delle ferite chirurgiche fresche e sul processo di amplificazione che segue ai primi momenti immediatamente successivi alla lesione. Questo autore ha potuto così confermare il deformarsi di queste piastrine per effetto del difosfato di adenosina (ADP) e una diminuzione dell'attività ciclica del monofosfato di adenosina (cAMP) che erano già stati descritti nel 1981 da J.Harlan e coll. Secondo Hechtmann sarebbero proprio queste le cause che danno esca all'attivazione della fosfolipasi di membrana che porta alla liberazione dell'acido arachidonico e quindi alle prostaglandine, ai trombossani e ai leucotrieni come citato sopra. Ma nello stesso focolaio viene anche generata trombina, la quale, insieme ad ADP e a trombossano A_2 , recluta molte altre piastrine dal sangue circolante nel processo di coagulazione. Le piastrine emettono ADP e 5-idrossitriptamina, facilitate in tal senso dagli ioni Ca^{++} dei depositi intracellulari. Pochi minuti dopo l'esecuzione di un'incisione chirurgica – e quindi in qualsiasi lesione traumatica acuta – si verificano sintesi e rilascio di prostaciclina (PGI_2). Questa si fissa su recettori specifici della membrana delle piastrine, attiva l'enzima adenilato-ciclastasi che fa aumentare i livelli di cAMP piastrinico (T.Utsunomiya e coll. 1981). La prostaciclina inibisce *in vitro* l'aggregazione primitiva e secondaria influenzando sui depositi endocellulari di Ca^{++} . Questi e l'aumento di cAMP inibiscono l'attività della fosfolipasi A_2 e dunque deprimono la sintesi del trombossano A_2 .

La sintesi della prostaciclina è stimolata dalla trombina e dalle proteasi rilasciate dalle piastrine (B.Weksler e coll.1978) come pure dagli endoperossidi di natura piastrinica. La prostaciclina è importante non solo perché mantiene fluida la corrente sanguigna inibendo l'aggregazione piastrinica ma anche perché stimola l'attività fibrinolitica come dimostrato da Utsunomiya nel 1981, il quale ha osservato che trenta minuti dopo l'esecuzione di una laparotomia la concentrazione di prostaciclina nel plasma è tale da far salire il prodotto d'idrolisi 6-ketoprostaglandina F1 alfa da 35 pg/ml a 950 pg/ml con una caduta della

pressione arteriosa media da 101 a 89 mmHg. Contemporaneamente è stato osservato un aumento della gittata cardiaca da 2,6 l/min.m² a 3,1 l/min.m². Tutte queste notevoli modificazioni e l'inibizione dell'aggregazione piastrinica vengono annullate se, dodici ore prima della laparotomia, sono stati somministrati per os 650 mgr.di aspirina. Utsunomiya ha anche osservato che un'infusione di prostaciclina di 100 ng/Kg.min. per un'ora in cani nei quali era stata previamente provocata un'embolia polmonare, riduceva la sintesi del vasocostrittore trombossano A₂ e faceva cadere il tasso di trombossano B₂ nel giro di un quarto d'ora. In questi esperimenti si è anche accertato che la prostaciclina esercita azione antagonista nei riguardi della 5.idrossitriptamina inibendo la sua assunzione da parte del tessuto polmonare e che mantiene la pervietà dei vasi del piccolo circolo dopo embolizzazione a differenza di quanto osservato nei soggetti di controllo.

Per quanto riguarda il trombossano A₂ le ricerche eseguite negli anni ottanta da E.Smith, A.Lefler, B. Dunham, T.Janssen, Utsonomiya e rispettivi collaboratori hanno accertato la sua scarsa stabilità legata alla brevissima emivita (30 secondi), la sua azione amplificatrice sull'aggregazione piastrinica e sull'emostasi spontanea da vasocostrizione, la sua responsabilità nel formarsi dei trombi e di un fattore che deprime il potere contrattile del cuore e nell'aumento dello spazio morto respiratorio dopo embolia polmonare. La somministrazione pre-embolia di imidazolo o di indometacina preveniva quasi tutti questi effetti negativi.

Abbiamo finora focalizzato l'attenzione sulla prostaciclina che è – come già detto – la PGI della grande famiglia delle prostagladine isolate la prima volta come estratti liposolubili della prostata di montone e umana ma in seguito scoperte in quasi tutti i tessuti dei Mammiferi. Oggi si conoscono molte attività delle PG che riguardano il ciclo ovulatorio (PGF₂), la perfusione sanguigna del rene (PGA₂, E, D, G, H), il metabolismo del sodio e dell'acqua, la liberazione della renina (PGA₁, A₂, E₁, E₂), la regolazione della pressione arteriosa (PGA₂), gli effetti contrastanti sulla muscolatura liscia (PGE, F, I), la riduzione dell'acidità gastrica (PGA, E₁, E₂), gli effetti diversi sulla muscolatura dei bronchi (PGE, F₂), l'inibizione della ipersensibilità ritardata (PGE), della liberazione di istamina, dei linfociti T e B, l'ormonogenesi tiroidea, surrenalica e ipofisaria (PGE₁, E₂), il metabolismo del Ca⁺⁺ e dell'osso (PG E₁, E₂) e i contrastanti effetti ematologici più sopra citati (PGE₁, E₂, G₁). Questi dati sono stati pubblicati da J.Lee dell'università di New York nel 1985.

La massima parte di questi effetti delle prostaciclina sulla vita degli organi e dei tessuti appartiene al campo della fisiologia perché si tratta di interazioni chimiche e fisico-chimiche che fanno parte del normale funzionamento dell'organismo, tanto che verso la fine del secolo XX sono state individuate numerose indicazioni al loro impiego terapeutico e tra esse figuravano il lupus eritematoso, l'asma bronchiale, l'infertilità, la trombosi coronarica e quella venosa profonda e persino il trattamento conservativo del dotto di Botallo e la cura del colera. Fino ad allora però l'uso clinico è stato ancora molto limitato dalla esigenza di somministrare le prostaglandine con sistemi che assicurano la loro azione solo locale. La pressoché immediata metabolizzazione a livello polmonare rende infatti inefficaci le somministrazioni per os e per via parenterale.

I primi prodotti dell'acido arachidonico catalizzato dalla lipossigenasi sono due fattori lipidici ad azione chemiotattica, l'acido idrossieicosatetranoico (HETE) e il leucotriene LTB₄ simili per potenza al frammento C_{5a} del complemento attivato (J.Drazen e coll.1980). Questi due fattori svolgono la più importante regolazione della risposta infiammatoria dei leucociti. Dall'acido arachidonico derivano anche il leucotriene LTA₄ che, tramite altri due enzimi, dà i leucotrieni LTC₄, LTD₄ e LTE₄. Questi prodotti della linea che fa capo al leucotriene LTA₄ esercitano un potere spasmogeno sui bronchi

dell'uomo mille volte più forte dell'istamina, inoltre i leucotrieni LTC₄ e LTD₄ possono avere effetti ipotensivi anche marcati. R.Lewis e coll. nel 1981 hanno notato che i leucotrieni LTD₄ e LTE₄ sono cento volte più potenti dell'istamina nel provocare la vasopermeabilità cutanea infiammatoria nella cavia.

Dall'insieme delle ricerche sperimentali portate a termine su questi mediatori della risposta infiammatoria tutti gli AA hanno ricevuto la netta impressione che un eccesso di queste sostanze può provocare danni tissutali e organici.

Le Neoplasie

L'epoca scientifica dell'oncologia – la scienza che studia i tumori - ha avuto inizio nel **1908** quando V. Ellermann e O. Bang scoprirono che una leucemia dei polli era provocata da un virus filtrabile, scoperta seguita nel 1911 da quella del sarcoma dei polli dovuta ad un altro virus filtrabile fatta da P.Rous. E' vero che già nel 1898 l'italiano G. Sanarelli aveva descritto il mixoma del coniglio anch'esso prodotto da un virus filtrabile ma sia allora che in seguito sono stati espressi molti dubbi sulla vera natura tumorale del mixoma descritto da Sanarelli. Comunque le scoperte di Ellermann e Bang e di Rous lasciarono la comunità scientifica di allora nella più completa indifferenza.

Una certa curiosità si risvegliò invece dopo il 1914, anno in cui K. Yamagiwa e K. Schikawa scoprirono che le ripetute pennellature di catrame sulla cute del coniglio provocava dopo molti mesi di trattamento la comparsa di un epiteloma del tutto simile agli epitelomi dell'uomo. Da questa scoperta ebbe origine un'intensa ricerca sui componenti organici del catrame per isolare quello o quelli che possedevano potere carcinogenetico. Nel 1926 O. Warburg scoprì la glicolisi aerobica delle cellule tumorali, una netta diversità metabolica rispetto alle cellule normali. A questa sua scoperta il biochimico tedesco (premio Nobel per la medicina nel 1931) era arrivato dall'osservazione, fatta già nel 1910, che nelle uova del riccio di mare, appena fecondate, aumenta il consumo di ossigeno in rapporto all'unità di peso e ciò gli aveva fatto supporre che anche le cellule dei tumori, data la loro eccessiva moltiplicazione, fossero caratterizzate da aumento del consumo di ossigeno. Proseguendo la ricerca sulla base di questa ipotesi Warburg scoprì che le cellule tumorali avevano un maggior bisogno e un maggior consumo di energia utilizzando le molecole di glucosio con produzione di acido lattico sia in presenza di ossigeno che in sua assenza e a questo processo diede il nome di “*glicolisi*” rispettivamente aerobica e anaerobica. Nelle pubblicazioni successive (1925, 1926, 1943 e 1955) dimostrò che tutti i tessuti, normali e tumorali, che sono in rapido accrescimento svolgono un'intensa glicolisi anaerobica mentre in aerobiosi i tessuti neoplastici continuano a effettuare la glicolisi a differenza dei tessuti normali che sfruttano invece l'ossigeno per i processi ossidativi e in tale evenienza non effettuano la glicolisi. Nel 1930 Warburg poté dimostrare che le cellule neoplastiche continuano a vivere in assenza di ossigeno pur che abbiano a disposizione glucosio. Warburg e i suoi collaboratori – e tra questi soprattutto D. Burk – dovettero sostenere le critiche demolitrici di S. Weinhouse e della sua scuola ma la ebbero vinta soprattutto per il fatto, constatato anche da altri studiosi, che le cellule neoplastiche sono caratterizzate da una spiccata glicolisi anaerobica probabilmente legata a scarsità di mitocondri, fenomeno che è facile osservare nelle cellule dei tumori in genere.

Nel 1959 H. Crabtree, che studiava il metabolismo del glucosio nei tumori, osservò che le aggiunte di glucosio nel liquido di sospensione delle cellule neoplastiche coltivate *in vitro*, a differenza di quanto succede alle cellule normali, fanno abbassare i valori della respirazione cellulare, fenomeno riscontrato in seguito anche da altri ricercatori e chiamato dopo di allora “*effetto crabtree*”. Lo stesso Crabtree descrisse anche una riduzione della

fermentazione, cioè dell'effetto Pasteur, nei tessuti neoplastici in presenza di ossigeno ma di questo fenomeno alla soglia degli anni ottanta del Novecento non si era ancora giunti ad una spiegazione convincente.

Nel 1932 R. Shope pubblicò la scoperta di un virus simile a quello della mixomatosi che dava origine nel coniglio al fibroma, tumore benigno del connettivo fibroso. Lo stesso studioso descrisse nel 1934 per primo la papillomatosi infettiva del coniglio. Nel 1953 L. Gross isolò da estratti leucemici AK il virus del poliovirus che provocava carcinomi delle ghiandole salivari del topo *inbred* C3H3. S. Stewart nello stesso anno isolò in tessuti leucemici AKR lo stesso virus che provocava la nascita di sarcomi e di leucemia nei topo d'esperimento. Era la prima volta che un agente filtrabile rivelava la capacità di provocare nello stesso animale-ospite tumori di diversa struttura istologica, mentre tutti i virus isolati in precedenza determinavano un unico tipo di tumore.

Molto interesse aveva risvegliato ancora nel 1936 e negli anni seguenti la scoperta da parte di J. Bitter nel latte di topi d'esperimento di un virus che era provvisto di potere oncogeno trasmesso dalla madre alla prole. Le ricerche condotte dallo stesso Bitter, da H. Andervont (1941) e da un folto gruppo di sperimentatori in diversi laboratori portò a concludere che l'alta incidenza di cancro mammari in certi ceppi di topi era dovuta ad un virus, date le sue caratteristiche di ultrafiltrabilità, ultracentrifugabilità, inattivabilità da calore e da lunga conservabilità in glicerina. Questo virus, dapprima etichettato con la designazione di "fattore latte" fu in seguito nominato *mouse mammary carcinoma virus* (MTA) ma tutti i tentativi di trasferire in patologia umana i risultati di questi studi nella speranza di identificare un ipotetico agente virale del cancro mammario della donna rimasero senza esito.

La riscoperta dell'evidente importanza dei virus nel provocare la patologia tumorale avvenuta con gli studi sul tumore di Burkitt dei bambini ugandesi e dopo quelli sull'adenocarcinoma renale della *rana pipiens* (W.R. Duryll, 1956) e di altri tumori di sicura origine virale nelle scimmie riportò in primo piano l'interesse per la vecchia scoperta del virus di Rous al quale – ormai ottantasettenne – fu conferito nel 1966 il premio Nobel.

Nel 1967 Willis ha dato delle neoplasie una definizione che bene si adatta ad esprimere un concetto universalmente condiviso in patologia generale: *"Tumore è una massa abnorme di tessuto il cui accrescimento eccede quello dei tessuti normali, è incoordinato con quelli e persiste nello stesso modo eccessivo dopo cessazione degli stimoli che lo hanno provocato."* E' chiaro che questa definizione comprende tutti i tipi di tumori, quelli innocenti o benigni, i maligni che uccidono l'ospite e le forme di confine che hanno un comportamento intermedio.

I tumori maligni che derivano da una matrice epiteliale (cute, mucose, strutture ghiandolari) per convenzione fissata nei primi decenni del Novecento in base ad un orientamento già consolidato alla fine del secolo precedente, sono genericamente indicati con il nome di *carcinomi o cancro*. Invece i tumori maligni di matrice connettivale o mesenchimale (tessuti di sostegno) sono chiamati genericamente *sarcomi*. Esistono poi altre forme tumorali che, derivando dal tessuto nervoso o dalle sierose, assumono nomi particolari.

Nel corso del Novecento la frequenza dei tumori si è più che quadruplicata rispetto ai primi anni del secolo e, stando allo studio statistico di Lilienfeld e coll. (1972) i tumori maligni occupano il secondo posto tra le cause di morte dopo le malattie cardiovascolari. Tra i motivi di questo forte aumento gli AA che si sono occupati di questa materia segnalano l'aumento della durata media della vita particolarmente accentuato nella seconda metà del

secolo, la diminuzione e, in certi casi, la scomparsa di malattie infettive ad alta percentuale di mortalità, il miglioramento delle possibilità diagnostiche, l'inquinamento ambientale, abitudini dietetiche e voluttuarie favorevoli l'esordio di neoplasie.

La classificazione di Lilienfeld basata sui tumori maligni della razza bianca nell'emisfero occidentale elencava i dieci tipi di tumore più frequenti come causa di morte in questo ordine decrescente e separatamente per i due sessi: nell'uomo cancro del polmone, dell'intestino, leucemie e linfomi, cancro gastrico, della prostata, del pancreas, del rene e delle vie urinarie, del sistema nervoso, del fegato e delle vie biliari, del cavo orale e del faringe; nella donna, invece, il cancro della mammella, dell'intestino e dell'utero, leucemie e linfomi, dell'ovaio, dello stomaco, del polmone, del pancreas, del fegato e delle vie biliari, del rene e delle vie urinarie.

In Italia, dove 130.000 persone morivano negli anni ottanta a causa del cancro, una graduatoria di Squartini e Bolis del 1966 riportava una ripartizione dei tumori maligni che vedeva in testa i cancri del tubo digerente con il 49,5% mentre questi, insieme ai tumori dell'apparato genitale, respiratorio ed emolinfopoietico erano responsabili dell'85% della mortalità da tumori.

Gli studi portati sulla frequenza dei tumori in un lungo periodo di anni hanno rivelato che nel corso del Novecento alcuni mostrano una chiara tendenza alla riduzione come i tumori della bocca, dello stomaco e del polmone nell'uomo e dei tumori dell'esofago, del collo uterino, delle vie urinarie e della tiroide nella donna, almeno nelle statistiche dei paesi occidentali. Mostrano invece tendenza all'aumento i tumori del polmone, della mammella e dell'ovaio nella donna e i tumori del colon-retto, del rene, del pancreas, del sistema nervoso e di quello emolinfopoietico in ambedue i sessi.

La distribuzione dei tumori nei diversi organi e apparati è molto influenzata dalla geografia per le predisposizioni razziali e per le profonde diversità di abitudini alimentari, igieniche e di condizioni ambientali come si può facilmente constatare dalle pubblicazioni dei più accurati Registri dei Tumori (Birmingham in Inghilterra; Quebec in Canada; Puerto Rico nei Caraibi; Ibadan in Nigeria). Dalla consultazione e dal confronto dei dati pubblicati in questi registri Doll e collaboratori nel 1970 e Ashley nel 1978 hanno rilevato la netta prevalenza del cancro del fegato in Africa e nelle regioni costiere della Cina Meridionale e del cancro della mammella nei paesi a più alto tenore di vita, oltre a molte altre differenze di frequenza di altri tipi di tumore come l'alto numero di cancri esofagei nel sesso maschile delle popolazioni costiere del mar Caspio e di quello dello stomaco in Giappone. Fra le associazioni particolari rilevate nel corso degli anni sessanta e settanta e confermate negli ultimi anni del Novecento sono quelle tra consumo di sigarette pro capite e cancro del polmone, fra contenuto elevato di grassi nella dieta giornaliera e mortalità per cancro della mammella e fra consumo di carni arrostiti alla griglia e carcinomi delle prime vie digerenti. Per quanto riguarda il legame sigarette-cancro la ricerca pluricentrica I-ELCAP, la più ampia finora realizzata sull'uso della TAC nella diagnosi dei tumori del polmone, iniziata nel 1993 su 27.701 forti fumatori ha permesso di ribadire che il pericolo di tumore cresce nei fumatori con più di 50 anni d'età, che esso è direttamente proporzionale alla durata del vizio del fumo, che non aumenta se la dose giornaliera passa da un pacchetto di 20 sigarette a due pacchetti e che, una volta abbandonato il fumo, il rischio rimane più elevato rispetto ai non fumatori per vent'anni.

La predisposizione genetica al cancro è stata accertata in via definitiva da un grande numero di ricerche in campo clinico e sperimentale, anche se non è stato possibile dimostrare con assoluta certezza che essa da sola – cioè senza l'intervento di fattori scatenanti – sia in grado di dare vita e sviluppo autonomo ad una neoplasia (v. avanti).

Nel 1973, nel riassumere i risultati degli studi pubblicati fino a quell'anno, Knudson proponeva la suddivisione della suscettibilità genetica al cancro in tre classi: cromosomica, mendeliana recessiva e mendeliana dominante.

Le *anomalie cromosomiche* che predispongono allo sviluppo di un cancro sono numerose e ben note. Le leucemie si verificano con incidenze 20 e più volte maggiori nei soggetti affetti da sindrome di Down e da sindrome di Klinefelter; il retinoblastoma si associa spesso alla sindrome da delezione D del cromosoma 13 e il tumore renale di Wilms del piccolo bambino alla trisomia 18. E' molto probabile che gli studi di genetica futuri portino in luce altre associazioni tra anomalie cromosomiche e tumori.

La *predisposizione mendeliana recessiva* deriva dall'eredità di caratteri autosomici definiti "recessivi" secondo le leggi di Mendel, cioè caratteri che possono ricomparire allo stato puro solo nel 25% della seconda generazione e che poi tendono a farsi sempre meno frequenti nelle generazioni successive. La sindrome più nota di questo tipo di neoplasie è lo *Xeroderma pigmentosa*, malattia della cute sulla quale prendono origine e sviluppo carcinomi a cellule basali (basaliomi) o melanomi. La causa è stata riconosciuta in una mancanza dell'enzima necessario per riparare i danni della cute dai raggi ultravioletti come scoperto nel 1968 da Cleaver e confermato nel 1974 da Robbins e collaboratori.

Altro gene mendeliano recessivo è quello dell'*Albinismo* (1 su 10.000 europei ma molto più frequente negli indios dei Caraibi). Gli albin, se non protetti da vestiti e lenti affumicate, vanno incontro a carcinomi squamosi della pelle. Non era ancora noto nel 1979 l'intimo meccanismo che conduce in questi casi alla trasformazione neoplastica.

Molte malattie del sistema emolinfatico come l'agammaglobulinemia di Bruton, l'aplasia timica, la depressione selettiva delle IgM e altre ancora, sono l'espressione patologica di geni recessivi che comportano una certa depressione del sistema immunitario che favorisce l'insorgenza di tumori maligni.

La *predisposizione mendeliana dominante o familiare* è quella che fa nascere neoplasie in più membri della medesima famiglia. Trattasi di geni fortemente "penetranti". Possono manifestarsi come tumore unico in una determinata sede che è sempre quella come è il caso del retinoblastoma bilaterale che Scheppert-Kimmijser e coll. studiarono nel 1966 in diversi casi giungendo alla conclusione che la prole di tutti gli individui affetti da questa malattia è destinata ad ammalare della stessa per il 50%, e che i portatori di questo gene dominante hanno il 95% di probabilità di sviluppare il retinoblastoma. Altri tumori dipendenti da geni dominanti sono il nefroblastoma embrionale o tumore di Wilms e il feocromocitoma. Tra i tumori multipli trasmessi in forma dominante il modello più tipico e importante è quello della poliposi intestinale ereditaria i cui portatori sono destinati ad ammalare di adenocarcinoma colico in età ancora giovane (tra i 20 e i 30 anni) con una età media di morte di 40 anni nei casi curati: la frequenza è di 1 caso su 6850 individui.

Oltre a queste tre classi di predisposizioni di tipo genetico proposte da Knudson, bisogna ammettere con Mulvihill e coll., i quali hanno particolarmente studiato questa problemi nel corso degli anni settanta, che la genetica continua a rivelare sempre nuovi aspetti del rapporto fra eredità e sviluppo dei cancri più frequenti della popolazione generale. Gli esempi più lampanti e persuasivi sono quelli del cancro della mammella in donne di età giovane premenopausale (Anderson 1971 e 1972) e del cancro bilaterale della mammella, ambedue le forme in perfetto accordo con la constatazione che le parenti di pazienti affette da cancro al seno hanno una predisposizione ad ammalare della stessa malattia da due a tre volte di più dei soggetti-controllo. Un altro esempio è dato dalla sindrome di Lynch o del cancro coloretale familiare, affezione a trasmissione ereditaria autosomica, denominata negli anni novanta "sindrome HNPCC" (Cancro Coloretale ereditario nonpoliposico). Nel

1991 un gruppo di lavoro internazionale guidato da H.F. Vaseen e collaboratori ha codificato i criteri diagnostici di questa sindrome che sono: 1°- almeno 3 parenti nella stessa famiglia affetti da cancro coloretale istologicamente accertato 2°- almeno 2 successive generazioni affette dalla malattia 3°- in almeno uno dei parenti il cancro deve essere stato diagnosticato al di sotto dei 50 anni di età.

Per quanto riguarda i cancri dell'utero Rotkin nel 1966 e Lynch nel 1967 hanno potuto dimostrare che il cancro dell'endometrio presenta un alto indice di familiarità a differenza di quello della cervice. Anche per il cancro della prostata è stata rilevata una certa familiarità mentre le indagini genetiche nei riguardi dei cancri del polmone, dell'intestino tenue, dello stomaco e dell'esofago non hanno fornito indicazioni univoche e interessanti

I tumori dei gemelli omozigoti costituiscono un altro aspetto della predisposizione genetica al cancro. Mac Mahon e Levy nel 1964 hanno studiato questo aspetto particolare della genesi neoplastica e hanno trovato che nei monozigoti le probabilità di ammalare di leucemia sono di 1 su 4 nel gemello sano quando l'altro ha già sviluppato la malattia, mentre nei gemelli dizigoti non esiste alcun aumento rilevabile della predisposizione. Anche questa osservazione dunque depone per una ragione genetica della predisposizione ad ammalare di cancro.

Le conclusioni tratte nel 1979 dal patologo italiano Squartini sui rapporti tra eredità genetica e cancro erano improntate ad un cauto riconoscimento delle condizioni genetiche che apparivano certamente responsabili di una predisposizione più o meno accentuata ad ammalare di cancro, una predisposizione comunque condizionata dall'intervento di fattori causali.

Le caratteristiche morfologiche e di comportamento dei tumori in generale costituiscono uno dei paragrafi più importanti della patologia generale perché sono il risultato di un numero altissimo di esperienze e di scoperte verificatesi nel corso dell'intero secolo XX.

La morfologia delle cellule neoplastiche è molto diversa da quella delle cellule normali e spesso si accompagna a variazioni geniche e del numero dei cromosomi. La crescita cellulare del tumore è molto più rapida di quella delle cellule normali così da provocare un netto aumento di densità per unità di superficie e di volume. La crescita illimitata è dovuta alla perdita della "inibizione da contatto", meccanismo di regolazione dell'accrescimento delle cellule normali. Nelle cellule neoplastiche di alcuni tumori animali è stata osservata una forte diminuzione della quantità cellulare di C-AMP (adenosinmonofosfato ciclico) che è regolatore di molti processi metabolici e mediatore della risposta cellulare agli stimoli ormonici. La membrana delle cellule neoplastiche presenta diversità di posizione e composizione dei recettori per le sostanze agglutinanti rendendo la cellula tumorale agglutinabile. Le cellule tumorali sono molto meno adese tra loro delle cellule normali e aderiscono a qualsiasi substrato con maggior forza rispetto a quelle. Le cellule neoplastiche hanno una richiesta e un consumo di glucosio che sono superiori a quelli delle cellule normali e, rispetto a queste, hanno una vistosa riduzione numerica dei mitocondri mostrando una glicolisi aerobica interpretata da Warburg come espressione di danno della normale respirazione cellulare. Inoltre nelle cellule di alcuni tumori come gli epatomi di Morris è stato possibile evidenziare un'alterata produzione degli enzimi in punti-chiave della demolizione della molecola di glucosio e l'abbassamento dei valori della respirazione cellulare quando si aggiunge glucosio al mezzo di coltura (effetto Crabtree, 1959).

Nello studio delle **cause delle neoplasie maligne dell'uomo** gli apporti scientifici sono stati scarsi fino al secondo dopoguerra (anni 1945-1960). Prima del 1940 erano state bene individuate alcune cause di tumori professionali, legate cioè alla professione specifica esercitata per anni dai pazienti e i tumori dovuti ad abitudini innaturali. Tra i primi si

ricordano i tumori della vescica dei lavoratori dell'anilina messi in evidenza per la prima volta nel 1895 da L. Rehn che aveva osservato diversi casi clinici, il tumore della vescica dei lavoratori della gomma, i tumori della pelle del volto e del collo nei contadini e nei marinai esposti per anni all'azione oncogena delle radiazioni solari, il cancro dello scroto degli spazzacamini già segnalato per la prima volta nel 1778 dal famoso medico inglese P. Pott, l'epitelioma della cute dei lavoratori del catrame e della paraffina denunciato per la prima volta da R. Volkmann, il cancro della pleura nei lavoratori dell'amianto, i cancri della cute e del polmone dei conciatori, fonditori e minatori delle miniere d'oro.

Al gruppo dei fattori cancerogeni professionali sono venuti ad aggiungersi dopo il periodo 1945-1960 quelli dei lavoratori delle resine a scambio ionico (tumori del polmone), di colle e vernici (leucemie), di cloruro di polivinile (angiosarcoma del fegato), delle raffinerie (cancro dei seni nasali e del polmone), dei gabinetti radiologici (leucemia dei radiologi segnalata per la prima volta in Germania nel 1911 da N. Jagic e coll.), della verniciatura con colori fluorescenti contenenti sostanze radioattive nelle fabbriche di quadranti d'orologio (sarcomi delle ossa denunciati per la prima volta nel New Jersey- USA da H. Martland, 1929), delle emanazioni di radon nell'aria di molte miniere e dal sottosuolo di alcune abitazioni in USA (W.C. Hueper 1952-1955). La leucemia mieloide da esplosione di bombe atomiche a Hiroshima e a Nagasaki in Giappone nell'agosto 1945 ha colpito la popolazione esistente entro due chilometri dall'epicentro dell'esplosione in due periodi successivi allo scoppio di cui il primo dopo 4-8 anni, il secondo dopo 13-14 anni. Nel primo periodo è stato osservato il 50% di casi acuti e nel secondo l'84%. In complesso l'incidenza in queste due popolazioni della leucemia è stata da 6 a 7 volte più alta rispetto alla popolazione giapponese delle aree non contaminate. In Ucraina, a Chernobyl, il 26 Aprile 1986, l'esplosione di un reattore nucleare della centrale Lenin a 120 chilometri da Kiev provocò la morte di 32 persone e la comparsa di leucemie e tumori della tiroide prevalentemente nei bambini anche se le autorità locali avevano provveduto a far allontanare rapidamente dalla zona del disastro oltre 130.000 abitanti. Le ricerche di L. Gross (1958) in topi del ceppo C3H e quelle di M. Liebermann e H. Kaplan (1959) in topi di ceppo C57 Black hanno fornito l'importantissima dimostrazione che dagli organi dei topi malati di leucemia da panirradiazione con raggi X è possibile isolare un virus trasmissibile in linea verticale dai genitori malati alla prole. L'irradiazione sec. Gross non sarebbe la causa diretta della leucemia; questa sarebbe il risultato di un virus oncogeno latente nei tessuti del topo e attivato dai raggi X.

Alla fine del Novecento molti rischi professionali tra quelli sopracitati erano ormai da tempo sotto controllo o eliminati per cessazione o radicale modificazione di certe attività produttive o anche per cambiamento dei meccanismi di produzione per cui già nel 1977 Doll concludeva che il rischio professionale poteva essere chiamato in causa in un numero globale di tumori maligni piuttosto ridotto. Tuttavia nell'anno 2000 erano ancora in atto processi intentati contro diversi tipi di industrie i cui operai si erano ammalati di cancro ed erano morti in una elevata percentuale di casi

L'inquinamento ambientale come fattore oncogeno è stato chiamato in causa ripetutamente negli ultimi due decenni del secolo a proposito dell'ampio uso di pesticidi in agricoltura, dalla forte presenza nelle città industriali e densamente popolate dei prodotti di combustione dei derivati del petrolio e del carbone, del cloruro di polivinile entrato in tutte le abitazioni con gli oggetti di plastica, delle radiazioni ionizzanti in continuo aumento, delle "polveri sottili" dell'aria nelle città a denso traffico automobilistico e di altre cause ancora. E' stato accertato nel 1991 da H. Schlipkoter un sicuro rapporto causale tra l'esposizione al benzolo e l'insorgenza di leucemie ma solo quando la concentrazione del benzolo supera i 3,25 mg/m³, anche se l'OMS ha identificato il rischio di leucemia per una esposizione al benzolo durata tutta una vita a solo 1 microgrammo/m³ in 3,55 casi su 10

abitanti alla sesta.. Le misurazioni dell'inquinamento dell'aria si sono progressivamente intensificate nelle metropoli e nelle città ad alto insediamento industriale ma alla fine del secolo non avevano ancora fornito dati tali da giustificare nell'inquinamento ambientale un agente oncogeno sicuro e definitivamente accertato.

Nel secondo dopoguerra (1945-1960) si sono intensificate anche le ricerche di fattori oncogeni della dieta. E' stato così accertato che arrostiti e cotti alla griglia, friggere, tostare e affumicare i cibi sono abitudini che provocano la produzione di piccole quantità di idrocarburi cancerogeni. Infatti nel 1958 Bailey e Dungal hanno trovato quantità importanti di benzopirene nella carne e nel pesce affumicati, e nel 1960 Hueper e Payne nella polvere del caffè tostato. La importante percentuale di epatomi dell'Africa settentrionale e tropicale come in Uganda è stata attribuita alla contaminazione di farine con le diverse aflotossine prodotte dal microrganismo *Aspergillus flavus*. La responsabilità di queste sostanze è stata ampiamente dimostrata negli animali d'esperimento (ratti, anatre e trote) e in animali d'allevamento nutriti con farina di arachidi contaminata da *Aspergillus flavus* (tacchini, polli, trote) da parte di diversi studiosi (E. Wood e C. Larson 1961; M. Lancaster 1961). Anche la farina di semi di *Cycadaceae* che in Australia e nelle isole Marianne aveva provocato nel bestiame d'allevamento gravi malattie tra cui la sclerosi laterale amiotrofica, è stata incolpata di provocare carcinomi del fegato nelle cavie e nei ratti di laboratorio (G. Laquer e coll, 1963). Negli anni seguenti fu isolata la sostanza oncogena, la "cicasina", che, una volta metabolizzata dai batteri intestinali, esercita sugli animali d'esperimento una forte azione tossica con crescita di tumori maligni di fegato, reni e intestino.

Tra le sostanze di origine vegetale dotate di attività carcinogenetica scoperte nel corso degli anni sessanta e settanta si citano la griseofulvina prodotta dal fungo *Penicillium griseofulvum*, il safrolo contenuto nell'olio di sassafrasso, la tiourea delle piante del genere *Brassica* e gli alcaloidi della pirrolizidina ricavati dalle piante del genere *Senecio*.

Altri indirizzi di ricerca hanno fornito dati statistici che hanno permesso di incolpare la dieta dei paesi industrializzati molto ricca di grassi e povera di scorie fibrose e, viceversa, anche la dieta troppo povera di proteine, tipica delle popolazioni più povere dell'Africa e dell'Asia meridionale.

Accanto a questi dati bisogna ricordare anche la grande quantità di quelli che sono stati forniti dalle ricerche intese ad appurare l'esistenza di una cancrogenesi endogena. Trattasi di studi che rimontano nel loro inizio al 1933 (H. Wieland e E. Dane) cioè poco dopo la scoperta dei primi idrocarburi cancerogeni, studi che alla fine del Novecento non si erano ancora conclusi del tutto. Alla fine degli anni settanta Califano affermava che, nonostante intense ricerche basate sull'affinità di struttura chimica tra alcuni ormoni femminili (estrose, aquilina, equilenina) e idrocarburi formati solo da anelli aromatici, non erano mai stati reperiti enzimi che catalizzavano la loro deidrogenazione, unico processo atto a produrre idrocarburi cancerogeni. L'ipotesi che da ormoni naturali potessero derivare sostanze oncogene rimaneva dunque non provata. Anche le numerose ricerche di I. Hieger degli anni cinquanta sul colesterolo e suoi derivati dei quali Fieser nel 1955 e Bischoff nel 1957 avevano dimostrato azione oncogena, sono rimaste senza risultati certi per la patologia umana, avendo fornito dati contrastanti in oncologia sperimentale.

Per quanto riguarda l'azione carcinogenetica di metalli e non metalli è stata accertata fin dal 1936 in Germania l'azione oncogena del cromo con numerosi casi di tumore del polmone nei lavoratori delle industrie dove veniva utilizzato questo metallo (W. Alwens e coll.). Sempre in Germania è stata definitivamente accertata l'azione oncogena dell'arsenico sia nei minatori dei giacimenti arseniosi di Schneeberg e di Joachimsthal sia nelle persone che utilizzavano l'acqua di una falda idrica situata in stretta vicinanza di un

giacimento d'arsenico a Reichenstein. In questa cittadina dal 1928, anno dell'inaugurazione di un nuovo acquedotto, i cancri del polmone, della pelle e del fegato che prima erano frequenti erano diventati rarissimi.

Il primo a osservare che negli animali d'esperimento possono svilupparsi tumori maligni da contatto continuo tra tessuti normali dell'animale (sottocute nel caso specifico) e superfici solide (dischi di bachelite) è stato F.C. Turner nel 1941. Dopo tale data si sono susseguite molte ricerche con materiali diversi (fogli di cellophan, di dacron, teflon, ivalon, polietilene, polistirene; lamine di acciaio, tantalio, vitallio, antimonio) da parte di B. Oppenheimer e coll. nel 1948 e tra 1956 e 1958, H. Nothdurft nel 1955, G. Hecht nel 1952, C. Salyamon nel 1961, H. Druckrey e coll. nel 1954 e altri ancora. Il tipo di tumore maligno ottenuto con dette sostanze nei ratti da tutti questi sperimentatori è invariabilmente il sarcoma, che inizia a svilupparsi in un punto della capsula fibrosa provocata dal materiale solido estraneo dopo molti mesi di una fase quiescente. Il meccanismo cancerogenetico non è mai stato spiegato in modo convincente. Resta il fatto che la possibile attività carcinogenetica di molte sostanze plastiche – e soprattutto di quelle poliviniliche - di ampio impiego in protesi usate nella cura di molte malattie manteneva alla fine del XX secolo un notevole interesse medico. Nel 1971 l'italiano P.L. Viola e coll. hanno dimostrato che l'inalazione di aria contenente il 3% di cloruro di vinile induceva tumori della pelle, del polmone e delle ossa negli animali d'esperimento e questo ha gettato un certo allarme per quella parte della popolazione in età lavorativa che svolge il proprio lavoro in ambienti le cui pareti e/o il pavimento sono stati rivestiti negli anni settanta e ottanta con fogli di polivinile.

Strettamente collegata con la cancerogenesi è la cocancerogenesi, fenomeno scoperto nel 1938 da M.J. Shear il quale osservò per la prima volta che l'olio di creosoto incrementa l'azione oncogena del benzopirene e fu proprio Shear a proporre il termine "cocangerogeno" per tutte le sostanze che cooperano con le cancerogene nel produrre le neoplasie. In seguito oltre all'olio di croton (che si estrae dai semi di crotontiglio) sono state identificate molte altre sostanze cocancerogene e tra queste soprattutto i detersivi. La cocancerogenesi è stata studiata a fondo nel 1941 e negli anni seguenti da P. Rous e da I.G. Kidd e anche da I. Berenblum. Quest'ultimo ha elaborato la teoria della "*carcinogenesi a due o a più stadi*": nel primo stadio il carcinogeno trasforma le cellule normali in cellule neoplastiche, nel secondo stadio se il carcinogeno è stato capace di stimolare la proliferazione cellulare si ha lo sviluppo del tumore, se invece non ha questa capacità le cellule cancerizzate rimangono quiescenti anche per tempi molto lunghi ed è su queste che può intervenire un cocancerogeno capace di stimoli proliferativi che danno sviluppo alla neoplasia. Il primo stadio fu chiamato da Berenblum "iniziazione", il secondo "promozione". Invece Rous, che pure accettò questa teoria, chiamò il primo stadio "potenzialità neoplastica". In Italia l'oncologo F. Pentimalli chiamò il cancerogeno "fattore potenziale" e il cocancerogeno "fattore realizzante". Nel 1969 Berenblum, nel perfezionare la sua teoria, propose di distinguere i vari tipi di cocancerogeni in base all'azione espletata dalle diverse sostanze secondo il seguente schema: 1°- "azione additiva" quando il carcinogeno basta da solo a dar sviluppo al tumore 2°- "azione sinergica" quando la somma degli effetti delle due sostanze è inferiore all'azione combinata di cancerogeno e cocancerogeno 3°- "azione incompleta" quando riguarda solo una delle due fasi 4°- "azione preparativa" dell'organo bersaglio per renderlo più sensibile all'azione del carcinogeno 5°- "azione permissiva" o facilitante dell'attività carcinogenetica a livello biochimico cellulare 6°- "azione sui virus" che si verifica con meccanismi diversi 7°- "azione condizionante" da parte di ormoni o da reazione immunitaria.

Nel 1967 E. Wynder e coll, che già dal 1953 avevano studiato il cancro del polmone da fumo di sigarette, riconobbero per la genesi di questo tumore i "fattori inizianti" negli

idrocarburi aromatici contenuti in una singola frazione del condensato di fumo e quelli “promoventi” (cioè cocancerogeni nel senso di Berenblum) nelle tre frazioni acida, neutra e fenolica del condensato stesso. Negli anni in cui furono pubblicati i risultati di queste ricerche sperimentali il cancro del polmone da fumo di sigarette sottoposto da tempo a vaste indagini statistiche in Scandinavia, Inghilterra e Usa risultò una realtà in crescente e temibile diffusione tanto da suscitare un forte allarme in tutte le istituzioni preposte alla pubblica salute nei paesi industrializzati e nel 1979 Califano, dopo aver esaminato i risultati delle ricerche sperimentali sulla cancerogenesi da fumo di tabacco, concludeva con queste parole: “...*tutto induce a ritenere che l’eziologia dei tumori polmonari sia molteplice, dovuta a più fattori, dei quali alcuni personali come il fumo, altri ambientali e tra questi in primo luogo il grave inquinamento dell’ambiente nell’epoca attuale*”. Alla fine del Novecento questa visione aveva già trovato conferme sempre più precise e definitive.

Anche i farmaci e l’attività medica hanno rivelato di essere in determinate occasioni incolpabili di attività oncogena. Va citato a tale riguardo l’uso protratto di raggi X a scopo diagnostico e terapeutico, l’abuso quantitativo di unguenti e lassativi che contengono idrocarburi oncogeni, di citostatici alchilanti come la ciclofosfamide, di cloramfenicolo, estrogeni, fenacetina, fenilbutazone, farmaci immunosoppressori, isoniazide, steroidi anabolizzanti e di molte altre sostanze ancora il cui lungo elenco era già stato reso pubblico nel 1977 da Schmäl e coll. Va comunque detto che da un punto di vista esclusivamente statistico il rischio iatrogeno è stato considerato come molto contenuto se raffrontato al rischio totale delle popolazioni di ammalare di cancro.

Tra le abitudini di vita e voluttuarie che possono sviluppare azione oncogena, oltre al già citato fumo di sigaretta per il quale si fa riferimento ai rapporti ufficiali americani ed europei pubblicati tra il 1964 e il 1999, sono state definitivamente accertate l’etilismo cronico (cancro dell’esofago e del fegato), l’intensa attività sessuale con partners multipli da parte di donne esposte così ad alto rischio di cancro della cervice uterina, la primiparità tardiva e l’abbandono dell’allattamento al seno come condizioni che aumentano il rischio di ammalare di carcinoma mammario (Severi e Squartini, 1962; Mac Mahon e coll, 1973).

Come penultimo paragrafo del vasto capitolo che riguarda le cause del cancro ricordiamo anche gli studi che hanno individuato l’azione oncogena in alcuni parassiti come gli schistosomi molto frequenti in Egitto e in Giappone e la *Clonarchis sinensis* della Cina meridionale che producono tutti una condizione di infiammazione cronica rispettivamente della vescica e dell’intestino, un terreno questo che favorisce lo sviluppo di tumori maligni della vescica per quanto riguarda gli schistosomi e – per transito del parassita dall’intestino attraverso la vena porta – di cancro del fegato nel caso della *Clonarchis*.

La **storia dell’oncologia sperimentale** che conta ai suoi primordi i tentativi di trapiantare i tumori spontanei degli animali domestici, tentativi iniziati nel laboratorio di L. Loeb nel 1901 e in quelli del francese A. Borrel e del tedesco C.O. Jensen nel 1903, proseguiti con successo da P. Ehrlich e H. Apolant nel 1905 con i sarcomi e gli adenocarcinomi del topo, si è precocemente concentrata nel lavoro di selezione dei cosiddetti ceppi *inbred* ottenuti incrociando fratelli e sorelle oppure genitori e figli degli animali da esperimento. Alcuni ceppi così ottenuti nel 1935 (L.C.Strong) e nel 1939 (C.C.Little) sono stati largamente impiegati dal 1960 fino agli ultimi anni del secolo per ottenere colture cellulari tumorali stabili, cioè capaci di moltiplicazione illimitata nel tempo (immortalizzazione). Le cellule a riproduzione illimitata costituiscono una “linea cellulare” e gli studi di oncogenesi sperimentale da virus sono stati possibili proprio grazie alle linee tumorali degli animali da esperimento, ed alle due linee tumorali umane, la linea Hela, derivata da cellule

immortalizzate di un tumore uterino, e la linea Kb derivata da un carcinoma del nasofaringe.

Per quanto riguarda l'azione oncogena dei virus alla fine degli anni settanta risultavano definitivamente accertate le origini virali del linfoma di Burkitt (1968) e del linfopitelioma giovanile del rinofaringe da virus di Epstein-Barr (1964) per il quale lo stesso Epstein nel 1976 suggerì la prevenzione con impiego di un vaccino specifico. Restava invece ancora incerta a quella data la responsabilità oncogena dell'herpes-virus tipo II per il cancro del collo dell'utero e dei cosiddetti oncoronavirus per le leucemie (Gross 1951) e per il cancro mammario (Bitter). Le ricerche di oncologia sperimentale portate avanti intensamente e in continuità in tutto il mondo hanno scandagliato a fondo il campo dell'oncogenesi da virus e sono riuscite a dimostrare che i virus oncogeni sono una realtà e che introducono nella cellula normale uno o più geni il cui prodotto può dare inizio e mantenere la trasformazione della cellula normale in cellula neoplastica

Mediante le colture di virus *in vitro* è stato infatti dimostrato in modo incontrovertibile che la penetrazione del virus in una cellula della quale opera la trasformazione corrisponde alla introduzione di materiale genico virale nel genoma della cellula-ospite. A livello molecolare si verifica una vera e propria interazione tra DNA cellulare e DNA virale e tra i prodotti dei due DNA. L'oncogenesi è stata dunque riconosciuta essere anzitutto un problema di biologia molecolare e quindi solo le nuove tecniche di questa branca scientifica avrebbero permesso di scoprire i meccanismi più intimi dell'origine dei tumori da virus.

Per un numero limitato di virus oncogeni a DNA e di virus oncogeni a RNA è stato così possibile conoscere prima della fine del XX secolo le modalità del gene oncogeno, la composizione proteica del suo prodotto e l'azione trasformatrice di questa proteina sul metabolismo della cellula ospite. Le due scoperte fondamentali che hanno consentito di ottenere questi risultati di importanza basilare sono state: 1°- l'individuazione di alcuni retrovirus capaci di causare malattie tumorali come la leucemia a cellule T e non tumorali come l'AIDS. 2°- la scoperta che tutti gli oncogeni noti e presenti nella categoria dei Retrovirus Acuti sono aspetti alterati di geni presenti nelle cellule di tutte le specie viventi e acquisiti dai retrovirus durante l'infezione di organismi eucariotici. La modificazione di questi "protooncogeni" sarebbe avvenuta in seno ai retrovirus, dopo averli acquisiti, mediante meccanismi di trasduzione e ricombinazione genetica con il genoma della cellula-ospite

Gli esperti di oncogenesi da virus distinguevano nel 1998 ormai da vent'anni i virus oncogeni a DNA da quelli a RNA. Dei primi facevano e fanno parte 5 gruppi principali: i Poliomavirus e Simianvirus (SV) 40, i virus del papilloma, gli adenovirus, i virus dell'epatite B e gli herpesvirus. Cercheremo ora di tracciare in forma riassuntiva il percorso cronologico di quanto è stato reso noto nel 1998 in modo esteso e dettagliato a questo riguardo facendo precedere alcune note rese di pubblico dominio nel 1979.

Nel corso degli anni ottanta i virus Polioma e SV 40, isolati in alcuni casi di patologie umane diverse, sono stati i virus meglio studiati per la loro composizione genetica capace di indurre tumori *in vivo* negli animali d'esperimento e di trasformare in tumori colture cellulari *in vitro*. La paternità della scoperta del virus che oggi porta il nome di Polyoma perché è capace di provocare tumori multipli e di diverso tipo nel medesimo soggetto è stata molto discussa tra L. Gross che nel 1970 affermò di aver isolato nel 1951 per primo il virus dei tumori della parotide e S.E. Stewart che nel 1953 pubblicò la scoperta di un virus che aveva indotto nel topo contemporaneamente la leucemia e un sarcoma. La vera fase scientifica degli studi sul virus del Polyoma ebbe inizio però nel 1965 allorché M. Fried che lavorava su forme mutanti del virus con acido nitroso e variazioni di temperatura,

riuscì ad isolare placche di cellule neoplastiche sensibili alla temperatura che da allora furono etichettate con la sigla *ts* (*temperature-sensitive*). Nel 1979 erano già stati isolati circa 200 mutanti *ts* in cui la temperatura definita “permissiva” consentiva la sintesi di alcuni prodotti genici. Questo espediente delle temperature permissive e non permissive fu negli anni sessanta e settanta di grandissima utilità per le ricerche di virologia oncologica. Furono quelli gli anni in cui risultando le cellule infette resistere a temperature tra 75° e 100° C si riuscì ad estrarre il DNA infettivo che, anche se esposto a 100°C per 30 minuti primi, non perdeva la sua attività. In un laboratorio francese l'estrazione del DNA del virus SV40 fu invece effettuata con altri solventi (M. Boiron, 1962). Altre ricerche contemporanee dimostrarono che nelle cellule infettate da virus Polyoma e da virus SV40 e trasformate in senso tumorale erano presenti due antigeni, il T endonucleare con i relativi anticorpi e il TSTA che favoriva la resistenza al trapianto di cellule tumorali in animali adulti precedentemente infettati con questi virus. L'antigene T a sede nucleare fu dimostrato allora con i mezzi disponibili degli anni settanta, cioè con l'immunofluorescenza e con la fissazione del complemento. La lettera T sostituì la prima sigla ICFA (*Inducine Complement Fixation Antigen*) per indicare che l'antigene non era solo una prerogativa dei nuclei delle cellule infettate ma anche di quelli della cellule tumorali.

La scoperta del virus SV40 è stata fatta da B.H.Sweet e M.R.Hilleman nel 1960 nel liquido di coltura di cellule renali di scimmia *rhesus*. Quando si verificò una contaminazione con virus SV40 del vaccino antipolio Sabin, pur senza conseguenze morbose, l'allarme provocato da questa scoperta diede il via ad una attiva ricerca di mezzi per evitare questo tipo di contaminazione e furono adoperati anticorpi specifici e sostanze chimiche come il propionolattone che uccide il virus SV40 senza distruggere quello poliomielitico.

Le ricerche successive al 1979 hanno dimostrato che il meccanismo di trasformazione neoplastica è dovuto alla proteina T *middle* del Polyoma-virus e alla proteina T *large* del SV40-virus, le quali inibiscono la proteina *p53* elaborata dal gene oncosoppressore, un meccanismo analogo a quello della proteina E-1° degli Adenovirus, la quale sopprime l'azione della proteina RB elaborata dal gene oncosoppressore. Le proteine T dei due virus Polyoma e SV40 sono fosfoproteine come dimostrato da Watson nel 1987.

I Papillomavirus sono strutturalmente simili ai Polyomavirus dai quali differiscono per un DNA più grande. Ne sono stati identificati 42 tipi diversi; alcuni colpiscono preferenzialmente la pelle e non le mucose e viceversa. Nell'uomo hanno accesso allo strato basale dell'epitelio e producono papillomi ossia verruche. Il primo ad isolare un virus di papilloma nel 1937 nelle verruche del coniglio fu R. Shope. I papillomavirus (HPV) sono responsabili di molte malattie dell'uomo compresi i cancro delle mucose orali e genitali. L'incidenza dei casi di cancro del collo dell'utero era negli anni novanta del XX secolo di 450.000 casi per anno nel mondo, quella degli altri cancri delle mucose orali e genitali era invece di 150.000 casi per anno nel mondo.

Il primo virus del papilloma umano è stato scoperto nel 1968 nei condilomi acuminati o creste di gallo genitali e/o anali da Dunn e Ogilvie. Ceppi di HPV-16 e di HPV-18 sono stati trovati nelle colture di cellule di tumori del collo uterino, ceppi di HPV-16 e di HPV-30 sono invece stati trovati in colture di cancri del laringe. E' stato osservato che, mentre le lesioni associate ad HPV-6 tendono a rimanere benigne, quelle associate a presenza di HPV-16 e HPV-18 mostrano un elevato rischio di trasformazione maligna. Lesioni associate ad HPV-5, 8, 12, 17 e 20 se esposte a radiazioni solari mostrano inclinazione alla trasformazione maligna.

I primi Adenovirus furono isolati da Fallace Rowe in tonsille e adenoidi di bambini nel 1953 e da Hilleman e Werner nel 1954 in materiale faringeo di militari affetti da malattie

respiratorie catarrali, e la prima dimostrazione di un adenovirus umano capace di provocare tumori maligni negli animali d'esperimento è stata fatta da Trentin e collaboratori nel 1962. Gli adenovirus sono considerati un modello ideale per gli studi di biochimica e di oncologia sperimentale. Infatti è stato proprio negli adenovirus che si è osservata la maturazione dell'RNA-messaggero e la sua attività di trasporto dal nucleo ai poliribosomi. Le proteine degli adenovirus codificate dai loro geni E-1° e E-1B esprimono funzione trasformante sulla cellule-ospite. Questa scoperta è stata fatta nel 1980 quando fu dimostrato che bastava un frammento dell'adenovirus del ceppo 5 contenente il gene E-1° per rendere immortali ma non trasformare i fibroblasti allevati *in vitro* mentre le proteine codificate dai due geni E-1° e E-1B trasformavano le cellule sia in coltura primaria che in coltura continua.

Il Virus dell'Epatite B (HBV) fa parte del gruppo degli Hepdanavirus ai quali appartengono il virus della marmotta (WHV) dello scoiattolo terriale americano (GSHV) e dell'anatra (DHV). Sono tutti virus con un accentuato tropismo per il fegato. Nell'Est asiatico e in Africa il 10% della popolazione è formato da portatori cronici di epatite B. Nel 1965 Blumberg e collaboratori scoprirono l'antigene del virus dell'epatite B, l'HbsAg, che però venne riconosciuto essere una parte del virus o il virus incompleto solo a distanza di diversi anni, quando cominciò ad essere utilizzato come *marker* dell'infezione acuta da virus dell'epatite B. L'immunizzazione con HBsAg conferisce immunità persistente verso nuove infezioni dello stesso virus. Molte osservazioni epidemiologiche hanno giustificato una seria correlazione tra questo virus e l'epatocarcinoma. I portatori di HBsAg possono ammalare di questo tumore cento volte più dei non portatori (Beasley, 1981). La stessa cosa si ripete per gli altri Hepdanavirus. Tuttavia fino all'anno 1998 non erano stati ancora scoperti oncogeni nel DNA di questi virus, anche se appariva confermato un ruolo oncogeno indiretto della proteina virale X (Kim e coll. 1991; Chiari e coll., 1989).

Il Virus di Epstein-Barr (EBV) fu scoperto in linfomi di bambini dell'Africa tropicale nel 1964, ma era stato descritto come entità a sé stante già nel 1958 dal chirurgo Tennis Burkitt in Uganda, il quale aveva individuato le caratteristiche cliniche ed epidemiologiche del linfoma che da lui ha preso il nome di *Linfoma di Burkitt*. L'EBV è stato storicamente il primo virus al quale è stato attribuito con sicurezza il ruolo di virus oncogeno umano.

L'EBV ha un DNA a doppio filamento e appartiene alla famiglia degli Herpesvirus umani (HSV-1; HSV-2; virus della varicella-zoster; citomegalovirus; herpes virus 6, 7, 8 scoperti nel corso degli anni novanta). Sono tutti virus piuttosto grandi. L'EBV ha netto tropismo per le cellule linfoidi *in vivo* e *in vitro*. Nelle cellule infettate sono stati dimostrati diversi antigeni sia capsidici che di membrana (Kummel e Kieff 1984). Il linfoma di Burkitt è un tumore maligno dei linfociti B, è monoclonale e cresce rapidamente in organi e tessuti non linfoidi di bambini di età inferiore ai 14 anni (mandibola e retroperitoneo). Si è ritenuto che più del 90% della popolazione mondiale è stata infettata dall'EBV perché ad ogni latitudine è stata dimostrata la presenza in tutte le popolazioni degli anticorpi antivirali EB e perché negli adulti si forma precocemente una valida immunizzazione che rende impossibile l'identificazione del virus al microscopio elettronico e la sua coltivazione con i tradizionali metodi virologici. Perciò gli studiosi si sono sforzati di spiegare la sua attuale concentrazione nell'area geografica dell'Africa tropicale ed equatoriale orientale e in Nuova Guinea con disordini del sistema immunitario da iperstimolazione dovuta alla malaria che è endemica in quelle regioni. G. Henle e coll. nel 1968 hanno avanzato l'ipotesi suggestiva dell'esistenza di stretti rapporti tra EBV e mononucleosi infettiva avendo osservato negli ammalati di mononucleosi anticorpi antiEBV peraltro assenti nel siero della fase iniziale della malattia. In seguito si è accertato che i linfociti dei malati di mononucleosi producono in coltura linee continue come le cellule neoplastiche di tutti i linfomi e che sia nei linfociti del linfoma di Burkitt sia in quelli della mononucleosi esiste

un'anomalia nell'accorciamento del braccio lungo del cromosoma 10. In effetti nel periodo di tempo successivo al 1979 è stata definitivamente dimostrata e accettata la eziologia da EBV anche della mononucleosi infettiva la quale si differenzia dal linfoma di Burkitt che è monoclonale, perché lo sviluppo linfocitario anomalo della mononucleosi è policlonale.

Old e collaboratori furono i primi a rilevare nel 1966 l'associazione tra EBV e carcinoma nasofaringeo (NPC) che in certe aree geografiche della Cina tocca una frequenza di 10 casi su 100.000 abitanti, mentre nel resto del mondo ha tassi molto inferiori (Henle 1985). L'EBV è stato trovato da Raab-Traub e coll. in biopsie di NPC provenienti da tutte le parti del mondo. Nel 1979 Klein ha descritto le tre tappe del meccanismo che fa dell'EBV l'agente oncogeno del linfoma di Burkitt.

I Virus oncogeni a RNA o retrovirus sono la categoria di virus oncogeni più numerosa e si dividono in virus animali e umani. I primi infettano topi, uccelli, bovini, gatti e scimmie, morfologicamente sono classificati in quattro categorie (A, B, C, D); come patologia le malattie da essi provocate possono essere acute o croniche. La loro oncogenesi porta a produzione soprattutto di leucemie e sarcomi. I virus della leucemia murina sono stati particolarmente studiati dalla scuola di Gross negli anni cinquanta. Tipici rappresentanti dei virus acuti che producono tumori maligni pochi giorni dopo l'infezione sono il virus del sarcoma di Rous descritto nel 1911 e quello di Kirsten.

Dei retrovirus umani il primo a essere stato isolato nel laboratorio di Gallo a Bethesda negli USA è l'HTLV-I (*Human T-cell Leucemia Virus tipo I*). Non ha omologie con i retrovirus animali tranne che con il virus della leucemia bovina. La prima dimostrazione dello stretto rapporto tra l'HTLV-I e la leucemia umana dell'adulto descritta nel 1977 dal giapponese Uchiyama che l'aveva denominata *Adult T-cell Leucemia-lymphoma* (ATL) è stata fatta da Poiesz e coll. nel 1981 in un paziente affetto da leucemia a cellule T. Si tratta di una leucemia molto aggressiva che si accompagna a ipercalcemia. La diffusione dell'HTLV-I è stata dimostrata in Africa e in America centrale anche con carattere familiare. Gli studi di infettività hanno messo in luce un netto tropismo del virus per i linfociti T4 i quali, una volta infettati, si immortalizzano.

Un altro retrovirus umano, l'HTLV-II, è stato isolato per la prima volta da Kalayanaraman e coll. nel 1982 in un paziente affetto da *hairy cell leukemia*. Gelmann e coll. hanno clonato questo virus nel 1984. Due anni dopo l'HTLV-II è stato di nuovo isolato in un altro caso di *hairy cell leukemia*. Negli anni seguenti sono state identificate le sequenze nucleotidiche che formano questi due retrovirus umani responsabili di tante leucemie dell'adulto e così è stato dimostrato che la struttura dei due genomi è simile a quella dei retrovirus cronici animali che contengono i geni *gag*, *pol* ed *env*.

Un vasto campo di ricerche di biologia molecolare si è aperto tra la fine degli anni sessanta e quella degli anni settanta, un decennio nel quale sono state messe a frutto le conoscenze dovute ad A. Howard e a S. Pelc (1953) sulle fasi del ciclo cellulare, quelle della sintesi del DNA, degli enzimi deputati alla rottura e alla sintesi delle catene nucleotidiche e la scoperta della transcriptasi inversa che determina la trascrizione di RNA virali in DNA (S. Mizutani e H. Temin 1970; D. Baltimore 1970). Quest'ultima scoperta in particolare è servita da lancio ad un numero notevole di indagini volte a rivelare la presenza di questo enzima (detto anche "*polimerasi RNA-dipendente*") nei tumori maligni dell'uomo, per fornire – pure indirettamente – la prova della loro eziologia virale. Questa nuova corrente di oncologia sperimentale ha potuto accertare in verità che l'attività enzimatica dentro e fuori del nucleo della cellula-ospite porta alla formazione di una copia del DNA del genoma virale e dirige la sintesi di nuove particelle virali.

I risultati di fine anni settanta rivelarono importanti affinità tra gli acidi nucleici dell'uomo e quelli dei virus a DNA e a RNA più indiziati in senso neoplastico. Nel 1969 R. Huebner e G. Todaro, in base al riscontro delle molecole ibride di acido nucleico virale e cellulare avevano formulato la teoria dell'*oncogene*, intendendo con questo vocabolo quella parte del genoma virale stabilmente integrata nel genoma della cellula-ospite e trasmessa di generazione in generazione. Come corollario di questa teoria i suoi AA sostenevano che il virus rimane anche a lungo in fase intracellulare e che si mantiene così anche in diverse generazioni successive sotto "forma inespressa" potendosi però esprimere quando uno stimolo o un segnale particolare lo faceva esprimere.

H. Temin, che aveva dedicato molti anni a questo tipo di ricerche a partire dal 1958, modificò nel 1971 la teoria dell'*oncogene* introducendo il concetto di "*provirus*": l'*oncogene* non esisterebbe nelle cellule germinali ma si realizzerebbe nel corso dello sviluppo per il passaggio da RNA a DNA. Questa teoria di Temin non poteva però spiegare la comparsa di antigeni virali già durante la vita embrionale, dato questo accertato da altri studiosi.

Infine nel 1979 il vocabolo "*oncogene*" è entrato stabilmente nel gergo dei biologi molecolari per indicare quel gene o quell'insieme di geni che codifica la trasformazione neoplastica ancora nel suo stadio di informazione genetica potenziale e non ancora reale.

Una terza teoria riferita da Califano alla fine degli anni settanta è quella che ha individuato due tempi nell'azione dei cancerogeni, indipendentemente dalla loro natura chimica e virale: in un primo tempo il cancerogeno determinerebbe un certo danno a carico del DNA cellulare (rottura di catene nucleotidiche) e in un secondo tempo (quello detto del "*repair*") impedirebbe una riparazione corretta con le saldature necessarie e faciliterebbe invece saldature con nucleotidi diversi da quelli interessati dalla rottura. Questa seconda modalità sarebbe prevalentemente svolta dai cocancerogeni.

Tra la fine degli anni settanta e l'inizio degli anni ottanta sono stati scandagliati la composizione chimica e il comportamento dei geni dotati di attività oncogenica, quelli detti appunto **oncogeni**, e queste ricerche hanno portato alla fine del Novecento alla conclusione che le sequenze nucleotidiche trasformanti dovute agli oncogeni sono presenti con carattere mendeliano dominante in tutti gli ordini dei Vertebrati e quindi anche nell'uomo. Il punto di partenza degli studi che hanno portato a questa importantissima scoperta risale al 1976, anno in cui D. Stehelin e collaboratori pubblicarono sulla rivista scientifica "*Nature*" la individuazione della sequenza nucleotidica *src* nel genoma del retrovirus del sarcoma dei polli di Rous. L'*src* fu definito l'*oncogene* responsabile della trasformazione maligna dei fibroblasti del pollo.

Seguirono rapidamente le identificazioni di altri oncogeni di retrovirus: il *mos* responsabile del sarcoma murino di Moloney (S.R. Tronick e coll. 1979), il *K-ras* del retrovirus dei sarcomi murini di Kirsten e di Harvey (N. Tsuchida, 1980), il *myc* dal virus della mielocitomatosi aviaria (P.M. Duesberg e coll. 1979), il *myb* dal virus della mieloblastosi aviaria (K. Klempnauer, 1982), il *sis* dal virus del sarcoma della scimmia (K. Robbins e coll. 1981).

In quegli stessi anni un notevole aiuto per lo studio degli oncogeni umani è venuto dall'introduzione in biologia molecolare della nuova tecnica della *trasfezione*, consistente nel mettere a contatto il DNA isolato di tumori umani con fibroblasti di topo NIH3T3, ed è stato proprio con la trasfezione che C. Smith e coll. nel 1979 hanno scoperto la presenza di geni trasformanti (e quindi oncogeni) nel DNA umano. Nel 1982 L. Parada e coll. dimostrarono (con le tecniche di biologia molecolare) la presenza di oncogeni nella grande maggioranza dei tumori umani e la loro appartenenza ad una grande famiglia di oncogeni

già presente nei retrovirus e definita con la sigla *ras*. In seguito, nel 1989, K. Burk e coll. scoprirono in tumori umani oncogeni che non erano mai stati trasdotti dai retrovirus e che potevano essere dimostrati solo con la tecnica della trasfezione.

Sulla base della produzione di tumori ottenuta mettendo a contatto copie di oncogeni con copie di protoncogeni esistenti nei fibroblasti NIH3T3 di topo si è arrivati alla conclusione che gli oncogeni hanno proprietà di geni dominanti. Ne è stato dedotto che durante l'evoluzione i protoncogeni e gli oncogeni si sono conservati ed ereditati da individuo a individuo come tutti i caratteri mendeliani. Sulla base di questo dato è sembrato logico ritenere che i protoncogeni e oncogeni conservati durante l'evoluzione svolgano funzioni importanti nella crescita cellulare.

Nel corso degli anni novanta è risultato evidente che le proteine prodotte dagli oncogeni e protoncogeni compongono una rete di segnali cellulari di natura diversa (ligandi extracellulari, fattori di crescita, fattori di trascrizione nucleare, ecc.) e che i geni stessi possono essere classificati secondo le funzioni di queste proteine. Alcune infatti agiscono al di fuori della cellula, altre invece agiscono al suo interno. La classificazione che ne è seguita ha distinto 7 classi di oncogeni le più numerose delle quali sono la classe dei geni che producono tirosinachinasi recettoriale e non recettoriale e la classe dei fattori di trascrizione nucleare. Ad esse si aggiungono i geni che producono fattori di crescita, le proteine G associate alle membrane cellulari, le proteine citoplasmatiche con attività serochinasica, i regolatori citoplasmatici e i recettori per l'angiotensina.

Gli studi effettuati dal 1976 in poi sull'oncogene *src* del virus del sarcoma di Rous hanno consentito di registrare le seguenti scoperte: 1°- Nelle cellule dei tessuti normali del pollo esiste un gene *src* che dà luogo ad una sequenza di aminoacidi molto simile all'*src* del virus ma se ne differenzia per 12 aminoacidi che sono diversi perché nell'*src* virale mancano sette di quelli presenti nell'*src* cellulare; questa diversità spiega l'alta possibilità di riarrangiamenti e mutazioni che modificano la struttura originaria del gene. 2°- Con la scoperta di un antisiero che reagisce con la sequenza prodotta dall'*src* è stato possibile isolare la proteina *src* localizzata sulla faccia interna della membrana cellulare, detta comunemente *pp60* dove *pp* sta per fosfoproteina e 60 per il suo peso molecolare che è di 60.000 daltons. Le due *pp60*, quella dell'*src* del virus e quella dell'*src* della cellula normale sono fosforilate nel residuo dell'aminoacido tiroxina. 3°- Il *pp60* è espresso a bassi livelli nella cellula normale e la fosforilazione è ben correlata con questa proteina capace di provocare le numerose modificazioni che si verificano nel passaggio dalla condizione normale a quella neoplastica. 4°- Tutti gli altri 14 oncogeni che sono raggruppati insieme perché tutti hanno nella loro sequenza nucleotidica una piccola regione che funziona da tirosinachinasi si dividono a loro volta in due sottogruppi a seconda che codifichino proteine citoplasmatiche o, invece, proteine-recettori di membrana citoplasmatica. Il prototipo di queste ultime è la *pp60src*. La zona del "dominio tirosinachinasi" è formata da 300 aminoacidi.. 5°- Le proteine ad attività tirosinachinasica non recettoriali dei tumori degli animali d'esperimento hanno rivelato la loro massima espressione nei linfociti B, nei linfociti T e nei macrofagi e - solo però la *pp62yes* del virus del sarcoma aviario - nel cervello e nel tessuto nervoso. Il *pp60src* del sarcoma di Rous è presente solo nelle piastrine e nelle cellule cromaffini. 6°- Alla fine del Novecento erano ormai conosciuti molti oncogeni con attività tirosinachinasica aventi funzione recettoriale cui corrispondono altrettanti *ligandi* extracellulari. La stimolazione delle cellule con fattori di crescita (*growth factors*) che legano e attivano recettori ad attività tirosinachinasica può avviare tre diversi tipi di risposta: controllo della crescita normale quando la tirosinachinasi non è iperespressa né assente, crescita tumorale se la tirosinachinasi è iperespressa, malattie come diabete insulino-resistente o morbo di Hirschprung quando la funzione della tirosinachinasi è perduta. Tra gli esempi di crescita neoplastica viene citata

l'iperespressione dell'oncogene *erb-B-2* che è stato trovato spesso nel carcinoma mammario dove è stato riconosciuto come *marker* di neoplasia molto aggressiva. 7°- Gli oncogeni *H-ras* del sarcoma di Harvey e *K-ras* del sarcoma di Kirsten degli animali d'esperimento sono stati isolati nel corso degli ultimi due decenni del Novecento anche in molti tumori umani: geni derivati da *H-ras-1* sono stati isolati nel cancro mammario e in quello vescicale, e quelli derivati da *K-ras-2* nei tumori polmonari e del colon umano SW480. Nel neuroblastoma, nella leucemia promielocitica HL-60, nella leucemia mieloide acuta AML33 sono stati trovati geni derivati dall'oncogene *N-ras* facente parte della stessa famiglia biochimica degli oncogeni *ras*. Il prodotto degli *H-ras* e *K-ras* è una proteina di tipo G che ha perduto il potere di idrolizzare il GTP, funzione caratteristica delle proteine che, proprio per questa specifica funzione, sono considerate "interruttori molecolari" che, legando e idrolizzando il GTP, sono indispensabili alle più svariate reazioni chimiche della vita endocellulare. Non potendo più idrolizzare il GTP la proteina – chiamata dagli scopritori *p21* – rimane in uno stato di perpetua attivazione. La mancata idrolizzazione del GTP che ne consegue significa la perdita di un elemento regolatore della proliferazione cellulare. J. Watson e coll. nel 1987 hanno spiegato le alterazioni della sequenza aminoacidica codificata da geni *ras* isolati dal DNA tumorale (e già studiati nel 1982 da Reddy e coll.) con alterazioni della struttura tridimensionale della proteina. 8°- Dai tumori e dalle leucemie di animali sono stati isolati negli ultimi due decenni del secolo XX molti altri oncogeni che agiscono direttamente nel nucleo cellulare dove controllano l'espressione dei geni preposti al controllo della proliferazione cellulare: ne legano il DNA in siti diversi, oggi bene identificati, e operano sulla trascrizione. Nelle cellule quiescenti questi geni sono espressi in quantità molto ridotta, ma che può aumentare e molto rapidamente sotto l'influsso di stimoli mitogenici. Per quanto riguarda l'uomo citiamo due geni simili all'oncogene *myc* che è un gene virale aviario che provoca leucemie e sarcomi: questi geni umani sono l'*N-myc* che si trova nel DNA del retinoblastoma e del neuroblastoma e l'*L-myc* che si trova amplificato nel microcitoma del polmone.

Un campo di ricerca sviluppato con importanti risultati nel corso degli anni novanta del Novecento su basi scientifiche dovute a studi condotti negli anni settanta e ottanta (A. Knudson 1971; J. Yunis e N. Ramsey 1978; S. Friend e coll. 1986; H. Huang e coll. 1988; V. Riccardi e coll. 1978) è stato quello che ha portato alla scoperta di **geni antioncogeni** detti anche **oncosoppressori** oppure oncogeni recessivi. Si tratta di geni presenti nel corredo genico di tutte le cellule normali ed è la loro inattivazione o, peggio, la loro delezione che consente lo sviluppo di una neoplasia. La loro scoperta è stata dovuta allo studio di alcune neoplasie ereditarie come il retinoblastoma, il tumore renale di Wilms, la neurofibromatosi tipo I di Recklinghausen e la sindrome ereditaria neoplastica di Li descritta per la prima volta nel 1988. Il gene RB isolato e caratterizzato nel 1986 da Friend e coll. è espresso in tutti i tessuti normali in un sito del cromosoma 13 mentre manca in tutti i casi di retinoblastoma; esso è il primo esempio di gene oncosoppressore la cui inattivazione comporta la trasformazione neoplastica. La dimostrazione definitiva delle proprietà del gene RB è stata ottenuta con esperimenti *in vitro*. Il gene WT1 isolato nel 1978 da Riccardi e coll. è stato in seguito considerato da Call e coll. (1990) come un gene oncosoppressore che è inattivo nel tumore embrionale del rene di Wilms. M. Fallace e coll. nel 1990 hanno localizzato sul cromosoma 17 un gene chiamato NF1 riconosciuto responsabile della neurofibromatosi tipo 1 perché interagisce con la regolazione della trasmissione dei segnali dati dai fattori di crescita. Sempre sul cromosoma 17 è stato localizzato un altro gene oncosoppressore coinvolto nella genesi della grave sindrome neoplastica ereditaria di Li e Freumeni. Infine si deve ancora ricordare che il gene oncosoppressore RB è risultato presente ma inattivato in sarcomi umani, nel microcitoma

del polmone e nel cancro del seno e che nel 1988 B. Vogelstein e coll. hanno evidenziato l'inattivazione di geni oncosoppressori nel cromosoma 18 nelle forme più aggressive ed avanzate di cancro del colon.

Le conclusioni che si possono trarre da quanto fin qui esposto sull'origine delle neoplasie ci dicono che alla fine del Novecento si era arrivati a chiarire le basi molecolari del livello genetico dello sviluppo dei tumori, il quale dipende dall'attivazione di alcuni geni chiamati *oncogeni* e dall'inattivazione di altri detti *antioncogeni*.

Le scoperte che si sono accumulate nell'ultimo trentennio del secolo hanno aperto la strada a nuove possibilità diagnostiche disponendo di *markers* molecolari e prognostiche se verranno elaborate indagini cliniche capaci di identificare rapidamente e sicuramente quali oncogeni sono attivati o quali antioncogeni sono inattivati, e infine terapeutiche se nel XXI secolo sarà possibile reintegrare un gene oncosoppressore inattivato.

L'**immunologia oncologica** è un settore della ricerca sperimentale in cui le prime indagini del secolo XX si sono mosse sulla scia dei brillanti risultati ottenuti con l'impiego di sieri e vaccini nella prevenzione e cura delle malattie infettive già a partire dagli ultimi anni dell'Ottocento. Oggetto primario della ricerca sono state l'esistenza e l'individuazione di costituenti antigenici specifici della cellula neoplastica. Questa meta è stata raggiunta con pieno successo in una serie di ricerche sperimentali: Nel 1960 P. Sumons e R. Dougherty dimostrarono l'esistenza di caratteristiche antigeniche in tre diverse varianti del virus del sarcoma di Rous e altri AA identificarono la presenza di antigeni specifici nella maggior parte dei tumori sperimentali e li classificarono in superficiali (o extracellulari) e intracellulari, e anche a seconda della loro associazione a virus oncogeni a DNA ovvero a RNA e infine in base alla loro solubilità. Anche i tumori provocati da oncogeni chimici hanno mostrato proprietà antigeniche tipiche di ogni singolo tumore, a differenza di quelli da virus che presentano antigeni sierologicamente identici o tra loro correlati.

La dimostrazione in oncologia sperimentale di fenomeni di resistenza e di tolleranza immunologica ha aperto altri interessanti campi d'indagine. Negli anni sessanta e settanta si è fatta strada la teoria secondo la quale in certi tumori sperimentalmente indotti con oncogeni chimici lo sviluppo neoplastico fosse il risultato della derepressione di antigeni embrionali usualmente repressi nelle cellule differenziate dei tessuti normali. Da qui la scoperta degli antigeni carcino-embryonali detti CEA (*Carcino-Embryonic Antigen*) che si dimostrarono utili per la diagnosi clinica di tumori dell'apparato digerente dell'uomo, e di un altro antigene carcinoembrionale, l'alfa-fetoproteina dei tumori del fegato.

Alla fine degli anni settanta tutte le ricerche dirette a dimostrare l'esistenza di antigeni specifici anche nei tumori umani analogamente a quelli individuati nei tumori sperimentali degli animali non avevano ottenuto ancora nessun successo, ma anche se i risultati delle molte ricerche eseguite fino allora non avevano fornito tutto ciò che si attendeva, si erano fatte strada intanto due convinzioni molto diffuse nel mondo scientifico e cioè che meccanismi immunitari possano realmente impedire lo sviluppo ulteriore di tumori che sono allo stadio iniziale e che i deficit immunitari favoriscono lo sviluppo dei tumori.

Tra il 1957 e il 1970 Burnet ha sviluppato e proposto la teoria della "*sorveglianza immunologica*" secondo la quale la comparsa di cellule aberranti con potenzialità neoplastica si identifica con la comparsa di altrettanti antigeni che, una volta raggiunta una certa quantità, determinano obbligatoriamente una risposta immunitaria che elimina le cellule aberranti nello stesso modo in cui viene rigettato un trapianto eterologo od omologo. Le conseguenze teoriche tratte da questa ipotesi di Burnet sono: 1°- il cancro trova maggiori possibilità di crescita nelle età della vita in cui il sistema immunitario è

meno efficiente, cioè nel periodo perinatale e nella età senile. 2°- Le malattie genetiche che producono difetti immunitari si associano a più alta frequenza di neoplasie e a minore efficienza degli agenti immunosoppressori. 3°- La chirurgia ablativa dei tumori maligni dovrebbe avere maggiori possibilità di successo quando il tumore è circondato e infiltrato da molti linfociti, espressione della risposta di difesa immunitaria.

In realtà tutte queste considerazioni hanno trovato ampia conferma nei risultati degli studi di molti AA. come Squartini e Bolis nel 1966, Bruton nel 1952, Bergsma e Good nel 1968, Dent e coll. nel 1968, Kersey e coll. nel 1973 e altri ancora. Burnet aveva anche preso in considerazione la possibilità di una regressione spontanea del tumore per risveglio o potenziamento di una difesa immunologia in precedenza fiacca o insufficiente. Anche questo punto della teoria di Burnet ha trovato conferma nei 176 casi accertati di regressione spontanea pubblicati nelle riviste scientifiche tra il 1964 e il 1976 da Everson e da Cole. Va tenuto presente che ben 98 di questi casi riguardavano neoplasie maligne in soggetti molto giovani i quali andrebbero aggiunti ai numerosi casi di linfoma di Burkitt dei bambini africani, alcuni dei quali sono stati visti regredire spontaneamente tra il 1955 e il 1976 da diversi AA. Va anche aggiunto che la teoria di Burnet è andata incontro negli anni settanta a varie critiche basate sui dati della ricerca sperimentale (Stutman 1977 e anni precedenti; Prehn , 1972 e 1974). Ciononostante, alla fine del secolo, non era affatto diminuito il fervore di studi rivolti a scoprire le possibilità di instaurare una immunoterapia dei tumori.

Non sono mancate nel corso del Novecento le segnalazioni di numerosi casi clinici che hanno rivelato l'esistenza di **neoplasie ormodipendenti**, tra le quali in primo piano il cancro della mammella, il cancro dell'ovaio e il cancro della prostata. Questo ha indotto gli studiosi di oncologia ad avviare, già negli anni quaranta del XX secolo, ricerche sperimentali nel ratto (M. Biskind e G. Biskind, 1944) e nel topo (H. Bali e J. Furth, 1944) che hanno fornito dati molto interessanti. Questi esperimenti hanno dimostrato che provocando, mediante varie metodiche, un'iperproduzione di gonadotropina ipofisaria si otteneva iperplasia del tessuto ovarico e la sua successiva cancerizzazione. In seguito (1965) D. Sinha e coll. hanno ottenuto la cancerizzazione della tiroide somministrando tireotropina. Per quanto riguarda il cancro della mammella la prima osservazione di chirurgia sperimentale che dimostrò la correlazione tra cancro mammario e ormoni ovarici risale al 1916 quando A. Lathrop e L. Loeb dimostrarono che la castrazione di topine giovani appartenenti a ceppi ad elevata frequenza di cancro della mammella provocava una drastica riduzione dei nuovi casi di cancro. In seguito fu dimostrato che l'inoculazione di ormone ovarico causava insorgenza di tumore mammario non solo nelle topine ma anche nei topi maschi nei quali non si era mai osservato in precedenza l'insorgenza spontanea del tumore. Nel corso degli anni trenta gli sperimentatori cominciarono a disporre di estrogeni purificati e la molecola di estradiolo apparve essere l'ormone femminile più attivo di tutti gli altri ormoni ovarici. La somiglianza chimica dell'estradiolo con gli idrocarburi cancerogeni fece supporre una sua probabile azione cancerogena diretta ma non è mai stato possibile dimostrare la presenza nei tessuti umani dell'enzima capace di indurre la conversione molecolare necessaria a trasformare l'estradiolo in un idrocarburo aromatico cancerogeno. Ciò che è certo è che gli estrogeni possono causare iperplasia e trasformazione cistica della ghiandola mammaria, condizioni sulle quali altri fattori locali potrebbero produrre la crescita di un cancro.

Gli studi sui rapporti tra cancro del seno e ormoni hanno portato a distinguere tre stadi successivi nello sviluppo del tumore. Il primo stadio, detto della dipendenza, è connotato dalla comparsa – in patologia sperimentale – del tumore in una femmina vergine che diventa gravida, tumore che scompare dopo il parto per poi ricomparire nella seconda gravidanza. Il secondo stadio, detto della responsività, è quello della forte e veloce

proliferazione sotto somministrazione dell'ormone che, una volta cessata, prosegue a ritmo rallentato. Il terzo stadio, detto dell'indipendenza, è quello caratterizzato dalla insensibilità del tumore nei riguardi dell'azione ormonale. I tumori della mammella della donna possono appartenere ad uno di questi tre stadi o categorie. Una neoplasia del seno può trascorrere attraverso tutti tre gli stadi qui descritti.

Gli esperimenti portati a termine nei primi anni sessanta (T. Dao, 1964; F. Bresciani e coll. 1965 e 1966) hanno dimostrato una stretta dipendenza dello sviluppo del cancro mammario da idrocarburi aromatici attraverso complesse situazioni endocrine: ipofisi, ovaie e surreni influenzano notevolmente l'andamento della malattia neoplastica in situazioni diverse come la gravidanza e il post-partum. Basta a darne un'idea il fatto che un tumore già regredito per effetto dell'ovariectomia associata a ipofisectomia riprende a svilupparsi se nell'animale viene innestato un tessuto neoplastico che secerne prolattina oppure ormone della crescita o ACTH.

Altre importanti acquisizioni sono state quelle che hanno messo in luce la grande capacità naturale di concentrare e trattenere il 17-beta-estradiolo marcato nei tessuti dell'utero e della vagina (E. Jensen e H. Jacobson, 1962) e anche della stessa capacità della ghiandola mammaria riscontrata qualche anno dopo, e ancora l'identificazione delle proteine che legano il 17-beta-estradiolo (F. Bresciani, 1964 e 1973). Questi recettori dell'estradiolo vengono scissi da una proteasi in due frammenti. Il frammento che resta legato all'ormone entra nel nucleo della cellula della ghiandola mammaria e qui si lega ad una proteina basica della cromatina nucleare dove molto verosimilmente si verifica un'attivazione genica con sintesi di RNA e quindi di proteine che rappresentano il primo passo della moltiplicazione cellulare abnorme. Nella donna è stata accertata l'esistenza di un rapporto diretto tra cancri del seno privi di recettori e insensibilità alla terapia ormonica.

Nella pratica clinica degli anni sessanta e settanta i dati dell'oncologia sperimentale hanno avuto un'eco pressoché immediata con la castrazione (ovariectomia bilaterale) contemporanea a mastectomia radicale nelle donne malate di cancro mammario in età premenopausale e la cura medica con ormoni maschili nelle donne in età senile. Nel 1968 il norvegese R. Nisson-Meyer pubblicò i risultati favorevoli ottenuti in un gruppo selezionato di donne in età premenopausale affette da cancro del seno e trattate con la castrazione raffrontato ad un gruppo omogeneo non sottoposto a castrazione. Nel 1975 lo stesso Autore confermò i buoni risultati in pazienti alle quali la castrazione radiologica era stata associata a trattamento ormonale. Nel 1977 e 1979 J. Meakin e coll. pubblicarono buoni risultati a distanza di 10 anni dalla castrazione radiologica associata a trattamento cortisonico protratto. Nel 1981 A. Bryant e J. Weir pubblicarono i soddisfacenti risultati ottenuti su pazienti in I e II stadio di cancro del seno trattate con la castrazione chirurgica contemporanea alla mastectomia. Una revisione della letteratura su questo argomento fatta da Ch. Hubay e coll. dell'università di Cleveland (Ohio, USA) nel dicembre del 1984 fece trarre agli autori questa conclusione: *"...è dunque evidente che l'asportazione delle ovaie, privando di estrogeni le donne in età premenopausale con cancro del seno operabile, può consentire una sopravvivenza libera da malattia molto prolungata. Tuttavia è necessario praticare una selezione preventiva delle pazienti in base alla analisi dei recettori ormonali"*. Nel corso degli anni ottanta la castrazione è stata sostituita dall'ampio uso della chemioterapia nelle donne in età premenopausale e dalla terapia antiestrogena con il citrato di tamoxifen (Nolvadex) nelle donne in menopausa. La prima comunicazione importante apparsa nella letteratura medica a favore dell'impiego degli antiestrogeni nel postoperatorio delle donne operate al seno per tumore è stata quella dell'inglese B. Stoll nel 1979 seguita da molte altre comunicazioni concordanti nel periodo 1980-1982.

Una evoluzione analoga hanno avuto nel periodo 1950-1990 i criteri di cura del cancro della prostata dapprima affrontato con la castrazione nelle forme ormonosensibili diagnosticate in stadi che avevano oltrepassato l'utilità di una exeresi chirurgica. Seguirono molti protocolli di cura con estrogeni che però si dimostrarono gravati da effetti collaterali di tipo cardiocircolatorio, e, dopo il 1965-1966, con farmaci antiandrogeni a cominciare dal ciproterone che nei laboratori berlinesi del gruppo Shering aveva dimostrato di determinare nelle topoline gravide la nascita esclusiva di figli femmine. Dopo 11 anni di ricerche il primo Congresso Mondiale di Roma sulla terapia ormonale del carcinoma prostatico riconobbe nel ciproterone un valido antagonista degli ormoni surrenalici e di tutti gli altri metaboliti di origine androgenica surrenalica dichiarandolo ormone di scelta per la cura del carcinoma prostatico. Dopo il 1975 entrarono nella pratica terapeutica altri antiandrogeni di struttura non steroidea e alla fine del secolo ferveva ancora una vivace tendenza alla ricerca sperimentale e clinica di nuovi farmaci contrassegnata nell'anno 2000 dalla comparsa in terapia antiandrogena di un farmaco che era il primo appartenente alla classe dei GNRH-antagonisti, l'Abarelix, che blocca il rilascio di GNRH e quindi inibisce la produzione ipofisaria di LH e di FSH che a sua volta ha come conseguenza la soppressione della produzione di testosterone e di diidrotestosterone. I primi dati sulla efficacia curativa stimolavano un vivo interesse verso questa nuova opzione terapeutica.

La **storia naturale della malattia neoplastica nell'uomo** inizia con il cosiddetto "*periodo di latenza*" descritto per la prima volta nel 1953 da Steiner con queste parole: "*è il periodo che passa dalla prima esposizione al cancerogeno alla comparsa del tumore*". In questo lasso di tempo si passa da una prima fase priva di modificazioni apprezzabili a livello istologico ad una seconda fase in cui queste diventano riconoscibili. Segue il *periodo dello sviluppo di una popolazione cellulare autonoma* la cui dimensione anche per molti anni può restare celata a qualsiasi mezzo di ricerca, cioè prima che il tumore entri nella cosiddetta "*fase clinica*". Quest'ultima è sempre la punta di un iceberg. I cancri della mammella, dello stomaco, dell'intestino, della cute e delle mucose, del collo dell'utero sono tutti preceduti da una tappa cancerogenetica rappresentata da lesioni iperplastiche, displastiche ecc. oggi ben conosciute e che giustamente sono state definite "*preneoplastiche*". Riconoscere quali lesioni sono veramente preneoplastiche è clinicamente molto importante perché alcune di esse sono reversibili, altre invece irreversibili.

Le fasi della malattia neoplastica umana come sono state configurate dagli oncologi della seconda metà del Novecento sono invece quattro: 1°- *fase biologica* caratterizzata da una lesione biochimica e poi ultrastrutturale che può anche essere regressiva o transitoria. 2°- *fase morfologica* che può essere data da diversi tipi di lesione: iperplasia, displasia, metaplasia, neoplasia maligna con tendenza a regressione spontanea o a progressione neoplastica. 3°- *fase preclinica* caratterizzata da atipia cellulare e invasione locale con basso o alto grado di malignità. 4°- *fase clinica* con o senza metastatizzazione.

I risultati degli studi sperimentali conseguiti negli anni cinquanta e sessanta sulla morfologia del periodo di latenza dei tumori hanno consentito di concludere che: 1°- esistono sempre lesioni morfologiche riconoscibili prima della malignità. 2°- queste lesioni sono diverse e la loro diversità è aspecifica. 3°- le alterazioni sono spesso solo microscopiche. 4°- la lesione benigna è – salvo eccezioni - il passaggio obbligato tra tessuto normale e tessuto maligno (esempio = il tessuto ghiandolare normale si trasforma in adenoma e questo si trasforma in adenocarcinoma).

L'*iperplasia diffusa* persistente è un terreno fertile per lo sviluppo di un cancro. L'esempio tipico è quello dato dal gozzo tiroideo delle aree geografiche di gozzo endemico dove il

cancro della tiroide è otto volte più frequente delle aree non endemiche (studi di Winder, 1952).

La *displasia* è un tipico ponte tra il tessuto normale e il cancro. Esempi tipici sono la mastopatia fibrocistica che precede il cancro del seno (studi di Severi, 1952 e di Black, 1976).

La *metaplasia* è una differenziazione anomala per un determinato tessuto mentre rappresenta la differenziazione normale per un altro tessuto. Esempio tipico è quello della trasformazione in epitelio squamoso delle labbra, della lingua, della mucosa laringea, ecc.

La *disontogenia* è un alterato rapporto dei tessuti embrionali tra loro (amartomi) oppure è una malformazione vera e propria o un teratoma (studi di Willis, 1962).

Non si può chiudere il vasto capitolo delle neoplasie nella storia della patologia generale del Novecento senza accennare al problema della cosiddetta “**Progressione tumorale**”, una costruzione teorica iniziata nel 1949 e conclusa dopo quarant’anni di studi su una enorme mole di dati e osservazioni dell’oncologia umana e di quella sperimentale. Il costruttore di questa interpretazione dell’essenza e del comportamento delle neoplasie è stato Foulds le cui principali pubblicazioni sono datate 1949, 1956, 1969 e 1975. Oltre alle ampie e lunghe ricerche personali Foulds ha certamente utilizzato le precedenti acquisizioni di Rous e Beard (1935) e quelle successive di Klein e Klein (1958), di Curie e coll. dello stesso anno e di molti altri ancora in tempi successivi.

Per “progressione tumorale” Foulds ha inteso la progressiva acquisizione di modificazioni stabili, ereditabili e irreversibili in uno o più caratteri di un tumore in accrescimento. Invece per “modulazione” Foulds indicava la comparsa in un tumore di variazioni temporanee e reversibili legate a fattori ambientali. Per “dipendenza” (*responsiveness*) Foulds intendeva la capacità di un tumore di rispondere a stimoli estrinseci, un fenomeno che è tipico delle fasi precoci dello sviluppo neoplastico. I caratteri irreversibili tipici della “progressione” sono stati identificati da Foulds nell’aumento della velocità di crescita, nella diminuzione e perdita dei segni visibili della differenziazione cellulare e tissutale, nell’indipendenza dagli influssi ormonali e da altri stimoli estrinseci, nella capacità di infiltrare e scompaginare i tessuti vicini fino a distruggerli, nella capacità di dare metastasi, nella trapiantabilità e trasformazione da tumore solido a tumore-ascite. Secondo Foulds l’assunzione di tutti questi tipici caratteri della malignità non è totale fin dall’inizio, bensì progressiva man mano che il tumore, inizialmente ancora differenziato e dipendente, cioè capace di *responsiveness*, perde queste caratteristiche diventando indipendente e altamente indifferenziato.

I principi della progressione elaborati da Foulds sono: 1°- progressione indipendente dei tumori multipli di tipo diverso che si verificano nella stessa persona 2°- in seno allo stesso tumore i caratteri in progressione si presentano indipendentemente l’uno dall’altro 3°- la progressione è indipendente dalla crescita e dalla durata clinica della neoplasia 4°- la progressione può essere continua e discontinua 5°- la progressione può evolvere per vie diverse e secondo modelli alternativi 6°- la progressione non arriva sempre al suo termine nel corso della vita dell’ospite.

Le neoplasie dell’uomo che meglio si prestano all’esemplificazione di questi principi sono quelle della cute e delle mucose, delle vie urinarie, delle ghiandole endocrine, degli organi della riproduzione e della mammella.

Gli studi di oncologia sperimentale hanno portato a corollario della “progressione” già negli anni settanta (Prehn, 1976) ad ipotizzare la selezione clonale – cioè la selezione di una popolazione cellulare che discende da una sola cellula progenitrice - sia nella prima che nelle successive fasi dello sviluppo neoplastico.

Alla teoria della “progressione” di Foulds, pur accettata e condivisa dalla maggior parte degli studiosi di oncologia, non sono mancate opposizione e critiche; sono state anche formulate altre teorie che spiegano in modo diverso la lunga durata della malattia neoplastica (Nandi, 1978)

La **diffusione metastatica** dei tumori maligni è un fenomeno che è stato studiato da molti AA sotto diversi aspetti. Di questi i più accertati sono le cinque vie di diffusione (vasi linfatici, vasi ematici, cavità celomatiche, spazi cerebrospinali e cavità epiteliali), il carattere passivo del trasporto a distanza, l'importanza dei fattori biologici che caratterizzano il terreno di arresto delle cellule e degli emboli tissutali del tumore.

Diversità di vedute e di ipotesi hanno riguardato invece negli anni sessanta e settanta il problema dei fattori che sono responsabili del distacco dalla neoplasia primitiva di cellule o di frustoli tissutali e la loro penetrazione nelle vie naturali di diffusione, fattori questi che stanno alla base della diversa capacità di metastatizzare delle diverse neoplasie, fenomeno che alla fine del Novecento non aveva ancora trovato una plausibile spiegazione da tutti condivisa.

FARMACOLOGIA

L'autonomia di nuova scienza a sé stante la farmacologia moderna la deve all'impostazione teorico-pratica e ai principi dettati dal suo fondatore O. Schmiedeberg negli ultimi anni dell'Ottocento quando affermò: *“Scopo della farmacologia è di sviluppare una scienza biologica indipendente e pura che studi l'azione dei farmaci sugli organismi viventi senza riferimento alla loro importanza pratica...I risultati dei suoi studi potranno avere interesse terapeutico, tossicologico o soltanto biologico”*.

I primi farmacologi del Novecento videro dunque nel farmaco soltanto una sostanza chimica che aveva la possibilità di interferire nel metabolismo degli organismi viventi. Così questa nuova branca delle scienze biologiche marcava il distacco dalle sue prime radici formatesi accanto a quelle della scienza-madre, la fisiologia.

Dedicandosi a studiare le proprietà fisiche e chimiche dei farmaci allora conosciuti e in uso terapeutico i farmacologi del primo Novecento si limitarono sostanzialmente a descriverne gli effetti sugli animali di laboratorio mantenendosi rigorosamente entro i binari sperimentali della nuova scienza. Tuttavia nei corsi di insegnamento universitario di medicina e chirurgia la farmacologia non riuscì a svestirsi subito del vecchio titolo di *“Materia Medica”* e gli studenti di medicina che affrontavano questo esame prima della prima guerra mondiale erano ancora tenuti a dimostrare di possedere una solida preparazione di botanica oltre che le nozioni allora note di chimica e fisica. Accanto al vasto patrimonio farmacologico del passato empirico i docenti cominciavano comunque a illustrare le caratteristiche delle prime medicine prodotte dalle nascenti industrie farmaceutiche e i primi due decenni del secolo videro la produzione su vasta scala dei primi farmaci prodotti nei laboratori di chimica. Nel 1909 Paul Ehrlich pubblicò sull'organo ufficiale della Società tedesca di Chimica un articolo che ebbe risonanza internazionale. Il titolo suonava così: *“Sullo stato attuale della chemioterapia”*. Era la prima volta che veniva usato e diffuso ufficialmente il sostantivo *“chemioterapia”* e questo significò che per la prima volta la farmacologia sperimentale, quella vagheggiata e ben definita da Schmiedeberg, entrava a pieno diritto nei fondamenti della terapia medica.

Paul Ehrlich (1854-1915) – che già nel 1908 aveva ricevuto il premio Nobel per la medicina insieme a Metchnikoff - scoprì nel 1910 il *“Salvarsan o 606”*, nome commerciale dell'arsfenamina, che fu il primo antiluetico dovuto alla farmacologia sperimentale e venne definito *“proettile magico”* per la sua azione terapeutica specifica.

Il rapido e continuo sviluppo della chimica di sintesi offrì ai farmacologi le armi per produrre una quantità impressionante di nuovi farmaci lungo l'intero corso del XX secolo. Erano, soprattutto nei primi tempi, ricostruzioni per sintesi di molecole attive isolate e studiate in precedenza dai chimici in migliaia di composti di origine vegetale e animale. La farmacologia sperimentale controllava la funzione specifica di gruppi e radicali onde identificare in ognuna di queste sostanze la componente chimica attiva; ne seguivano operazioni di spostamento endomolecolare, di eliminazione di gruppi e di radicali inutili o dannosi, di sostituzioni e modificazioni della struttura chimica. Accanto ad una lunga serie di prodotti derivati dai farmaci naturali come i curarosimili, i cocainosimili e altri, furono creati composti del tutto nuovi in quantità incalcolabili. Persino gli antibiotici diventarono dominio delle manipolazioni chimiche fino alla sintesi di antibiotici molto modificati o del tutto nuovi nel tentativo di migliorarne l'efficacia terapeutica e di consentirne la produzione industriale a basso costo. Naturalmente la lunga strada percorsa dagli sperimentatori non fu priva di cocenti delusioni alternate a più rari momenti di infinita gioia per alcune folgoranti scoperte.

Non è possibile chiudere questo accenno ai farmaci di produzione sintetica del Novecento senza ricordare almeno alcuni tra i più illustri rappresentanti della moderna farmacologia.

Dopo il ricordo di Ehrlich e, seguendo un ordine cronologico regolato sulle date di nascita, citeremo anzitutto il chimico francese Ernest-François-Auguste **Fourneau** (1872-1949) che condusse ricerche fondamentali sugli arsenicali pentavalenti somministrati ai malati di sifilide e di tripanosomiasi. Nella sua lunga vita Fourneau ebbe modo di lasciare la sua impronta nelle ricerche sugli anestetici, sugli antimalarici di sintesi, sui sulfamidici e sugli antiistaminici.

Il chimico tedesco Adolf **Windaus** (1875-1915) si dedicò allo studio degli steroli, schematizzò per primo la loro costituzione e chiarì la natura steroidea della vitamina D. Per questo motivo fu premiato con il Nobel nel 1928. Studiando gli imidazolici scoprì l'istamina e dimostrò la presenza di un anello pirazolico e di uno pirimidinico nella struttura chimica della vitamina B1. Anche le prime ricerche sulla colchicina, l'alcaloide impiegato negli attacchi acuti di gotta, recano il nome di Windaus.

Nel 1886 nacque il biochimico americano Edward Calvin **Kendall** (m.1972) che si dedicò allo studio degli ormoni tiroidei e della corteccia surrenale. Il suo nome è particolarmente legato alla scoperta delle proprietà biologiche del cortisone e alla sintesi dell'11-diidro-corticosterone. Nel 1950 fu premiato con il Nobel insieme a Hench e a Reichstein.

Nel 1887 nacquero due chimici svizzeri, uno di origine croata, Leopold **Ruzicka** (m.1976) che studiò i terpeni superiori e i macrociclici e inventò il sistema di sintesi degli ormoni sessuali per cui si meritò l'assegnazione del premio Nobel del 1939. Il secondo, chimico e naturalista, Arthur **Stoll** (1887-1971) dopo aver compiuto gli studi universitari sotto la direzione di Willstaetter a Monaco di Baviera tra il 1911 e il 1917, si dedicò in particolare a studiare i prodotti tossici del parassita fungino delle messi legati alla segale cornuta e un gruppo di glucosidi ad azione cardiotonica.

Nel 1895 nacque il celebre medico tedesco Gerhard **Domagk** (m. 1964) che per primo accertò le proprietà antibatteriche del Prontosil, un farmaco capostipite dei sulfamidici (1932) e l'azione antitubercolare dei tiosemicarbazoni (1948). Fu insignito del premio Nobel nel 1939 ma fu costretto a rifiutare il premio per imposizione delle autorità naziste. I bersagli centrati dal Prontosil furono i cocchi patogeni responsabili di molte malattie infettive gravi e diffuse, accompagnate da alta mortalità. Il beneficio apportato negli anni trenta e quaranta dalla diffusione delle cure con i sulfamidici fece veramente epoca.

Nel 1897 nacque il biochimico svizzero di origine polacca Tadeusz **Reichstein** (m.1996) che ottenne il premio Nobel nel 1950 insieme a Kendall e a Philip Hench per gli studi condotti sugli ormoni corticosteroidi che aprirono la strada alla scoperta del cortisone.

Nel 1906 nacque a Berlino Ernst Boris **Chain**, biochimico e fisiologo di origine russa. Fece parte del famoso gruppo di Oxford e insieme al patologo H. **Florey** condusse dal 1933 in poi ricerche sistematiche su molte sostanze antibatteriche fino ad isolare e purificare la penicillina già segnalata nel 1929 come un prodotto del fungo *Penicillium notatum* da Alexander **Fleming** il quale aveva notato la sua azione antistafilococcica. Per la scoperta della penicillina **Chain, Florey e Fleming** furono premiati con il Nobel nel 1945, primo anno della pace postbellica. Tra il 1948 e il 1961 Chain diresse il Centro Internazionale di Chimica Microbiologica presso l'Istituto Superiore di Sanità a Roma e dopo il 1961 insegnò all'Imperial College of Science and Technology di Londra,

Nel 1907 nacque in Svizzera Daniel **Bovet** (m.1992) farmacologo italiano premio Nobel del 1957. Lavorò nei laboratori dell'Istituto Superiore di Sanità a Roma nel campo dei sulfamidici, degli antiistaminici e dei curari sintetici. Nel 1948 pubblicò l'importante opera dal titolo "*Structure chimique du système nerveux végétatif*".

Come risulta dalla lettura di questo elenco, che comunque non va al di là di una parziale esemplificazione dell'attività di ricerca farmacologica svolta nella prima metà del Novecento, il percorso di questo cinquantennio è tutto punteggiato da premi Nobel

assegnati a studiosi che hanno arricchito di farmaci di importanza fondamentale e di origine chimica la farmacopea ereditata dai secoli precedenti.

Ma, contemporaneamente alla ricerca chimica di nuovi farmaci costruiti per sintesi, continuò e si perfezionò nel primo Novecento la ricerca delle caratteristiche morfologiche macro- e microscopiche delle piante delle quali era nota da molto tempo l'azione curativa. Questi studi si accompagnarono ovviamente a quelli dei metodi più pratici e utili per l'estrazione dei principi attivi e per la loro purificazione: acidi organici, enzimi, flavonoidi, steroidi, alcaloidi, glicosidi e altre classi chimiche di principi attivi furono oggetto di una valutazione sempre più attenta e rigorosa.

Le vitamine rappresentano una delle scoperte più importanti del XX secolo. Furono denominate così nel 1911 da Kazmierz Funk ed erano quasi tutte caratterizzate da instabilità alla luce e al calore a fronte di una capacità preventiva e protettiva nei riguardi di gravi malattie pur venendo assunte in dosi veramente minime. Se il primo riconoscimento fu quello di queste loro qualità, non mancò in un secondo tempo quello della loro essenzialità in tutte le forme di alimentazione abituale umana. Ben sei ricercatori ottennero il premio Nobel nel giro di pochi decenni per la scoperta di sempre nuove vitamine. Anche se il posto d'onore spetta in questa eletta schiera ai chimici, non mancano fra essi i fisiologi e i farmacologi. Alla fine degli anni settanta si conoscevano ormai decine di vitamine e persino quadri clinici di ipervitaminosi di tipo tossico: ipervitaminosi A con quadri di tossicità acuta e cronica, ipervitaminosi D con effetti tossici a danno dei reni e ipercalcemia, ipervitaminosi K.

Anche la scoperta che il metabolita del *Penicillium notatum* uccideva le colture di stafilococco (A.Fleming, 1929) rientra nell'ambito del regno vegetale come tutte le successive scoperte di metaboliti che possiedono azione antibiotica derivati da muffe diverse: dai terreni di coltura dello *Streptomyces griseus* Schatz e coll. ottennero nel 1944 un metabolita attivissimo contro il bacillo di Koch, la streptomina; nel 1947 J. Ehrlich e collaboratori isolarono dalle colture di *Streptomyces venezuelae* il cloramfenicolo attivo contro un larghissimo spettro di microrganismi patogeni, tra il 1948 e il 1957 dalle colture di *Streptomyces aureofaciens* e di *Streptomyces rimosus* furono isolate le tetraciline e da altri streptomiceti furono ottenuti altri antibiotici a largo spettro come l'actinomicina, l'amfotericina B, la carbomicina, la nistatina, la neomicina, l'oleandomicina, l'eritromicina, la spiramicina, ecc. Nel 1959 Sensi e collaboratori isolarono dalle colture di *Streptomyces mediterranei* la rifamicina, un antibiotico molto attivo contro il bacillo di Koch; sempre nel 1959 dalle colture di *Streptomyces orientalis* fu isolata la vancomicina a forte azione antifungina e dalle colture di tre diverse varietà di streptomiceti fu isolata la viomicina ad azione antitubercolare. Nel 1975 la lista degli antibiotici conosciuti superava le centinaia, anche se la maggior parte di loro non era stata ancora vagliata dall'esperienza terapeutica nell'uomo. Di tutti comunque erano noti in via definitiva la formula chimica, il peso molecolare, la costituzione, le caratteristiche fisiche, il grado di stabilità e quello di tossicità e le possibilità di utilizzo pratico-terapeutico come pure l'eventuale sviluppo di resistenza da parte degli agenti patogeni testati. Va ricordato anche che diversi metaboliti delle muffe a struttura polienica hanno dimostrato di possedere azione antifungina specifica come la vancomicina, e altri, ottenuti dalle colture di *Streptomyces peucetius* (adriamicina – 1967) e di *Streptomyces coeruleorubidus* (daunomicina) rivelarono di possedere azione citostatica con conseguente ampio utilizzo nelle cure antineoplastiche.

Al regno vegetale si deve ancora far riferimento ad un farmaco psicoattivo molto importante, la psilocibina, estratto da funghi del genere *Psilocybe* che crescono nelle foreste messicane.

Tra i farmaci di origine animale il primo, purificato in forma cristallina nel 1901 da Takamine, fu l'adrenalina, sostanza che diede il via ad una intensa ricerca nel campo dei prodotti delle ghiandole a secrezione interna con l'intento di giungere, previi il loro

isolamento, la loro purificazione e cristallizzazione, a riprodurli per sintesi. Fino a tutto il 1963 gli ormoni disponibili come farmaci opoterapici (ghiandole endocrine di varia origine animale e principi attivi delle stesse e di escreti che li contengono sottoposti a disseccamento, alla purificazione con o senza successiva diluizione) erano le sostanze ossitociche, vasopressive e antidiuretiche (1957), la prolattina (1939), l'ACTH o corticotrofina (1955), la tireotropina (1954), la gonadotropina corionica (1939), l'insulina (1958). Le date riportate fra parentesi si riferiscono all'anno in cui furono stabiliti i campioni biologici internazionali e le preparazioni biologiche internazionali di riferimento per ognuno di questi farmaci ormonali. Molte di queste preparazioni opoterapiche furono sostituite negli anni seguenti dagli ormoni sintetici, tuttavia alcune di esse erano in uso ancora negli ultimi anni del secolo come i corticosteroidi sistemici (*corticis renalis extractum*) e gli ormoni tiroidei (*Thyroidea exsiccata*). Tra il 1947 e il 1977 il numero dei farmaci ormonali puri cristallizzati, quasi tutti prodotti per sintesi, si accrebbe notevolmente e ci limiteremo a segnalarne solo alcuni fra i più noti e di maggior impiego: idrocortisone e derivati, gonadotropine, derivati del pregnene (*progesteronum*), pregnadiene, estrene, 5-androstenone, ormoni tiroidei, calcitonina e glucagone.

Dopo il 1950 i biochimici concentrarono la loro attenzione sul fegato e sul sangue partendo dalle molteplici osservazioni dei benefici ottenuti con l'ingestione di fegato crudo in malati di sprue, di pellagra e di anemia perniziosa. Le ricerche portarono alla scoperta, per niente prevedibile, della vitamina B12 in seguito chiamata cianocobalamina. La sua successiva produzione su vasta scala grazie a processi fermentativi di alcuni microrganismi ne rese molto popolare l'impiego in molte forme di anemia.

Tutto il secolo vide una feconda e intensa ricerca di principi attivi – utili sotto l'aspetto farmacologico – ricavati dai tessuti di animali di svariatissime specie e moltissime furono le sostanze isolate che dimostrarono di possedere facoltà curative. La loro maggior parte presentava una composizione polipeptidica che in buona parte dei casi fu possibile riprodurre per sintesi. Tra queste sostanze ricordiamo l'angiotensina, la bradichinina scoperta da Rocha e Silva e collaboratori nel 1949, la sostanza P di Gaddum e Euler estratta dalle cellule enterocromaffini, la ceruleina di Anastasi (1967), le prostaglandine (Van Dorp e coll. 1964), il GABA (Purpura e coll. 1957), l'acido adenosintrifosforico (ATP), le linfocine.

Nel primo Novecento ci fu un allargamento in campo preventivo e terapeutico dell'azione di alcuni sali di metalli pesanti e di certe acque minerali. Le soluzioni di sali di Cl furono impiegate largamente per rendere potabili le acque, il Fe trovò largo impiego nelle anemie ipocromiche e i sali jodati nella prevenzione dell'ipotiroidismo nelle aree gozzigene.

Dopo questa rapida e certamente lacunosa rassegna del patrimonio farmacologico accumulato nel corso dei primi settantacinque anni del Novecento, appare opportuno soffermarsi a ricordare quali furono i problemi tecnici affrontati e risolti dai farmacologi nello stesso periodo.

Anzitutto per ogni farmaco si decise di calcolare la durata dell'effetto curativo, il dosaggio dei suoi residui in seno ai diversi tessuti, escreti e secreti dell'organismo, la sua curva di eliminazione, le diverse trasformazioni subite a seconda della via di somministrazione, i rapporti tra effetti e concentrazione del farmaco e molte altre informazioni ancora. Tutto questo corrispose alla compilazione di numerosi protocolli, differenti a seconda della specie animale sulla quale veniva praticata la ricerca sperimentale. L'accumularsi di migliaia e migliaia di annotazioni fece riconoscere che le trasformazioni subite dai farmaci, una volta arrivati in seno ai tessuti dell'organismo animale, erano in massima parte riconducibili a processi chimici generali come l'ossidazione, la riduzione, le scissioni e le coniugazioni. Alcuni farmaci dimostrarono per la prima volta la capacità di attivare e di inibire gli enzimi endocellulari. Già nei primi anni del secolo si cominciò a sfruttare le proprietà di lipofilia e di idrofilia delle varie sostanze

chimiche testate come farmaci e fu così che i narcotici furono identificati come lipofilici (Overton 1901); nello stesso modo si interpretarono gli effetti astringenti e caustici di certi ioni metallici sulle proteine dell'organismo in base al processo di dissociazione elettrolitica e, in seguito, l'azione farmacologica fu viepiù sottoposta ad interpretazioni basate sulle caratteristiche fisico-chimiche del singolo farmaco: dalla solubilità in vari solventi all'isosterismo, dai coefficienti di ripartizione ai potenziali di ossidoriduzione e così via.

A.Ostwald fu il primo ad impostare correttamente il rapporto che deve intercorrere tra costituzione chimica di una sostanza e la sua azione farmacologica, rifacendosi alle diverse caratteristiche proprie delle sostanze della serie grassa (sedativi del SNC), della serie aromatica (sostanze tossiche o veleni protoplasmatici, antipiretici) e sostanze a funzione amminica (eccitanti del SNC).

Con grande pazienza i farmacologi della prima metà del Novecento cercarono di trarre dalle esperienze quotidiane alcune regole generali che si basano sul ripetersi di certi fenomeni come ad es. il fatto che l'ossidazione di una sostanza riduce o annulla il suo effetto e che aumentando la lunghezza di una catena alifatica si aumenta l'attività della sostanza-base, e molte altre osservazioni ancora. Dunque con processi di metilazione, esterificazione, fosforilazione, ecc. e studiando nei minimi dettagli la struttura molecolare dei singoli farmaci man mano che ciò diventava possibile, si arrivò ad identificare la parte della molecola che esprime l'attività farmacologica e si imparò come procedere per migliorare l'effetto curativo del farmaco e ridurre la tossicità. Le deduzioni tratte dalla continua osservazione servirono a spingere i ricercatori verso la costruzione per sintesi di nuovi prodotti (non esistenti in natura) dei quali si ipotizzava l'azione farmacologica.

In questo immenso cantiere di lavoro i farmacologi del Novecento perseguirono fin dai primi tempi la meta essenziale consistente nella conoscenza del meccanismo d'azione dei farmaci, in altre parole del rapporto chimicofisico che si instaura tra farmaco e organismo.

Nei primi tempi, improntati ancora ad una visione prevalentemente fisiologica, il farmaco fu interpretato come uno stimolo capace di eccitare, deprimere o paralizzare e – indipendentemente dalle differenze di struttura chimica – si cercò di schematizzare in diagrammi, linee di varia foggia e particolari figure l'azione eccitante o deprimente di una determinata sostanza. Questo schematismo arrivò al punto di formulare una regola secondo la quale le piccole dosi sarebbero state sempre eccitanti, quelle maggiori sempre deprimenti e quelle massime paralizzanti. Non ci si rendeva ancora conto che i farmaci sono sostanze estranee all'organismo e ai suoi meccanismi vitali e che i farmaci obbediscono solo alle leggi della chimica fisica dal momento in cui entrano in rapporto diretto con i tessuti viventi. In seguito ci si accorse che, mentre alcuni farmaci modificavano subito e in modo massiccio i tessuti (metalli pesanti, alcali e acidi forti), altri alteravano le reazioni biochimiche endocellulari finendo per influire sui processi anabolici, catabolici e persino riproduttivi.

Abbastanza precoce fu il riconoscimento di farmaci provvisti di una attività preferenziale per certe formazioni cellulari molto differenziate come il centro respiratorio, i centri talamici e subtalamici del dolore e altri ancora e a queste azioni fu dato il nome di “elettive”. L'interpretazione che i farmacologi dettero di questo fenomeno fu quella del tropismo fisico-chimico dei farmaci per determinate aree del corpo animale e ritennero che le azioni elettive dipendessero, per quanto riguarda le fibre del sistema autonomo simpatico e parasimpatico, dalla concentrazione dei farmaci sulle terminazioni nervose a livello dei tessuti che ne sono innervati. Si parlò allora di farmaci “simpaticomimetici” o “simpaticotropi”, e, rispettivamente, di farmaci “parasimpaticomimetici” o “parasimpaticotropi” e queste sostanze (adrenalina, nicotina, atropina, ecc.) furono ampiamente usate sia nella sperimentazione di laboratorio che nelle cliniche neurologiche.

La scoperta nei primi anni Venti del farmacologo tedesco Otto Loew (1873-1961) che gli effetti della stimolazione del simpatico e del parasimpatico o vago erano mediati dalla

liberazione di sostanze da parte delle terminazioni nervose in stretta vicinanza delle fibre muscolari, fece cadere la teoria del tropismo e allora alle sostanze liberate dai nervi con effetto vagale fu dato il nome di “sostanza vagale” mentre a quelle con effetto ortosimpatico fu dato il nome di “simpatina”. La controdimostrazione sperimentale fu data dal fatto che queste sostanze, che già avevano rivelato il loro effetto (arresto del cuore di rana ad opera della *sostanza vagale*), raccolte nei liquidi di perfusione e poste a contatto con lo stesso organo di un altro soggetto provocavano il medesimo effetto una seconda volta e così via. La *sostanza vagale* risultò essere l’acetilcolina, nota da tempo ai fisiologi e ai farmacologi, e la *simpatina* risultò essere la noradrenalina, pure conosciuta, e fu alla luce di queste scoperte che le fibre nervose cominciarono ad essere distinte in “colinergiche” e “adrenergiche”.

Rivedendo quindi le vecchie interpretazioni si poté scoprire che certi farmaci già classificati come parasimpaticomimetici o parasimpaticotropi altro non facevano che ritardare la demolizione dell’acetilcolina prolungandone nel tempo l’azione. La stessa cosa valeva per i farmaci già etichettati come simpaticomimetici i quali agivano preservando l’adrenalina dagli enzimi ossidanti. Gli studi successivi poterono mettere in luce alcune sostanze capaci di potenziarle fortemente altre biologicamente molto attive producendole, accumulandole e mobilitandole ma pure capaci di alterarle o di distruggerle con estrema rapidità: un classico esempio è quello della cocaina e di altri antidepressivi che bloccano la captazione delle catecolamine da parte delle terminazioni nervose. La reserpina, l’imipramina, i farmaci anti-MAO sono altrettanti esempi di sostanze interferenti sulla trasmissione dell’impulso nervoso (v.FISIOLOGIA) ad altri tessuti da parte del SNC e SNP.

L’accumulo di queste scoperte nelle decadi centrali del Novecento spinse viepiù la ricerca farmacologica nei territori più avanzati della biochimica, quelli della farmacologia molecolare.

Il fisiologo inglese John Newport Langley (1852-1925), famoso per aver scoperto l’azione paralizzante della nicotina sui gangli del simpatico e per la definizione di “autonomo” data al sistema neurovegetativo che fu oggetto dei suoi studi di fisiopatologia, aveva già espresso a fine Ottocento il concetto di “**recettore**” per indicare il punto di raccolta degli stimoli adeguati. Paul Ehrlich a sua volta impiegò il concetto di “recettore” per descrivere certe parti dei microrganismi atte a ricevere e trattenere le molecole di farmaci sintetizzati a tale scopo (gruppi aptofori della teoria detta dell’*eziotropismo artificiale*). Erano visioni destinate a trovare conferma nella realtà. Nella prima metà del Novecento i farmacologi vennero via via convincendosi che le interazioni farmaco-organismo dovevano fondarsi sulla coppia farmaco-recettore, anche se quest’ultimo è rappresentato solo da una porzione di una macromolecola. Si pensò in particolare alle macromolecole degli enzimi della membrana cellulare e di quelli endocitoplasmatici. Gli studi di biochimica dimostrarono che i farmaci attivavano, deprimevano, inibivano o alteravano profondamente le reazioni enzimatiche. Coenzimi e apoenzimi rivelarono una specifica sensibilità verso i singoli farmaci e i farmacologi rimasero molto colpiti dall’osservazione che l’inibizione enzimatica dovuta a certi farmaci si verificava perché questi, essendo simili per struttura e forma spaziale alle molecole dell’enzima-recettore, le sostituivano. Si trattava dunque di una attività anti-metabolitica essendo gli enzimi dei metaboliti fisiologici.

I primi ad ipotizzare questo meccanismo competitivo-sostitutivo furono D.D.Woods e P. Fildes nel 1940 quando spiegarono l’azione antibatterica dei sulfamidici scoperti da Domagk nel 1935: la sulfanilammide sostituisce l’acido paraminobenzoico che è un enzima vitale di molti microorganismi che perciò non possono più riprodursi e muoiono. Fu anche data la controprova reintregrado la fornitura di acido paraminobenzoico e

annullando così l'azione antibatterica dei sulfamidici. In quegli anni la farmacologia stava muovendo i primi passi nell'esplorare con successo il grande regno molecolare per arrivare – come ebbe modo di affermare nel 1963 R.A. Perkins – a svelare l'intimità della “*lesione biochimica*”. Si cominciò a sfruttare il meccanismo della competizione-sostituzione creando sempre nuovi farmaci “*antimetaboliti*”: nel 1945 Peters creò l'antilewisite o BAL (la lewisite è una dicloarsina vescicante e necrotizzante della cute); il BAL è un mercaptopropanolo che, ripristinando i gruppi tiolici sottratti da prodotti arsenicali, è un vero e proprio antidoto a netta azione antitossica; nel 1955 J.B.Wilson e S.Ginsburg riattivarono con la pralidossina o PAM l'enzima vitale acetilcolinesterasi che viene bloccato dagli esteri fosforici molto usati in agricoltura sotto il nome commerciale di “*Parathaion*”, nel 1948 J.Hald e collaboratori bloccarono l'ossidazione enzimatica dell'alcool etilico con il disulfiram (nome commerciale “*antabuse*”) che si è rivelato utilissimo nella cura dell'etilismo cronico.

Nella seconda metà del secolo si scoprì che anche gli antibiotici agiscono sugli enzimi dei microrganismi che risiedono sulla membrana batterica o nel citoplasma con un meccanismo competitivo: la penicillina e le cefalosporine inibiscono la sintesi proteica della membrana batterica rimpiazzando l'enzima glicopeptide-transpeptidasi con un glicopeptide betalattamico mentre la streptomicina, la tetraciclina, il cloramfenicolo e altri antibiotici bloccano la sintesi proteica della cellula batterica a livello ribosomiale, quindi dentro il citoplasma, e così via. Tutte queste scoperte hanno comprovato e consolidato l'esistenza e la funzione di **recettori specifici** a vario livello nei tessuti dell'organismo umano e degli altri animali nonché nel mondo dei microrganismi, e da questa constatazione è sorto il tentativo di preparare farmaci capaci di un'azione mirata su recettori specifici e ben conosciuti.

Lo sviluppo della farmacologia, che nella seconda metà dell'Ottocento si valeva delle osservazioni *in vivo* in poche specie animali (rana, cavia, coniglio), nel corso del Novecento si è servita invece di un numero progressivamente crescente di specie animali, dai gatti ai suini, dai molluschi alle scimmie, dagli uccelli ai batteri, ecc. Lo sforzo unanime dei ricercatori fu sempre quello di elaborare una metodologia la più corretta e precisa possibile affinché i risultati delle sperimentazioni condotte sotto l'esigenza di misure ed espressioni quantitative potessero rispecchiare nel modo più fedele possibile la realtà. A raggiungere questa difficile meta hanno giovato molte innovazioni tecniche e molti fattori non tecnici a cominciare dal progressivo aumento del numero degli animali d'esperimento e dei relativi controlli, dall'approvazione di normative che regolano la sperimentazione nell'uomo, dall'adozione universale dello *screening*, cioè dell'analisi standard e sistematica degli effetti di ogni farmaco, dall'applicazione contemporanea alla ricerca farmacologica di tutte le risorse divenute man mano disponibili in altri rami delle scienze biologiche, dalle sperimentazioni in preparazioni isolate documentate con registrazioni grafiche, da ricerche collaterali degli effetti di ogni farmaco sulle facoltà riproduttive degli animali e degli effetti ereditari fino all'uso, sempre più diffuso con il passare degli anni, dei cosiddetti “*saggi biologici*”, indispensabili per studiare una sostanza grezza, per determinare l'unità biologica di un farmaco ossia la sua dose minima attiva. La serietà e il rigore estremo delle ricerche farmacologiche sono espressi dagli “indici” elaborati nel corso del secolo per soddisfare le esigenze di uno studio quantitativo. Di questi indici fanno parte il “Valore DL50” che rappresenta la dose di un farmaco che uccide il 50% degli animali d'esperimento, il “Quoziente Terapeutico” che è il rapporto tra dose tossica e dose terapeutica espresso con la formula $DL50/ED50$ dove ED rappresenta la dose terapeutica efficace nel 50% della popolazione testata, il “Coefficiente fenolico” che riguarda solo i disinfettanti di cui testimonia l'attività microbica. A questi e ad altri indici l'esperienza dei ricercatori ha aggiunto nel tempo altri valori atti a sempre meglio

definire gli effetti di un farmaco e tra questi nuovi valori citeremo l'“errore standard”, i “livelli di significatività” e la “deviazione standard”.

Le conquiste fondamentali fatte dalla farmacologia nel campo delle ricerche sugli antibatterici e antivirali nel corso dei primi ottanta anni del Novecento possono essere così riassunti in ordine cronologico:

1910 – P.Ehrlich – Scoperta del “*Salvarsan*” o “*farmaco 606*”, primo chemioterapico in assoluto, sostituito dopo pochi anni dal “*Neosalvarsan*” dallo stesso Ehrlich

1935 – G.Domagk – Scoperta del “*Prontosil rosso*”(sulfanilammidocrisoidina). Primo sulfamidico antibatterico

1941 – W.Florey e Chain – Applicazione in terapia umana della *Penicillina* scoperta da A.Fleming nel 1928

1944 - S.A.Waksman – Scoperta della *streptomicina*

1947 - J.Ehrlich e collaboratori – Scoperta del *Cloramfenicolo*

1948 - Scoperta delle tetracicline (*Aureomicina*)

1954 - Scoperta del primo macrolide, l'*Eritromicina*

1959 - Sensi e collaboratori – Scoperta della *Rifampicina*

1960 - G.Robinson - Prima produzione sintetica della *Penicillina*

1970 - Scoperta del *Miambutolo* (etambutolo bicloridrato antitbc)

1977 - G.B.Elion – Scoperta dell'*Aciclovir* (acicloguanosina) primo antivirale specifico

Altre conquiste farmacologiche dei **primi ottanta anni del Novecento** riguardano diversi settori della terapia medica. Ci si limita a segnalare qui la scoperta dell'*Interferon* che è una proteina prodotta da cellule infettate da virus e capace di impedire la sintesi delle proteine virali (A.Isaacs – 1957), la scoperta della clorpromazina, molecola delle fenotiazine (S.Courvoisier e coll. – 1953) e psicofarmaco di grandissima importanza, la scoperta delle benzodiazepine, farmaci ansiolitici di enorme portata pratica e di ampio impatto sociale. Trattasi in tutti questi casi di farmaci prodotti per sintesi, ma ad essi si affiancano numerose altre sostanze provviste di affinità specifica per recettori molto particolari: i farmaci antiparkinsoniani, gli antidiabetici orali, i ganglioplegici, i coronarodilatatori, i numerosissimi tipi di ipotensivi con meccanismi d'azione del tutto diversi, gli analgesici e gli ipnotici, ecc.

Non sono mancati aspetti negativi legati all'impiego di nuovi farmaci scoperti o creati per sintesi nel corso del secolo. A parte le intolleranze individuali e le azioni collaterali proprie di molti medicinali, si deve anche lamentare una vera e propria “patologia da farmaci” con conseguenze gravi per effetti dannosi sull'embriogenesi (focomelie, malformazioni di vario tipo, ecc.) per assuefazione o dipendenza psichica o per superinfezioni. Queste segnalazioni di danni, pur se talora sporadiche, hanno finito per creare un diffuso stato d'allarme e hanno dato inizio a una serie di contromisure: controlli a doppio cieco, controlli di efficacia farmacologica particolarmente severi, informazioni esaurienti sui pericoli legati all'uso incontrollato del singolo farmaco, meticolosa preparazione del medico che si trova ad impiegare farmaci di attività notevole e non esente da rischio. Particolari studi sono stati attuati tra il 1950 e il 2000 sulle reazioni avverse dei farmaci, sul rischio carcinogenetico, sull'uso dei farmaci in gravidanza e nel periodo dell'allattamento, sul rapporto rischio-beneficio, sui problemi ed errori più frequenti nella compilazione delle ricette mediche.

Il trattato più celebre e diffuso di farmacologia medica o clinica che ha offerto una trattazione esauriente di tutto quanto si è andati finora citando fu quello di L.S.Goodman e A.Gilman intitolato “*Basi farmacologiche della terapia*” edito la prima volta nel 1940 ma in seguito continuamente aggiornato fino alla 7° edizione del 1985. Altri manuali e trattati furono editi negli ultimi venti anni del XX secolo.

Tra il 1975 e il 1985 la “**farmacologia clinica**” già definita nel 1970 dall’OMS lo studio della cinetica e del metabolismo dei farmaci nell’organismo umano, della biodisponibilità dei farmaci e dei loro effetti collaterali, acquistò una tale autonomia dalla “farmacologia generale” che in molte facoltà universitarie di medicina sia italiane che straniere diventò un insegnamento a sé stante. Nelle facoltà di farmacia l’insegnamento fondamentale di farmacologia, un tempo chiamato “chimica farmaceutica e tossicologia”, assunse nella seconda metà del secolo il titolo di “farmacologia e farmacognosia”. Questo insegnamento di carattere generale fu accompagnato da altre branche specialistiche di notevole interesse dottrinale e di ricerca ma anche di interesse economico: farmacologia veterinaria, fitofarmacologia, farmacogenetica, etnofarmacologia, farmacologia molecolare e tossicologia. Questi insegnamenti specializzati hanno assunto talora la piena dignità di discipline autonome e tutti comunque diffondono il loro sapere in libere associazioni di cultori di queste scienze, nell’edizione di trattati e manuali specifici nonché nella redazione di riviste specializzate.

A tale proposito va ricordato che la “*farmacologia applicata*” del celebre manuale di A.J.Clark (prima edizione del 1923 e riedizioni degli anni ottanta a cura di A.Wilson e H.O.Schild), identificabile con la “farmacologia clinica” fu negli USA e nel Regno Unito un insegnamento che contò cattedre in alcune università americane e che vide nascere fra 1975 e 1985 branche nuovissime come la “farmacologia renale”, la “farmacologia comparata”, la “farmacologia neonatale” e altre ancora.

Parallelamente e contemporaneamente a questi sviluppi la più importante e sostanziale novità degli anni settanta fu senz’altro la nascita di una nuova disciplina, la **farmacologia molecolare**, che riuscì a riprodurre *in vitro* la reazione farmaco – recettore identificando con sicurezza per la prima volta in questa specifica reazione la risposta biologica ad ogni farmaco. In realtà questo avvenne non per caso ma come conseguenza di osservazioni ed ipotesi di lavoro nate ancora nel corso degli anni Cinquanta quando i farmacologi constatarono che un farmaco, legandosi ad un determinato enzima, ne bloccava l’azione: E. Farber e collaboratori fecero nel 1948 quell’osservazione da cui prese l’avvio della produzione del primo antimetabolita, l’amminopterina, capace di produrre le prime lunghe remissioni delle leucemie dei bambini. All’amminopterina fece seguito il metotrexate che mostrò di essere ugualmente attivo e meglio sopportato dell’amminopterina non solo nelle leucemie ma anche nei riguardi del coriocarcinoma. Sulle malattie autoimmuni altri nuovi antimetaboliti (leflunomide) frenarono sensibilmente la proliferazione delle cellule immunocompetenti. Il secondo passo fu dato dalla scoperta di un metodo nuovo e sicuro di analisi chimica della composizione amminoacidica da parte di P.Edman nei primi anni settanta: fu così che vennero scoperti i cosiddetti “*trasmettitori peptidici*” che funzionano come segnali delle comunicazioni intercellulari. Il terzo passo fu compiuto nell’ultimo ventennio del Novecento con la clonazione dei geni che codificano per le proteine e con la lettura del codice genetico, scoperte che consentirono di poter conoscere la composizione amminoacidica dei recettori cellulari e quindi di classificarli in base ad essa. Il primo successo di questa terza fase fu quello della clonazione dall’organo elettrico della torpedine del gene del recettore colinergico nicotinico (**1982**). Da qui ebbe origine la conoscenza della meccanica molecolare dei recettori dei farmaci. I farmacologi degli anni novanta ebbero a disposizione i metodi per definire esattamente le strutture secondarie e terziarie di certe proteine e ottenere così i modelli tridimensionali sia dei recettori che del complesso farmaco – recettore. Negli ultimi cinque anni del secolo si arrivò a fornire moltissimi esempi della dinamica molecolare che si verifica nell’incontro tra farmaco e recettore. Tuttavia, storicamente, bisogna rifarsi al periodo 1970-1985 quando molti sforzi furono dedicati ad impostare le basi teoriche e le conseguenti sperimentazioni per approfondire il più possibile il complicato tema dei recettori e dei **leganti**, cioè di quelle molecole che si legano con alta specificità e affinità al recettore (H.Dale, J.Gaddum, R.Ahlquist e altri). Lo

sviluppo positivo di questi studi fu possibile grazie alla messa a punto di nuove tecniche, le “*radioreceptor binding techniques*” (S.Snyder e altri) che sfruttavano membrane cellulari di origine umana o di animali d’esperimento, grazie anche ai metodi matematici di calcolo del numero dei recettori e del grado di affinità dei leganti, e infine in virtù della PET (tomografia ad emissione di positroni) impiegando leganti marcati con O15, N13, C11 e F18 dalla semivita breve e quindi privi di pericolosità. La ricerca interessò fin dall’inizio recettori e leganti della trasmissione nervosa nel SNC e nel SNP.

Bisognava completare tutto ciò che nei decenni precedenti si era fatto ed acquisito in questo campo giungendo al riconoscimento di **neurotrasmettitori agonisti** (stimolatori dei recettori) e **antagonisti** (inibitori dei medesimi). L’ingresso dei leganti radioattivi fece identificare molti sottotipi di recettori e anche recettori del tutto nuovi nonché nuovi leganti in precedenza del tutto sconosciuti. Una nuova acquisizione fu la scoperta che il recettore è fatto di due componenti, il sito di riconoscimento dove avviene l’unione tra legante e recettore e l’effettore dato da uno o più enzimi oppure da un canale ionico: è l’attivazione o l’inibizione della funzione enzimatica e, rispettivamente, l’apertura o chiusura del canale ionico che propagano il segnale agonista o antagonista.

La ricaduta in patologia umana di queste scoperte portò a dimostrare che nella *miastenia gravis* c’è una diminuzione progressiva del numero dei recettori nicotinici a livello delle sinapsi neuromuscolari (D.H.Farnbrough e altri). Una volta purificati i recettori e preparati gli anticorpi specifici si scoprì che la riduzione del numero dei recettori era l’effetto dell’azione di anticorpi antirecettori muscarinici nel plasma dei malati di miastenia grave e quindi che questa era una malattia autoimmune. Da qui le conseguenze terapeutiche: plasmaferesi per ripulire il sangue circolante dagli anticorpi antirecettori muscarinici oppure la cura immuno soppressiva.

Nel 1975 J.Hughes e coll. isolarono dalla sostanza cerebrale due pentapeptidi da loro denominati “encefaline”, sostanze dotate di azione morfinosimile e dotate di affinità specifica per i recettori degli oppioidi. Pochi anni prima (1971-73) A.Goldstein e altri ricercatori impiegando levorfanolo ed etorfina triziati dimostrarono nelle cellule del S.N.C. di tutti i Vertebrati, ma non negli Invertebrati, la presenza di siti di legame altamente specifici per i derivati dell’oppio, confermando così la vecchia ipotesi secondo la quale la morfina e suoi derivati dovevano la loro azione antidolorifica al legame con specifici recettori delle cellule nervose, un’ipotesi alla quale mancava ancora la dimostrazione della sua esattezza. I peptidi oppioidi scoperti dopo le encefaline di Hughes furono numerosi e vennero identificati in tre gruppi: encefaline, endorfine e dimorfine. Molti di questi peptidi rivelarono di possedere, oltre alla regolazione della percezione dolorosa, quella della regolazione cardiovascolare, della temperatura e dell’appetito. Furono così spiegati il meccanismo neurochimico dell’agopuntura e la tolleranza e la dipendenza fisica con sindrome d’astinenza, legate queste ultime ad alterazioni dei meccanismi oppioidi.

Gli oppioidi endogeni furono trovati anche nel midollo spinale e questo indusse ad impiegare la via intratecale di somministrazione della morfina, che presentava minori effetti collaterali rispetto alle altre vie di somministrazione. Questi studi permisero di sintetizzare analgesici più attivi e privi di effetti secondari, e tra questi ebbe un posto di preminenza la buprenorfina.

La ricerca dei leganti endogeni dei recettori oppioidi fu un fenomeno che interessò molti laboratori e un elevato numero di ricercatori a partire dal 1954-55, anni in cui furono scoperte le benzodiazepine caratterizzate da azione ansiolitica e ipnogenica a fronte di un grado bassissimo di tossicità. Negli anni che seguirono furono sintetizzate moltissime diazepine di configurazione chimica diversificata ma sostanzialmente simile e con caratteristiche d’azione lievemente diverse tra loro. Tutti i Vertebrati possiedono nel loro SNC recettori specifici per le benzodiazepine come fu dimostrato da diversi studiosi (H.Mohler e T.Okada, 1977 e altri). In seguito fu scoperto uno degli antileganti endogeni,

il *diazepam binding inhibitor*(DBI), un polipeptide che provoca stato d'ansia negli animali d'esperimento analogamente ad altri polipeptidi simili e alle beta-carboline. Le benzodiazepine agiscono da antagonisti nei riguardi di questi peptidi ansiogeni.

Altri due gruppi di sostanze scoperte negli anni 1957- 60 furono gli antidepressivi triciclici e gli inibitori delle monoammineossidasi (Anti-MAO); altri antidepressivi di struttura chimica del tutto diversa furono scoperti tra il 1970 e il 1985 e furono definiti "antidepressivi di seconda generazione o atipici" (iprindolo, mianserina, amineptina, trazodone). Alla fine del secolo restava ancora sconosciuto in buona parte il meccanismo d'azione di farmaci tanto diversi tra loro eppure simili nell'effetto terapeutico. Alla metà degli anni ottanta erano ancora in corso le ricerche sui loro leganti endogeni essendo già stati identificati invece i recettori stereospecifici ad alta affinità situati su certe terminazioni nervose e sulle piastrine del sangue periferico.

Altre conquiste farmacologiche del decennio 1965-75, importanti perché hanno veramente rivoluzionato gli schemi terapeutici di alcune malattie molto diffuse, furono le scoperte degli **antagonisti dei recettori H2 dell'istamina** capaci di bloccare la secrezione gastrica perché i recettori H2 dell'istamina sono i mediatori della stessa sulla produzione del succo gastrico. Furono gli inglesi **J.W.Black e collaboratori** a dimostrare nei primi anni settanta l'esistenza nello stomaco di questa nuova classe di recettori da loro denominati H2 e a progettare e sintetizzare analoghi dell'istamina che agivano da antagonisti su questi recettori inibendo la secrezione di succo gastrico. I farmaci antagonisti dei recettori istaminici H2 nacquero nel **1975** con la **cimetidina** che, entrata in commercio qualche anno dopo, fece crollare rapidamente le indicazioni alla tradizionale cura chirurgica dell'ulcera gastrica e duodenale in quanto otteneva la rapida cicatrizzazione dell'ulcera nel 50-75% dei pazienti curati. Nei primi anni ottanta la ranitidina, più attiva e con minori effetti secondari, soppiantò la cimetidina arrivando a segnalare percentuali di guarigione che si avvicinavano al 100%. Gli interventi di resezione gastrica per la cura dell'ulcera gastrica e duodenale fra il 1978 e il 1981 si ridussero di oltre il 90%.

Alla fine degli anni Ottanta furono scoperti gli **inibitori della cosiddetta "pompa protonica" (H⁺/K⁺-ATPasi)** che è un enzima della membrana luminale delle cellule parietali del fondo gastrico. Questa scoperta portò rapidamente alla produzione di questi nuovi farmaci antiulcera ancora più potenti dei cimetidinici. Questi bloccanti della pompa protonica che presiede alla produzione dell'acidità gastrica, e il cui capostipite fu l'**omeprazolo**, entrarono in commercio nei primi anni Novanta e le loro basse concentrazioni in unica somministrazione giornaliera si dimostrarono sufficienti a far guarire in breve tempo ulcere gastriche e duodenali di natura benigna, ulcere gastriche da FANS, esofagiti da reflusso e malattia da reflusso gastroesofageo e persino la rara ma pericolosa sindrome di Zollinger-Ellison. Con questi farmaci si riesce anche a eradicare l'*Helicobacter pylori* in associazione ad antibiotici. Lansoprazolo, Pantoprazolo, Esomeprazolo completarono la disponibilità di bloccanti della pompa protonica dell'acido cloridrico negli ultimi anni del secolo.

Dopo aver scoperto i recettori e i loro sottotipi della dopamina e chiarendo così il meccanismo della trasduzione che li attiva, furono sintetizzati molti farmaci che agiscono su detti recettori in senso agonista e altri che agiscono in senso antagonista. Dei primi hanno fatto buona prova di sé nel morbo di Parkinson la lisuride e la bromocriptina, dei secondi è stato il domperidone a imporsi nel trattamento di nausea e vomito. Infine tra i farmaci recettoriali vanno citati ancora gli antiistaminici H1 per le malattie allergiche, gli antiipertensivi che agiscono sui recettori beta e gli agonisti beta-selettivi contro l'asma.

Un campo di ricerca molto attivo e ricco di interessi d'ordine pratico-terapeutico fu quello dei farmaci che interferiscono sui **flussi del calcio** alle cellule pace-maker del sistema autonomo del cuore e alle cellule muscolari lisce della parete dei vasi arteriosi e venosi. Si tratta di sostanze che riducono il flusso di entrata dei calcioioni nei canali lenti del calcio

(calcioantagoniste) o che lo accelerano e favoriscono (calcioagoniste). I **calcioantagonisti** fanno capo al **diltiazem** e al **verapamile** che sono più attivi sul miocardio e sulle cellule del nodo del seno, e alla **nifedipina** e sostanze analoghe che sono invece più utili nella cura dell'ipertensione arteriosa perché più attive sulla muscolatura liscia dei vasi. I **calcioagonisti** che stimolano il flusso dei calcioioni non avevano trovato ancora, alla fine del Novecento, un loro impiego terapeutico.

Le conoscenze degli anni novanta sui **canali ionici della membrana citoplasmatica** si basano sulla definizione di questi come *“proteine polimeriche costituite da alcune subunità proteiche che circondano un poro della membrana attraverso il quale avviene un flusso ionico”*(E.A.Barnard, 1992). Ora i canali ionici dei cationi Na^+ , K^+ , Ca^{++} sono sostanzialmente di due tipi: voltaggio-dipendenti e recettori-canali ossia canali regolati dall'azione di ligandi endogeni presenti su un sito recettoriale.

A – Il canale voltaggio-dipendente del Na^+ è la sede d'azione dei farmaci antiepilettici quali la **carbamazepina**, degli anestetici locali e degli antiaritmici quali **lidocaina**, **chinidina** e **procainammide**. L'apertura del canale del Na^+ avviene molto rapidamente (1 ms) una volta che il potenziale ha raggiunto il valore di soglia. I farmaci citati funzionano per lo più come cancello di inattivazione nei riguardi dei diversi conformeri (parti del canale, in equilibrio fra loro, che possono essere attivabili, inattivate lentamente o rapidamente) del canale il cui equilibrio varia a seconda delle differenze di potenziale. I diversi tipi di conformeri sono stati identificati con lettere dell'alfabeto: conformeri R attivabili a riposo, conformeri I inattivati in modo lento o rapido e conformeri O o forme aperte a differenza dei conformeri R e I che comportano il canale chiuso. Quando i potenziali sono inferiori alla soglia di apertura i conformeri R e I sono in equilibrio e quando il potenziale raggiunge la soglia di apertura i canali operano la transizione molto veloce da R a O (1 ms). I conformeri O vengono poi inattivati ritornando ai conformeri I in modo inizialmente molto rapido e poi molto lento in modo che il cancello si chiude e il canale non è più pervio all'elemento (sodio) che non può più passare. Rispetto ai diversi tipi di conformeri che tappezzano il canale i farmaci hanno rivelato diverse velocità di aggancio e di distacco. Il distacco del farmaco dai conformeri è lento e quindi, quando le depolarizzazioni sono molto ravvicinate si verifica un blocco del canale persistente. Si ritiene (Melchiorri) che i danni cellulari da anossia siano proprio dovuti a prolungata apertura dei canali del Na^+ voltaggio-dipendenti e che perciò i farmaci che bloccano questi canali proteggono la cellula da danni ischemici.

L'aumento degli ioni sodio intracellulari produce una diminuzione dell'estrusione di ioni Ca^{++} dall'interno della cellula invertendosi la direzione dello scambio $\text{Na}^+ - \text{Ca}^{++}$ e il progressivo aumento degli ioni Ca^{++} nella cellula ne provocherebbe la morte. Sulle cause intime della morte cellulare queste ricerche hanno incolpato anche l'aumento del trasporto inverso Na^+ dipendente del glutammato producendo effetti citotossici. Comunque i farmaci che bloccano i canali voltaggio-dipendenti del Na^+ si sono dimostrati capaci di proteggere dal danno ischemico.

I canali ionici voltaggio-dipendenti per il Ca^{++} sono presenti in tutti i tessuti eccitabili ma hanno una grande differenza di comportamento rispetto alla soglia del voltaggio: quelli a bassa soglia si aprono già per depolarizzazioni deboli di membrana cellulare e viceversa, l'inattivazione è pure precoce nei primi e viceversa nei secondi. I farmaci antagonisti dei canali del Ca^{++} si legano ai canali ad elevata soglia di apertura e sono le benzotiazepine (diltiazem) e le fenilalchilammine (verapamil) che riducono l'afflusso di ioni Ca^{++} al pacemaker cardiaco (agendo da antiaritmici, antiangina e ipotensivi) e le difidropiridine (nifedipina e analoghi che agiscono sulla tonaca muscolare del sistema arterioso periferico con effetto ipotensivo da riduzione delle resistenze periferiche).

I canali voltaggio-dipendenti del K^+ sono una trentina - almeno quelli conosciuti fino al 1998 - e controllano l'eccitabilità muscolare con due modalità d'azione: chiusura del

canale o riduzione del flusso di K^+ e apertura del canale con attivazione del flusso di potassioni. Al primo gruppo appartengono farmaci antiaritmici detti della classe III come amiodarone, bretilio e sotalolo che facilitano la ripolarizzazione di membrana cellulare, del secondo fanno parte quelli che la rallentano rendendo la fibra muscolare non rispondente agli impulsi aritmici di alta frequenza.

B – I recettori-canale situati sulla membrana cellulare vengono aperti e chiusi dal controllo di ligandi endogeni e se ne conoscono quattro famiglie: i recettori-canale nicotinici dell'acetilcolina, i recettori-canale del glutammato che fanno passare Na^+ e Ca^{++} , i recettori-canale tipo A del GABA che fanno passare il Cl^- , i recettori-canale tipo 5-HT3 della 5-idrossitriptamina che lasciano passare solo cationi.

Nel caso dei recettori-canale nicotinici muscolari – che sono le unità di comando funzionale dei muscoli volontari - è noto che l'acetilcolina e gli agonisti e antagonisti si legano alla porzione extracellulare del canale, detta subunità α . Le altre tre subunità β , δ e ϵ , di differente composizione amminoacidica, costituiscono due anse intracellulari che attraversano quattro volte la membrana della cellula. Antagonisti dell'acetilcolina molto potenti sono tutti i **curari** che bloccano l'apertura del canale. I recettori nicotinici svolgono un ruolo nel processo mnemonico ma i farmaci agonisti usati per curare i disturbi cognitivi non hanno per ora fornito risultati soddisfacenti.

Per quanto riguarda i recettori-canale del glutammato la cui morfologia non è stata ancora ben definita, si conoscono alcune sostanze capaci di bloccare i canali ionofori del glutammato dimostrando di essere efficaci nella cura dell'epilessia e nel ridurre la percentuale di mortalità dei neuroni da ischemia focale. E' stata riconosciuta l'eventualità di morte neuronale da eccesso di ioni penetrati nel citoplasma delle cellule nervose nell'ictus cerebrale ischemico e nelle convulsioni protratte per apertura totale e prolungata di tutti i canali ionofori che inondano il citoplasma neuronale di glutammato, sostanza ad azione notevolmente eccitatoria..

Nel caso dei recettori-canale del GABA tipo A la loro apertura agli anioni Cl^- innalza il grado di polarizzazione della membrana neuronale riducendo così l'eccitabilità del neurone. Le benzotiazepine (v. sopra) si legano a questi recettori rendendoli più affini al GABA con effetto ansiolitico e antiepilettico. Alla fine del secolo si era a conoscenza dell'esistenza di differenti subunità di recettori Gaba-ergici controllanti funzioni differenti e aventi diversa sensibilità verso i farmaci.

Infine i recettori-canale tipo 5-HT3 della 5-idrossitriptamina che hanno sede nelle aree cerebrali dalle quali parte il riflesso del vomito, hanno come potenti antagonisti gli antiemetici a base di ondansetron e altri della medesima famiglia, che vengono utilizzati con successo nei casi di vomito incoercibile come quello causato da certi farmaci antineoplastici..

Una quinta famiglia di recettori-canale modulati da ligandi endogeni si è aggiunta alle quattro precedenti nel corso degli anni novanta del Novecento ed è quella dei canali ionici conducenti K^+ modulati dalla concentrazione endocellulare di ATP e quindi indicati con la sigla **Katp** (G.Sachs e coll. 1988 e anni seguenti). Questi recettori-canale sono molto diffusi (miocardio, muscolatura liscia e striata, neuroni e cellule beta insulinoscerenti del pancreas). Quando l'ATP endocellulare scende di quantità al disotto dei valori di soglia questi canali – che di solito nei muscoli e nei neuroni sono chiusi – si aprono al K^+ arrestando la contrazione muscolare e l'attività bioelettrica della fibra muscolare e creando così risparmio di energia e protezione dall'anossia. Un farmaco agonista è *il cromakalim* che apre i canali Katp risolvendo gli accessi di asma notturno da broncocostrizione e preservando i tessuti ancora validi nell'infarto cardiaco e nell'ictus cerebrale. Viceversa, nel pancreas, i canali Katp sono normalmente aperti per cui, quando nelle cellule beta si accumula troppo glucosio la cellula si depolarizza e l'alto contenuto di ATP prodotto dal

glucosio fa bloccare il canale Katp e la cellula produce insulina. Le sulfaniluree (ipoglicemizzanti orali) sono inibitori specifici dei canali Katp delle cellule beta del pancreas.

Oltre a numerosi ormoni di natura polipeptidica noti da tempo, altre sostanze polipeptidiche come le endorfine, il peptide VIP, il polipeptide Y, la somatostatina, la bombesina e altre ancora sono venute a costituire una grande famiglia la cui complessa composizione e struttura molecolare fu fatta conoscere dalle ricerche di molti studiosi, anche italiani come quelli del gruppo diretto da V. Erspamer. Molti di questi peptidi hanno diverse azioni perché possono agire sia come neurotrasmettitori sia come neuromodulatori oppure perché possono agire sia sul SNC che sul SNP. Quando hanno la duplice azione centrale e periferica assumono il nome di “neurochinine”. Ritorneremo più avanti sui neurotrasmettitori scoperti negli anni novanta.

I peptidi di sintesi possono essere usati come **antienzimi specifici** come è il caso dei farmaci detti “**antiACE**” perché bloccano l’*angiotensine converting enzyme* (ACE), quello cioè che nel sistema renina – angiotensina converte il decapeptide Angiotensina I in Angiotensina II abbassando i valori massimo e minimo della pressione arteriosa nelle persone affette da ipertensione. Il capostipite di questi farmaci antiACE fu il **captopril**, un peptide sintetizzato nel 1977 da M.A.Ondetti e collaboratori. Al captopril seguì negli anni ottanta l’**enalapril** di ottima azione ipotensiva a basso dosaggio con scarsi effetti secondari.

Un altro enzima, l’**esopeptidasi** che converte l’angiotensina I in angiotensina II è capace di degradare altri peptidi come le **encefaline**. Ora gli studi di farmacologia avevano già dimostrato che se si fosse riusciti ad inibire le encefalinasi sarebbe stato possibile contare su un nuovo gruppo di potenti analgesici nella prospettiva di sostituire la morfina e gli altri oppioidi. Nel 1985 J.Schwartz e coll. dimostrarono l’esistenza nel S.N.C. di una encefalinasi specifica la cui inibizione causava analgesia in casi di dolore negli animali d’esperimento. Anche sulle encefaline ed encefalinasi ritorneremo più avanti a proposito dell’evoluzione scientifica raggiunta in questo campo nel corso degli anni novanta.

Tra i peptidi naturali che negli anni ottanta sono andati ad aggiungersi a quelli in uso da diverso tempo come l’ossitocina e la vasopressina, va citato il TRH (*Thyreotropin-releasing hormone*) sostanza che fu pensata come curativa delle lesioni dei motoneuroni spinali.

Nel 1998 Melchiorri scriveva che “*caratteristica dei messaggeri peptidici è l’elevato grado di diversità molecolare*” cioè di specificità, cosa che ha consentito di arrivare a conoscere a fine secolo oltre 40 famiglie peptidiche diverse ma tutte leganti recettori cellulari altrettanto specifici. Questo sistema di peptidi + recettori serve in ogni momento per modulare con i suoi messaggi molte e diverse funzioni in ogni organo e apparato.

Il primo trasmettitore peptidico fu scoperto ancora nel **1930** nei laboratori di **Dale** a Hampstead dal giovane ricercatore U.S. **Euler**. che studiava la liberazione dell’acetilcolina dai plessi nervosi enterici. Insieme a J.H.Gaddum, Euler dimostrò in seguito che questo trasmettitore era presente anche nel tessuto encefalico. I due scopritori chiamarono questa sostanza – da loro ritenuta di natura peptidica perché di basso peso molecolare - “**sostanza P**”. A distanza di 41 anni (1971) N.N.Chang e S.E.Leeman identificarono l’esatta sequenza di amminoacidi della sostanza P, una composizione molto simile a quella di altri peptidi di composizione già nota e detti “*tachichinine*”. Nel 1975 J.Hughes e H.W.Kosterlitz isolarono dal tessuto nervoso due decapeptidi con effetti morfinosimili, la *Leuencefalina* e la *Metencefalina*: erano i primi due oppioidi, una piccola famiglia destinata ad aumentare rapidamente di numero.

L’ampio impiego delle tecniche di genetica molecolare nel decennio 1989-2000 portò alla clonazione di molti geni che codificano un elevato numero di messaggeri peptidici, scoprendo che un gene può codificare per diversi trasmettitori peptidici. Questi studi hanno fatto scoprire realtà del tutto inattese e imprevedibili come il fatto che un peptide

messaggero secreto nel liquido interstiziale deve raggiungere talvolta recettori che sono molto distanti dal suo sito di secrezione. A questa speciale trasmissione a distanza fu dato il nome di “*neurotrasmissione volume-dipendente*” (VNT) trattandosi di quantità rese necessarie per una trasmissione extrasinaptica così detta perché lontana dalle sinapsi. Un'altra scoperta importante fu quella del numero di peptidi neurotrasmettitori che è molto più elevato di quelli utilizzati nelle trasmissioni sinaptiche non peptidiche e questo è dovuto al bisogno di una altissima selettività essendo i recettori molto distanti dal sito di secrezione del peptide messaggero. Anche l'accentuata flessibilità delle molecole di questi peptidi è una caratteristica scoperta nel corso degli anni novanta: molecole del medesimo peptide in soluzione acquosa modificano la loro conformazione con estrema facilità e questo complica i tentativi di riconoscimento dell'esatta conformazione che la molecola peptidica assume nel momento della congiunzione con il recettore. E' solo questa conoscenza che può aprire la strada alla progettata costruzione di peptidi agonisti e antagonisti di sicura efficacia terapeutica, costruzione che alla fine del secolo veniva effettuata ancora in un'atmosfera di notevole incertezza e difficoltà. Alla fine del secolo era in corso la sperimentazione di nuove sostanze capaci di bloccare i canali ionofori.

Nel campo delle **tachichinine** furono identificati i loro tre tipi principali di recettori noti con le sigle NK1, NK2, NK3, tutti molto diffusi in tutto il SNC e SNP. Quando sono attivati dalle tachichinine si osservano eccitazione neuronale, vasodilatazione, azione secernente, contrazioni muscolari di molti visceri. Prima del 2000 fu possibile sintetizzare due forti antagonisti dei recettori NK1 con azione antiinfiammatoria e analgesica e due antagonisti degli NK2 con attività broncodilatatrice e ansiolitica.

Nel settore dei peptidi oppioidi naturali (due famiglie conosciute) e dei tre tipi di recettori oppioidi (mi, delta, ki) si arrivò a clonare tutti e tre i recettori, a sintetizzare agonisti e antagonisti dei recettori delta e ki ottenendo potenti analgesici e farmaci capaci di inibire gli enzimi che inattivano i peptidi oppioidi naturali.

Anche la famiglia delle **colecistochinine** – definite in anni recenti nella loro struttura molecolare come octapeptidi – risvegliò negli anni Novanta grande interesse nei farmacologi dopo la scoperta che la CCK8 è un vero neurotrasmettitore che a sua volta modula molti altri neurotrasmettitori e dopo la scoperta che essa è diffusa non solo nei visceri ma anche nel cervello e che dei due tipi di recettori per la CCK, uno (CCKa) è prevalente nei visceri addominali mentre l'altro (CCKb) predomina nel tessuto encefalico. Ora la iniezione nel cervello di diversi animali d'esperimento di CCKb provoca panico, ansia, comportamenti difensivi (J.Harro e coll.1993). Ovviamente la ricerca farmacologica cercò subito di mettere a punto una serie di antagonisti dei recettori CCKb dopo aver accertato che anche nell'uomo il CCK8 supera la barriera ematoencefalica e produce stati fobici. Alla fine del secolo questi farmaci antagonisti del CCK erano ancora sotto sperimentazione animale e clinica.

Nel 1988 dall'endotelio aortico fu isolata una nuova famiglia di peptidi, le “**endoteline**”(M.Yanasigawa e collaboratori) riconosciute responsabili di un forte ruolo attivo nel creare ipertensione arteriosa. L'industria farmaceutica mondiale poté produrre con notevole rapidità antagonisti specifici dei recettori endotelinici di cui il più noto è il *bosentano*, sostanza che si è dimostrata utile non solo come ipotensivo privo di effetti collaterali ma anche come antiaterosclerotico.

Nel 1966 si tenne il I Simposio Internazionale sulle Prostaglandine e nel 1979 si tenne il quarto sullo stesso tema: dalle prime 35 comunicazioni del primo si arrivò alle oltre 2000 pagine degli atti del quarto simposio. Basterebbe questo a sottolineare l'importanza che l'argomento “**prostaglandine**” risvegliò nell'arco di quei tredici anni di ricerca farmacologica (v.pag.216). Furono completamente delucidati i complessi rapporti chimici del metabolismo dell'acido arachidonico nelle due vie, la lipoossigenasica e la

cicloossigenasica, cioè quella che porta ai leucotrieni e quella che sfocia nella triade prostaglandine primarie, trombossani e prostacicline. Non ripeteremo qui quanto già esposto a tale riguardo nel capitolo dell'infiammazione in patologia generale. Ci limiteremo ad osservare che tutti i farmaci antiinfiammatori a cominciare dalla vecchia aspirina sono inibitori delle prostaglandine e che la ricerca di inibitori sempre più selettivi delle prostaglandine da un lato e di inibitori specifici della produzione di leucotrieni (antagonisti dei recettori leucotrienici) dall'altro, costituirono uno dei campi dove la ricerca farmacologica si rivelò massimamente attiva e fruttuosa nel corso dell'ultimo decennio del Novecento.

Alcuni farmaci di sintesi scoperti nel decennio 1975-85 sono – come l'aspirina - inibitori specifici di reazioni enzimatiche fondamentali di certi processi fisiologici o patologici che il curante vuole modificare per ottenere un effetto curativo. Il prototipo di questo tipo di ricerca che parte dal presupposto dell'esatta conoscenza della reazione enzimatica che si vuole inibire fu negli anni cinquanta quello degli inibitori dei composti organofosforici che a loro volta liberano la colinesterasi e che per questa azione letale furono usati come insetticidi (contrathion) e gas nervini.

Farmaci di questo tipo furono gli inibitori dell'aldosoreduttasi per la cura della neuropatia diabetica (alrestatin, sorbinil) e l'inibitore della testosterone-5-alfa-reduttasi (finasteride) usato per la cura dell'ipertrofia prostatica e altri inibitori enzimatici (aminoglutetimide, formestan, exemestan e altri).

Nel campo dei **farmaci di origine vegetale** intense ricerche furono avviate in Cina nel decennio 1975-85 con l'intento di giungere ad una valutazione scientifica definitiva dei moltissimi farmaci che facevano parte del bagaglio terapeutico dell'antica medicina cinese. E proprio in Cina da alcune piante del cotone fu estratta una sostanza fenolica detta "gossipolo" che inibisce la produzione di sperma e quindi può essere utilizzata nei programmi di controllo demografico. Un altro nuovo farmaco di origine vegetale scoperto in quello stesso periodo è un terpene estratto dalla *Coleus forskohlii* stimolatore dell'adenilatociclastasi, l'enzima che produce l'AMP ciclico, principio fondamentale della vita endocellulare.

Dagli animali sono stati estratti nello stesso periodo di tempo molti farmaci nuovi e di notevole interesse: l'urochinasi che ha effetto trombolitico, i gangliosidi e il fattore della crescita del sistema nervoso scoperto nel 1951 da Rita Levi Montalcini e da V.Hamburger, tutte sostanze che in parte sono già entrate nell'uso terapeutico a scopo riparativo e rigenerativo delle fibre nervose periferiche e centrali danneggiate da varie cause. Nel campo dei fattori tissutali di crescita va ricordato anche quello epidermico ottenibile nelle quantità desiderate grazie alla nuova tecnica detta del RNA ricombinante, che permette di farla produrre dalle colture batteriche. Un caso paradigmatico dell'utilità curativa del fattore di crescita epidermica fu quello di un bambino affetto da atrofia congenita dei villi intestinali e quindi destinato a morte certa. Venne salvato grazie a questo nuovo farmaco che fece sviluppare l'epitelio normale della mucosa intestinale.

Nel settore della **chemioterapia** gli sforzi maggiori prodotti negli anni settanta e ottanta furono incentrati nella ricerca di sempre nuovi farmaci atti a fronteggiare il fenomeno negativo della **resistenza batterica**; frutto di questa ricerca furono le ureidopenicilline, le cefalosporine di terza generazione, i beta-lattamici (aztreonam, netilmicina e altri), i nuovi disinfettanti urinari chinolonici che hanno in buona parte sostituito l'uso dei furanici scoperti negli anni cinquanta e da allora in poi amplissimamente impiegati.

Nella terapia antivirale la ricerca urtò contro difficoltà di grado estremo quali quelle dovute al fatto che i virus hanno sempre sede endocellulare e i mezzi atti a colpirli non devono danneggiare il metabolismo cellulare. Oltre all'aciclovir già citato e che ha fortissima affinità per gli enzimi virali e scarsa invece per quelli cellulari dei Mammiferi,

l'unica novità degli anni ottanta furono le speranze incentrate sugli Interferoni alfa, beta e gamma per la loro capacità di attivare le difese antivirali dell'organismo.

La ricerca di nuovi chemioterapici antitumorali portò alla scoperta di un nuovo alcaloide semisintetico estratto dalla *Vinca rosea*, della bleomicina, della 4-epiadriamicina e di nuove sostanze alchilanti e antimetaboliche.

Nel settore dell'immunologia la ricerca ha messo a disposizione nuovi immunomodulatori (levamisolo, metisoprino, bestatina e altri) e tra gli immunosoppressori la ciclosporina e l'azatioprina.

I recettori dell'insulina e dei fattori di crescita sono proteine enzimatiche della membrana cellulare che hanno una componente endocellulare collegata a una extracellulare da un segmento intramembrana. Quando si combina con la parte extracellulare del recettore il farmaco provoca una trasformazione della composizione recettoriale attivando la sua parte endocellulare che possiede carattere catalitico in quanto scatena una serie di reazioni enzimatiche concatenate fra loro dentro il citoplasma cellulare.

Nel 1991 Y. Kaziro e collaboratori scoprirono la composizione e la funzione delle **proteine G**, una famiglia di proteine numerosa. Queste proteine G sono composte di tre subunità delle quali solo la subunità α consente ai recettori macropoteici di trasdurre il segnale chimico a numerosi enzimi di membrana. La subunità α è quella catalitica capace di legare e idrolizzare il GTP. Molti farmaci e trasmettitori endogeni si legano ai recettori di membrana accoppiati alle proteine G che sono: i recettori dopamminergici, degli oppioidi, dell'istamina, quelli della 5-idrossitriptamina, dei cannabinoidi, del glutammato e gli adrenergici di tipo α e β e di molti messaggeri peptidici.

I recettori di tipo pompa ionica sono unità catalitiche di membrana che, grazie all'energia fornita dai legami fosforici dell'ATP, pompano, fuori e dentro la cellula, ioni di vario tipo contro gradienti elettrochimici. Dagli anni ottanta in poi si sono conosciuti i recettori farmacologici dei glicosidi digitalici, la pompa del Na^+ (ATP-asi) e la pompa protonica dell'omeprazolo (H^+ / K^+ -ATPasi) e si è giunti a capire come funziona una pompa ionica. Le pompe ben conosciute sono costituite da due subunità proteiche, la subunità α fatta di 8 - 12 segmenti idrofobi con sede intramembranosa e la subunità β che serve per l'allocatione e il trasferimento della pompa dentro alla membrana e tenendo all'interno della cellula i terminali idrofilici che possiedono una alta affinità per gli ioni Na^+ (nel caso della pompa del sodio) o per l'ione H (per la pompa protonica). Questi si legano all'ATP, e innescano la sua idrolisi e la conseguente fosforilazione di un residuo aspartico collocato sulla seconda ansa intracellulare della pompa. La fosforilazione modifica la conformazione della proteina e la fa ruotare dentro alla membrana così da esporre i siti di legame dell'ione Na^+ - e rispettivamente dell'ione idrogeno - delle due pompe all'ambiente extracellulare rilasciando in esso gli ioni relativi. A questo punto l'alta affinità della pompa fosforilata per gli ioni K^+ si lega ad essi e questo induce ad un'altra rotazione endomembrana della pompa, defosforilazione del residuo aspartico e rilascio dentro al citoplasma del potassione. Il ciclo a questo punto può ricominciare daccapo.

La farmacologia molecolare ha consentito nella fase finale del XX secolo di individuare inoltre i cosiddetti "**recettori di membrana**": si tratta di trasportatori di soluti che operano contro un gradiente elettrochimico sfruttando l'energia offerta da un "contro-ione". Trattasi sempre di macromolecole proteiche inserite nel contesto della membrana cellulare con 12 segmenti idrofobici. Queste macromolecole posseggono 6 anse idrofiliche extracellulari e 5 idrofiliche endocellulari e i terminali idrofilici amminico e carbossilico in posizione endocellulare. Si dividono in due gruppi: i trasportatori della monoammine e i trasportatori degli aminoacidi. Ai primi appartengono gli psicofarmaci come la cocaina, sostanze che bloccano la ricattura dei neurotrasmettitori. La reserpina invece impedisce

l'accumulo intravescicolare delle monoammine nel citoplasma privando le sinapsi dei neurotrasmettitori.

Da quanto esposto fino a questo punto sui progressi scientifici della farmacologia molecolare dell'ultimo decennio del XX secolo risulta facilmente comprensibile che i canali ionici, le pompe ioniche e i trasportatori rappresentano altrettante unità funzionali che fanno da ricevitori dei segnali, da trasduttori dei medesimi e da loro effettori terminali. La complessità strutturale di questi recettori di membrana è tale che anche l'analisi al calcolatore elettronico della dinamica molecolare di attivazione dei recettori di membrana è riuscita a fornire solo un modello dinamico di alta probabilità ma non di assoluta certezza. Infatti della complessità funzionale ha fatto parte anche il riscontro di molti esempi in cui una stessa molecola recettoriale presenta diversi siti di attivazione ai quali diversi farmaci agonisti si possono unire creando modifiche strutturali diverse e questo è risultato particolarmente vero per le proteine G. Tra queste, quelle che hanno un alto numero di gruppi capaci di formare legami idrogeno, riescono a ripiegarsi all'interno dell'ambiente lipofilico della membrana cellulare così da formare catene di legami idrogeno che attraversano la membrana e conducono i protoni. Per attraversare la membrana cellulare è necessaria una catena ininterrotta di 20-25 legami idrogeno; un punto d'interruzione della catena arresta la conduzione dei protoni. L'agonista che si lega al recettore attiva la catena di questi legami cosicché un protone viene trasportato con il meccanismo detto di "salto/giro" fino all'unità catalitica della proteina G attivandola. Nei primi 4 secondi di attivazione della molecola G si verifica una sintesi di GTP da GDP+P, una sintesi questa che rivela come la proteina G funzioni da vera e propria GTP-sintasi analogamente a quanto succede per l'ATP-sintasi che sintetizza l'ATP da ADP+P. La catena dei legami idrogeno fa passare i protoni da un alto potenziale elettrochimico extracellulare ad uno basso intracellulare e nel corso di questo transito il segnale dell'agonista viene amplificato in almeno tre stadi che sono stati verificati sperimentalmente con un microfisiometro e che alla fine del secolo erano diventati noti nei loro particolari. Lo spegnimento del segnale avviene quando l'idrolisi del GTP ne fa scendere il livello innalzando contemporaneamente quello del GDP. Ne consegue che la durata degli effetti prodotti dal farmaco agonista o dal ligando endogeno può essere anche di alcuni minuti perché dipende dallo spegnimento di un numero molto elevato di messaggi intracellulari.

Fin qui i risultati degli studi sui recettori di membrana. Sono stati però individuati anche i **recettori endocellulari dei farmaci** che si assomigliano tutti per struttura e dinamica molecolare. Gli studi eseguiti nel corso dell'ultimo ventennio del secolo hanno potuto stabilire che i farmaci cortisonici e tutti gli ormoni steroidei (estrogeni, progesterone, testosterone e ormoni corticosurrenali in genere) essendo liposolubili oltrepassano la membrana cellulare con estrema facilità e vanno a legarsi nel citoplasma ai loro recettori soluti nella componente liquida del citoplasma stesso. In seguito alla unione il recettore modifica la sua forma, viene fosforilato e si stacca dalla proteina inibitoria con la quale è legato in attesa di essere attivato, quindi entra nel nucleo e va ad attaccarsi a segmenti specifici del DNA composti di 11-15 nucleotidi sistemati in ripetizioni di una medesima sequenza oppure contornanti una stessa sequenza invertita e capovolta. E' la parte ammino-terminale del recettore steroideo quella che contiene il messaggio di attivazione genica specifica mentre le altre due parti servono a riconoscere lo steroide (porzione carbossi-terminale) e a contenere il codice di riconoscimento della sequenza nucleotidica specifica (porzione intermedia). I farmaci antagonisti degli ormoni steroidei sopracitati (antiestrogeni, antiandrogeni, spironolattoni) vanno ad unirsi al recettore soluto nel citoplasma e lo distaccano dalle proteine inibitorie con le quali è unito nello stato di riposo. A questo punto succede che il complesso formato da recettore steroideo+antagonista non è

capace di legarsi alla sequenza nucleotidica del DNA oppure riesce a legarsi ma non è capace di modificare la velocità di trascrizione del gene facendo mancare in tal modo l'azione farmacologica dello steroide agonista.

Un'altra novità dovuta alle ricerche farmacologiche sperimentali degli ultimi anni del XX secolo è quella del riconoscimento dell'esistenza dei cosiddetti **agonisti inversi** detti anche "antagonisti con attività intrinseca negativa". Il presupposto per l'esistenza e il funzionamento di questi agonisti inversi è dato dalla capacità di alcuni recettori (R) di conservare un debole grado di attività nello stato di riposo, cioè una condizione di equilibrio tra inattività e attività ($R=R^*$). Il farmaco agonista promuove il passaggio da riposo (R) ad attività (R^*). Il farmaco antagonista non modifica l'equilibrio di cui sopra e impedisce all'agonista di promuovere l' R^* . L'agonista inverso promuove il passaggio da R^* a R inattivando il recettore anche in assenza di agonisti. Questo fenomeno è stato riscontrato per la prima volta a proposito dell'azione delle beta-carboline sul complesso recettore-canale GABA_A / benzodiazepine: le beta-carboline, anche in assenza di benzodiazepine, inibiscono l'apertura del canale da parte del GABA e quindi l'induzione di attacchi epilettici. L'esposizione cronica del recettore ad un farmaco antagonista provoca facilmente una sensitizzazione della risposta recettoriale all'azione degli agonisti e questo fatto è stato spiegato con l'azione agonista inversa di certi antagonisti.

Alla fine del secolo XX l'esistenza e l'azione degli agonisti inversi sul GABA nel vivente è rimasta l'unica dimostrazione mentre gli altri riscontri di agonisti inversi furono fatti solo in tessuti isolati e nelle culture cellulari grazie all'ausilio offerto dalle biotecnologie genetiche: queste hanno consentito di transfettare con il codice del recettore cellule che non lo possiedono così da ottenere linee cellulari transfettate ricche di R^* . Si riuscì in tal modo a dimostrare che esiste un rapporto proporzionale tra concentrazione dell'agonista inverso e l'inibizione dell'attività recettoriale costitutiva.

La somministrazione prolungata nel tempo (mesi e anni) di farmaci può portare – come da antica esperienza - ad una diminuzione – ed è il caso più frequente - della risposta recettoriale al farmaco agonista e questo fenomeno è stato definito nel 1991 da H.G.Dohlman e collaboratori "**desensitizzazione**" o, viceversa, alla sua esaltazione, cioè alla **sensitizzazione**.

Nel primo caso si è di fronte ad un fenomeno fisiologico e quindi non soltanto e obbligatoriamente farmacologico. Due famiglie di recettori sono particolarmente interessate dai diversi meccanismi di desensitizzazione e sono quelle dei recettori-canale che diventano incapaci di aprire il poro per il transito ionico e dei recettori accoppiati alle proteine G. Nel primo caso l'incapacità di aprire i canali ionici è dovuta al persistere del ligando endogeno (acetilcolina) o del farmaco (curari depolarizzanti) quando la membrana postsinaptica è già stata ripolarizzata dopo un principio di depolarizzazione. Nel caso dei recettori accoppiati a proteine G (perdita progressiva di efficacia delle terapie mediche dell'asma bronchiale) il meccanismo di desensitizzazione può avvenire in tre modi diversi: 1°- la presenza dei conformeri I e D del recettore nicotinico muscolare per l'acetilcolina, rispettivamente 20 e 100 volte più affini per l'acetilcolina rispetto al conformero R, si comportano da forme molecolari desensitizzate incapaci cioè di aprire il poro per condurre ioni attraverso la membrana cellulare a causa del persistere del ligando endogeno (acetilcolina) o esogeno (farmaco); 2°- la desensitizzazione che riguarda le famiglie dei recettori accoppiate alle proteine G avviene attraverso un complesso processo di fosforilazioni del recettore beta-adrenergico e si verifica solo sul recettore attivato dall'agonista; 3°- il terzo tipo di desensitizzazione al farmaco dei recettori accoppiati alle proteine G è causato da una riduzione dei livelli cellulari oppure, nel caso dei recettori adenosinici e dei prostanoidei, si identifica in una traslocazione dalla membrana citoplasmatica delle proteine G.

La sensitizzazione si verifica più raramente ed è anche meno conosciuta; è causata da occupazione prolungata e ripetuta del sito recettoriale da parte di un antagonista oppure da parte di oppioidi, anfetamina, nicotina, codeina che supersensitizzano all'eccitazione certi circuiti catecolaminergici. L'esposizione ripetuta o continua al farmaco finisce per attivare trascrizioni di alcune famiglie di geni che codificano per fattori di trascrizione della famiglia AP-1, che a loro volta si legano al DNA e attivano la trascrizione di altri geni così da modificare il fenotipo cellulare. Ne conseguono nuovi contatti sinaptici con aumento di numero delle sinapsi responsabili della risposta farmacologica esaltata. Questo fenomeno è stato detto "*memoria molecolare*" e si verifica sotto stimolo esogeno o endogeno in modo che ricorda da vicino la risposta prodotta dalla somministrazione del farmaco. Questo processo biologico di **supersensitizzazione** è quello molecolare del lavoro cognitivo e di quello mnemonico. A questi fenomeni sono state attribuite alcune psicosi da anfetamina e cocaina. Sono stati descritti anche casi in cui i fattori di trascrizione attivati dal farmaco inducono processi di trascrizione che portano alla morte della cellula.

Tutto questo ha portato a pensare che l'azione di molti farmaci non si esaurisce nella risposta immediata di tipo recettoriale ma possa continuare nel tempo sotto forma di trascrizione genica. Un esempio di questo è il comportamento dell'*aspirina* che a piccole dosi rimuove la febbre e i dolori lievi e inibisce l'aggregazione delle piastrine grazie alla inibizione della cicloossigenasi e quindi bloccando la produzione di prostanoide mentre ad alte dosi è attiva contro l'artrite reumatoide agendo a questo livello con l'impedire la dissociazione del fattore NFκB dalla sua proteina IκB che lo inibisce. Il blocco di questa inibizione impedisce che virus, agenti chimici, fisici e mediatori endogeni della risposta immunitaria-infiammatoria liberino, attivandolo, l'NFκB dalla proteina IκB.

L'apporto più recente alla farmacologia molecolare della fine del Novecento fu quello della **genetica molecolare** (vedi avanti) che consentì ai farmacologi di accedere direttamente alla trascrizione del codice genetico per lo sviluppo di farmaci inibitori del codice genetico. Le tre strade dove si è svolto questo percorso iniziale furono l'impiego di nucleotidi antisense anti RNA messaggero, di oligonucleotidi antisense e anti-gene e, ultimissima, quella dei ribozimi: 1°- la prima strada ha avuto inizio nel 1979, anno in cui Zamenick e Knorre sintetizzarono i primi **nucleotidi antisense (aODN)**. Bersaglio di questo aODN è un RNA messaggero di cui si vuole inibire la traduzione del codice in proteine. A questo scopo gli aODN si attaccano all'mRNA che è il loro bersaglio formando una doppia catena inibitrice della traduzione. I farmacologi di fine Novecento cominciarono a progettare nuovi farmaci a partire dalla progettazione di un aODN conoscendo già il codice genetico dell'mRNA che volevano bloccare. A tale scopo, per evitare pericolose omologie di sequenza, si accorsero che era necessario che l'aODN fosse lungo almeno 12-15 nucleotidi avendo notato d'altra parte che sequenze di oltre 18 nucleotidi non penetravano quasi mai nelle cellule. Inoltre solo alcune zone dell'mRNA risultarono adatte per ibridarsi con un aODN. Altri aspetti osservati dagli sperimentatori furono il fatto che gli effetti degli aODN erano reversibili, che la doppia catena aveva una emivita breve e che tutti gli aODN prodotti fino ai primi anni del XXI secolo non superavano la barriera ematoencefalica. 2°- la seconda strada è stata quella della creazione di un aODN che possa ibridarsi con il DNA così da formare un pezzo di elica tripla. Si è cominciato a battere questa strada nel 1987 con qualche risultato incoraggiante ma alla fine del secolo le difficoltà da superare erano ancora molte. 3°- i **ribozimi** sono sequenze di ribonucleotidi che con meccanismo enzimatico possono scindere RNA e DNA previa alcune modifiche di quest'ultimo. Le maggiori difficoltà sono offerte dal superamento delle barriere biologiche.

Queste ultime notizie hanno fatto parlare di **Farmacogenetica** o **Farmacogenomica** che è la forma più recente della farmacologia razionale il cui scopo è quello di scoprire e realizzare farmaci studiando la risposta ad essi in rapporto alla grande variabilità genetica dei singoli individui. La farmacogenetica si prefigge dunque di sfruttare le informazioni ottenute dalle ricerche sul genoma umano per influire qualitativamente su prevenzione, diagnosi e terapia di patologie tuttora difficili da controllare (Cesareni). Le ricerche sui recettori accoppiati alle proteine G, su quelli con attività tirosinchinasica, su quelli nucleari di ormoni, sui canali ionici, sulle proteasi, fosfatasi, chinasi e proteine di trasporto occuparono tutti gli ultimi cinque anni del Novecento e continuano tuttora (2012). La delicata e complessa metodologia di queste ricerche contempla la convalida degli effetti del farmaco geneticamente isolato sul bersaglio farmacologico. Lo sviluppo di nuove tecnologie dette *gene chips* ha permesso di conoscere l'espressione di tutti i geni di un corpo umano avendo a disposizione una piccolissima porzione di tessuto. Il primo passo è stato quello della differenziazione dei geni espressi nei tessuti sani e di quelli espressi nei tessuti malati; il secondo passo è stato quello di cercare di identificare tra i geni del tessuto malato quelli capaci di codificare per un farmaco che appartiene ad una classe particolarmente interessante. In caso di risposta positiva scattava una serie di test per convalidare il bersaglio. Trattasi di uno screening che consente di analizzare velocemente centinaia di migliaia di molecole fino a trovare quelle che hanno potere inibente o stimolante ai fini terapeutici. I 3 gradi di questa ricerca contemplano: 1°- controllo della capacità selezionatrice della molecola individuata e della possibilità di effetti collaterali; 2°- cercare se la molecola bersaglio identificata può essere influenzata da molecole a lei simili; 3°- verifica sperimentale con test funzionali della reazione crociata di molecole omologhe. A questo punto comincia la fase dei test clinici i cui obiettivi sono: il riconoscimento della risposta individuale e la caratterizzazione – ove possibile – di gruppi di pazienti che presentano risposte analoghe.

La terapia genica si prefigge di sostituire il gene difettivo responsabile della malattia introducendo cellule somatiche codificate da una copia sana del gene modificato. Alla fine del Novecento si è cominciato con l'introdurre nel paziente l'informazione genetica che modifica il gene responsabile della malattia usando come trasportatori liposomi o virus e questo è un punto dolente della ricerca perché all'inizio del XXI secolo i ricercatori non erano ancora in grado di usufruire di vettori dell'informazione genetica stabili e sicuri.

Un altro aspetto importante della ricerca dei farmacologi genetici è stato quello della tipizzazione genomica mediante polimorfismo di singoli nucleotidi. Questo filone degli studi ha tenuto conto delle ipotesi di A.Garrod che all'inizio del Novecento aveva ipotizzato l'esistenza di difetti genetici ereditari nella sintesi o nell'attività di enzimi come spiegazione della incapacità di metabolizzare un farmaco e di detossificare l'organismo. Successive osservazioni di altri AA avevano confermato la visione di Garrod. Le ricerche a questo proposito effettuate negli anni Cinquanta avevano confermato tali osservazioni estendendo la ricerca su un numero elevato di pazienti. Negli anni Novanta i nuovi mezzi impiegati hanno messo in rilievo che tutto dipendeva da variazioni del genoma: ad esempio i malati di Alzheimer presentano l'associazione degli SNP nel gene dell'Apo E (apolipoproteina E) e quando in un genoma esiste una semplice delezione nel gene che codifica il recettore per CCR5 il soggetto presenta resistenza all'infezione HIV e non ammalia di AIDS. Al momento attuale non è ancora realizzabile un intervento genetico tale da modificare radicalmente i geni che codificano per recettori che sono alla radice di certe malattie, ma certamente le future conquiste dei farmacologi genetisti che verranno fatte in questo campo saranno utili sotto gli aspetti sociali ed economici.

Per altre notizie sulla Farmacogenomica si rinvia all'ultimo paragrafo di questo capitolo sulla Farmacologia (vedi pag.263)

In conclusione si può affermare che alla fine del Novecento la farmacologia molecolare aveva già risolto molti problemi a cominciare dalla identificazione della struttura molecolare dei recettori e finendo poi con il produrre in grandi quantità molecole funzionali molto vicine a quelle biologiche, veri e propri nuovi farmaci già entrati nell'uso terapeutico nell'ultimo decennio del Novecento come **l'insulina umana** prodotta transfettando colture cellulari con il gene umano, **l'interferone** e le **interleuchine**.

L'alba del XXI secolo vedeva così la possibilità di progettare sempre nuovi farmaci sfruttando le cognizioni dei meccanismi d'azione molecolare, di saggiare e misurare con buona precisione l'effetto di nuove molecole di sintesi su sistemi biologici semplici, di creare linee cellulari dotate di un elevato numero di recettori farmacologici del tipo voluto uniti ad un sistema misurabile di trasduzione postrecettoriale del segnale, di individuare nuovi recettori per nuovi traguardi farmacologici riconoscendo e agendo su geni che codificano per recettori che sostengono malattie di ampio interesse sociale. Gli scopi della farmacologia molecolare, così come apparivano alla fine del Novecento, erano infatti quelli di riuscire a modulare le funzioni biologiche del malato o di esaltare l'espressione genica delle molecole endogene responsabili della funzione agonista e di quella antagonista.

Viene anticipata qui la trattazione dei vaccini che anticipa le nozioni che riguardano il capitolo delle Malattie Infettive perché i vaccini fanno parte da sempre del bagaglio terapeutico dell'attività farmaceutica e quindi hanno pieno diritto a essere ricordati anche e anzitutto nel capitolo della farmacologia.

Vaccini Tradizionali

Sono tutti quelli che nel corso del Novecento entrarono nell'uso terapeutico e nella produzione industriale prendendo esempio – all'inizio – da quelli inventati e prodotti nelle ultime decadi dell'Ottocento. L'esperienza maturata nei primi Settanta anni del XX secolo ha portato alla produzione su scala industriale di diversi tipi di vaccini che sono stati così suddivisi:

A – Vaccini che contengono microrganismi patogeni uccisi. L'uccisione di colonie batteriche e virali sono state fatte con il calore o con l'azione chimica della formaldeide. Trattasi di vaccini di alta sicurezza nei riguardi della loro pericolosità. Le malattie batteriche che furono trattate di più con questo tipo di vaccino sono state il colera, la peste (Yersin ceppo 195/P ucciso con il calore), il tifo addominale, la pertosse (Kendrick 1938-40 – vaccino cellulare), tra le malattie virali furono trattate la poliomielite (vaccino tipo Salk e in seguito vaccino Sabin per via orale), la rabbia (inattivato su cellule diploidi umane), l'influenza, l'encefalite giapponese (inizio negli anni '50 con ceppo Pechino-1 e dal 1988 ceppo Pechino-3) e l'epatite A:

1° – Polisaccaridi della capsula batterica provocano la comparsa di anticorpi ma non stimolano una risposta immunitaria T-mediata e non proteggono i bambini al di sotto dei 18 mesi di età. Questi difetti sono stati eliminati nel corso degli anni '70 con la coniugazione chimica del polisaccaride ad un antigene proteico. Si tratta di vaccini estremamente efficaci nei riguardi dell'*Haemophilus influenzae* di tipo b e della *Neisseria meningitidis* di gruppo C. Ancora in uso per tutto il XX secolo furono i polisaccaridi nudi contro lo *Streptococcus pneumoniae* e la *Neisseria meningitidis* dei gruppi A,Y,W 135

2° – Tossoidi o anatossine sono tossine inattivate di alcune malattie batteriche: la difterite che nella Federazione Russa negli anni 1994-1996 interessò 125.000 casi con 4000 morti. Altro vaccino diffusamente usato appartenente a questo gruppo è quello contro il tetano (Ramon 1911; disponibile in Italia dal 1940 dopo alcune prove che nel 1933 ebbero effetti disastrosi nel Veneto per utilizzo di una partita di vaccino non sufficientemente disattivato nella sua tossicità).

B – Vaccini da microrganismi vivi attenuati: consistono di piccole dosi del microrganismo patogeno attenuato in vario modo che vengono somministrate per via parenterale permettendo che esse si replichino nell'organismo del vaccinato fino a dare una immunità permanente (tranne che per i vaccini somministrati per via orale). Nelle persone portatrici di deficit immunitari possono però causare la malattia vera e propria per la loro replicazione non controllata. Il complesso meccanismo con il quale il sistema immunitario è capace di generare popolazioni di linfociti B e di linfociti T specifici contro l'antigene facendo intervenire i due complessi maggiori di istocompatibilità I e II (MHC) lascia nel soggetto vaccinato una memoria specifica che dura per lunghissimo tempo.

La eradicazione del vaiolo decretata dall'OMS alla fine degli anni '70 e quella prevista per la polio entro il 2005 sono esempi dei buoni risultati ottenuti nel corso del XX secolo nel campo della prevenzione delle malattie infettive e tuttavia è stata molto sentita l'esigenza di sviluppare vaccini ancora più sicuri e privi di effetti collaterali, vaccini che furono definiti "*intelligenti*".

Vaccini Intelligenti.

E' questa la definizione data dagli studiosi italiani M.Lattanzini, R.Rappuoli e G. Del Giudice per indicare i nuovissimi tipi di vaccini che a partire dalla fine degli anni '70 del Novecento sono venuti alla luce e in gran parte sono tuttora in evoluzione grazie all'impiego dell'ingegneria genetica arricchendo la batteria già disponibile di vaccini tradizionali e migliorandone la sicurezza e le vie di somministrazione. Negli anni Ottanta e Novanta e nei primi anni del XXI secolo le importanti novità che consentirono di dare vita al "*vaccini intelligenti*" furono nel **1982** la produzione del vaccino contro l'HBV con la tecnica del DNA ricombinante, nel **1995** la acquisizione del genoma completo di molti microrganismi patogeni (*H.Influenzae*, *Helicobacter pilori*, *N.Meningitidis*, *Mycobacterium tuberculosis* e molti altri), nel **1997** la prima applicazione del nuovo adiuvante per aumentare l'immunogenicità, l'**MF59**, che veniva a sostituire per la prima volta in Italia – poi subito adottato da molti altri paesi – i sali di alluminio in uso come adiuvanti unici consentiti da 70 anni nell'uomo. L'MF59 è una emulsione di gocce di squalene (olio naturale ottenuto dal fegato di squalo, ma presente nell'organismo umano come metabolita del colesterolo), di cui non è noto ancora il meccanismo d'azione, che però stimola fortemente la risposta immunitaria anticorpale (linfociti Th2) inducendo interleuchina 5 e interleuchina 6. Molti studi collaterali con cellule trattate con metodiche di ingegneria genetica hanno confermato in varie occasioni il grande vantaggio di vaccini potenziati con l'MF59.

Gli AA. sopracitati hanno scritto che "*l'approccio genomico è riuscito in un paio d'anni (1995-1997) a identificare nuovi antigeni, prima sconosciuti, capaci di indurre anticorpi protettivi e ben conservati in tutti i ceppi studiati finora*" I vaccini a DNA ricombinante della proteina contro la quale deve effettuarsi la risposta immunitaria, introdotti nell'organismo animale con iniezione intradermica o intramuscolare, penetrano nella cellula, si integrano nel genoma e provocano la produzione dell'antigene. Questo viene espresso sulla superficie della cellula assieme alle molecole del complesso maggiore di istocompatibilità (MHC) di classe I° (vedi pag. 167). Questo provoca una risposta dei linfociti T citotossici che uccidono la cellula che ha espresso l'antigene (risposta cellulomediata). La presentazione dell'antigene insieme alle MHC di classe II attiva, provoca invece l'immunità umorale (produzione di anticorpi). I vaccini a DNA sono risultati utilissimi nelle infezioni virali come quelle da papillomavirus, da virus dell'immunodeficienza acquisita, da virus erpetici, dal virus dell'epatite C e nelle infezioni da batteri intracellulari come il *Mycobacterium tuberculosis*. L'osservazione che i vaccini a DNA ricombinante davano brillanti risultati nei piccoli animali di laboratorio ma non in quelli di taglia grande (scimmie e uomo) hanno spinto i ricercatori a studiare strategie diverse per migliorare la capacità immunogenica dei vaccini a DNA cosicché i metodi

applicati alla fine del Novecento e nel primo decennio del XXI secolo sono stati molti e, tra essi, l'utilizzo di apparecchi "*spara geni*" (*gene-guns*) che consentono di risparmiare DNA fino a 100 volte, di virus del genere Alfavirus che producono un numero abbondante di copie di RNA messaggero, di vettori batterici adattati a sostituire i vettori virali, dell'adsorbimento di DNA su microparticelle di polilattato-poliglicolato (PLG) che fa aumentare di 100 volte la potenza vaccinale dell'immunità cellulare e di 1000 volte quella umorale (produzione di anticorpi), dell'impiego di oligonucleotidi contenenti una citosina e una guanina unite da legame fosforico (CpGDNA) che vengono iniettate nello stesso luogo dell'antigene (per via parenterale, orale, mucosale) e che attivano i macrofagi, la produzione delle cellule dendritiche e l'attivazione delle cellule *natural killer*.

Anche se alla fine del Novecento la massima quantità dei vaccini continuava ad essere somministrata per via parenterale, proprio negli ultimi anni del XX secolo – grazie all'ingegneria genetica – sono stati raggiunti traguardi interessanti nell'utilizzo della somministrazione per via mucosale di vaccini potenziati da adiuvanti specifici (tossina colerica e dell'*Escherichia coli* detossificate con interventi genetici), e per via transcutanea nell'uomo mediante cerotti del vaccino ricombinante contro l'*Escherichia coli* enterotossigena. Gli studi di fine secolo hanno consentito di valutare l'utilizzo della via alimentare impiegando piante commestibili transgeniche (banane, carote, patate) come documentato da A.M.Walmsley e coll nell'anno 2000 ("*Plants for delivery of edible vaccines* in "*Current opinion in biotechnology*"). Altri filoni di ricerca aperti poco prima della fine del XX secolo furono l'utilizzo di oligonucleotidi CpG per curare allergie e asma e i bambini atopici e, per quanto riguarda la lotta contro il cancro, erano in corso in quegli anni ricerche sperimentali sull'uomo con DNA nudo, con sistemi di trasporto virale, con gli oligonucleotidi CpG, con le cellule dendritiche e altro (P.Moningeo, "*Cancer vaccines*" in "*Vaccine*" del 2001).

Farmacogenomica

A completamento delle notizie su questo argomento riportate nelle pagine da 259 a 263 si aggiunge quanto segue: 1°- come già ricordato, negli anni Cinquanta alcune osservazioni cliniche avevano confermato la validità della ipotesi di Garrod; un prolungato rilassamento muscolare fu visto essere associato ad un difetto ereditario della colinesterasi plasmatica (osservazioni eseguite nel corso di ricerche farmacologiche sui curarosimili che stavano entrando in uso in anestesiology); 2°- associazione di emolisi dopo cura antimalarica e azione dell'enzima glucosio-6-fosfato-deidrogenasi.

Negli anni '80 e '90 fu osservato e dimostrato che nel modo ed entità della risposta clinica ad un farmaco la responsabilità non risaliva a caratteri monogenici bensì all'azione codificante di geni diversi.

Il progetto "Genoma" partito nel 1990 ha portato già prima del XXI secolo e, ovviamente, anche dopo, alla identificazione di oltre 1.000.000 di variazioni di singoli nucleotidi (SNP, *Single Nucleotide Polymorphism*) che sono diversi rispetto alla sequenza di codificazioni e si presentano in quantità di un SNP ogni 1910 paia di basi cosicché la mappa degli SNP copre l'intero genoma. Gli studi su questi poliformismi di nucleotidi singoli hanno evidenziato – come già detto - che nei malati di Alzheimer gli SNP sono presenti nel gene della ApoE (Apolipoproteina E) e che i casi di resistenza all'IHV (e quindi all'AIDS) sono dovuti ad una delezione del gene del recettore CCR5.

La individuazione genetica di un farmaco si è configurata nel corso degli anni '90 in tre processi successivi: 1°- identificazione dei bersagli genetici di interesse farmacologico. Nell'anno 2000 si era arrivati a identificare, grazie ai programmi informatici, i recettori accoppiati alle proteine G, i recettori nucleari di ormoni, i canali ionici, le proteine *carrier*,

gli enzimi chinasi, proteasi e fosfatasi; 2°- convalida dei possibili bersagli farmacologici mediante tecniche genomiche sviluppate negli ultimi anni '90 ("*gene chips*") che consentono di rilevare in brevissimo tempo l'espressione di tutti i geni dell'organismo umano partendo da una piccola porzione di tessuto. Test successivi di "genomica funzionale" permettono di stabilire se uno dei geni espressi nel tessuto patologico in esame codifica per una sostanza già presente nelle classi farmacologiche note. In questa fase di convalida si usavano nuove metodologie come la spettrofotometria di massa e altre che hanno fatto superare le difficoltà di convalida dovute all'enorme varietà dei caratteri fisico-chimici delle proteine; 3°- la progettazione del farmaco che prevede 4 fasi delle quali la prima consiste nello *screening* di centinaia di migliaia di molecole isolando quelle attive per inibizione o stimolazione sul prodotto genico individuato e già convalidato come bersaglio, la seconda per accertare se la molecola selezionata come possibile farmaco è selettiva o meno e se comporta effetti collaterali, la terza consistente nella ricerca di geni che possono codificare per molecole simili o uguali alla molecola-bersaglio, infine la quarta e ultima che consiste nell'effettuare la reazione crociata delle molecole omologhe.

La farmacogenomica ha sollevato alla fine degli anni '90 un vivace dibattito sui suoi alti costi che richiedevano notevoli finanziamenti pubblici e privati tali da mettere in dubbio la loro sostenibilità nel tempo per paesi già altamente sviluppati come gli USA. Altre critiche hanno riguardato il rischio che lo sviluppo della farmacogenomica venga ad aumentare i vantaggi dei paesi industrializzati rispetto a quelli del Terzo Mondo, e il rischio che la rivelazione di individui geneticamente non suscettibili di trattamento mirato ne condizionasse la capacità lavorativa con sicuri riflessi nel campo assicurativo; infine fu sollevato il grave problema della violazione della *privacy*, insita nella caratterizzazione genetica del singolo individuo: si affermò che essa poteva influenzare negativamente, sotto l'aspetto psicologico, la percezione del proprio io e il modo di comportarsi verso gli altri. Di questa temperie sullo stato delle ricerche negli USA si fece portatore di una previsione negativa nel 1998 D.Callahan che in quell'anno diede alle stampe un testo intitolato "*False speranze: perché la ricerca americana dello stato di perfetta salute fisica è una ricetta destinata a fallire*".

Per quanto riguarda i complessi problemi presentati dallo sviluppo scientifico e dai programmi della farmacogenomica l'italiano Gianni Cesareni all'inizio del XXI secolo scriveva che era venuto il momento di fare "*importanti scelte che non devono essere lasciate solo ai ricercatori e al libero mercato*" in modo che si possa evitare lo sperpero di pubblico denaro in progetti terapeutici di utilità pratica molto limitata.

ANESTESIOLOGIA

Nel 1907 Francesco Durante scriveva che, dopo l'introduzione in anestesia dell'etere nel 1842 e, in seguito, del cloroformio e dopo l'introduzione nel 1880 della cocaina come anestetico locale, "*le modificazioni della tecnica per l'impiego dei vecchi e la comparsa di nuovi anestetici si succedono da un giorno all'altro*". Questa affermazione appare tanto più vera se si pensa che già prima di quando Durante scrisse il suo trattato di Medicina Operatoria, il Bier aveva introdotto l'uso delle iniezioni sottoaracnoidee degli anestetici locali come la tropocaina, l'eucaina, la stovaina ecc.

Per quanto riguarda l'**anestesia generale** della prima decade del Novecento il primato era tenuto dalla inalazione di **cloroformio** che veniva somministrato goccia a goccia sulla mascherina di Esmarch o su quelle di Guyon o di Kocher. Si trattava di piccole gabbie metalliche sulle quali veniva applicata una piccola pezza di lana o di altro tessuto

smontabile, lavabile e sterilizzabile. Al posto di queste semplici mascherine che, peraltro, furono le più largamente utilizzate, furono anche inventati ed ebbero un uso più limitato apparecchi più complessi formati dall'unione di una maschera di gomma collegata a un dosatore che regolava la somministrazione del cloroformio nella quantità voluta. Alcuni di questi apparecchi permettevano anche di far respirare una miscela di vapori di cloroformio e di aria ambiente (apparecchi di Créquy, di Junker, di Reynier).

L'anestesista era e rimase fino alla seconda guerra mondiale un infermiere che si era impraticato nella delicata conduzione delle varie fasi dell'anestesia generale e nel tempestivo riconoscimento dei vari inconvenienti possibili legati alla narcosi.

Lo strumentario a disposizione del "cloroformizzatore" (così era chiamato l'anestesista dei primi anni del secolo) consisteva di apribocca di vario tipo, di boccette dosatrici dell'anestetico tipo Esmarch o tipo Leister, di pinze tiralingua di varia foggia. Dei quattro metodi di somministrazione del cloroformio - a grandi dosi, a somministrazione intermittente, a piccole dosi a intermittenza, a somministrazione continua goccia a goccia cioè a piccole dosi - solo l'ultimo si era imposto definitivamente negli anni a cavallo dei due secoli XIX e XX. Il decorso della narcosi cloroformica era caratterizzato da 4 stadi successivi: 1° - periodo della coscienza che è il più breve e che termina con il passaggio dai disturbi uditivi a quelli della vista e da questi alla perdita di coscienza, 2° - periodo dell'eccitazione, brevissimo nei bambini, nelle donne e nei maschi adulti di costituzione gracile, caratterizzato da midriasi, sensibilità mantenuta, delirio e agitazione muscolare, 3° - periodo della tolleranza caratterizzato da miosi della pupilla, perdita del riflesso corneale e di quello cremasterico, risoluzione completa del tono muscolare e sonno profondo. L'operatore non doveva iniziare l'atto operatorio se non dopo aver constatato il raggiungimento di questa condizione; un inizio precoce in un paziente che aveva conservato un minimo di sensibilità poteva provocare reazioni pericolose e un ritardo nell'ottenere il periodo di tolleranza. Il cloroformizzatore doveva saper mantenere lo stato di narcosi profonda senza far risvegliare anzi tempo il paziente e soprattutto sapendo conservare lo stato di pupilla puntiforme senza mai passare alla midriasi da eccesso di cloroformio pena il pericolo di arresto cardiaco. 4° - periodo del risveglio che era caratterizzato da dilatazione progressiva delle pupille e ricomparsa del riflesso corneale, da comparsa di tinta rosea al volto che in precedenza si era mantenuto pallido. Il persistere del pallore del volto era considerato segnale di risveglio lento o ritardato e si strofinavano le guance o vi si passava sopra un panno bagnato chiamando il paziente per nome ad alta voce fino a ottenere il segno che la facoltà uditiva era ritornata normale o quasi. Dopo una narcosi cloroformica veniva raccomandata sorveglianza fino al ritorno completo della coscienza e si proibiva la somministrazione di liquidi e di cibi solidi nelle otto-dieci ore successive. Per ovviare alla sete si ricorreva a ipodermoclisi o a rettoclisi di soluzione fisiologica.

Tra le complicazioni immediate della narcosi cloroformica (ma anche di quelle eterea) erano ben note le minacce di asfissia da accumulo o caduta di sostanze estranee in gola e soprattutto nella glottide (saliva e muco da forte eccitazione delle rispettive ghiandole dovuta al cloroformio; sostanze alimentari emesse con il vomito; sangue liquido o coagulato, caduta di denti artificiali, protesi dentarie mobili e denti naturali già ciondolanti prima dell'inizio dell'anestesia). Fece scalpore la morte per asfissia da caduta di dentiera in gola durante narcosi del cardinale Merry del Val segretario di Stato della Santa Sede ai tempi di Pio X. Altra minaccia di asfissia molto frequente era la caduta della lingua nel retrobocca con otturazione della glottide e spettava alla capacità, esperienza e osservazione del cloroformizzatore accorgersi dell'incidente e provvedervi immediatamente con il tiralingua preceduto, se i masseteri erano contratti, dall'apertura forzata della bocca. Nei primi decenni del secolo non era infatti ancora conosciuta la cannula boccale-faringea che mantiene schiacciata la lingua impedendone la caduta sull'epiglottide e consente il libero

passaggio del flusso aereo dall'esterno al laringe grazie al suo ampio lume contornato da pareti rigide.

Un incidente gravissimo talvolta descritto e fortemente temuto per le sue conseguenze letali era la paralisi respiratoria per azione tossica del cloroformio sul centro bulbare del respiro, quadro di estrema gravità che Duret chiamò *shock cloroformico bulbare*. Si trattava di un incidente che solea capitare all'inizio del periodo di tolleranza o di stato della narcosi cloroformica con arresto improvviso della respirazione. In questa evenienza veniva sospesa la somministrazione del narcotico e si dava inizio alle manovre di respirazione artificiale. Molto più frequenti e gravi erano però i disturbi da cloroformio a carico della circolazione culminanti nella cosiddetta "sincope cardiaca" ossia nell'arresto dell'attività contrattile del cuore, incidente che poteva capitare in ognuno dei tre stadi della narcosi. Per prevenire l'arresto cardiaco nel periodo di induzione o iniziale si usava pennellare con la cocaina la mucosa nasale oppure si sopprimeva la respirazione nasale per tutta la prima fase della narcosi. Per prevenire la sincope nel secondo periodo (periodo di stato o tolleranza) e nel terzo periodo l'unico mezzo valido era la lenta somministrazione del cloroformio goccia a goccia accompagnata da una attenta e continua sorveglianza dell'anestesista sul colorito del volto e sull'andamento del polso.

Infine erano temute anche le possibili gravi conseguenze del vomito durante l'anestesia, cioè l'asfissia da inondazione dell'albero tracheobronchiale e, tardivamente, la broncopolmonite *ab ingestis*. A tale proposito va ricordato che la liberazione del cavo orofaringeo dal materiale vomitato veniva praticata manualmente e coricando il paziente a testa all'ingiù oltre il bordo del tavolo operatorio fin dagli ultimi anni dell'Ottocento e veniva ancora raccomandata verso gli anni dieci del Novecento insieme ad una stretta vigilanza sulla possibile evenienza di questo incidente spesso mortale. Si aggiunse anche in quegli anni l'aspirazione tramite una sonda flessibile introdotta direttamente in gola dalla bocca o dalle coane nasali. Nel 1912 fu inventata la aspirazione endotracheobronchiale.

Se queste erano le complicanze immediate non mancavano quelle tardive come il vomito postcloroformico, la debolezza della sistole cardiaca e il collasso cardiocircolatorio postanestetico.

Le manovre di emergenza che i chirurghi e i cloroformizzatori avevano a disposizione erano la respirazione artificiale in due tempi con il metodo classico di Sylvester, le trazioni ritmiche della lingua secondo Laborde, le iniezioni di farmaci eccitanti (caffeina, stricnina, canfora, ecc.), il titillamento dell'epiglottide sec. Escalier, l'insufflazione dei polmoni nelle asfissie con il metodo bocca a bocca o per mezzo di un catetere introdotto in laringe o mediante tracheotomia che diventava indispensabile quando l'asfissia aveva origini meccaniche. Furono usate anche la insufflazione dei polmoni tramite cannula tracheotomica, la fleboclisi, il massaggio cardiaco interno previa rapidissima formazione del lembo costocartilagineo di Fontan e della pericardiotomia oppure il massaggio cardiaco transdiaframmatico attraverso laparotomia minima (5 cm.) sec. Mauclair con incisione del diaframma o ancora per via laparotomica ampia senza incidere il diaframma sec. il metodo di Lane. Nel 1907 Durante riportò da una revisione di tutta la letteratura mondiale 25 casi di massaggio cardiaco fino allora praticati con risultato nullo in 17, ripristino temporaneo (solo per un minimo di 5 e un massimo di 24 ore) della circolazione e con reviviscenza definitiva in solo 4 pazienti.

L'anestesia generale con **etere solforico** o narcosi eterea ebbe una diffusione più stentata rispetto alla cloroformica nel primo decennio del XX secolo per prendere poi rapidamente il sopravvento su di essa grazie al numero eccezionalmente scarso di arresti cardiocircolatori (che peraltro risultarono sempre secondari ad asfissia) e nonostante la maggiore incidenza di complicanze respiratorie. L'etere solforico, specialmente negli anni in cui veniva commercializzato un prodotto meno puro di quello usato poi negli anni venti e trenta, esercitava una forte azione irritante sulla mucosa bronchiale, causa, a

distanza di 24-48 ore dalla narcosi, di bronchiti acute, di broncopolmoniti e di qualche raro caso di edema polmonare. Venivano usate le maschere napoletane fatte con una vescica animale rivestita di seta nera e contenenti nel fondo spugna o garza imbevuta di etere oppure le maschere di Wanscher e di Grossmann non molto dissimili dalle napoletane. Su queste maschere l'etere veniva somministrato a grandi dosi per la sua enorme volatilità. Naturalmente questo tipo di somministrazione disperdeva una grande quantità di vapori nell'ambiente e quindi fu sostituito dall'uso di maschere di gomma applicate ad un recipiente dosatore regolabile e chiuso come era il caso dell'apparecchio di Ombredanne. Le condizioni essenziali per un buon apparecchio di anestesia eterea erano secondo Juilliard : 1°- che fosse fornito di un rivestimento esterno impermeabile per impedire l'evaporazione dell'etere e 2°- che avesse misure tali da impedire la soffocazione del paziente. Il metodo di somministrazione affermatosi fin dagli ultimi anni dell'Ottocento era quello detto "lento" a dosi graduali. Il decorso della narcosi e il comportamento dei riflessi e della pupilla erano identici a quelli dell'anestesia cloroformica.

L'anestesia generale con **protossido d'azoto** impiegato per la prima volta da Davy nel 1799, nonostante la bassissima mortalità riportata da Hankel che aveva raccolto in tutta la letteratura medica solo 14 casi di morte su 4 milioni di narcosi effettuate in tutto il mondo, era stata pressochè abbandonata da tutti i chirurghi nei primi anni del Novecento per la difficoltà di ottenere il gas allo stato puro, per la necessità di apparecchi speciali e complicati per somministrarlo oppure per impiegarlo liberamente solo in ambienti ad alta pressione atmosferica. Anche la bassa pericolosità di questo gas narcotico era stata praticamente annullata alla fine dell'Ottocento avendo cominciato ad usarlo mescolandolo all'ossigeno. Il protossido d'azoto ricomparirà nelle sale operatorie di tutto il mondo non prima degli anni quaranta del Novecento e, in Italia, con la fine della seconda guerra mondiale allorchè arrivarono dall'America e dall'Inghilterra i primi apparecchi moderni di anestesia dotati di un sistema di circuito chiuso con calce sodata inserita per assorbire l'anidride carbonica dell'espiazione, con dosatori di etere e di altri narcotici liquidi evaporabili e con bombole dei gas narcotici (protossido d'azoto, ciclopropano) e di ossigeno.

Il **bromuro di etile**, liquido volatilissimo, è stato usato con entusiasmo nei primi anni del secolo per la rapidissima induzione che ottiene già alla seconda inspirazione dei suoi vapori e la perdita completa del sensorio ma non della sensibilità né del tono muscolare. Inoltre fin dai primi tempi il suo impiego provocò alcuni casi di morte per paralisi respiratoria e per arresto cardiaco come nei casi illustrati da Mendoza e dal tedesco Kahler. La tecnica di somministrazione di questo narcotico fu dettagliatamente codificata da Hartmann e Bourbon: dopo una decina di inspirazioni la narcosi era completa, la pupilla midriatica e il respiro calmo e regolare. A questo punto bisognava assolutamente cessare la somministrazione del narcotico e permettere la respirazione di aria ambiente mentre veniva praticato l'intervento chirurgico che non doveva durare più di due minuti. Il primo ad usare questo anestetico fu Nunneley e in Francia continuò ad essere impiegato soprattutto dai dentisti ma anche dai chirurghi generali per piccole operazioni ambulatoriali anche quando cominciò ad essere sostituito dai più con il cloruro di etile.

Il **cloruro di etile** già classificato nel 1831 da Nérat e da Lens come sostanza capace di dare una narcosi e confermato in tale proprietà dall'esperienza sperimentale sui cani di Flourens, rimase confinato alla pratica odontoiatrica fino ai primi anni del Novecento, allorchè il grande chirurgo addominalista tedesco von Hacker lo fece entrare autorevolmente nel campo della chirurgia generale. Da allora i vantaggi del cloruro d'etile restarono legati alla rapidità dell'anestesia, all'assenza del periodo di eccitazione e a un risveglio pronto e facile mentre gli svantaggi, analogamente al bromuro di etile, erano – e sono - la mancanza di rilasciamento muscolare, l'azione inibitrice sul respiro, la brevità dell'azione anestetica e quindi l'impossibilità di portare a termine operazioni di lunga

durata. Alla fine degli anni dieci l'entusiasmo per il cloruro di etile era già in netto declino e i chirurghi si accorsero che questo anestetico non avrebbe mai potuto sostituire il cloroformio o l'etere solforico. Da allora rimase confinato allo sfruttamento della forte azione di raffreddamento che la sua immediata evaporazione sulla cute la rende insensibile e pronta ad essere incisa senza che il paziente avverta dolore.

Un altro anestetico volatilissimo è il **pentalio (C₅H₁₀)**. Anche in questo caso l'anestesia si induceva in 90 secondi ma non era profonda e durava pochissimo. Gli autori tedeschi che nei primi anni del secolo XX ne hanno fatto esperienza si trovarono divisi nel giudicarne l'innocuità: Kleindienst e altri lo dichiararono innocuo mentre Brener constatò alcuni casi di sincope accompagnati da midriasi. In seguito ci furono diversi casi di morte e il pentalio fu definitivamente abbandonato.

Il **diclorometano** o bichloruro di metilene usato al posto del cloroformio da Le Fort e da Spencer Wells aveva qualità anestetiche simili a quelle del cloroformio con il vantaggio della maggiore rapidità d'induzione e l'assenza di disturbi postanestesia ma l'alta percentuale di mortalità lo fece abbandonare già nei primi anni del Novecento.

La **scopolamina**, estratta per la prima volta dalla *Scopolia japonica* nel 1890 dal tedesco Schmidt, fu utilizzata soprattutto sotto forma di bromidrato. Era una sostanza che deprimeva il centro respiratorio e paralizzava l'azione inibitrice del vago con conseguente rallentamento della frequenza respiratoria e cardiaca; aveva forte proprietà vasodilatatrice e provocava midriasi dando un sonno profondo qualche volta accompagnato da delirio. Il tedesco Scheiderlin fu il primo ad usarla nel 1900 come anestetico generale e dopo di lui molti la usarono come narcotico. In Francia il suo sostenitore più entusiasta e convinto fu il Terrier (1905). In realtà la scopolamina fu sempre usata in associazione ad altri analgesici o narcotici come morfina e/o cloroformio. Il metodo che si impose fu quello di Terrier che usava tre iniezioni di bromidrato di scopolamina e di cloridrato di morfina (rispettivamente 1 mgr e 1 cgr) cominciando un'ora e mezza prima dell'inizio dell'operazione e facendo seguire le altre due somministrazioni a mezz'ora di distanza una dall'altra. Dopo la terza iniezione il sonno di solito era già profondo e l'anestesia sufficiente, il polso pieno, regolare ma frequente (90-120 pulsazioni - minuto), la pupilla dilatata, il tono muscolare attenuato ma ancora presente. Terminata l'operazione il paziente continuava a dormire per altre 5 ore fino ad un massimo di 9 ore di sonno ininterrotto a partire dalla prima iniezione. Gli svantaggi della narcosi da scopolamina con morfina erano la vasodilatazione generale spiccata, la contrattura delle pareti addominali che rendeva impossibile la sua applicazione nelle laparotomie, l'impossibilità di usare questo tipo di narcosi nella chirurgia d'urgenza e nelle malattie del faringe e del laringe, ma soprattutto l'incostanza dell'azione narcotica essendo molto variabile la risposta individuale all'associazione dei due farmaci. Tra i vantaggi furono notate l'assenza di eccitazione e di preoccupazione del paziente per dover affrontare l'atto chirurgico e la lunga durata del sonno (8-10 ore) nonché la persistenza dello stato di analgesia dopo il risveglio accompagnata dall'assenza di fenomeni avversi a carico di circolazione e del respiro.

L'uso di scopolamina associata o meno alla morfina sarà ripreso negli anni quaranta per potenziare l'azione dell'anestesia locale con novocaina, e poi con xilocaina, nelle toracoplastiche e nei pneumotoraci extrapleurici eseguiti su malato con sensorio fortemente obnubilato ma non oscurato del tutto.

I casi di morte segnalati da Blos, Flatau, Israel, Dirk, Ziffer e Witzel, anche se non sicuramente imputabili totalmente all'effetto della scopolamina fecero sospendere il giudizio sulla sua innocuità e ne frenarono la diffusione d'impiego negli anni successivi alla prima guerra mondiale.

Nel 1921 Daniel e G. Barnet eseguirono la prima anestesia generale iniettando endovena un **barbiturico**: era il "Somnifen", una combinazione dell'acido dietilbarbiturico con l'acido diallilbarbiturico. Era il primo barbiturico ad azione ipnotica capace di indurre un

sonno profondo in maniera dolce e gradevole. Non si trattava di una sostanza anestetica vera e propria in quanto non possedeva azione analgesica ma lo stato di torpore che induceva era tale da consentire l'esecuzione di interventi chirurgici di piccola portata e di breve durata. Seguirono nel 1927 il "pernocton" introdotto da Bumm, nel 1929 l'"amital" sodico da parte dell'americano Zerfas, il "nembutal o pentobarbital" nel 1930 da parte di Volwider e Tabern. Il primo barbiturico endovenoso che rese però popolare l'anestesia endovenosa con i barbiturici fu l'**evipan** introdotto nella pratica clinica da Weese e Scharpff nel 1932. Nell'anno successivo fu usato per la prima volta in Inghilterra (R.Jarman e L.Abel) Nel 1934 presso la clinica Mayo fu usato per la prima volta da John Lundy quello che si sarebbe imposto come il principe incontrastato dei barbiturici endovenosi per anestesia: il **tiopentone** o Pentothal sodico sintetizzato due anni prima da Volwider e Tabern. Il tiopentone fu classificato tra i barbiturici ad azione ultrabreve, dovuta questa al suo rapido accumulo nel tessuto adiposo dell'organismo. L'equilibrio tra plasma e cervello si verifica un minuto dopo l'iniezione endovenosa. Il metabolismo lento del farmaco consentiva un'azione anestetica prolungata. Il suo principale effetto – pericoloso ove non se ne fosse tenuto conto – era ed è quello di deprimere il centro respiratorio che riduce o annulla la risposta del centro stesso all'aumento dell'anidride carbonica nel sangue dovuto all'apnea che interviene dopo l'ultimo sbadiglio fatto dal paziente dopo aver ricevuto la dose. L'apnea da tiopentone che dura tanto più quanto più profonda è l'anestesia obbligò alla **intubazione endotracheale** e alla **insufflazione di ossigeno** nell'albero tracheobronchiale. Una rapida iniezione di una dose alta di tiopentone in un paziente cardiopatico faceva diminuire nettamente la forza contrattile del miocardio con immediata e importante ipotensione. Da qui la assoluta controindicazione all'anestesia con barbiturici e in particolare con il tiopentone nei soggetti in stato ipovolemico o di pre-shock, nei cardiopatici e nei pazienti affetti da asma e/o da ridotta capacità respiratoria. Il tiopentone fu usato ampiamente in associazione con altri anestetici come protossido d'azoto, ciclopropano, etere, trilene e anche anestetici locali. Uno schema anestesilogico classico per interventi chirurgici di lunga durata che fu molto, anche se non universalmente, applicato, tra il 1945 e gli anni 1955-60, fu quello dell'induzione con dose unica di pentothal e immediata intubazione oro-laringo-tracheale, mantenimento in circuito chiuso con protossido+ossigeno oppure etere+ossigeno e rilassamento muscolare con curaro, risveglio con prostigmina per risolvere l'azione paralizzante del curaro e piccole dosi di anidride carbonica se necessario per eccitare il centro respiratorio. Già nel 1963 Max Sadove, anestesista dell'Università dell'Illinois, scriveva che i barbiturici endovenosi *"vengono somministrati principalmente per l'induzione o come supporto ad un'anestesia con protossido d'azoto, consistendo il loro reale vantaggio nel fatto che nel postoperatorio non si verificano né nausea né vomito"*.

Oltre al tiopentone altri barbiturici solubili sono stati anche usati negli anni trenta e quaranta come il butalital dall'effetto meno durevole del tiopentone, l'esobarbital (Evipan) dall'azione meno depressiva sulla circolazione e sul respiro, il tialbarbitone (Kemithal) studiato in Inghilterra nel 1938 da Carrington ma entrato in uso negli ospedali inglesi solo nel 1946, dotato di minore effetto depressivo sul centro respiratorio rispetto al tiopentone, il Secobarbital (Seconal Sodico) di azione più lunga e meno intensa del tiopentone, usato per indurre il sonno nei blocchi anestetici regionali.

A partire dai primi anni trenta del Novecento la scienza e l'arte dell'anestesia ebbe uno sviluppo progressivo e, a tratti, velocissimo. Molte tecniche e farmaci anestetici nuovi passarono dalla sperimentazione animale a quella clinica e da questa all'uso diffuso e consolidato di nuove tecniche, di nuove apparecchiature e di nuovi schemi e metodi di conduzione di un'anestesia. Contemporaneamente si verificò una progressiva specializzazione e valorizzazione della figura dell'anestesista che, nei maggiori centri

ospedalieri direttamente legati allo sviluppo scientifico dell'arte, fu assunta da medici che vollero completamente dedicarsi a questa nuova professione.

L'**anestesista** divenne un farmacofisiologo pronto a interpretare correttamente e tempestivamente tutte le risposte del paziente modificando la somministrazione dell'anestetico, controllando in continuazione i parametri vitali, somministrando i liquidi nella qualità e quantità necessaria. L'anestesia diventò sempre più anestesiology cioè una scienza a cavallo tra farmacologia, fisiologia e fisiopatologia fino ad acquisire nelle ultime decadi del XX secolo il consistente apporto dovuto alle continue scoperte della biologia molecolare.

In Italia nell'immediato secondo dopoguerra Galeno Ceccarelli a Padova e Achille Mario Dogliotti a Torino, rispettivamente direttori delle cliniche chirurgiche di quelle università, furono i primi a istituire **scuole di perfezionamento in anestesia e rianimazione** e a fondare e dirigere le prime **riviste italiane di anesthesiology**, "*Acta Anesthesiologica*" a Padova e "*Minerva Anesthesiologica*" a Torino..

Un miglioramento sostanziale, intervenuto negli anni trenta e quaranta, va identificato nella cosiddetta "*premedicazione*": questa diventò la prima prerogativa dell'opera dell'anestesista che nella visita preoperatoria cominciò a prescrivere la somministrazione di un farmaco capace di sedare, conciliare il sonno, attutire il dolore. In ordine cronologico i primi farmaci usati per la premedicazione furono la morfina o un suo sostituto accoppiati ad atropina o a scopolamina. La morfina cedette poi il posto alla meperidina. Si trattava di premedicazioni piuttosto "pesanti". Nel corso degli anni cinquanta i narcotici furono progressivamente ridotti nel dosaggio o sostituiti da barbiturici e negli anni sessanta si passò alla associazione di meperidina e prometazina ma non furono mai del tutto abbandonate le vecchie associazioni di atropina e scopolamina molto utili nel rendere minime le secrezioni del tratto orofaringeo e, in linea generale, per i vantaggi procurati dalla loro azione vagolitica.

Nell'immediato secondo dopoguerra anche nel continente europeo si cominciò ad usare gli apparecchi di anestesia – i primi di costruzione americana o inglese – che permettevano di controllare la concentrazione dell'anestetico in atmosfera di ossigeno puro. I metodi consentiti da queste apparecchiature erano quattro: 1- metodo *chiuso* in cui l'anidride carbonica dell'esprio non veniva rimossa dal circuito mentre l'anestetico e l'ossigeno venivano inalati da un pallone di gomma attraverso una maschera collegata alle bombole di erogazione dei gas e tenuta ben aderente alla faccia del paziente. Dato il rapido accumularsi del CO₂ nel sangue del paziente questo metodo era applicabile solo per periodi molto brevi e fu presto abbandonato 2- metodo *semichiuso*, sempre con pallone e maschera ma in questo caso il flusso dei gas veniva mantenuto ad una frequenza tale da eliminare la maggior parte del CO₂ dell'esprio attraverso una valvola di uscita dal circuito. Si doveva porre molta attenzione per non consentire un eccessivo accumulo in circuito del CO₂. 3- metodo *aperto*: una valvola consentiva l'uscita di tutto il CO₂ espirato ma si perdeva anche l'anestetico in grande quantità. 4- metodo con *assorbimento del CO₂* dove il circuito era perfettamente chiuso ma tutta la CO₂ veniva assorbita da un canestro contenente calce sodata che veniva cambiata quando dava segni di esaurimento (calore del canestro metallico o viraggio da colore bianco a rosa carico o azzurro della calce sodata nei canestri trasparenti). Di questo metodo esistevano due tipi : a) nel sistema detto "*to and from*" ossia "*va e vieni*" il canestro era inserito tra maschera e pallone gonfiabile e il respiro andava e veniva dal pallone attraversando due volte la calce sodata (apparecchio di Waters) b) nel sistema detto "*circle filter*" un gioco di valvole faceva entrare l'aria espirata nella calce sodata e da questa al pallone, poi l'aria depurata dal CO₂ e raccolta nel pallone arrivava al paziente senza passare più attraverso la calce sodata ma arricchendosi prima di arrivare alla bocca dei gas erogati dalle bombole. Negli anni cinquanta rimasero in uso solo

il sistema “va e vieni” limitato però alle autoambulanze e al pronto soccorso e il sistema “circle filter” che divenne quello usuale di tutti gli apparecchi di anestesia presenti nelle sale operatorie di tutto il mondo. Gli apparecchi del sistema circle filter o circolare importati in Europa nel 1945 per la prima volta erano quelli dei modelli McKesson, Boyle Absorber Mark-II, Airmed, Mushin-coxeter e M.I.E. tutti entrati in commercio in USA, in Inghilterra e Canada dal 1941 in poi. In Italia i primi apparecchi d’anestesia di tipo circolare furono quelli della Saccab e della Socsil entrati in produzione verso il 1950.

La **respirazione controllata** inventata da Guedel e Trewiek nel 1934, ma applicata per la prima volta all’uomo da Waters nel 1936, consisteva in un aumento rapido della concentrazione di etere associata a iperventilazione tramite pallone respiratorio a partire dal III stadio d’anestesia, 2° piano. Si faceva innalzare così la soglia del centro respiratorio abbassando contemporaneamente il tasso ematico di CO₂. Nel giro di 4 minuti interveniva l’apnea detta “apnea da etere”. Questa apnea molto impiegata anche con il ciclopropano, fu ottenuta verso gli anni sessanta semplicemente con l’impiego di un miorilassante. Brevi periodi di apnea furono molto usati negli anni quaranta e cinquanta e primi anni sessanta per eseguire esami radiologici intraoperatori come colangiografie o pielografie e altri.

Nella **respirazione assistita** si potenzia l’inspirio premendo sul pallore respiratorio all’inizio dell’inspirazione spontanea del paziente anestetizzato.

La **respirazione a pressione positiva intermittente** è l’associazione di una respirazione controllata con quella assistita. Si tratta di metodi che lentamente hanno perduto verso la fine del secolo la loro importanza con l’entrata in uso dei respiratori meccanici.

Il **ciclopropano**, sintetizzato per la prima volta ancora nel 1882 da von Freud fu riscoperto per le sue proprietà anestetiche solo nel 1929 da G.Lucus e V.Henderson a Toronto. Il primo a farne un uso clinico fu Waters nel 1930 ma ne comunicò i risultati ottenuti nella pratica anestesiológica solo nel 1934 insieme ai suoi collaboratori. Questo gas, che alle concentrazioni usate in anestesia, è molto esplosivo, é assolutamente controindicato in operazioni nelle quali è previsto l’uso della diatermia o del termocauterio perché anche se il circuito è del tipo “a perfetta tenuta”, ciò non si verifica mai quando si usa la respirazione controllata a pressione positiva (Lee, 1963). L’impiego sempre più diffuso di elettrobisturi nella stragrande maggioranza degli interventi chirurgici, anche di minima portata, ha fatto tramontare definitivamente l’impiego di questo ottimo ed efficace anestetico che nell’America del Nord fu ampiamente usato tra 1934 e 1960. Non ci soffermeremo perciò su questo argomento che in quel trentennio diede spunto ad abbondante letteratura nella quale vennero espresse opinioni spesso contrastanti.

Nel 1956 fu usato per la prima volta a Manchester da M.Johnston il **fluotano** (halothane), un anestetico liquido volatile più potente dell’etere di 4 a 5 volte e di 1,5 volte più del cloroformio. Non è esplosivo e non irrita le vie aeree. Per erogarlo l’apparecchio di anestesia deve essere dotato di apposito vaporizzatore che consente anche la continua lettura della concentrazione erogata. Adattissimo per indurre un’anestesia generale in concentrazioni del 2-4%, la mantiene bene con concentrazioni dimezzate. All’inizio furono segnalati casi di morte da sovradosaggio. Il fluotano è un depressore respiratorio e del sistema nervoso autonomo, rafforza lievemente l’azione della d-tubocurarina; ad alte concentrazioni provoca aritmie cardiache, deprime la forza contrattile del miocardio con conseguente ipotensione. Questa è sempre presente in gradi limitati anche quando viene somministrato a bassa concentrazione. Generalmente viene osservata bradicardia facilmente controllabile con atropina. L’impiego di basse concentrazioni, il mantenimento di una efficiente ventilazione polmonare in atmosfera di O₂ almeno al 50%, l’uso, se necessario della respirazione assistita, ha consentito al fluotano di diventare rapidamente l’anestetico di scelta della maggior parte degli anestesisti nella anestesia per inalazione a partire dai primi anni sessanta. Si tratta infatti di un anestetico che si è dimostrato privo di

tossicità a basse dosi e di rapida escrezione dagli alveoli polmonari. L'unica controindicazione è data dall'esistenza di una importante malattia del miocardio. L'azione ipotensiva, che si verifica sempre, non è mai tale da far scendere la pressione arteriosa al di sotto di 100 mm di Hg nell'individuo normoteso, però può risultare nettamente potenziata dal contemporaneo uso di curaro naturale e/o di dosi eccessive di barbiturici. Nel 1961 sulla rivista *"Der Chirurg"* K.Flintsch anestesista dell'ospedale bavarese di Weissenberg riferiva su 310 narcosi con fluotano condotte a partire da 13 mesi prima e concludeva che non aveva dovuto lamentare alcun incidente, che lo stadio di eccitazione era di durata molto breve, il risveglio immediato con rari episodi di vomito: i pazienti avevano riportato una sensazione *"particolarmente piacevole"* per il sottile odore dei vapori e per l'assenza di irritazione delle mucose. L'A. concludeva che *"sulla base della propria esperienza riteneva la narcosi con fluotano quella pressoché ideale"*.

Un altro anestetico a base di fluoruro, non infiammabile e non esplosivo, è il **Metossifluorano** (Penthrane) studiato e proposto nel 1958 da Artusio e van Posnak ma entrato nell'uso clinico solo nel 1961. Questo anestetico dimostrò di essere maggiormente utile nei circuiti semichiusi fornendo un'anestesia facilmente controllabile senza grossi pericoli di sovradosaggio. La sua azione fortemente analgesica e miorilassante ha consentito di mantenere piani di anestesia piuttosto superficiali. L'ipotensione è rara nella fase di risveglio e il grado di tossicità per il miocardio è molto basso. L'unico svantaggio è dato dalla lenta eliminazione del farmaco per cui si tratta di un anestetico non adatto per interventi di breve durata. Nei paesi anglosassoni fu usato ampiamente negli ultimi decenni del Novecento.

Anestesia in Ipotensione Controllata. Si tratta di una tecnica anestesiológica che fu ideata per diminuire le perdite di sangue nel corso di interventi chirurgici quando il paziente era portatore di un gruppo sanguigno raro, quando si voleva evitare che il campo operatorio venisse oscurato dal sanguinamento in operazioni particolari oppure quando l'operazione programmata avrebbe comportato sicuramente una importante perdita di sangue (tumori vascolari del SNC, gozzi vascolari, tumori ipervascolarizzati del retroperitoneo e altre patologie di questo tipo). Dopo l'abbandono del salasso venoso, di quello arterioso, dell'anestesia spinale totale e del blocco extradurale alto l'ipotensione controllata fu ottenuta con i **ganglioplegici**. Le prime sostanze usate di questa famiglia furono nello stesso anno 1949 il pentametonio da parte di Organe e collaboratori e l'esametonio, quest'ultimo più usato sotto forma di joduro (hexathide) o di tartrato (vegolysin-T o esonium o esotensyl) perché la sua azione si dimostrò più costante rispetto a quella del pentametonio. Questi farmaci bloccano la trasmissione degli stimoli pregangliari ai nervi postgangliari. Tuttavia la imprevedibilità degli effetti di questi farmaci e quindi la difficoltà a controllarli li fece ben presto abbandonare a favore del **Trimetophan** (arfonad) descritto da Randall e coll. nel 1949 che, nonostante certi svantaggi legati alla necessità di associarvi talora farmaci supplementari, fu l'agente ipotensivo più usato intorno ai primi anni sessanta. Controindicazioni assolute erano le malattie aterosclerotiche del cervello e delle coronarie, nonché l'impossibilità da parte dell'anestesista di monitorare la circolazione e l'attività encefalica. L'ipotensione doveva comportare una caduta di 60-70 mm. Hg. Il Trofenio (cloruro di fenactropinio) entrò nella pratica anestesiológica nel 1957 ad opera di J.Gillies e K. Spencer in Inghilterra. E' un ganglioplegico dieci volte più potente dell'esametonio, potenzia l'azione della succinilcolina e suscita resistenza alla d.tubocurarina.

I primi controlli sulle percentuali di mortalità e di complicanze furono condotti da L.Hampton e D.Little già nel 1953 su 23.930 casi di anestesia in ipotermia eseguiti in Inghilterra, Irlanda e USA: le complicanze furono 1 ogni 31 casi e le morti una ogni 291 operati. Una successiva revisione condotta sul periodo 1958-1963 rivelò 1 caso di morte

ogni 117 operati (113 decessi su 13.264 cai) e il 3% di questi decessi avvenne nel corso dell'intervento chirurgico. Le complicanze più frequenti furono emorragie, risveglio ritardato, disturbi visivi, oliguria e anuria. La mortalità da epatite conseguente a trasfusione di sangue infetto fu di 1 caso su 1000 pazienti, molto inferiore a quella dovuta ad anestesia con ipotensione.

Nel 1965 E.Daw e collaboratori della Mayo Clinic facendo propria un'affermazione di J.Ditzler, il quale l'anno precedente aveva rivisto tutta la letteratura americana sull'argomento, scrivevano che *“l'indicazione principale per indurre un'ipotensione controllata è attualmente quella di facilitare l'opera dei chirurghi”*. Secondo questi autori l'ipotensione controllata doveva essere riservata alle operazioni endocraniche e cardiovascolari, alla chirurgia di svuotamenti linfatici radicali di testa e collo e alla mastectomia radicale; una tecnica prudente e molto accurata sotto monitoraggio dei valori vitali doveva ridurre al minimo le percentuali di complicanze e di mortalità. Concludevano affermando che, poiché l'ipotensione controllata è di grande vantaggio per la chirurgia, essa ha un posto ben definito nella pratica anestesilogica.

Nel 1975 M.Edwards e D.Fleming del servizio centrale di anestesia dell'università di Philadelphia concludevano a favore dell'ipotensione controllata ottenuta con nitroprussiato di sodio o camsilato di trimetophan che, essendo agenti ad azione breve, sono più facilmente controllabili e sottolineavano l'importanza di una accurata preparazione, di un monitoraggio molto stretto di pressione arteriosa, e.e.g., e.c.g., tensioni arteriose dei gas e di un controllo molto frequente degli operati nel postoperatorio.

Verso la fine del secolo l'ipotensione controllata era rimasta un'opzione utile ai neurochirurghi di fronte a tumori vascolari (angiomi) del SNC. Negli anni ottanta l'anestesia con ipotensione controllata aveva ormai perduto la maggior parte delle sue indicazioni essendosi diffuse nuove apparecchiature per l'immediato ricupero del sangue nel corso di interventi in cui le perdite ematiche erano facilmente prevedibili in vari ambiti della chirurgia generale e specialistica (ortopedia).

Ipotermia in Anestesia. Dopo le ricerche sugli effetti dell'ipotermia sulla fisiologia del corpo umano iniziati da Bigelow e dai suoi collaboratori di Toronto nel 1950, i primi a diffondere l'uso in clinica dell'ipotermia in anestesia furono nel 1953 Swan e i suoi collaboratori dell'università di Denver. Le tecniche usate per indurre l'ipotermia furono il raffreddamento del sangue tramite uno scambiatore di calore (macchina cuore-polmoni), il raffreddamento di superficie ottenuto con lenzuola o materassini molto freddi o con immersione in acqua portata a temperatura di ghiaccio fondente, il raffreddamento cavitario dello stomaco o del cavo pleurico tramite sondino a doppio lume che inietta e aspira acqua sui 3°C e il raffreddamento del cuore con il ghiaccio immesso nel sacco pericardico fino ad ottenere l'arresto cardiaco in condizioni di circolazione extracorporea.

In genere l'induzione dell'ipotermia richiedeva che l'anestesista avesse provveduto a deprimere il centro termoregolatore. Man mano che la temperatura corporea scendeva si osservava una diminuzione della pressione arteriosa, un rallentamento del polso, del respiro e del metabolismo che si riduceva a valori minimi intorno ai 15°C. La diminuzione del metabolismo procedeva più velocemente di quella del consumo di O₂ da parte del SNC. Fu definita la seguente scala dei valori di ipotermia: “leggera” quando la perdita di temperatura era di due o tre gradi, “moderata” quando si fermava tra i 32°C e i 28°C, “spinta” o “profonda” quando l'ipotermia arrivava a 16°-15°C. Intorno ai 25°-26°C era massima la possibilità che si verificasse fibrillazione ventricolare quale segno di imminente arresto cardiaco, fenomeno che fu messo in relazione con l'aumento della calcemia.

Le alterazioni elettrocardiografiche cominciavano a comparire quando la temperatura endoesofagea scendeva sotto i 28°C. Nella esecuzione di interventi neurochirurgici che

richiedevano un'ischemia non superiore ai 10 minuti primi si impiegava un'ipotermia leggera (sopra i 30°C), quando si trattava di eseguire un intervento dentro le cavità cardiache di una durata non superiore ai 5' (commissurotomia della polmonare o della valvola aortica) si impiegava un'ipotermia moderata. Il raffreddamento extracorporeo fu usato negli ultimi anni cinquanta e primi anni sessanta per i lunghi interventi a carico del cuore e dei grossi vasi, ben presto sostituito però dall'applicazione di ghiaccio nel pericardio che, ad intervento cardiaco finito, era seguita da perfusione del sacco pericardico con liquido caldo e da defibrillazione sotto vista a pericardio aperto (Dubost 1962).

Va ricordato anche che nel 1960 Gordon pubblicò una serie di interventi cardiovascolari in ipotensione profonda senza nemmeno impiegare la circolazione extracorporea.

Il miglioramento delle tecniche chirurgiche e anestesilogiche ha fatto rapidamente perdere importanza pratica a tutti i metodi di ipotermia le cui indicazioni verso la fine del secolo rimanevano quelle del trattamento dell'iperpiressia secondaria a interventi sull'asse cerebrospinale, delle gravi crisi tireotossiche e dell'iperpiressia residua a danni cerebrali da ipossia.

Negli ultimi anni cinquanta e primi anni sessanta incontrò molto favore in tutti i paesi la cosiddetta **neuroleptoanalgesia** ottenuta con l'impiego contemporaneo di un agente neurolettico, il diidrobenzoperidolo (Droperidol o Sintodian) che è un derivato naturale o sintetico dell'oppio, e di un forte analgesico, il citrato di fentanile (Fentanest). Quest'ultimo si dimostrò molto utile anche come premedicazione. La neuroleptoanalgesia diventava una neuroleptoanestesia aggiungendo l'inalazione di protossido d'azoto durante o dopo la somministrazione della composizione neurolettica. Sia il droperidolo che il fentanest sono dei potenziali ipotensivi e il rafforzamento da essi provocato dell'azione parasimpaticomimetica può causare bradicardia. Inoltre ambedue i farmaci provocano depressione respiratoria e non possiedono alcun effetto rilassante sulla muscolatura. Per questi motivi fu ben presto accertato che bisognava astenersi dall'aggiungere nel mantenimento dell'anestesia barbiturici o altri analgesici e sedativi e che, nei casi in cui si rendeva necessario il rilasciamento completo della muscolatura, era indispensabile ricorrere ai miorilassanti. Nel 1975 T.J.Conahan III dell'università di Philadelphia, nel ricordare che questo tipo di anestesia è nel contempo una premedicazione molto forte, scriveva che *“la neuroleptoanestesia offre all'anestesia generale una tecnica potente, non epatotossica e priva di pericoli d'esplosione ma i farmaci impiegati sono molto efficaci e possono causare una importante depressione del respiro e della circolazione sanguigna per cui si deve sottolineare l'individualizzazione del dosaggio e l'attenta sorveglianza che l'anestesista deve al suo paziente”*

Fu sempre nello stesso periodo, cioè alla fine degli anni 50, che entrò in uso clinico, ed ebbe immediato successo, il **cloridrato di succinilcolina**, rilassante muscolare ideale perché privo di effetti secondari fastidiosi e di facile somministrazione e dosaggio (iniezioni frazionate, infusione goccia a goccia di soluzione fisiologica addizionata di dosi variabili di Succinilcolina). Il rilassamento muscolare risultò ideale e facilmente regolabile da parte dell'anestesista.

Anestesia lombare o subaracnoidea (metodo di Bier – 1899)

Questa anestesia delle radici spinali cominciò con l'iniezione nello speco vertebrale tra 4° e 5° vertebra lombare di cocaina con una siringa sulla quale era montato un ago lungo 8 cm. e di diametro esterno pari a 1 mm. L'analgesia completa, che permetteva di iniziare l'atto operatorio sul territorio anestetizzato (pelvi e arti inferiori) dopo meno di 10 minuti, durava in media un'ora o un'ora e mezza consentendo al paziente di mantenere il suo stato di coscienza e di conversare con l'operatore nel corso dell'intervento.

Furono lamentati incidenti immediati e tardivi. Tra i primi furono descritti angoscia, senso di soffocamento, tachipnea, tremori degli arti inferiori, tachicardia e ipotensione marcata, aritmie, midriasi, pallore e anche esiti mortali. Tra gli incidenti tardivi furono descritti delirio e cefalea fortissima tra la 2° e la 5° giornata, rachialgia, iperpiressia fino a 41° preceduta da brivido di durata massima di 48 ore responsabile di un quadro clinico che fu definito “meningite asettica da cocaina”. Questi incidenti furono la vera causa dell’abbandono progressivo della cocaina a favore della stovaina, molto meno tossica e di potere analgesico nettamente maggiore. Fu Chaput a introdurla nella pratica anestesiológica nel 1904 e nel giro di due anni questa sostanza (cloridrato di amileina α e β di Ladenburg) occupò il primo posto tra gli anestetici locali fino a sostituire completamente la cocaina e la tropococaina (un estratto di varietà di coca prodotto nell’isola di Giava). Le soluzioni di stovaina impiegate nel 1907 nella clinica chirurgica dell’università di Roma erano quelle al 5% e, nei casi in cui si voleva ottenere un’anestesia più prolungata, quella al 10% (Durante e Leotta). A parte qualche caso di perdita di feci e di sudore profuso durante il periodo di anestesia della durata da mezz’ora a un’ora e mezza, non furono più descritti incidenti gravi immediati con la stessa frequenza di quelli osservati dopo rachianestesia con cocaina.

Si imparò a prevenire la maggior parte degli incidenti tardivi obbligando il paziente a mantenere la posizione orizzontale sia durante l’atto operatorio che per le 24 ore successive e si prese a curare i gravi disturbi da anemia cerebrale legati al forte potere vasocostrittivo della cocaina facendo tenere al paziente la testa abbassata e facendogli inalare dopo il periodo analgesico 2 - 5 gocce di nitrito d’amile. I farmaci usati al posto della cocaina - nell’ordine cronologico stovaina, novocaina, pantocaina, nupercaina, meticaina, xilocaina, esilcaina e bupivacaina - diminuirono viepiù la frequenza delle complicanze maggiori man mano che furono adottate anche altre precauzioni che riguardarono la scelta della premedicazione, dei dosaggi, della posizione da far tenere al paziente subito dopo l’iniezione e della sua durata, del ricorso a tecniche particolari (nupercaina iperbarica per spinale bassa, media o alta, nupercaina ipobarica con la tecnica di Howard Jones o con altre tecniche come quelle di Lundy, di Sebrecht, di Lake, ecc.).

Dell’ipotensione da anestesia lombare furono date diverse spiegazioni come dilatazione improvvisa dell’area splancnica, diminuzione di gittata cardiaca da ridotto ritorno venoso al cuore, dilatazione capillare postarteriolare da paralisi delle fibre vasocostrittrici, paralisi dei nervi splancnici, ischemia e ipossia dei centri vitali, assorbimento rapido del farmaco nel circolo generale. Comunque la sorveglianza dell’andamento della pressione arteriosa nel corso di una anestesia subaracnoidea indipendentemente dal farmaco usato divenne ben presto una misura obbligatoria e si imparò a ricorrere all’uso dei vasopressori come efedrina, noradrenalina, metanfetamina, ecc. Per la cefalea che fu tra le complicanze più frequenti, fastidiose e durature dell’anestesia lombare, il trattamento curativo dimostrò di essere legato ai valori di pressione del liquor: in caso di ipertensione la sottrazione di liquor e la fleboclisi di 50-200 ml di una soluzione al 50% di glucosio o anche la somministrazione di semplici analgesici si sono dimostrate misure più che sufficienti; in caso di ipotensione - e questa fu l’evenienza più frequente quando ancora non erano entrati in uso aghi da puntura lombare ultrasottili con conseguente facile perdita di liquor dal pertugio lasciato dall’ago nella dura - diedero buoni risultati l’iniezione ripetuta ogni 12 e 24 ore di tiamina (vitamina B1) in dosi tra 5 e 25 mg., oppure 100 mg di acido nicotinico in 500 ml di soluzione fisiologica somministrati endovena tre volte al giorno. In alcuni casi di arresto respiratorio si ottenne il ripristino della respirazione spontanea dopo aver praticato la respirazione artificiale con tutte le modalità possibili fino a cessazione totale dell’effetto dell’anestetico. Quando il blocco anestetico aveva interessato le radici dei nervi frenici il paziente perdeva la facoltà di parlare a voce alta e poteva solo bisbigliare; in questi casi fu sufficiente somministrare ossigeno.

Anestesia extradurale o epidurale.

E' il blocco delle radici nervose tra la dura e lo spazio vertebrale che provoca paralisi flaccida dei muscoli e analgesia completa. Fu introdotta da Corning in campo sperimentale nel 1901 ma in campo clinico da Pagés nel 1921 e da Dogliotti nel 1931. Fu diffusa in Inghilterra nella seconda metà del Novecento da Massey Dawkins e divenne uno dei metodi anestesiológicos più correnti per tutta la chirurgia del basso addome e degli arti inferiori, soprattutto nelle operazioni comportanti inserzione di protesi articolari, dopo l'inizio degli anni settanta.

Le soluzioni anestetiche locali usate furono quelle di nupercaina, xilocaina, novocaina e mepivucaina. I metodi di localizzazione dello spazio extradurale suggeriti e inventati allo scopo di assicurarsi che la soluzione viene effettivamente iniettata nello spazio peridurale furono molti (indicatore con palloncino di gomma di MacIntosh, che si sgonfia quando la punta dell'ago ha raggiunto lo spazio extradurale, l'ago a molla dello stesso autore, la siringa di Iklè con meccanismo a molla, ecc.) ma niente di tutto questo si è dimostrato superiore alla sensibilità dell'anestesista che impara presto a riconoscere l'improvvisa mancanza di resistenza dell'ago poco dopo aver oltrepassato il legamento interspinoso e l'altrettanto improvvisa facilità di iniettare una piccola quantità di anestetico o un po' d'aria nello spazio epidurale appena raggiunto. L'ottenimento di una completa analgesia richiede tempi più lunghi rispetto alla rachianestesia e i vantaggi rispetto a questa furono ben presto apprezzati dagli anestesisti del secondo dopoguerra: assenza di cefalea postoperatoria, prolungata analgesia postoperatoria (oltre 6-8 ore), minore ipotensione,. Con una sola iniezione si provoca analgesia, rilasciamento muscolare, ischemia. Questi vantaggi hanno portato Tuohy a inventare un apposito ago attraverso il quale inserire un cateterino orientabile verso l'alto o verso il basso per mantenere una iniezione continua di anestetico (xilocaina all'1,5% 10-20 ml per prostatectomie, 25-40 ml per isterectomie, 25-50 ml per operazioni sull'alto addome.ecc.)

Anestesia Locale per infiltrazione e per applicazione topica

Nei primi decenni del Novecento era già abbandonata del tutto la vecchia anestesia degli arti inferiori con il compressore di coscia di J.Moore e così pure le anestesi per raffreddamento locale con neve, ghiaccio pestato e cloruro di sodio mentre si faceva gran uso, per piccole e rapide operazioni sui tegumenti, di etere tramite il polverizzatore di Richardson, oppure di cloruro di metile ma soprattutto di cloruro di etile che restò in uso fino alla seconda metà del secolo XX. Scarsa diffusione ebbero le miscele di cloruro di etile e di cloruro di metile inventate da Joubert con il nome di *Coryl* e da Bengue con il nome commerciale di *Anestile*.

Il **trattamento topico** sulle mucose del naso, della bocca, del faringe e dalle congiuntive come pure della vulva e dell'ano fu praticato dapprima con le pennellature o le applicazioni di tamponi di cocaina all'1% ripetute tre o quattro volte oppure di cocaina al 10% quando si voleva ottenere un'anestesia più profonda e duratura. L'attesa prima di intervenire chirurgicamente variava da 5 a 10 minuti primi. In oculistica furono impiegati per molti anni colliri a base di cocaina per interventi sulla cornea e sulla sclerotica.

Nella seconda metà del secolo si diffusero sempre più gli spray di anestetico locale (xilocaina) che trovarono un uso ancor maggiore nelle tecniche di endoscopia diagnostica del tratto alto del tubo digerente e dell'albero tracheobronchiale come pure delle coane nasali. Per ottenere una anestesia topica del laringe dopo aver applicato la spatola in sospensione di Killian-Lynch gli anestesisti della Mayo Clinic nel 1965 usavano lo spray di cetacaina che aveva il potere di eliminare in 60 secondi ogni laringospasmo e stridore laringeo, ma in Europa l'anestesia topica universalmente usata per il laringe e la trachea fu comunque quella con lo spray di xilocaina.

Le **infiltrazioni intradermiche** di idroclorato di cocaina allo 0,50% venivano eseguite lungo il progettato tragitto dell'incisione chirurgica della cute non superando una dose massima di cocaina che variava a seconda delle diverse scuole europee di chirurgia: in Germania non più di 5 cgr., in Francia non più di 20 cgr, in Italia non più di 5 cgr dopo un periodo iniziale in cui per amputazioni della mammella o per cistostomie sovrapubiche si arrivò ad usare anche dosi massimali di 20 cgr. In Germania nel 1899 Schleich, che aveva osservato che anche la semplice iniezione intradermica di acqua distillata sterile provocava un discreto grado di anestesia, impiegò diluizioni diverse di cocaina associate a 0,025 cgr di morfina cloridrato scendendo da un massimo di 0,20 cgr. per la cute ad un minimo di 0,01 cgr per i tessuti profondi che sono meno innervati della pelle. Il metodo Schleich ebbe grande diffusione in Germania e negli altri paesi di lingua tedesca ma non incontrò i favori dei chirurghi degli altri paesi europei perché troppo lungo e indaginoso.

L'infiltrazione intradermica di stovaina finì per soppiantare quella con la cocaina per la sua assenza di complicanze. Le dosi adoperate andavano dall'1% allo 0,50% per le iniezioni intradermiche e, nel metodo Schleich, anche fino all'1 per 1000 per l'infiltrazione di tessuti profondi.

Per rendere più intensa e più duratura l'azione anestetizzante diventò pratico aggiungere alle soluzioni di cocaina o di stovaina il cloridrato di adrenalina all'1 per 10.000 se la quantità di anestetico era particolarmente bassa ma anche soluzioni di adrenalina dell'1 per 20000 o 40000.

L'anestetico più usato per infiltrazione (la cosiddetta "*anestesia locale*") fu senz'altro per molti decenni la novocaina, soppiantata negli anni sessanta dalla lidocaina o xilocaina. Va sottolineato che questa pratica veniva effettuata sul tavolo operatorio direttamente dal chirurgo dopo aver disinfettato la cute e delimitato con i telini il campo operatorio seguendo con l'infissione ripetuta dell'ago il tracciato della incisione cutanea programmata. Nel caso di operazioni che venivano a interessare le ossa veniva accuratamente infiltrato il periostio e, nelle aperture degli spazi intercostali, venivano infiltrati i bordi della costa soprastante e di quella sottostante all'incisione.

Anestesia Regionale o Tronculare

La scoperta del metodo di anestesia di conduzione o blocco nervoso viene da alcuni attribuita a Feinberg e Corning (1886 e 1887 rispettivamente) che resero per primi insensibile un territorio dipendente per sensibilità da un determinato nervo iniettando cocaina in stretta vicinanza del decorso del nervo stesso; altri (Alfred Lee) sostengono che furono invece Halsted e Hall, chirurghi newyorchesi, a sperimentare per primi il blocco nervoso. Storicamente è accertato che queste sperimentazioni fecero diventare cocainomane Halsted che poi dovette lottare strenuamente per liberarsi dalla dipendenza da cocaina. La soluzione impiegata era quella di cocaina all'1%.

Verso il 1910 l'uso della cocaina fu abbandonato e le anestesi regionali cominciarono ad essere effettuate con infiltrazioni perineurali dapprima di tropocaina (Giesel, 1891) poi, nel 1904, (Fourné) di stovaina o di novocaina sintetizzata nello stesso anno da Einhorn associando talora l'adrenalina come consigliato da Braun nel 1903.

Di tutti gli anestetici locali entrati nell'uso anestesilogico di blocco regionale o per infiltrazione locale quello che fu il più diffuso in tutta la prima metà del secolo fu la procaina o novocaina che ebbe molti altri nomi commerciali (etocaina, planocaina, neocaina, allocaina, syncaina, kerocaina, servocaina e scurocaina). La novocaina o procaina è il cloridrato di para-amino-benzoil-dietilaminoetanolo, ha una tossicità quattro volte inferiore a quella della cocaina. Nelle anestesi troncolari o regionali veniva usata in soluzione dall'1 al 2%, nell'anestesia per infiltrazione con soluzioni comprese tra lo 0,25 e l'1%. La novocaina dava un'analgesia completa di durata da 45 a 90 minuti.

Nella seconda metà del secolo si impose un nuovo anestetico locale, la xilocaina sintetizzata nel 1943 in Svezia da Lotgren e Lundqvist. La xilocaina è la dietil-amino-2:6-dimetilacetanilide e tra i suoi altri nomi commerciali fu chiamata anche lidocaina e lignocaina. Fu usata sull'uomo ampiamente per la prima volta da Gordh nel 1948. I vantaggi di questo anestetico rispetto alla novocaina furono la maggior durata d'azione analgesica, la maggiore rapidità d'azione e la più vasta diffusione locale. La dose massima che si poteva usare si aggirava sul mezzo grammo di sostanza pura. Per l'anestesia tronculare si usavano soluzioni che andavano dall'1,2 al 1,5% con associazione di adrenalina. Per l'anestesia di superficie delle mucose si usava una soluzione tra il 2 e il 4%, per l'anestesia di infiltrazione una soluzione allo 0,25% con adrenalina. Negli anni settanta la xilocaina fu sostituita dalla bupivacaina (nome commerciale "marcaina") meno tossica della xilocaina.

I farmaci fin qui ricordati nella successione cronologica novocaina – xilocaina – bupivacaina sono quelli che più diffusamente furono usati nel corso del Novecento ma altri ne furono sintetizzati e impiegati nella pratica clinica e tra questi ricorderemo la cloroprocaina di Folds e McNall del 1952, l'epocaina di Ansbro (1952) la cui anestesia durava da 6 a 14 giorni per cui venne usata raramente e con indicazioni molto specifiche e limitate, la nupercaina sintetizzata nel 1929 da Miescher, più tossica della cocaina e della procaina, la pantocaina sintetizzata nel 1928 da Eisleb e che dava analgesie per 2-3 ore con un grado di tossicità niente affatto trascurabile, che però, nonostante alcune gravi complicanze osservate, non ne impedì un uso ampio e prolungato.

I nervi che nella prima metà del Novecento venivano più spesso anestetizzati erano i digitali, i nervi del terzo inferiore dell'avambraccio e della gamba, il nervo ulnare alla doccia olecranica, il grande sciatico, il grande safeno, i rami del plesso cervicale e quelli del trigemino.

Il blocco del ganglio stellato fu eseguito per la prima volta da Lériché e Fontaine nel 1934 per la cura delle vasculopatie cerebrali acute, ma in seguito il suo uso si diffuse nella cura del m. di Raynaud delle dita della mano, dell'iperidrosi e dell'atrofia di Sudeck dell'estremità superiore ma anche per numerose altre malattie del cuore e dei nervi cranici. Fra il 1930 e il 1954 furono descritte almeno sette vie di accesso da altrettanti Autori.

Il blocco anestetico del plesso brachiale praticato per la prima volta nel 1897 a Cleveland da Crile sotto visione diretta ebbe la sua sistematizzazione tecnica per via sopraclaveare nel 1912 da Kelenkampf e per via ascellare nel 1911 da Hirschel. Nel 1962 E.Eriksson e H.Skarby e nel 1965 A.Winnie e V.Collins semplificarono la tecnica del blocco ascellare riducendola ad una unica iniezione di 20-40 ml di anestetico sulla faccia anteriore dell'arteria ascellare dopo avervi appoggiato la punta dell'ago infisso sulla guida del dito in direzione dell'apice dell'ascella fino ad avvertire la pulsazione arteriosa. L'altra strada suggerita da Winnie e collaboratori è quella interscalenica sopraclaveare cercando come punto di repere alla palpazione il corpo della vertebra C6. Questo blocco era ed è indicato per tutti gli interventi chirurgici sull'arto superiore e negli ultimi anni del secolo è stato riscoperto e ampiamente usato essendosi affermata nel contempo la chirurgia specialistica della mano e dei nervi dell'arto superiore.

Il blocco del plesso cervicale, utile per interventi che vengono eseguiti a carico del contenuto della fossa sopraclaveare e per la cura dei diverticoli dell'esofago cervicale può essere fatto per via anteriore sopraclaveare o per via posteriore paravertebrale sec. le tecniche messe a punto da Pitkin nel 1941 e nel 1953. Si trattava di eseguire da tre a quattro iniezioni praticate infiggendo l'ago su punti di repere ossei piuttosto lontani dalla posizione anatomica del plesso. A. Winnie e collaboratori nel 1975 pubblicarono una tecnica semplificata perché ridotta ad una unica iniezione con l'ago infisso tra i due scaleni nella fossa sopraclaveare. Si tratta della stessa tecnica del blocco interscalenico del plesso brachiale ma portando la palpazione a riconoscere il corpo vertebrale di C4. Per reperire

questo punto è sufficiente tirare una linea in direzione laterale a partire dalla cartilagine tiroidea.

L'anestesia tronculare di più nervi intercostali associata ad anestesia locale dei tegumenti fu eseguita per una operazione di toracoplastica per la prima volta in Inghilterra nel 1912 da Morrison Davies. Questo tipo di anestesia per l'esecuzione di una toracoplastica di qualsiasi estensione e di un pneumotorace extrapleurico fu ripresa e ampiamente usata negli anni cinquanta con ottimi risultati anche in Italia (G.Ceccarelli).

Il blocco paravertebrale somatico fu introdotto da Selheim nel 1909 e divulgato nel 1911 da L wen ma si trattava di una tecnica indaginoso e non priva di complicanze a carico di pleura e polmoni nel tratto toracico per cui venne presto abbandonata. Molto utile invece nella cura delle arteriopatie obliteranti dell'arto inferiore e molto diffuso in tutto il mondo chirurgico fu il blocco del simpatico lombare, la cui tecnica di esecuzione fu messa a punto definitivamente da R.Bruce-Smith nel 1951.

Il blocco extradurale sacrale o blocco caudale fu eseguito per la prima volta da Cathelin e Sicard nel 1901 e fu usato in ostetricia nel 1909 da Stoeckel e da L wen. Per assicurare il parto indolore Hingson ed Edwards introdussero nel 1942 la tecnica del blocco caudale continuo. Le sacralgie cosiddette "sine materia" furono trattate efficacemente con il blocco tronculare dei nervi sacrali attraverso i forami posteriori del sacro secondo la tecnica impiegata per la prima volta da Pauchet e L wen nel 1909.

Il blocco del n. grande sciatico   sempre stato eseguito con la tecnica descritta nel 1923 da G.Labat: l'ago viene infisso esattamente tre centimetri sotto il punto di met  strada di una linea tracciata sul malato - in posizione laterale a coscia flessa - tra il gran trocantere e la spina iliaca posterior-superiore

Il blocco del plesso lombosacrale monolaterale secondo la tecnica pubblicata da A.Winnie nel 1975 si effettua infiggendo l'ago nel punto di intersezione di due linee rette, una verticale che parte dalla spina iliaca posterior-superiore e va verso l'alto mantenendosi parallela al decorso delle apofisi spinose su malato coricato in posizione laterale e una orizzontale che unisce le due spine iliache posterior-superiori di destra e di sinistra.

Le novit  e il miglioramento tecnico di questi blocchi regionali che siamo andati descrivendo e che si sono verificate nel corso della seconda met  del Novecento sono sostanzialmente riconducibili a due fattori: l'impiego di una unica iniezione praticata sul punto di elezione e l'impiego di farmaci pi  attivi e meno tossici.

Anestesia con Intubazione della Trachea

La prima descrizione di intubazione tracheale attraverso la bocca o il naso   di C.Kite di Gravesend che ne indic  l'applicazione nelle asfissie da annegamento. Nel 1858 John Snow intub  animali narcotizzati attraverso tracheotomia e nel 1871 Trendelenburg fu il primo a impiegare nell'uomo un tubo endotracheale provvisto di palloncino gonfiabile per bloccare il lume tracheale residuo. Nel 1901 Fritz K hn intub  per via orale la trachea con un tubo di metallo flessibile e fece inalare al paziente l'anestetico attraverso il tubo endotracheale: questa fu la prima anestesia generale con intubazione tracheale. Nel 1907 due chirurghi di Nancy, Barthelemy e Dufor, cloroformizzarono il paziente attraverso un catetere di gomma infilato in trachea sulla guida del dito che teneva abbassata e stirata in avanti la base della lingua. Fin qui i tentativi di alcuni pionieri coraggiosi e intelligenti ma le basi razionali di questo tipo rivoluzionario di anestesia generale furono opera dei fisiologi americani Meltzer e Auer che nel 1909 usarono l'intubazione tracheale doppia, ossia l'inserzione di un catetere per la somministrazione di vapori di narcotico a pressione positiva e di un secondo tubo per la fuoriuscita dell'esprio. Nello stesso anno questa tecnica fu impiegata nell'uomo da Elsberg e nel 1912 in Inghilterra da Kelly a Liverpool.

L'esame endoscopico del tratto laringo-tracheo-bronchiale segu  - a partire dal 1896 - la stessa evoluzione dell'anestesia per intubazione: nel 1896 a Friburgo Killian, il primo

broncoscopista, introdusse la manovra della laringoscopia diretta, nel 1907 Chevalier Jackson pubblicò il metodo dell'intubazione avendo fatto la sua prima broncoscopia nel 1899. Nel 1920 l'inglese Magill cominciò ad impiegare il metodo della duplice intubazione tracheale e nel 1928 pubblicò il suo metodo di intubazione alla cieca della trachea per via nasale con un grosso tubo di gomma. I palloncini gonfiabili applicati intorno al tubo di gomma furono introdotti da Guedel e Waters nello stesso anno. A partire dal laringoscopia di Chevalier Jackson, poi modificato da Magill e ancora negli anni cinquanta da Foregger, questo strumento con la lamina diritta e lunga, montata ad angolo acuto sul manico, fu sottoposto a diverse curvature della lama abbassa-lingua nei laringoscopi di MacIntosh i quali, oltre a permettere una buona visione diretta delle corde vocali, non premevano sull'epiglottide evitando lo spasmo laringeo riflesso da stimolazione della faccia inferiore della stessa. Gli anestesisti della seconda metà del secolo si divisero nel dimostrare simpatia per l'uno o l'altro tipo di lama.

L'intubazione endotracheale è una manovra che richiede o uno stato di narcosi già istituito o un'analgesia topica preliminare su paziente sveglio. Quest'ultima, ancora nel 1959, veniva praticata da Lee facendo inalare le goccioline della soluzione di cocaina al 4% con l'atomizzatore di McIntosh ma negli anni seguenti la preferenza degli anestesisti si rivolse agli spray di xilocaina al 2-4% o di ametocaina all'1%. Nel caso invece di paziente addormentato con pentothal o con vapori di allotano l'anestesista sceglieva il momento migliore per intubare la trachea in base all'esperienza personale e ai dati obiettivi sul grado di anestesia raggiunto.

Nella tecnica di intubazione nasale alla cieca l'anestesista su paziente sveglio lo invitava ad aspirare tenendo chiusa alternativamente una delle due narici in modo da accertarsi preventivamente sulla pervietà di almeno una delle due, poi spruzzava le narici e le vie respiratorie con una soluzione anestetica locale (cocaina o xilocaina al 4%), quindi anestetizzava il paziente e provocava una iperpnea facendogli inalare per pochi secondi anidride carbonica. Tolta la maschera orofacciale e lubrificata la narice prescelta inseriva in essa il tubo di maggior diametro possibile per attraversare la narice, sollevava leggermente la mandibola, chiudeva la narice controlaterale in modo da controllare che la respirazione avvenisse attraverso il tubo che stava inserendo. Guidato dall'ascolto del rumore fatto dal respiro attivo del paziente, l'anestesista premeva sul laringe per fargli incontrare l'estremità aborale del tubo che stava scendendo dall'orofaringe. La spinta del tubo oltre le corde vocali veniva fatta velocemente nel momento in cui il paziente tratteneva improvvisamente il respiro e tossiva. A questo punto solo se dal tubo, inserito per la sua totale lunghezza, non si apprezzavano rumori respiratori, questo voleva dire che il tubo aveva imboccato l'esofago e la manovra andava ripetuta tenendo presente che un tubo inserito nella narice destra va ad urtare il lato sinistro della glottide e viceversa. Negli anni sessanta la manovra di intubazione per via nasale alla cieca venne riservata a casi particolari e soprattutto ai soggetti affetti da rachide cervicale cifotico e rigido, candidati non ideali per l'intubazione orotracheale sotto controllo della vista. Altri casi in cui sono state descritte difficoltà per la usuale intubazione orotracheale erano quelli di soggetti con collo corto e molto muscoloso e con dentatura completa, di soggetti con mandibola rientrante, con palato lungo e ogivale e bocca stretta e profonda, nelle difficoltà di apertura della mandibola e nelle retrazioni dei tessuti della faccia anteriore del collo da esiti di ustioni di terzo grado guarite in cheloide. In tutti questi casi la soluzione per ottenere una rapida intubazione era quella dell'intubazione per via nasale o quella dell'intubazione orotracheale senza laringoscopia in anestesia profonda. Per facilitare l'intubazione orotracheale furono inventati speciali introduttori ricurvi come quello di Bourne costruito dalla British Oxygen Ltd. o quello di Fritz Kühn.

Anestesia Rettale – Narcosi Basale

L'anestesia rettale già provata per la prima volta nel 1847 a Pietroburgo da Pirogoff e ripresa dal danese Wanscher nel 1882 con impiego dei vapori di etere, fu introdotta da Gwathmey nel 1913 usando l'etere in soluzione oleosa. Nel 1927 Butzengeiger e Eicholtz impiegarono l'avertina e l'anno seguente Rowbotham la paraldeide in soluzione oleosa, l'Avertina è l'alcool tribromoetilico sintetizzato nel 1923 in Germania da Willstaetter e Duisberg

La narcosi basale è sinonimo di una premedicazione profonda che fa perdere lo stato di coscienza.

Sia l'avertina che la paraldeide furono usate con successo per via rettale in soluzione oleosa o in soluzione fisiologica fino alla fine degli anni Cinquanta. Anche il Tiopentone (Pentothal) e l'Evipan (Esobarbital) introdotti come anestetici per via rettale da Weinstein e Adams nel 1939 soprattutto nelle partorienti e nei bambini da sottoporre a tonsillectomia conobbero un impiego limitato negli anni compresi tra 1940 e 1960 e dopo di tale data divennero solo un ricordo storico.

Anestesia Endovenosa

Abbiamo già accennato alla storia di questa tecnica di anestesia a pag.270-271 ma è venuto il momento di completarne qui la trattazione. Anche se già nel 1872, a Bordeaux, Oré iniettò nelle vene di un malato di tetano una dose di cloralio idrato, l'uso dell'anestesia generale per via endovenosa riconosce i suoi iniziatori nei francesi Daniel e G. Barnet che nel 1921 impiegarono il *Somnifen*, una combinazione di due acidi barbiturici, come anestetico endovenoso. La successione storica è la seguente: nel 1927 il tedesco Bumm introdusse il pernocton, nel 1929 negli USA Zervas usò l'amital sodico, nel 1930 Volwiler e Tabern usarono il Nembutal o pentobarbital. Tuttavia l'anestesia generale per via endovenosa divenne popolare in tutto il mondo tra il 1932 e il 1933 con l'introduzione dell'Evipan, barbiturico a rapida azione, da parte di Weese e Scharpff. In Inghilterra i primi ad usarlo nel 1933 furono R. Jarman e L. Abel. Nel 1934 Lundy presso la Clinica Mayo e Waterson a Madison introdussero in anestesia il pentothal sodico sintetizzato due anni prima. Il pentothal entrò in uso in Gran Bretagna nel 1935 e in Europa negli ultimi anni Trenta. In Italia il tiopentone sodico prodotto dalla Farmitalia ebbe il nome di *Farmotal* e fu usato moltissimo negli anni Quaranta.

Le complicazioni generali da tiopentone rilevate e pubblicate da molti AA. erano e sono la depressione respiratoria dovuta a sopradosaggio o ad ostruzione respiratoria sovraglottidea (caduta in dietro della lingua) o da spasmo laringeo, il collasso circolatorio dovuto a vasodilatazione e depressione miocardica per sopradosaggio relativo in soggetti predisposti e che va combattuto immediatamente con insufflazioni di O₂ a pressione positiva intermittente e somministrazione di vasocostrittori, lo spasmo laringeo che può essere risolto al meglio e rapidamente con la succinilcolina ma può comunque richiedere una intubazione orotracheale come ultima risorsa, lo spasmo bronchiale di possibile e più facile insorgenza in soggetti affetti da asma bronchiale, l'allergia cutanea sia come rash scarlattiniforme sia come edema angioneurotico.

Gli studi di farmacologia degli anni settanta e successivi hanno messo a disposizione degli anestesisti altre sostanze inducenti anestesia generale con minori effetti collaterali dei barbiturici endovenosi e con minor numero di controindicazioni per cui alla fine del secolo XX la anestesia generale condotta esclusivamente con *Pentothal* sodico era una pratica del tutto abbandonata.

CHIRURGIA GENERALE

I primi anni del Novecento furono connotati dalla diffusione dei nuovi metodi e mezzi di anestesia, scienza nuova che aveva avuto inizio con le scoperte degli americani O. Wells, W. Morton e C. Jackson negli anni **1844-1846**, dell'antisepsi introdotta da Lister, dell'asepsi scoperta e iniziata da E. von Bergmann durante la guerra franco-prussiana del **1870**, dei perfezionamenti tecnici dell'americano W. Halsted (impiego dei guanti di gomma) e di C. Schimmelbusch (sterilizzazione con autoclave e conservazione dei materiali sterili per la sala operatoria, **1891**). Fu l'applicazione di queste misure che permise il rinnovarsi già negli ultimi 15 anni dell'Ottocento di un grande interesse per la chirurgia e l'emergere di figure storiche di grandi chirurghi come Teodoro Billroth a Vienna, Pean e Farabeuf a Parigi, Durante e Carle in Italia. La fine dell'Ottocento aveva visto anche la pubblicazione dei primi trattati di anatomia chirurgica, di anatomia patologica e di tecnica chirurgica nonché un rinnovato interesse per la chirurgia sperimentale che aveva cominciato a far conoscere meglio i processi di cicatrizzazione e di riparazione mediante sutura delle ferite. Il lettore può trovare più adeguate informazioni su questo periodo nella parte finale del I° volume di questa Storia della Medicina.

Gli **anni di transizione tra XIX e XX secolo** videro un numero rapidamente crescente di giovani medici che si dedicarono alla chirurgia intorno ai primi maestri moderni di questa arte antica. Nacquero così le grandi Scuole di Chirurgia del primo Novecento in Europa e in Nord America. Anche alcune scoperte dei primi anni del nuovo secolo furono determinanti nell'aiutare in modo sostanziale il progresso della chirurgia e il miglioramento dei risultati. Ci limiteremo a citare a questo riguardo la proposta dell'impiego della tintura di jodio per sterilizzare il campo operatorio prima dell'incisione cutanea (A. Grossich, 1902), il bottone metallico per la sutura "automatica" dell'intestino dopo resezione ideato dal caposcuola americano Murphy, i nuovi mezzi di osteosintesi quali il chiodo di Codivilla (1902), il filo d'acciaio per trazione transcheletrica degli arti fratturati ideata da M. Kirschner, le placche e viti di V. Putti e il chiodo di M. Smith-Petersen per le fratture del collo femorale, l'entrata in uso dei primi apparecchi radiologici, la costruzione degli strumenti chirurgici solo con acciaio inossidabile, i nuovi mezzi di illuminazione alimentati dall'energia elettrica e, a breve distanza di tempo, l'ingresso nelle sale operatorie delle lampade scialitiche o "sine umbra", così chiamate perché non proiettavano sul campo operatorio l'ombra delle teste e delle mani dei chirurghi, la scoperta dei gruppi sanguigni (K. Landsteiner, 1901) e i vantaggi della trasfusione di sangue omologo.

Contemporaneamente comparvero nelle riviste specializzate di chirurgia le descrizioni di sempre nuovi interventi chirurgici e dei loro brillanti risultati. Per quanto riguarda l'Italia nel periodo che ha preceduto la I Guerra Mondiale gli ospedali e le case di cura chirurgiche più periferiche cominciarono ad avere i reparti di degenza riservati ai malati chirurgici, una sala operatoria corredata di autoclave e di ebollitore, di speciali mezzi di illuminazione con l'ausilio della massima luce naturale attraverso ampie vetrate che occupavano un'intera parete dell'ambiente, un letto operatorio che poteva assumere posizioni particolari grazie a meccanismi azionati manualmente, bombole di ossigeno, maschere per anestesia ad inalazione (modelli di Esmarch e di Ombredanne) e altro ancora. Naturalmente negli ospedali delle grandi città, in quelli militari e nei padiglioni chirurgici delle cliniche universitarie il numero e la qualità della dotazione strumentale e degli ambienti era più ricca e faceva da modello di aggiornamento tecnico per gli ospedali minori e periferici.

La I° guerra mondiale, con l'enorme bagaglio di esperienza traumatologica maturata negli ospedali da campo, confermò la grande utilità del trattamento antisettico delle ferite e delle fratture esposte con le soluzioni di ipoclorito di sodio (liquido di Dakin). L'applicazione continua sec. Carrel di questo disinfettante – molto meno tossico ed aggressivo di quelli usati in precedenza – fece guarire ferite settiche, secernenti pus e gangrenose che in precedenza comportavano un alto tasso di mortalità da setticemia. Ancora nelle ultime

guerre del Novecento, quelle di Corea e del Vietnam, il liquido di Dakin dimostrò di essere insostituibile. Un'altra novità dovuta all'esperienza bellica del 1914-1918 fu quella della sistemazione dottrinale e terapeutica della patologia dello shock, una condizione di depressione circolatoria e psichica caratterizzato da marcata ipotensione arteriosa, indebolimento della coscienza e sensazione di morte imminente, causata da gravi traumatismi o da forti e improvvise perdite di sangue. Gli studi successivi sui rapporti che corrono tra stato di shock e improvvise e profonde alterazioni del ricambio, sfruttando le osservazioni cliniche e la patologia sperimentale, portarono tra le due guerre alla distinzione di tre cause diverse della sindrome: shock posttraumatico, shock operatorio e shock postemorragico. Contemporaneamente furono pure individuate le relative terapie tra le quali si imposero fin da principio la somministrazione di ossigeno e la trasfusione di sangue. Nel 1922 Jubé a Parigi inventò il primo tipo di siringa per la facile trasfusione diretta di sangue da donatore a ricevente del medesimo gruppo sanguigno. Negli anni seguenti, a causa degli inconvenienti anche gravi dovuti alla trasfusione diretta, si impose la somministrazione di sangue di donatore isogruppo raccolto in precedenza in un flacone di vetro sterile contenente sali anticoagulanti come il citrato di Na e di Mg. Gli eserciti alleati della II guerra mondiale diffusero sui campi di battaglia l'impiego di questo tipo di trasfusione su vastissima scala grazie ai sistemi di conservazione del sangue dei donatori in emoteche refrigerate a temperatura stabile. Negli anni del secondo dopoguerra (1945-1949) tutti i maggiori ospedali europei e americani fecero nascere centri trasfusionali permanenti dando vita nello stesso tempo al formarsi di associazioni volontaristiche di donatori. In detto periodo, oltre alla tipizzazione del gruppo sanguigno, questi centri trasfusionali cominciarono anche a tipizzare la presenza o meno del cosiddetto Fattore Rh (scoperto da A. Wiener nel 1940) nel sangue del ricevente e del donatore onde evitare i danni biologici della somministrazione di un sangue Rh+ ad un soggetto il cui sangue era Rh-.

Come abbiamo già ricordato nel capitolo dedicato all'anestesia, quella del periodo 1900-1920 veniva praticata con criteri di scelta dell'anestetico e di sua somministrazione diversi da chirurgo a chirurgo, basati sostanzialmente sui risultati della esperienza personale. L'anestesia generale, detta anche comunemente "narcosi", veniva praticata nella maggior parte dei casi con somministrazione dei vapori di cloroformio. Il più grave inconveniente di questo tipo di narcosi era dato dalla possibile evenienza di arresto cardiaco, fenomeno che indusse a spostare l'attenzione dei chirurghi verso altri anestetici capaci di dare una narcosi più sicura e accompagnata da ottimo rilasciamento della muscolatura. La scelta si fermò sull'anestesia eterea che divenne il tipo universale di narcosi negli anni trenta prima dell'avvento dell'anestesia generale da barbiturici endovena ad azione breve. Per ulteriore approfondimento in questa materia si rinvia il lettore al capitolo dedicato alla storia dell'Anestesia del secolo XX.

Un altro arricchimento di servizi ausiliari per la chirurgia della seconda metà del Novecento fu quello della Rianimazione espletata in condizioni di assoluta emergenza sia intraoperatoria che postoperatoria. Anche per la rianimazione, come già per l'anestesia, le esperienze belliche fatte dopo il 1939 portarono ad uno sviluppo di tecniche nuove (intubazione endotracheale, respirazione controllata e assistita, massaggio cardiaco interno ed esterno, speciali apparecchi di monitoraggio continuo delle funzioni vitali, ecc.) che formarono la base di una nuova disciplina di cui divennero esperti operatori i medici specializzati in anestesia e rianimazione e in pronto soccorso.

I successi e i grandi progressi della chirurgia del secolo XX furono anche in buona parte dovuti alla scoperta dei chemioterapici e degli antibiotici (vedi capitolo della farmacologia). Infatti, nonostante l'attuazione delle più rigide regole di asepsi e di prevenzione delle infezioni chirurgiche, queste ultime non sono mai scomparse del tutto dalle sale operatorie e dai reparti di degenza dei malati chirurgici. Anche nelle condizioni più ideali di asepsi diversi fattori come l'atto operatorio portato direttamente su potenziali

focolai d'infezione (apertura del lume intestinale, dell'albero tracheobronchiale, di focolai settici), le condizioni delle difese immunitarie dei pazienti operati, la lunga durata di certi interventi, il grado dello stress operatorio, il grado di inquinamento da microrganismi dell'atmosfera della sala operatoria, l'accidentale perdita dell'asepsi si sono rivelati altrettanti fattori favorevoli o direttamente causali di attecchimento di germi patogeni nei pazienti sottoposti ad operazioni chirurgiche. Le infezioni contratte nei reparti di degenza nella trasmissione da malato a malato per deficitaria prevenzione di questo pericolo hanno dimostrato di essere spesso sostenute da germi patogeni resistenti ai più svariati trattamenti antibiotici.

Non ripeteremo quanto già detto nel capitolo della farmacologia a proposito dei progressi terapeutici rappresentati dalle scoperte dei sulfamidici nel 1933, della penicillina negli anni '40, capostipite di un lunghissimo elenco di nuovi antibiotici, degli antimicotici e via dicendo, tutti farmaci che sono stati di utilità enorme nell'assicurare buoni risultati all'attività chirurgica, che, a partire dalla fine degli anni '40, fu affidata alla prevenzione delle infezioni con l'antibioticoterapia preoperatoria e postoperatoria di routine. Soprattutto le operazioni chirurgiche che contemplavano l'inserimento nel corpo del paziente di materiali estranei non riassorbibili come protesi di vario tipo (articolari, vascolari, cardiache e altre) e materiali di sintesi, richiesero assolutamente un'adeguata copertura di farmaci antibiotici a largo spettro sia nel corso dell'atto chirurgico sia nelle sale di medicazione.

La chirurgia traumatologica del secondo dopoguerra ha applicato a vasto raggio le indicazioni ad un adeguato protocollo terapeutico d'urgenza che per la sua tempestività e completezza doveva assicurare i migliori risultati in assoluto e la caduta delle percentuali di complicanze e di mortalità a distanza dal trauma. L'aumento esponenziale in pochi decenni della motorizzazione nella vita civile dei paesi ad alto tenore di sviluppo ha comportato un parallelo aumento dei politraumi con implicazioni emorragiche, cardiorespiratorie e metaboliche tali da richiedere complicati protocolli di diagnosi e terapia urgente plurispecialistica. Fortunatamente il peggioramento numerico e qualitativo della traumatologia in genere, ivi compresa quella degli infortuni sul lavoro, ha coinciso con lo sviluppo di nuove tecniche diagnostiche come l'ecografia, la TAC (Tomografia assiale computerizzata), l'endoscopia digestiva, la laparoscopia e la toracoscopia d'urgenza, che, diffondendosi rapidamente anche negli ospedali periferici, hanno consentito nell'ultimo decennio del secolo XX di salvare un numero progressivamente crescente di vite umane. A questi miglioramenti ha certamente contribuito in modo sostanziale e determinante il più rapido sistema di trasporto (elicotteri) dei politraumatizzati più gravi ai centri maggiori di pronto soccorso.

Già nella prima metà del Novecento la chirurgia generale ha dato sviluppo a diverse specializzazioni chirurgiche che sono andate ad affiancare altre, come l'ostetricia-ginecologia e l'urologia, che in alcune nazioni europee e negli USA si erano già affermate con un loro specifico bagaglio dottrinale e pratico già nelle ultime decadi del XIX secolo. Anche queste specializzazioni però hanno conosciuto nella prima metà del Novecento un ulteriore progresso di conquiste scientifiche, strumentali e pratiche. In Italia negli anni '30 GianMaria Fasiani a Padova e Serra e Valtancoli a Bologna furono i primi a dedicarsi con netta preferenza alla neurochirurgia che negli USA e in Europa aveva mosso i primi passi aprendo le porte a molte speranze. Nei primi anni '40 a Padova Galeno Ceccarelli dette inizio in pieno periodo bellico alla chirurgia di exeresi polmonare con lobectomie e resezioni polmonari atipiche eseguite in anestesia periferica sfruttando il vantaggio offerto da sinfisi pleuriche preesistenti. Vittorio Putti e, dopo di lui, Delitala, direttori dell'Istituto Ortopedico Rizzoli di Bologna, idearono e pubblicarono nuove tecniche per la cura delle malattie dello scheletro rendendo celebre nel mondo medico internazionale la fama del loro

ospedale specializzato e della rivista scientifica “Chirurgia degli Organi di Movimento”. Nell’ambito della campagna nazionale antitubercolare che l’Italia del ventennio fascista (1922-1943) iniziò e sostenne con grande efficacia in quel periodo, si inserì anche la cura chirurgica della tbc ossea e polmonare, quest’ultima basata sulle toracoplastiche, sul pneumotorace extrapleurico e sulle resezioni endoscopiche delle aderenze pleuriche sec. Jacobaeus per ottenere un efficiente collasso del polmone malato.

Gli urologi della prima metà del secolo affinarono i loro mezzi d’indagine e di terapia specialistica con un impiego diffuso di cistoscopi operatori a più canali e dotati del meccanismo deviatore di Albarran che facilitava l’introduzione per via retrograda negli ureteri di cateteri sottili e di pinze da litotripsia e per cattura dei calcoli ureterali con gabbie di vario tipo. Anche la prostatectomia veniva eseguita per la prima volta con una nuova tecnica ideata nel 1901 da Freyer in tempo unico e attuata per via addominale transvescicale.

Gli otorinolaringoiatri aumentarono il loro bagaglio terapeutico cominciando ad eseguire di routine la laringectomia totale per la cura del carcinoma dell’apparato della fonazione, la asportazione dei tumori della parotide con preservazione del nervo facciale e, nelle otomastoiditi, la cura chirurgica dei focolai suppurativi della mastoide. Tra gli interventi chirurgici minori e più diffusi di questa specialità vanno ricordate l’asportazione delle adenoidi, la tonsillectomia, l’estrazione dei calcoli delle ghiandole salivari, l’estirpazione di polipi delle corde vocali, ecc.

I chirurghi addominalisti cominciarono nei primi anni ’30 a curare l’ulcera peptica gastroduodenale con la resezione gastrica tipo Billroth II e in Italia fu forte l’impulso nel diffondere questo intervento da parte della scuola romana (Alessandri e Puccinelli) e di quella veneziana (Davide Giordano) mentre Gino Pieri sosteneva per la cura della stessa malattia la vagotomia tronculare sottodiaframmatica così come proposta per primo da Schiassi.

In campo ostetrico-ginecologico fece ricomparsa il taglio cesareo che tuttavia continuò a stentare a farsi luce in un’atmosfera dottrinale e pratica che riposava sull’ampio uso delle manovre di rivolgimento manuale del feto e sull’applicazione del forcipe. Negli anni ’40, in parallelo e conseguentemente ai progressi tecnici della radiologia, i ginecologi cominciarono ad adottare l’isterosalpingografia per studiare lo stato di pervietà tubarica e la forma della cavità uterina così come gli urologi approfittavano del cateterismo ureterale per eseguire le pielografie dette “ascendenti” o retrograde che davano per la prima volta un quadro esauriente della morfologia dei calici e della pelvi renale.

In poche grandi città andarono formandosi reparti ospedalieri di chirurgia plastica ricostruttiva e accanto alle cattedre universitarie di chirurgia divennero particolarmente vivaci le ricerche di chirurgia sperimentale. La rapida e tumultuosa evoluzione di sempre nuove operazioni chirurgiche in quasi l’intero campo dell’anatomia e della fisiologia umana dette materia e interesse alle ormai numerose riviste specializzate di chirurgia, alcune delle quali già fondate nell’ultimo ventennio dell’Ottocento come le tedesche “Zentralblatt für Chirurgie”, “Langenbecks Archiv für Chirurgie” e “Bruns Beiträge für Chirurgie”. In Francia dominò in questo settore il notissimo “Journal de Chirurgie” molto diffuso anche all’estero, in Inghilterra il “British Journal of Surgery” e il “Lancet”, negli USA il “Surgical Clinics of North America”.

Negli anni ’20 i maestri di chirurgia di tutto il mondo fondarono una loro associazione, la “Società Internationale de Chirurgie” con sede a Bruxelles e organizzarono congressi biennali itineranti. Nel medesimo periodo, ma in alcune nazioni anche prima, si formarono in ogni paese occidentale società chirurgiche attive sul piano informativo-scientifico con congressi e pubblicazioni degli Atti di detti convegni.

Dopo il 1945 il panorama della chirurgia in campo internazionale andò incontro a modifiche considerate rivoluzionarie, innescate dall'apporto di alcune importanti novità tecniche arrivate dagli Usa e dal Regno Unito, nazioni che pur avendo partecipato in modo determinante e decisivo alla II guerra mondiale, avevano potuto proseguire a differenza della Germania, dell'Italia e del Giappone nella ricerca di nuovi mezzi e metodi di cura. Una di queste novità fu la chirurgia toracica in respirazione controllata a pressione positiva tramite intubazione oro- o naso-tracheale, un'altra fu rappresentata dagli apparecchi di anestesia mobili già in dotazione della sanità militare degli Alleati negli ultimi anni di guerra e infine le nuove possibilità di trasfusione di sangue omologo tipizzato e di plasma umano, di cui tanto uso era stato fatto da Inglesi e Americani nei campi di battaglia. In conseguenza di questi nuovi apporti anche in Italia si moltiplicarono rapidamente le operazioni di exeresi polmonare in molti campi della patologia broncopolmonare come ascessi e gangrene, tbc distruttiva, bronchiectasie diffuse e tumori del polmone. Gran parte di queste indicazioni andò riducendosi con il passare del tempo grazie ai buoni risultati ottenuti in certi settori con la cura antibiotica. La chirurgia di exeresi polmonare dapprima molto estesa e demolitiva con conseguenti danni alla capacità funzionale respiratoria poté diventare più conservativa allargando la sua radicalità nel caso dei tumori al campo delle linfadenectomie e ricorrendo ove possibile a reimpianti di un bronco sezionato sul suo bronco principale sec. Mathey.

CHIRURGIA CARDIOVASCOLARE

La novità terapeutica più grande fu quella della chirurgia del cuore e dei grossi vasi che si svolse in due tempi tecnicamente successivi, un primo tempo caratterizzato da interventi che non richiedevano ed anzi evitavano l'arresto cardiocircolatorio e un secondo tempo in cui gli interventi chirurgici furono condotti in circolazione extracorporea (CEC) grazie all'ausilio della macchina cuore-polmoni entrata in impiego clinico nel corso degli anni '50.

I primi interventi chirurgici sul cuore furono nel 1897 quello condotto da Parozzani a Roma e dal tedesco L.Rehn che suturarono con successo ferite perforanti del ventricolo sinistro da coltello. La prima sutura di una ferita penetrante del miocardio in America del Nord fu opera nell'anno 1900 del chirurgo L.Hill che ne pubblicò 17 casi. Nel 1902 lo stesso Hill pubblicò una revisione di altri 37 casi operati da altri chirurghi corredandola con i risultati e con le sue considerazioni al riguardo. Altri sporadici interventi di apertura delle cavità cardiache a cuore battente furono quelli per asportare corpi estranei, in genere proiettili d'arma da fuoco (V.Travaglini a Udine nei primi anni '50). Nel 1920 Rehn eseguì la prima pericardiectomia in un paziente affetto da pericardite costrittiva. Questa malattia, spesso di natura tubercolare, oggi fortunatamente molto più rara che in passato, richiede l'asportazione completa del pericardio quando il suo ispessimento cicatriziale sta strozzando le due vene cave e quando provoca ipertensione atriale destra. Il perfezionamento della tecnica operatoria fu opera di Holman, chirurgo di San Francisco (California).

Fra le operazioni endocardiche eseguite negli anni '50 senza ausilio della macchina cuore-polmoni la più frequente fu la divulsione digitale della valvola mitrale stenotica per esiti cicatriziali di endocardite reumatica o di altra natura. Il primo a eseguire questa operazione con accesso dall'auricola dell'atrio sinistro fu il cardiocirurgo americano Bailey nel 1949. Divulsionò i due lembi mitralici con il dito indice e diede a questa sua operazione il nome di "*commissurotomia mitralica*": qualche anno dopo il clinico chirurgo dell'Università di Torino Achille Mario Dogliotti perfezionò questa tecnica inventando il commissurotomo, una piccola lama tagliente montata su un anello che l'operatore infilava sul dito indice un attimo prima di infilare l'apertura dell'auricola sinistra. In seguito la commissurotomia fu

perfezionata ulteriormente dal cardiocirurgo francese Charles Dubost che inventò un divulsore meccanico poi ulteriormente perfezionato dall'americano Frank Gerbode.

Verso la fine del secolo gli interventi di commissurotomia diminuirono rapidamente e progressivamente di numero dopo aver raggiunto la loro massima frequenza alla fine degli anni '50 e nei primi anni '60, in tempi cioè nei quali il numero di pazienti affetti da stenosi mitralica era ancora molto elevato come tarda sequela di endocarditi insorte in epoca precedente alla era antibiotica e alla scoperta della cura cortisonica della malattia reumatica. In realtà la netta e forte diminuzione di portatori di valvulopatie fu imputata sì alla fortissima diminuzione dei casi di febbre reumatica nell'Europa del Nord e nel Nord America, anche se essi non erano affatto scomparsi in Centro America, Sud America e Africa, ma va tenuto conto anche del fatto che le lesioni valvolari del cuore complicanti la dinamica cardiaca erano andate progressivamente sottoposte a cura chirurgica con protesi valvolari. L'esigenza di escogitare una soluzione chirurgica della stenosi mitralica postendocarditica era però già viva nei patologi medici e chirurghi della prima metà del Novecento. Negli anni '20 il chirurgo americano E.C.Cutler aveva infatti sperimentato e proposto una valvulotomia non mirata eseguita per via transventricolare sinistra tramite un valvulotomo che, oltre a sezionare i bordi ispessiti della stenosi, asportava anche un lembo della valvola; tuttavia l'insufficienza mitralica acuta che subentrò a questi primi tentativi di valvulotomia portò all'abbandono di questa operazione che pure l'inglese H.Soutter aveva praticato nel 1922 con una tecnica non mirata e simile a quella di Cutler.

Un altro intervento cardiaco di ardita concezione fu quello attuato dai cardiocirurghi americani negli anni a cavallo del 1950 per chiudere la comunicazione interatriale usando un accesso dall'atrio destro sul quale veniva applicato un imbuto suturato alla sua parete prima di inciderla per inserire il dito dell'operatore e il portagli che, con il filo di sutura non riassorbibile, tentava la sutura del difetto settale. Era una operazione condotta ovviamente alla cieca e sul controllo del dito immerso nel sangue dell'atrio di un cuore battente. In seguito questa operazione sarebbe stata sostituita da una a cielo aperto in ipotermia per i difetti di minori dimensioni che potevano essere chiusi con pochi punti di sutura e invece in arresto cardiocircolatorio e CEC per chiudere i difetti settali di maggiori dimensioni che venivano chiusi con l'applicazione di un *patch* fissato con punti staccati di sutura ai bordi del difetto.

Un notevole aiuto alla esecuzione di interventi endocardiaci fu l'applicazione della ipotermia del corpo dell'operando spinta ad un valore non inferiore a 29°C di temperatura endoesofagea grazie ad un bagno del corpo del paziente narcotizzato e in respirazione controllata in acqua a temperatura di ghiaccio fondente. Altri metodi di ipotermia usati negli anni '50 e '60 furono l'avvolgimento del corpo del paziente con materassini contenenti ghiaccio o facendogli indossare una tuta nella quale al momento opportuno si faceva circolare acqua a temperatura bassissima oppure esponendo il corpo a flussi di aria molto fredda. Oltre a questi metodi detti di "raffreddamento di superficie" fu sfruttato anche il "raffreddamento del sangue" con il metodo di Boerema-Delorme-Ross che consisteva nel far circolare il sangue dell'arteria femorale incannulata in un recipiente refrigerante e nel reimmetterlo nella v.femorale con il metodo veno-venoso di Ross oppure con quello di Parkins e Kimoto di raffreddamento selettivo del cervello ottenuto refrigerando il sangue carotideo all'esterno e reimmettendolo nella carotide stessa da cui era prelevato. Una terza tecnica di ipotermia fu quella usata da Blades e Pierpont perfondendo la cavità toracica aperta con soluzione fisiologica portata a 1°-3°C mentre Khalil e McKeith facevano circolare acqua fredda a 4°C in un pallone endogastrico. Indipendentemente dal metodo usato l'ipotermia corporea spinta fino a 30°-31°C, riducendo fino al 50% della norma il metabolismo cellulare, consentiva un arresto di circolo non superiore ai 7 minuti primi senza che le cellule dei parenchimi più nobili (cervello, midollo spinale e sistema di conduzione atrioventricolare) avessero a soffrire di

anossia. Questo tempo ridotto per la interruzione di circolo ottenuta con chiusura delle due cave preventivamente isolate e caricate su laccio di tourniquet e dell'aorta e dell'arteria polmonare clampate con pinze di Satinsky, permetteva solo l'esecuzione di interventi endocardiaci velocissimi e molto semplici come la correzione delle stenosi della polmonare o la chiusura di una comunicazione interatriale tipo "*ostium secundum*".

In pochissimi casi, mantenendo a lungo il raffreddamento a 29°C e ripetendo più volte la interruzione di circolo si arrivò a portare a termine interventi endocardiaci più complessi e più lunghi.

L'ipotermia fin qui descritta fu definita anche "*ipotermia moderata*" per distinguerla dalla "*ipotermia profonda*" (fino a 9°-15°C) comportante l'arresto cardiaco da freddo e che richiedeva la CEC. L'ipotermia profonda fu usata inserendo nella macchina della CEC uno scambiatore di calore oppure usando due pompe rotanti, una venosa per cortocircuitare il ventricolo destro e l'altra arteriosa per cortocircuitare quello sinistro come era stato inventato e applicato per la prima volta dal chirurgo inglese Drew nell'anno 1959.

Lo **sviluppo della Circolazione Extracorporea (CEC)**, iniziato negli anni '50 contemporaneamente in America del Nord e in Europa e proseguito con la produzione commerciale di diversi modelli di macchine cuore-polmoni munite di ossigenatori di vario tipo nel biennio 1954-55 (Mayo-Gibbon, Lillehei, Dewall, Kay-Gross, ecc.) conobbe ulteriori modifiche e semplificazioni come l'adozione dell'ossigenatore a fibre cave di fine anni '80) e, per soddisfare la necessità di ottenere un cuore veramente esangue e immobile, portò negli anni '60 alla combinazione della CEC con l'arresto farmacologico del cuore (citrato di potassio o acetilcolina) o con arresto da anossia fino a 60 minuti primi in più riprese o con l'ipotermia selettiva delle coronarie in ipotermia profonda (9°-18°C), tutte metodiche poi abbandonate per complicanze osservate a carico del SNC.

Il raffreddamento locale del cuore applicando ghiaccio e soluzione fisiologica a 2°-3°C nel sacco pericardico aperto fu molto usato a partire dall'anno 1961 da Dubost con ottimi risultati. Terminato l'intervento cardiaco il cuore veniva riscaldato con soluzione fisiologica calda e fatto ripartire con una o più scosse di defibrillatore. Chi scrive ricorda di aver assistito personalmente nella primavera del 1961 all'asportazione di un grosso rhabdomyosarcoma del ventricolo sinistro e a correzione di difetti interatriali da parte di Charles Dubost con questo sistema di perfrigerazione del cuore.

Il metodo che si affermò nel corso degli anni '70 e '80 per la sua massima sicurezza fu quello dell'inserimento nel circuito di perfusione CEC di uno scambiatore di calore che consentiva di raggiungere una "*ipotermia moderata*" a 28°-30° C. Con questo metodo era infatti possibile passare rapidamente a ipotermia profonda sui 16°-24°C se l'intervento chirurgico richiedeva ad un certo punto l'arresto cardiaco per eseguire certe manovre di lunga durata nelle cavità cardiache a cuore fermo. A intervento endocardiaco ultimato la ripresa pulsatile del miocardio si otteneva come sopra detto con il defibrillatore.

Negli anni '90 del secolo XX la scuola di Dubost, avendo constatato che l'arresto cardiaco ottenuto con l'applicazione di ghiaccio nel sacco pericardico comportava una disomogenea distribuzione del freddo nelle varie parti del miocardio e la comparsa di aree necrotiche del muscolo cardiaco in sede juxtaendocardica, abbandonò questo metodo di ipotermia profonda locale e la sostituì con la cardioplegia ottenuta con l'iniezione nell'aorta clampata di 1 litro di sangue a temperatura di 10°C alla velocità di 250 ml/minuto e a 80 mm di pressione, iniezione che veniva ripetuta ogni mezz'ora facendo precedere un breve tempo di riossigenazione del miocardio. Una tecnica simile fu propugnata da J.Fabiani che iniettava la soluzione refrigerata, anziché nell'aorta clampata, direttamente nel seno coronario. Infine l'ultima variante in ordine cronologico fu l'iniezione del liquido freddo nell'orecchietta destra, previo clampaggio di arteria polmonare e aorta.

Il metodo che si è affermato nel corso degli anni '70 e '80 per la sua massima sicurezza fu quello dell'inserimento nel circuito di perfusione della macchina cuore-polmoni di uno

scambiatore di calore che accoppiava alla CEC una ipotermia moderata (28°-30°C). Questo metodo permise infatti di passare rapidamente a ipotermia profonda (16°-24°C) quando si rendeva indispensabile l'arresto cardiaco per l'esecuzione tranquilla di manovre chirurgiche nelle cavità cardiache a cuore fermo. Ad intervento cardiaco ultimato la ripresa dell'attività pulsatile cardiaca si otteneva con scariche date direttamente sul miocardio con un defibrillatore. Negli anni '90 del Novecento le operazioni praticate alla cieca a cuore chiuso oppure – per pochissime e precise indicazioni - sotto controllo della vista con pochi minuti di arresto circolatorio da ipotermia moderata di superficie (30°-31°) erano entrate definitivamente nella storia della cardiocirurgia essendo ormai del tutto o quasi abbandonate. Di esse si può dire che alla fine del XX secolo solo la commissurotomia mitralica eseguita con il vecchio metodo transauricolare alla cieca conservava ancora un'utile funzione curativa in particolari casi di età, sesso e, soprattutto, di etnia.

Le **malattie acquisite di cuore** che cominciarono ad essere trattate chirurgicamente a cuore aperto e in CEC negli anni a cavallo del 1960 sono state, oltre alla stenosi mitralica, l'insufficienza della mitrale (Kay e coll. 1962 con il 6-10% di mortalità), la stenosi della tricuspidale, la stenosi della valvola aortica (Kirklin 1963 – 14% di mortalità operatoria), l'insufficienza aortica (Hufnagel), i tumori primitivi del cuore (mixomi endocardiaci e sarcomi del miocardio; Scannell e coll.; Dabbs e coll.; Fell; Hopkins e altri in ipotermia moderata; Hanlon, Differding in CEC).

Le valvole artificiali la cui produzione iniziò negli USA nell'anno 1960 erano di due tipi, meccaniche e biologiche dette bioprotesi. La prima e la più famosa delle valvole meccaniche fu quella di Starr-Edwards che fu anche la prima ad essere applicata nell'uomo nel **1961**. Questa valvola consisteva in una pallina di silastic che si muoveva dentro una gabbia metallica con anello di inserzione rivestito di dacron. La valvola di Smeloff-Cutler detta anche Sutter-valve a doppia gabbia, basata sul medesimo principio fisico, sembrò garantire una maggiore sicurezza contro l'alto rischio di tromboembolie. Le valvole meccaniche a disco unico di Björk nelle loro molteplici modifiche (disco cosiddetto sferico di pyrolite-carbon di Björk, 1971; valvola di Lillehei- Kastor; Medtronic valve; Omniscience valve) e, soprattutto, le valvole a due dischi semicircolari St.Jude fatte interamente di Pyrolite-carbon e quindi prive di parti metalliche che hanno rivelato una emodinamica nettamente superiore a quella di tutte le altre protesi meccaniche. Tutte le valvole meccaniche, comprese le St.Jude, che sono le meno trombogene di tutte, richiedono un trattamento anticoagulante continuo. I modelli più recenti mostravano negli anni '80 una percentuale di difetti meccanici estremamente bassa e nelle valvole St.Jude pressoché assente del tutto. La durata è stata definita eccellente e valutata in laboratorio e *in vivo* con riscontri *post mortem* da un minimo di 20 anni ad un massimo di un secolo. Le indicazioni al loro impianto sono state così definite nel 1985 da R. Morgan e coll. della cardiocirurgia di Toledo (Ohio – USA): 1- a tutti i bambini sul cuore sinistro; 2- tutte le sostituzioni della mitrale in adulti senza controindicazioni al trattamento *sine die* con Coumadin; 3- tutti i pazienti con annulus più piccolo della norma; 4- ogni volta che non si vuole assolutamente prevedere e accettare un futuro reintervento.

Le bioprotesi valvolari nate nel 1963 come omoioinnesti da cadavere su una proposta di D.Ross non incontrarono subito il successo sperato data la difficoltà di reperire il materiale più adatto e, soprattutto, per il frequente rigetto, per cui nel 1965 furono sostituite dagli eteroinnesti di valvole cardiache del maiale e del vitello cioè dalle valvole dette "*biologiche*" (J.Binet, C.Duran, A.Carpentier) che dovettero attendere il **1968** per ottenere i primi successi stabili quando Carpentier cominciò a trattare queste valvole con aldeide glutarica e ad applicarle su una cornice circolare che impediva la penetrazione delle cellule immunitarie del sistema immunitario dell'ospite. Queste bioprotesi, applicate in altissimo numero tra il 1968 e il 1980 in sede mitralica, tricuspidale e aortica, hanno fornito i loro

migliori risultati nelle sedi mitralica e aortica e hanno liberato gli operati dalla schiavitù della dipendenza permanente da anticoagulanti, ma furono mal tollerate dai bambini dove andavano incontro ad una precoce degenerazione fibroso-calcifica in posizione aortica e mitralica tanto da obbligarle a rimuoverle e sostituirle entro 5 anni dalla loro applicazione. Comunque la durata media di queste bioprotesi nell'adulto era di 10 anni, al termine dei quali era d'obbligo la loro sostituzione. Per questi motivi sono stati utilizzati altri tessuti animali come il pericardio bovino della valvola Jonesco-Sisley confezionando lembi valvolari che venivano suturati, dopo trattamento con glutaraldeide, dentro ad un anello rivestito di teflon. Molte valvole di questo tipo furono applicate nell'uomo durante l'ottavo decennio del XX secolo. Tuttavia nell'anno 1985 i dati sulla durata delle valvole tipo Jonesco-Sisley erano ancora scarsi anche se sembrava che la durata complessiva fosse in aumento rispetto alle altre bioprotesi di Carpentier-Edwards e della Hancock valve. Le indicazioni poste perciò da R. Morgan e coll. a quella data per l'applicazione di bioprotesi valvolari erano le seguenti: 1°- pazienti che presentano controindicazioni al trattamento con anticoagulanti; 2°- sostituzione della valvola aortica in pazienti anziani quando l'annulus ha diametro > 25 mm ; 3°- un paziente che rifiuta di assoggettarsi al Coumadin o che non dà affidamento di rispettare la terapia postoperatoria prescritta.

Se nel 1985 la media annuale degli impianti valvolari negli USA superava i 30.000 interventi accompagnata da una frequenza non molto inferiore dei dati registrati nel resto del mondo con le varianti dovute al differente grado di sviluppo tecnologico nelle diverse aree geografiche, la situazione non si modificò sostanzialmente negli ultimi anni del secolo XX. Non si può comunque sottacere il fatto che le limitazioni tecniche delle sostituzioni valvolari sopraricordate avevano indotto già alla fine degli anni '70 molti cardiocirurghi a preferire – partendo dalle prime esperienze di Merendino e coll. nel 1959, di Wooler e coll. nel 1962 e di Kay e Egerton nel 1963 – una chirurgia di ricostruzione valvolare conservativa, evitando di asportare le valvole malate e di sostituirle con protesi meccaniche o biologiche. Si trattò, anche e soprattutto per la valvulopatia mitralica, di interventi a cuore aperto che consentirono di eseguire annuloplastiche asimmetriche associando la regolazione dello spessore e della lunghezza delle corde tendinee (Ch.Dubost). Nel complesso si può affermare che ancora negli anni '80, a fronte di un assoluto predominio degli interventi di sostituzione valvolare con protesi di vario tipo c'era ancora un certo numero di cardiocirurghi che continuavano a preferire una chirurgia plastica ricostruttiva e conservativa senza ricorso a materiali estranei di tipo protesico.

Tra le altre malattie cardiache acquisite che nella seconda metà del Novecento trovarono soluzione terapeutica con interventi chirurgici ci furono anche la dilatazione da insufficienza cardiaca e l'aneurisma postinfartuale del ventricolo che fu trattato con la resezione e sutura dei bordi miocardici vitali e una mortalità operatoria complessiva del 15%. L'impiego delle protesi vascolari di dacron perfettamente impermeabili al sangue circolante e il perfezionamento dei metodi di CEC resero possibile la cura radicale di tutti i diversi tipi di aneurisma dell'aorta toracica ascendente, dell'arco aortico e arterie collaterali comprese e dell'aorta discendente.

Il primo trapianto cardiaco nell'uomo eseguito da Christian Barnard nel dicembre del **1967** e il secondo fatto da Norman Shumway presso la Stanford University (USA) un mese dopo (gennaio 1968) suscitavano un immenso entusiasmo e numerose équipes chirurgiche in tutto il mondo si affrettarono a seguire questi esempi. Un anno dopo Dubost a Parigi – in una camera operatoria appositamente sterilizzata - effettuò a sua volta il primo trapianto cardiaco europeo e il paziente sopravvisse 18 mesi. Analoghi insuccessi si verificarono in quel torno di tempo anche in America del Nord (Copeland e Stinson 1979). Nel biennio 1968-1969 sessanta équipes di cardiocirurgia eseguirono in tutto il mondo un totale di circa 150 trapianti cardiaci. Fece seguito un lungo periodo di ripensamento durante il quale fu data notizia di qualche caso sporadico di iterazione del trapianto dopo l'insuccesso del

primo. Fino al 1978 solo cinque centri di cardiocirurgia continuarono a eseguire trapianti di cuore (F.Thomas e R. Lower). In quegli anni J. Dausset fornì una delle chiavi più attese per l'ottenimento di risultati stabili: la conoscenza del sistema immunitario HLA che permise la ripresa dei trapianti di rene previa tipizzazione del donatore. Tuttavia la determinazione dell'HLA non si rivelò sufficientemente utile alla prova dei fatti per quanto riguardava il trapianto di cuore. Le direttrici seguite dai cardiocirurghi divennero allora due: una sostenuta da Shumway che proseguì sulla strada dei trapianti ortotopici, la seconda, sostenuta da Barnard e dal suo allievo Losmar, consistente nell'innesto del cosiddetto "cuore in parallelo" lasciando al suo posto il cuore del ricevente (trapianto eterotopico). Una terza via tentata qualche anno più tardi fu quella del trapianto monoblocco di cuore e polmoni. La casistica di Shumway del periodo 1968-1981 fu gravata da una mortalità perioperatoria del 26% su un totale di 227 trapianti. Le percentuali delle cause di mortalità denunciate da Shumway furono in ordine decrescente le infezioni (58%), il rigetto (18,3%) e la precoce ateromatosi ostruente delle coronarie (10,7%). L'esempio di Shumway che aveva proseguito in modo solitario sulla difficile strada del trapianto cardiaco ortotopico risvegliò progressivamente lo spirito di emulazione delle scuole di cardiocirurgia di tutto il mondo, che, nel frattempo, si erano messe nelle condizioni di poter adottare una rigorosa selezione dei riceventi (tutti di età inferiore ai 50 anni e con prospettive di sopravvivenza non superiori ai 6 mesi), di rilevare i segni precoci del rigetto con le biopsie endomiocardiche ripetute a precise scadenze secondo il metodo adottato da Shumway e infine di disporre dei primi farmaci antirigetto. Nel 1983 Cortesini scriveva che *"il candidato ideale al trapianto di cuore è un soggetto giovane in buone condizioni affetto da una cardiopatia giunta all'ultimo stadio"* che era quello della cosiddetta *"cardiopatia dilatativa"*. Questa era la conseguenza finale delle gravi ischemie miocardiche da malattia aterosclerotica, delle cardiomiopatie che producevano insufficienza cardiaca irreversibile e delle valvulopatie multiple con danno irrimediabile del miocardio.

Nel 1972 un ricercatore dei laboratori farmaceutici Sandoz, J.Borel, scoprì l'azione immunosoppressiva della Ciclosporina A e Stinson la saggiò sui primati sottoposti a trapianto cardiaco nel laboratorio americano della Stanford University. Infine la Ciclosporina A fu somministrata agli operati di Shumway e fu seguita da immediata riduzione dei casi di infezione e di rigetto precoce. Nel 1989 Dubost scriveva: *"...solo il tempo risponderà agli interrogativi che oggi ci poniamo sull'uso della Ciclosporina A, senza alcun dubbio dotata di un certo potenziale di tossicità i cui effetti nocivi non sono stati ancora perfettamente definiti."*

Barnard intanto aveva proseguito con il suo metodo del "trapianto eterotopico" e nel 1981 contava 30 pazienti così operati ottenendo una sopravvivenza compresa tra 4 mesi a 5 anni e mezzo nel 50% degli operati. Il numero dei sopravvissuti a distanza di oltre 1 anno era del 61%. Oltre ai casi operati a Città del Capo si conoscono pochissimi altri casi (cinque cardiopatici o forse meno) operati con il metodo eterotopico da altre équipes in altri paesi. Negli anni '90 l'intervento di Barnard risultava del tutto abbandonato.

L'allotraspianto cuore-polmoni indicato nei rari casi di associazione di una gravissima e incurabile ipertensione polmonare e di una cardiopatia rilevante, indifferentemente da quale delle due affezioni fosse quella primaria, fu praticato per la prima volta da Shumway nel 1981 previa una serie di risultati incoraggianti ottenuti nei Primati. Trattasi di uno degli interventi più ardui di tutto lo scibile chirurgico, un'operazione che incontra la grande difficoltà di trovare un donatore valido i cui polmoni non hanno per nulla sofferto della respirazione artificiale necessariamente a lungo protratta.

Nel 1985 J.Levett e R.Karp della cardiocirurgia dell'università di Chicago riferirono che presso l'International Heart Transplantation Registry erano registrati i risultati dell'attività di 21 centri di trapianto cardiaco e di altri 5 che però non avevano fornito risultati attuali.

La registrazione effettuata tra il 1968 e il dicembre 1983 diede un totale di 807 operati di trapianto cardiaco dei quali l'83,3% uomini e il 16,2% donne. Prima del 1978 il totale dei trapianti assommava a 181.

I due periodi, quello prima dell'impiego della Ciclosporina A e quello successivo mostravano un forte divario dei dati di sopravvivenza a 2 anni: il 43% prima della Ciclosporina A e il 65% dopo.

Oltre alla Ciclosporina A (CsA), all'anticorpo monoclonale OKT3, all'azatioprina (AZA) e al metilprednisolone, negli ultimi anni '80 e nei primi anni '90 il bagaglio degli agenti immunosoppressori si arricchì di nuove sostanze sulle quali nel 1994 erano in atto diversi *trials* e fra esse vanno citate la Rapamicina e l'FK506. L'impatto del miglioramento dei trapianti di cuore è chiaramente evidenziato dal seguente confronto: nell'anno 1980 c'erano nel mondo solo 17 Centri di Cardiocirurgia che effettuavano i trapianti di cuore, nel 1989 essi erano diventati 236 e, parallelamente, il numero annuale dei trapianti era passato da 50 a quasi 2500. Il primo trapianto di cuore in Italia fu eseguito nell'Ospedale di Padova da Gallucci nel 1985 ma solo negli anni '90 il trapianto di cuore raggiunse la maturità clinica un po' ovunque nei paesi più avanzati del mondo.

In Italia nel 1991 a Pavia M.Viganò e C.Ricci eseguirono i primi trapianti di polmoni. Nella prima decade del XXI secolo in Italia i centri autorizzati al trapianto cardiaco erano diventati 16 e mentre in Italia il totale dei cuori trapiantati fino alla fine del 1999 era stato di 337 e nel solo anno 2000 ne erano stati eseguiti 298, la sopravvivenza media internazionale era arrivata a 9,3 anni.

O.Frazier e M.Macris riferirono che presso l'istituto di cardiologia del Texas a Houston erano stati eseguiti tra il 1982 e il 1994 cinquecentotrentadue trapianti di cuore (80% su uomini e 20% su donne) con sopravvivenza ad un anno del 77% degli operati e a 5 anni del 58,4%. Le più comuni cause di morte a distanza di tempo dal trapianto in quella casistica – come del resto in tutte le altre – erano state attribuite alla malattia coronarica del cuore trapiantato (24,5%) e alle infezioni (22,5%).

Questi buoni risultati aumentarono le speranze di ottenere in breve tempo ulteriori miglioramenti e provocarono un netto aumento di richieste di trapianto in tutto il mondo. Alla fine del secolo il numero totale dei trapianti era arrivato a 3400. La limitazione attribuita allo scarso numero di donatori fu in buona parte risolta negli ultimi quindici anni del secolo con la conservazione per 3-4 ore al freddo (6-8°C) del cuore prelevato e con il suo trasporto per via aerea dall'ospedale dove era stato fatto il prelievo al centro cardiocirurgico più vicino, che in realtà poteva anche essere molto lontano.

Anche l'impiego del cuore meccanico artificiale (vedi avanti) ha consentito di colmare in certi casi il tempo di attesa per trovare un donatore. L'ultimo tentativo fu quello del trapianto di un cuore animale (il donatore in questo caso era solitamente un babbuino) fatto da J.Hardy per primo nel 1970 ma ripetuto in anni successivi soprattutto da Bailey. Nel 1989 lo stesso Bailey impiantò il cuore di un babbuino in un neonato condannato a morire per una malformazione cardiaca gravissima e incorreggibile. Nonostante l'intervento fosse stato eseguito già in epoca ciclosporinica la sopravvivenza fu di solo tre settimane. Le vivaci polemiche di natura etica scatenate da questa operazione contribuirono a raffreddare gli entusiasmi dei cardiocirurghi che si erano mostrati interessati a seguire l'esempio di Bailey.

Gli studi sul **cuore artificiale meccanico** furono il frutto delle notevoli difficoltà incontrate nell'attuazione del trapianto cardiaco da donatore a ricevente. Un cuore meccanico, non soggetto a rigetto, sembrò a molti la soluzione ideale per la sostituzione di un cuore talmente malato da non essere più mantenuto in vita con una funzione accettabile. Le équipes che si dedicarono a questi studi di chirurgia sperimentale dovettero risolvere numerosi e difficili problemi su tre punti essenziali: la forma e tipo di funzionamento della

pompa cardiaca da innestare (pompe a membrana e pompe centrifughe), la fonte di energia e il suo convertitore (energia pneumatica, energia nucleare da radioisotopi, energia elettrica da pile a combustibile biologico; convertitori termodinamici ed elettrodinamici) e infine il sistema di regolazione che doveva adattare la pompa artificiale alle diverse condizioni circolatorie entro limiti fisiologici. Dall'esperienza fatta negli ultimi decenni del secolo si vide che la regolazione più facile da ottenere era quella data dalla variazione di portata delle due pompe, destra e sinistra, che veniva automaticamente comandata dall'entità delle resistenze periferiche. I progressi in questo campo furono regolari: nel 1971 la meta prefissata era quella di riuscire a mantenere vivo l'animale da esperimento per 100 ore. Nel 1978 cinque laboratori cominciarono ad avere 15 animali vivi da più di 100 giorni. Nel 1981 D.Cooley fu il primo a impiantare due cuori artificiali nell'uomo e li rimosse dopo aver trovato due donatori per il trapianto; purtroppo i due pazienti non sopravvissero all'operazione per setticemia dovuta probabilmente all'intenso trattamento immunosoppressivo. Il terzo impianto di cuore artificiale fu fatto da W.Devries dell'Università dello Utah. Seguirono altri impianti ad opera di Devries e Lansing, di J.Copeland, di J.Kolff e coll. della Temple University di Filadelfia. Tenendo conto anche di un caso operato da Stenberg a Stoccolma e di un altro a Salt Lake City, nell'anno 1985 il totale delle applicazioni di un cuore artificiale assommava a 14 casi.

Nel 1988 J.Copeland e coll. della cardiocirurgia della Arizona University a Tucson, nel rendere pubblica la loro esperienza con il cuore artificiale come cura-ponte in attesa di trapianto cardiaco, fecero una revisione della letteratura mondiale sull'argomento e riferirono che gli impianti di cuore artificiale biventricolare a pulsazione pneumatica erano stati fino allora 79 in tutto da aprile 1969 a marzo 1987. Di questi 49 furono sottoposti in un secondo tempo a trapianto con una sopravvivenza finale del 67% (45% rispetto al totale degli impianti di cuore meccanico). La durata dell'applicazione sull'uomo di un cuore artificiale in attesa di trapianto fu di poco inferiore alla media di 15 giorni, variando da un tempo minimo di 12 ore a uno massimo di 244 giorni. Dalla esperienza accumulata fino al 1988 risultava che il tipo di cuore artificiale migliore e più spesso impiegato era il modello Jarvik biventricolare che offriva un controllo ottimale della circolazione e delle resistenze polmonari con due soli inconvenienti, la fuoriuscita dalla parete toracica delle linee della forza pneumatica che rappresentava un continuo pericolo di infezione e la produzione endotoracica di tessuto cicatriziale che diveniva particolarmente abbondante dopo 3 settimane così da rendere più arduo il successivo intervento di trapianto. In Italia la prima applicazione di un cuore artificiale fu operata nel 1987 da M.Viganò del Policlinico Universitario di Pavia.

Direttamente collegato al tema del cuore artificiale meccanico fu quello della assistenza circolatoria che si rendeva necessaria per periodi di tempo variabili in cardiopatici che si trovavano a dover superare un momento critico della loro malattia. Il "*Committee of the National Heart, Lung and Blood Institute*" americano nei primi anni '80 del Novecento stimò che il numero di persone che nell'arco di un anno avevano bisogno di assistenza cardiocircolatoria era tale da richiedere l'impiego di oltre 10.000 apparecchiature. Il primo a cercare e ideare una soluzione a questo problema fu A. Kantrowitz nel 1953 eseguendo in chirurgia sperimentale un collegamento fra un'arteria periferica e un'arteria coronaria per mezzo di un catetere la cui lunghezza consentiva di far arrivare nella coronaria il sangue dell'arteria lontana nel momento esatto della diastole, e questo misurando i tempi fisiologici. Il flusso coronarico mostrò un aumento del 25-30%. Questo buon risultato fu poi confermato anche da G.Casten.

Nel 1958 Kantrowitz propose un nuovo modello di assistenza tecnica al cuore che prefigurava la contropulsione arterio-arteriosa la cui prima apparecchiatura fu presentata da D.Harken nel 1961: si trattava di un ventricolo sinistro artificiale extracorporeo che pulsava in alternanza sincronizzata con il ventricolo sinistro del cuore malato reiniettando

durante la diastole nel letto arterioso il volume del sangue di eiezione del ventricolo sinistro.

Nel 1962 S.Moulopoulos propose il **palloncino intraaortico** per esercitare la contropulsione diastolica che Kantrowitz e coll. applicarono ad un paziente per la prima volta solo nel 1968 dopo lunghi studi sperimentali e perfezionamenti tecnici. Nel 1979 C.Dubost sulla base della sua esperienza con il sistema del palloncino pulsante intraaortico lo definì *“efficace in due gravissime complicazioni dell’infarto: la rottura del setto interventricolare e l’insufficienza mitralica per rottura dei muscoli papillari”*. Nel 1973 S. Scheidt e coll. pubblicarono i loro risultati nel trattamento dello shock cardiogeno e dimostrarono che il palloncino intraaortico era stato utile anche nella terapia di insufficienza circolatoria di natura non ischemica. Nel 1978 M.McEnany e coll. confermarono questi buoni risultati in una casistica formata da 728 pazienti. Presso il New England Diaconess Hospital di Boston il palloncino intraaortico fu applicato in otto anni (1972-1980) 150 volte e la percentuale complessiva delle complicazioni fu accettabilmente bassa pur trattandosi di operazioni eseguite da chirurghi diversi. Presso la Lahey Clinic di Boston Peter R. Maggs elaborò nel corso degli anni '70 una tecnica standard che ridusse al massimo le complicanze lamentate da altri AA. Maggs, che pubblicò la sua tecnica nel giugno del 1980, diede la preferenza alla via d’accesso rappresentata dall’arteria femorale che alla palpazione e all’ecodoppler mostrasse la pulsazione migliore. L’isolamento della femorale veniva fatto a cielo aperto mettendo bene in evidenza la biforcazione da cui parte la femorale profonda e subito sopra di questa veniva anastomizzata alla parete della femorale comune, ad angolo acuto, una protesi vascolare di dacron lunga 10 cm. facendone fuoriuscire dalla cute anteriore della coscia in sede più distale l’altra sua terminazione. Questa protesi ad anastomosi finita rimaneva allogata in un tunnel sottocutaneo scavato alla cieca con il dito. Da questa terminazione distale della protesi si faceva penetrare il catetere-12 French con palloncino da 20 ml. Una volta portata la punta del catetere-palloncino dentro l’aorta ascendente si assicurava con un laccio forte la protesi vascolare al catetere in tutta vicinanza dell’anastomosi e si asportava la protesi residua sfilandola a ritroso dal catetere. La copertura antiinfettiva con antibiotici per via generale e topica intorno al catetere nel punto di sua inserzione nella pelle assicuravano sempre una efficace protezione. Il catetere fu tenuto in sede anche per 20 giorni. Naturalmente anche la rimozione del catetere-palloncino richiedeva una tecnica altrettanto minuziosa e scrupolosa con la massima attenzione volta a rimuovere trombi e ad accertarsi che l’arto desse un buon sanguinamento retrogrado, in mancanza del quale si ricorreva alla pulizia antigrada e retrograda con un Fogarthy.

Un altro metodo di assistenza cardiocircolatoria che consentì periodi di applicazione molto più lunghi fu quello offerto da un apparecchio “cuore-polmoni artificiale”. Un fondamentale apporto a questo tipo di assistenza ventricolare fu quello degli studi sperimentali condotti da William Pierce di Hershey (Pennsylvania) che tra il 1981 e il 1985 costruì le basi razionali e fornì l’esperienza per la cura dello shock cardiogeno e dei gravi infarti postmiocarditici mediante un **cuore artificiale pneumatico** inserito in torace accanto al cuore malato del paziente di cui doveva sostituire il funzionamento. J.Kolff nel 1985 affermava: *“... questi ventricoli pneumatici che hanno il sistema di regolazione e controllo esterno al paziente invitano molto al loro impiego nei malati che sono in attesa di trapianto e in condizioni cardiovascolari disperate”*. Sei anni prima sulla pompa tutta esterna al corpo del paziente Charles Dubost aveva invece affermato: *“...l’idea è seducente, ma senza dubbio più teorica che pratica perché la pompa va incontro alle medesime difficoltà del cuore meccanico artificiale”*. Alla fine del secolo XX con l’ulteriore moltiplicarsi dei centri di trapianto cardiaco in tutto il mondo l’intera problematica del cosiddetto *“ventricolo sinistro ausiliario”* dava segni di spegnimento spontaneo essendo in massima parte risolto il problema del reperimento di donatori e in

avanzato grado di soluzione la messa a punto dell'istocompatibilità e di nuove sostanze immunosoppressive (FK 506 e Rapamicina – B.Kahan,1992)

Tra le malattie congenite cianogene dell'apparato cardiovascolare, oltre al forame interatriale, ha trovato un'efficace terapia chirurgica palliativa negli anni precedenti e susseguenti il 1960 (periodo 1957-1964) la *Tetralogia di Fallot* o morbo blu studiata a fondo per la prima volta dalla cardiologa americana Elena Taussig che propose gli shunts tra arteria polmonare e succlavia o aorta eseguiti per la prima volta rispettivamente da **Blalock** nel **1944** e da **Potts** e collaboratori nel **1946**. Un'altra soluzione derivativa fu lo shunt terminolaterale tra arteria polmonare destra e v. cava superiore (Carlson 1963; Bakulev 1963) che però non incontrò grandi favori e applicazione pratica a differenza dell'anastomosi termino-terminale a pieno canale tra arteria polmonare destra e cava superiore previa legatura di questa allo sbocco in atrio destro (operazione ideata da Glenn e Patino nel 1954).

A proposito dell'anastomosi Carlson-Bakulev va precisato che C.A.Carlson la concepì indipendentemente da Bakulev nello stesso periodo di tempo e che, a differenza di Bakulev, la realizzò solo nell'animale da esperimento. Tuttavia sembra opportuno riportare, riguardo a questa operazione, quanto scrissero nel 1999 sulla rivista "*Pediatrics*" Ign. E. Konstantinov e V. Aleximeskishvili: *"...l'anastomosi cavapolmonare oggi viene fatta risalire spesso a Glenn. Il principio di questa derivazione fu sviluppato in modo indipendente da molti chirurghi. Mentre alcuni di essi sono molto noti e ricordati, i contributi pionieristici di molti altri sono caduti nell'oblio. Nonostante questo, ognuno di essi diede un contributo originale e prezioso a tutto ciò che noi oggi conosciamo. Sembra che sia venuta l'ora, mentre stiamo per entrare nel terzo millennio, di ricordare e onorare coloro che dedicarono le loro menti e i loro sforzi nell'aiutare i bambini malati. Sono persone che meritano di essere ricordate"*. Questi due cardiocirurghi americani si riferivano forse soprattutto a Bakulev ma sembra giusto all'autore di questa storia della medicina del XX secolo farle proprie anche in memoria del cardiocirurgo italiano Carlo A. Carlson che rese famosa la scuola chirurgica di Galeno Ceccarelli per l'intensa attività cardiocirurgica esercitata a Padova, Udine e Pordenone nel periodo 1953-1970. Nel 1962 D.Waterston e Cooley proposero lo shunt aortico-polmonare intrapericardico che risparmiava la dissezione dei vasi mediastinici senza interferire con la dilatazione dei vasi bronchiali.

I due procedimenti palliativi proposti per la tetralogia di Fallot, ma più spesso eseguiti per correggere la grave disfunzione circolatoria dovuta alla trasposizione dei grandi vasi, furono in ordine di tempo la valvulotomia della polmonare descritta da R.C.Brock nel 1948 e la valvuloplastica della polmonare con il palloncino per via percutanea praticata per la prima volta da Z.Lababidi e J.Wu nel 1983. Le operazioni qui ricordate avevano lo scopo di incrementare il flusso sanguigno nel circolo polmonare tramite una comunicazione artificiale tra grande e piccolo circolo, una soluzione provvisoria che consentiva di salvare la vita di fronte alla grave anomalia cianogena nei bambini di età inferiore ai 3 mesi così da ottenere il loro normale sviluppo e l'esecuzione della correzione definitiva in un'età più adatta.

Nel 1966 e nel 1968 W.Raschkind pubblicò i primi risultati dell'intervento di settostomia atriale in pazienti di età inferiore ai 3 anni mediante catetere a palloncino introdotto per via venosa nell'atrio sinistro attraverso il forame ovale ancora pervio e successiva divulsione di questo ritirando il palloncino gonfio. Nel 1975 S.Park e coll. pubblicarono i risultati ottenuti con un metodo analogo sostituendo il catetere-palloncino con un catetere speciale munito di una lama. Risultati molto migliori si ebbero con la escissione del tessuto interatriale sec. Blalock e Hanlon, tecnica ideata ancora nel 1948. Anche altre tecniche palliative furono ideate e applicate fino alla fine del Novecento per salvare la vita ai piccoli

pazienti affetti dalle forme più gravi di morbo blu per guadagnare tempo e permettere un normale sviluppo corporeo prima di eseguire la correzione chirurgica definitiva in arresto cardiaco e CEC .

Lo studio sistematico con cateterismo cardiaco e angiografia di controllo condotto da Dubost e coll. sui 900 operati per tetralogia di Fallot, dapprima con il metodo palliativo dell'anastomosi succlavia-polmonare sec. Taussig-Blalock e in seguito in modo radicale a cuore aperto e CEC, dimostrò risultati eccellenti che si mantennero tali nel tempo.

Lillehei e Kirklin negli stessi anni affrontarono per primi la correzione della malformazione a cuore aperto sotto diretto controllo della vista.

La *trasposizione completa dei grandi vasi* è una malformazione cianogena piuttosto frequente (5-7 casi su 1000 neonati) e non permette al piccolo bambino di sopravvivere alla chiusura del dotto di Botallo e del forame interatriale. A partire dall'anno 1950 furono proposti e tentati numerosi e diversi interventi di tipo palliativo onde permettere al neonato di raggiungere peso e crescita tali da consentire l'esecuzione di una lunga e difficile correzione a cuore aperto. L'operazione di Blalock-Hanlon che creava un'ampia comunicazione tra i due atri fu l'operazione favorita degli anni '60, poi il palloncino gonfiabile di Raschkind fatto arrivare fin dentro l'atrio sinistro fu impiegato per lacerare il setto interatriale ritirandolo dopo averlo fatto passare attraverso il foro interatriale ancora aperto e ritirandolo, dopo averlo sgonfiato, dalla via venosa attraverso la quale era stato introdotto (Rashkind e Miller 1968). Anche l'operazione anastomotica di Glenn (v.sopra) e la Blalock-Taussig modificata con impiego di protesi vascolare in Goretex furono usate con soddisfazione per la correzione palliativa della trasposizione.

Le molte varianti di questa malformazione e lo scoglio rappresentato dall'origine delle arterie coronarie ritardarono molto la messa a punto della correzione definitiva che fu ottenuta e praticata con successo negli anni '80. I passi tecnici essenziali attraverso i quali si dovette passare per raggiungere risultati soddisfacenti furono nell'ordine quelli ideati dal cardiocirurgo della Mayo Clinic G.C.Rastelli (1970), dal brasiliano D.Jatene (1975) e dal francese Y.Lecompte (1982).

Una terza malformazione cianogena grave che richiese il salvataggio di piccoli bambini fu la *Atresia della tricuspid*. La cura palliativa diede buoni risultati mediante le operazioni sopracitate di Blalock-Taussig, di Glenn, di Blalock-Hanlon e con l'anastomosi aortopolmonare di Potts.

Al passaggio tra gli anni '80 e '90, anche se si era fatta molto vivace una tendenza a curare le malformazioni cardiache cianogene in via definitiva *ab initio*, Denton Cooley, famoso cardiocirurgo della Texas University di Houston, continuava a sostenere che "*in presenza di malattia neonatale cianogena grave la sopravvivenza dipende ancora da trattamenti palliativi che permettono di aumentare il flusso ematico polmonare per mezzo di uno shunt sistemico-polmonare o mescolano il sangue tramite uno shunt che va da sinistra a destra*".

La legatura semplice del *dotto di Botallo* fu proposta per la prima volta nel 1907 dal chirurgo di Boston J.C.Munro che si lamentò pubblicamente di non aver potuto mai praticarla per l'opposizione dei pediatri ai quali aveva spiegato l'utilità di questo intervento. Nel 1937 J.Strieder a Boston tentò di legare un dotto di Botallo in un paziente affetto da grave endocardite batterica. L'infiammazione del dotto gli impedì di legarlo e dovette limitarsi ad introdurre del materiale di sutura a scopo di trombosi. Il paziente, dopo un primo miglioramento, morì in quarta giornata del postoperatorio. Gross nel 1939 ripropose ed eseguì per primo il 20 Ottobre 1939 la legatura semplice del dotto con seta n°8 in una bambina di 7 anni e mezzo di età. Negli anni successivi usò per la legatura il cerotto ombelicale per poi abbandonare questo metodo visti gli insuccessi e finì nel 1947 con l'eseguire una legatura doppia associata a iniezione di sostanze sclerosanti o applicazione di membrane di cellophane. Nel 1940 A. Touroff e H.Vesell a New York legarono con successo un dotto di Botallo pervio in un paziente affetto da endocardite

batterica subacuta. Negli anni '50 seguirono le legature per trasfissione e sezione del dotto ad opera di Blalock e la vera e propria resezione del dotto con o senza applicazione di lembi aponeurotici (G. Ceccarelli 1960; C.A. Carlon 1961). Altissimo fu dopo il 1965 in tutto il mondo il numero delle correzioni del dotto di Botallo e della coartazione istmica dell'aorta, due operazioni che non abbisognavano di CEC, mentre i reinterventi su pazienti già operati per dotto di Botallo dimostrarono di essere correlati ad alto rischio di mortalità e complicazioni per cui fin dal 1959 G. Ross e Hubbard fecero ricorso nei reinterventi al cuore-polmoni artificiale.

I rari casi di *doppio arco aortico* (5 per mille sec. Abbott) furono tutti trattati chirurgicamente con rispetto del tratto retroesofageo e sezione tra due legature del tratto anteriore sinistro dell'anello vascolare. Il primo intervento di questo tipo fu effettuato da Gross nel 1945. La maggiore casistica mondiale pubblicata prima del 1964 fu appunto quella di Gross e Riker comportante una mortalità che oscillava tra il 24 e il 27%.

La *Coartazione istmica dell'Aorta* di tipo adulto (tipo I° dei cinque classificati da Lemmon e Bailey), caratterizzata da forte differenza di pressione arteriosa tra arti sup. e inf. consente uno sviluppo normale e una buona vita di relazione. Le complicanze più frequenti erano l'infezione da *Streptococcus Viridans* e quelle nervose e oculari. Furono descritti casi di rottura aortica sotto sforzi fisici ma seguiti da morte non imminente. La prima resezione della stenosi immediatamente seguita da anastomosi terminotermiale fu fatta da Crafoord nel 1944. In Italia Ceccarelli e Carlon furono tra i primi a eseguire con successo questo intervento (1957-1962). Alla fine degli anni '60 il totale di queste resezioni aveva superato nel mondo i 2000 casi con una mortalità contenuta tra 6 e 8%.

La *pervietà del setto interventricolare* e la *persistenza del tronco arterioso* (ossia la fistola congenita tra arteria polmonare e bulbo aortico) trovarono soluzione chirurgica definitiva solo con interventi a cuore aperto in CEC. Tuttavia anche la prima chiusura di una fistola aortopolmonare fu effettuata da Gross con pieno successo ancora nel 1948 e senza l'ausilio della CEC, all'epoca non disponibile. Dopo il 1981 iniziò dal Giappone la tendenza ad operare le cardiopatie congenite nel lattante e ciò consentì di prevenire le resistenze polmonari che nel passare del tempo rendono inutile qualsiasi intervento chirurgico.

La **chirurgia delle coronarie** che è andata sviluppandosi rapidamente nel corso degli anni '60 e '70 dopo l'introduzione in diagnostica strumentale della pratica sistematica della coronarografia (C. Sones, 1958-1962) e il perfezionamento delle indicazioni al tipo di trattamento (E. Skirey, 1971), aveva in realtà avuto inizio già nel 1955 con la rivascolarizzazione indiretta del miocardio mediante *l'impianto dell'arteria mammaria sinistra nel tunnel miocardico* ideata da Vineberg e da Bigelow, modificata poi nel 1962 da Sewell. La rivascolarizzazione diretta delle coronarie studiata in chirurgia sperimentale dal canadese Murray nel 1952 e dall'americano Sauvage nel 1963 ebbe la sua prima applicazione clinica sull'uomo presso la Cleveland Clinic Foundation nel 1967 ad opera di R.G. Favaloro e fu seguita nel giro di quattro anni da ben 1756 ripetizioni dello stesso intervento in altrettanti pazienti con la stessa tecnica consistente in un *by-pass di vena safena* singolo o multiplo tra bulbo aortico e rami coronarici. Gli ottimi risultati denunciati nel 1971 dalla Cleveland Clinic Foundation (percentuali di mortalità contenute tra il 2,5% e il 4,5%) anche in pazienti con infarto miocardico in fase acuta e shock cardiogeno provocarono in tutto il mondo un fortissimo interesse. Ne seguì un ulteriore perfezionamento della tecnica operatoria e della strumentazione appositamente ideata per facilitarla, insieme ad un rapidissimo aumento degli ottimi risultati in tutti i paesi nei quali la rivascolarizzazione diretta si era affermata. Negli anni '80 e successivi si diffuse poi la tecnica della *dilatazione delle coronarie* con i cateteri arteriosi a palloncino ideati e usati per la prima volta da Gruntzig nel 1977. Contemporaneamente si moltiplicarono i reinterventi su esiti remoti e consolidati di by-pass per ostruzione dopo 5 anni del trapianto venoso (15% dei casi) che era risultato più frequente di quello arterioso con la mammaria

interna (5% dei casi). I reinterventi richiesero la preventiva e laboriosa liberazione del cuore dalle aderenze pericardiche e la preparazione dell'arteria toracica interna più adatta a sostituire il trapianto occluso. B.Lytle e F.Loop nel 1988 pubblicarono la tecnica e i risultati di questi reinterventi spesso condotti in ipotermia spinta (-20°C) e cardioplegia: furono trattati 1500 pazienti con una mortalità operatoria complessiva pari al 3.4%.

L'impossibilità di ottenere buoni risultati con la tecnica del trapianto singolo e multiplo nei pazienti con ateromatosi diffusa di tutto il circolo coronarico fece sviluppare la *endarterectomia delle coronarie*. Questa operazione era già stata eseguita per la prima volta nel 1956 da K.Absolon e coll. e da A. May sul cuore del cane. In quello stesso anno C.Bailey eseguì per primo sull'uomo la endarterectomia sulla coronaria discendente di sinistra con pieno successo usando una curette ideata da May. Nel 1957 gli inglesi W.Longmire e coll. pubblicarono cinque successi ottenuti in nove pazienti operati di endarterectomia della coronaria sinistra anteriore discendente e della coronaria destra incidendo le arterie direttamente sopra l'ateroma e senza l'ausilio della CEC. Nel 1961 D. Sabiston e A.Blalock pubblicarono una serie di cinque su sei pazienti sottoposti con successo a tromboendarterectomia della coronaria sinistra discendente. Nello stesso anno A.Senning fece seguire per la prima volta all'endarterectomia l'applicazione di un *patch* (innesto di un lembo di parete venosa sulla parete arteriosa incisa) per mantenere ampio il lume coronarico dopo la sua disostruzione. Nel 1964 D. Effler e coll., in CEC e ipotermia profonda, eseguirono con successo quattro endarterectomie seguite da applicazione di patch. Questa tecnica fu alternativamente criticata e rivalutata da molti cardiocirurghi. Nel 1967 P. Sawyer e collab. furono i primi a usare con successo – dapprima sperimentalmente e poi nell'uomo – l'endarterectomia coronarica con il getto di anidride carbonica previa incannulazione del vaso. Nel 1988 W.Keon e coll. dell'Ottawa Heart Institute pubblicarono una casistica di ben 1718 endarterectomie praticate tra il 1972 e il 1986 con strumenti da loro stessi disegnati completando gli interventi con l'applicazione di patch venosi: la mortalità fu del 6,5%, superiore del 2,5% rispetto alle maggiori casistiche mondiali di allora (Johnson e coll. 4731 operati e Liversay e coll. 3369 operati, ambedue con mortalità del 4,4%).

La conservazione della pervietà coronarica saggiata a distanza di 12 mesi risultò essere del 73%, dopo 5 anni del 62% e dopo 10 anni del 51% nella casistica di Keon. Nonostante la validità di questi risultati la tecnica che si impose definitivamente in tutto il mondo fu quella dei *by-pass venosi con arteria mammaria interna*. Nell'Europa continentale la endarterectomia delle coronarie in particolare non ebbe alcun sviluppo. La maggior scuola europea di cardiocirurgia, quella diretta a Parigi da Charles Dubost presso l'Hopital Broussais, impiegò solo il by-pass coronarico con una mortalità operatoria del 2,5% e una sopravvivenza complessiva degli operati compresa fra l'85% e il 90% dopo i 5 anni dall'intervento. Revisioni a 10 anni di distanza degli altissimi numeri di operati soprattutto nell'America del Nord (Canada e USA) e in Finlandia e Inghilterra dimostrarono che il 50% degli innesti venosi era occluso da processo aterosclerotico anche se l'80% dei sopravvissuti continuava a dimostrare paradossalmente un netto miglioramento funzionale. Alcuni cardiocirurghi, sulla traccia lasciata da Favalord negli anni 1967-68, fecero ricorso per maggiore sicurezza ad ambedue le arterie mammarie interne su malati con lesioni aterosclerotiche diffuse in altri settori vascolari.

Le indicazioni operatorie al by-pass furono così definite da Dubost nel 1989: "*stenosi del tronco comune della coronaria sinistra, stenosi bitroncolare, angor invalidante, sindrome di rischio.*" Particolarmente indicati per la dilatazione transluminale con palloncino di Gruntzig sarebbero state per Dubost le ostruzioni ateromatose all'origine della interventricolare anteriore o del ramo destro.

Cura chirurgica dei **Disturbi del Ritmo cardiaco**

Gli stimolatori cardiaci (*Pacemaker*) hanno avuto il loro precursore nello stimolatore esterno usato per la prima volta nel **1952** da P.Zoll per trattare un caso di sindrome di Adams-Stokes (blocco completo atrioventricolare); poi, a partire dal **1957**, con la stimolazione a diretto contatto del miocardio (W.Weirich), con i primi pace-makers transistorizzati impiantabili azionati da pile di lunga durata nel 1960 (W.Chardack e coll.) e infine con i pacemakers fisiologici degli **anni '80** (R.Sutton e coll; I.Kruse e coll; P.Kowey e coll.), le indicazioni all'impiego di questi stimolatori cardiaci si allargarono molto. Limitate dapprima al solo blocco atrioventricolare acquisito esse infatti si estesero nell'arco di vent'anni al blocco atrioventricolare congenito, alle disfunzioni del nodo del seno, al blocco trifascicolare, alla fibrillazione atriale accompagnata da risposta ventricolare lenta, alla sincope da seno carotideo, alla bradiaritmia da farmaci essenziali per la cura di una tachiaritmia. Una volta svanita nel 1970 la possibilità di impiegare generatori a isotopi radioattivi (Laurens), quelli che si imposero furono i generatori a pile al litio che assicuravano una durata da 5 a 10 anni, un tempo di esaurimento sufficientemente lento da consentire il suo frequente controllo fin quasi al totale esaurimento della carica. Oltre il 90% dei pacemaker veniva impiantato per via endovenosa attraverso la giugulare esterna destra controllando la posizione nel ventricolo o nell'atrio destro della estremità rugosa dell'elettrodo nel caso di pacemaker a doppia camera. Questi pacemaker a doppia camera entrarono nell'uso clinico nell'anno 1980 per la loro molteplice funzionalità e per tale motivo furono definiti *fisiologici*. Infatti essi rispondono agli aumenti di richiesta metabolica preservando la sincronia atrioventricolare, assicurano un aumento di durata dello sforzo e della gittata cardiaca e impediscono che si verifichi la cosiddetta "sindrome da pace-maker" che consiste in caduta della pressione sistolica all'inizio dello stimolo ventricolare.

Questa importante evoluzione clinica nel settore delle cardiopatie trattabili con i nuovi pacemaker fu possibile grazie ai progressi dell'elettronica, che consentì la miniaturizzazione e il funzionamento su richiesta degli stimolatori cardiaci di fine secolo XX.

A queste conquiste tecniche va anche ascritta la tecnica della "*stimolazione cardiaca temporanea*" in pazienti ospedalizzati nel quadro di una serie di indicazioni non ancora del tutto completato alla fine del Novecento. Tra queste indicazioni merita di essere citata la profilassi di alti gradi di blocco atrioventricolare nell'infarto miocardico (L.Resnekov,1978), nel corso di un trattamento antiaritmico in pazienti affetti da una grave malattia della conduzione (M.Rosen e coll.,1975), la prevenzione di un grave blocco atrioventricolare in pazienti chirurgici con blocco di branca destra e deviazione dell'asse sinistro (J.Pastore e coll. 1978) e come terapia d'urgenza in casi di tachicardia sopraventricolare o ventricolare ribelli al trattamento medico.

Negli USA, dove oltre 500.000 casi di morte cardiaca improvvisa furono riconosciuti imputabili per il 75-85% a *tachiaritmia ventricolare* (fibrillazione ventricolare) recidivante questa malattia fu studiata sperimentalmente alla fine degli anni '70 e fu trattata per la prima volta nell'uomo da G.**Giraudon** nell'anno **1978** con la **endocardiectomia** circolare a metà altezza del ventricolo sinistro.L'indicazione alla cura chirurgica a cuore aperto di questa grave e pericolosissima malattia fu definita nel 1985 da L.Wetstein e coll. della cardiocirurgia di Richmond (Virginia-USA) come riservata ai seguenti gruppi di pazienti: 1°- pazienti con tachicardia ventricolare che non risponde né clinicamente né in corso di esami elettrofisiologici agli usuali farmaci antiaritmici e a quelli ancora in sperimentazione 2°- pazienti che hanno subito effetti collaterali insopportabili dall'uso di farmaci antiaritmici 3°- pazienti destinati a by-pass coronarici per alterazioni anatomiche del circolo coronarico o per sintomatologia di angina pectoris.

Questo tipo di chirurgia dell'endocardio fu perfezionato nei primi anni '80 con l'identificazione elettrofisiologica preoperatoria del sito dal quale origina la tachicardia. Questa mappa endocardica eseguita con cateterismo dei due ventricoli e del seno coronario veniva ripetuta nel ventricolo sinistro a cuore aperto per eseguire con la massima esattezza possibile la escissione di un lembo di endocardio secondo il metodo proposto e praticato per la prima volta da A.**Harken** nel **1979**. Il principio anatomopatologico che sta alla base dell'operazione di Harken consiste nel fatto che la zona del *focus* endocardico da cui nasce la tachicardia ventricolare è sempre una cicatrice che deve essere completamente asportata se si vuole ottenere l'abolizione del ripetersi della tachicardia. Il risultato veniva controllato sul campo con la stimolazione elettrofisiologica prima e dopo l'endocardiectomia.

T.Grayboys nel riportare i risultati a distanza dell'operazione di Giraudon su 23 pazienti denunciava nel 1982 il 9% di mortalità e il 19% di recidive di tachicardia ventricolare. Harken e coll. su 107 operati con la loro tecnica di endocardiectomia parziale e mirata riferirono dati analoghi in un controllo eseguito a distanze di tempo variabili da 1 mese a 5 anni e mezzo (9% di mortalità e 18% di recidive). Nel 1982 J.Moran e coll. della Northwestern University pubblicarono i risultati dell'intervento di endocardiectomia completa e di asportazione di tutte le aree cicatriziali visibili in 40 malati ottenendo un 92% di risultati ottimi e stabili mentre i casi di recidiva erano ridiventati trattabili con la cura medica. Nel 1984 R.Landymore e coll. nel riferire i risultati in 10 pazienti nei quali avevano eseguito la sezione circolare dell'endocardio sec. Giraudon associandola alla asportazione parziale e mirata di alcune aree cicatriziali sec. Harken denunciarono ottimi risultati stabili a 17,3 mesi di distanza dall'operazione in assenza di mortalità operatoria e con due operati deceduti a distanza di tempo per cause diverse dalla tachiaritmia ventricolare.

Un altro metodo applicato per la prima volta nell'uomo nel **1978** da J.**Gallagher** e, in seguito, da altri chirurghi americani in pochissimi casi di tachiaritmia ventricolare ribelle alle cure mediche fu quella della **criochirurgia a -60°C** per eliminare il *focus* ventricolare responsabile della pericolosa malattia. I risultati furono promettenti ma il metodo non si era ancora diffuso nel corso degli anni '80 e l'A. di queste pagine non è riuscito a trovare traccia di un seguito nei restanti anni finali del XX secolo.

Come utile complemento a questa chirurgia della tachiaritmia ventricolare non trattabile con le cure mediche, fu proposta nel 1985 da Wetstein l'associazione all'**impianto del defibrillatore automatico** inventato e messo a punto nel **1980** da M.**Mirowski** e coll. della John Hopkins University di New York. Lo stesso Mirowski nel 1983 aveva pubblicato i risultati a distanza di 14 mesi dell'impianto del suo defibrillatore in 15 pazienti che erano sopravvissuti a gravi attacchi di fibrillazione ventricolare recidivanti. L'apparecchio fece cessare ben 81 su 99 attacchi di tachiaritmia. I casi di morte risultarono dovuti a infarto miocardico o ad insufficienza miocardica e non a tachiaritmia.

Wetstein e coll. lasciarono scritto nel 1985: "...la cura chirurgica ottimale delle tachiaritmie ventricolari ribelli alle cure mediche non è stata ancora descritta. Per questo motivo ogni singolo caso sarà studiato e curato in modo diverso a seconda dell'anatomia, delle condizioni generali e del meccanismo dell'aritmia di ogni paziente".

Anche le *tachiaritmie sopraventricolari* (o atriali) furono oggetto negli USA di diversi tentativi di cura chirurgica quando non cedevano alle cure mediche minacciando seriamente la sopravvivenza. Le categorie dominabili chirurgicamente furono quelle contrassegnate da un caotico e continuo rientro di impulsi elettrici all'interno del muscolo cardiaco atriale e quelle sostenute da una attività ectopica automatica. Un esempio classico del primo gruppo è rappresentato dalla sindrome di Wolff-Parkinson-White (WPW) nella quale avviene un maxirientro dal fascio di His alla muscolatura atriale attraverso una via atrioventricolare accessoria. A.Allessie e coll., che hanno studiato a fondo questo

movimento circolare dimostrarono nel 1977 ch'esso può anche essere indipendente dall'esistenza di una via accessoria essendo sufficienti piccole aree di lesione miocardica per funzionare da vie accessorie di rientro. Il mappaggio con indagini elettrofisiologiche servendosi di elettrodi multipli si dimostrò essenziale per una identificazione preoperatoria delle vie di rientro e dei *foci*. Boineau e coll. dimostrarono nel 1977 che alla mappa preoperatoria doveva fare riscontro quella intraoperatoria.

Le possibilità chirurgiche attuate a partire dal primo caso di WPW operato con successo da W. Sealy nel 1968 e poi perfezionate e messe a punto nel 1985 da P. Smith e coll. consistevano allora in quattro procedimenti distinti: 1°- ablazione del circuito di rientro (terapia ideale per la WPW) 2°- asportazione di un *focus* aritmogeno automatico 3°- isolamento elettrico di un *focus* o di una via di rientro dal resto del cuore 4°- modificazione o interruzione della conduzione atrioventricolare.

Nella casistica della Duke University di Durham (North Carolina-USA) i primi 200 pazienti operati per sindrome di WPW ottennero piena guarigione dal 77% al 94% dei casi a seconda del tipo di circuito di rientro e gli ultimi 67 pazienti guarirono nel 99% dei casi.

Tra 1982 e 1985 W.Holman e coll. del centro cardiocirurgico di Durham pubblicarono quattro volte di seguito i dati clinici della loro esperienza maturata con la crioasportazione di una parte del circuito di rientro nella regione perinodale utilizzando per individuarla stimolazioni retrograde dalla parete ventricolare alla parete atriale. Il primo cardiocirurgo che impiegò la **crioablazione** nella parte bassa del **setto interatriale** fu nel 1979 E.Pritchett, mentre P. Coumel nel 1973 aveva riportato per primo un caso di guarigione di tachiaritmia atriale ectopica ottenuto asportando il *focus* ectopico. Negli anni successivi furono pubblicati fino al 1985 altri casi singoli operati con la stessa tecnica ottenendo piena guarigione (C.Wyndham e coll 1980; M.Josephson e coll. 1982; K.Anderson e coll. 1982; L. Giorgi e coll. 1984; J. Ulsson e coll. 1984).

Un particolare interesse ha risvegliato tra i cardiocirurghi americani lo sviluppo di una tecnica di **isolamento atriale sinistro** da utilizzare quando il *focus* ectopico è localizzato nell'atrio sinistro ma davanti all'impossibilità di identificarlo intraoperatoriamente. Lo studio preparatorio sperimentale di questo intervento fu fatto da J.Williams e coll. nel 1980 e la tecnica consisteva nel prolungare la normale incisione nell'atrio sinistro fino in vicinanza della valvola mitrale subito a sinistra del trigono fibroso destro; seguivano la dissezione del seno coronario dalle sue connessioni muscolari interatriali a livello dell'anello fibroso e la crioablazione nella regione del seno coronario. Il primo caso operato nel centro cardiologico di Durham con questa nuova tecnica porta la data del dicembre 1982. A conclusione di queste esperienze P.Smith nel 1985 scriveva: *"...il trattamento chirurgico delle tachiaritmie sopraventricolari dal suo inizio nel 1968 ad oggi ha subito una grande evoluzione e ora la sindrome di WPW, il rientro al nodo atrioventricolare e i foci ectopici atriali possono essere localizzati e sottoposti tutti a correzione chirurgica evitando una terapia medica vita natural durante e...il futuro della chirurgia elettrofisiologica nel trattamento di queste forme di tachiaritmia sopraventricolare sarà contrassegnata dalla elaborazione di tecniche più perfezionate e dalla loro applicazione anche a forme di aritmia che cominciano solo ora ad essere conosciute in modo più approfondito."*

Nel 1864 il chirurgo inglese C.H.Moore infilò un sottile filo metallico nel lume di un **Aneurisma dell'Aorta Toracica** da lui definito "non altrimenti curabile" nella speranza che potesse provocare la formazione di un trombo e che l'organizzazione connettivale di questo potesse prevenire la rottura e la morte del paziente. In Italia nel 1879 Corradi – a quanto riportato da R. Matas nel 1903 – applicò la corrente elettrica ad un filo metallico infilato in un aneurisma dell'aorta toracica con il medesimo intento di Moore. Nel 1902 T.Tuffier in Francia legò il colletto di un aneurisma sacciforme dell'arco aortico e asportò

l'aneurisma. Il paziente morì in tredicesima giornata del postoperatorio. Nell'anno 1910 F.Sauerbruch mentre operava un malato con diagnosi di tumore mediastinico si trovò ad aprire un aneurisma del cuore, provvide ad asportare l'aneurisma e a suturare i lembi muscolari sani del cuore. Il paziente era in buono stato di salute quattro anni dopo questa operazione. Anche Alton Ochsner nel 1944 mentre stava operando un paziente per tumore mediastinico si trovò davanti ad un aneurisma sacciforme della grande curva dell'arco aortico. Liberando l'aneurisma dal polmone che gli era adeso l'aneurisma cominciò a sanguinare. Applicata una pinza alla base della dilatazione aneurismatica questa fu asportata e una sutura da materassaio a punti staccati sotto la presa della pinza fu sufficiente a dominare la situazione. Il paziente era ancora vivo nel 1966.

Sempre nel 1944 J.Alexander e F.X.Byron asportarono anch'essi un aneurisma sacculare dell'aorta in presenza di una coartazione aortica. Il paziente morì a distanza di un anno per emorragia cerebrale. Nel 1948 D.Cooley e M.De Bakey avvolsero un foglio di cellophane sterile intorno ad un aneurisma aortico ma il paziente morì due mesi dopo per emorragia. Nel 1953 gli stessi AA praticarono per la prima volta la resezione di un tratto dell'aorta ascendente rimpiazzandolo con una protesi vascolare ottenendo pieno successo. L'anno dopo H.Shumacker e C.Hufnagel, indipendentemente, usarono innesti di protesi vascolari per rimpiazzare tratti di aorta ascendente aneurismatica.

La necessità di resecare il tratto di aorta affetto da aneurisma fusiforme in fase di minaccia di rottura obbligò i chirurghi degli ultimi anni cinquanta a programmare l'atto chirurgico in modo che il tempo più importante e preliminare fosse quello di provvedere tramite protesi vascolari a mantenere valida l'irrorazione arteriosa di collo, faccia, cervello, midollo spinale, fegato, reni e arti superiori e inferiori per ovviare alla interruzione temporanea della connessione con il cuore. Si trattava – e si tratta tuttora – di interventi molto lunghi e complessi che mettevano e mettono a dura prova le capacità tecniche dei cardiocirurghi e dei chirurghi vascolari. La casistica più importante alla fine degli anni '50 era quella di De Bakey (83 casi) il quale denunciava nel 1958 una mortalità del 28% negli aneurismi sacciformi e del 75% in quelli fusiformi dell'aorta ascendente e del suo arco.

La chirurgia dell'**Aneurisma dissecante dell'aorta** ebbe inizio ad opera dei chirurghi americani D.Gurin, J.Bulmer e R. Derby a New York nel 1935. In Inghilterra nel 1956 W.Swann e J.Bradsher diedero notizia del successo ottenuto con la cura chirurgica di un caso di aneurisma dissecante dell'aorta. Nel 1961 M. De Bakey e coll., che avevano cominciato a interessarsi a questa patologia già nel 1955, pubblicarono l'analisi di 72 casi di aneurisma aortico dissecante sottoposti a cura chirurgica. Dall'esame della letteratura medica si rileva comunque che solo dal **1964** in poi la chirurgia divenne il trattamento di routine per questa affezione grazie all'opera dei chirurghi svedesi H.**Sorenson** e H.**Olsen** e degli americani M.**Wheat** e collaboratori. In seguito il miglioramento delle conoscenze anatomo-patologiche e delle tecniche diagnostiche pre- e peroperatorie permise di realizzare nel decennio 1975-1985 un protocollo di cura razionale con percentuali di mortalità operatoria nettamente inferiori a quelle del decennio precedente.

Dopo la prima classificazione di De Bakey del 1961 che distingueva tre tipi anatomoclinici di dissezione, i primi due dei quali a carico dell'arco aortico e il terzo sotto l'origine della succlavia di sinistra, si andò affermando la classificazione semplificata di Daily del 1970 che distingueva un tipo A che interessa l'arco aortico indipendentemente dall'altezza della lacerazione dell'intima e un tipo B che comprende gli aneurismi dissecanti che si formano sotto la succlavia di sinistra. Gli aneurismi di tipo A colpiscono preferibilmente soggetti giovani senza anamnesi di ipertensione arteriosa, mentre il contrario vale per quelli di tipo B. La mortalità media in assenza di cura degli aneurismi dissecanti di tipo A in fase acuta oscillava tra 90 e 95%, quella degli aneurismi di tipo B era del 40%. L'altissima

percentuale del tipo A era in massima parte dovuta alla rottura dell'aneurisma nel sacco pericardico e conseguente morte per tamponamento cardiaco (M.Ergin).

Il metodo diagnostico non invasivo più utile nei casi acuti è l'immediata esecuzione della TAC che svela con esattezza e alta definizione d'immagine l'estensione dell'aneurisma, il falso lume tra tunica intima e tunica media e lo spessore del lembo intinale. Il metodo diagnostico definitivo è quello dell'angiografia con mezzo di contrasto attraverso catetere inserito nella femorale o nell'arteria omerale. L'apporto diagnostico di questo secondo esame si è dimostrato indispensabile per un esatto programma chirurgico specialmente nei casi di dissezione complessa della parete aortica. Nel corso degli anni '80 si affermò la tendenza ad operare tutti i casi di aneurisma dissecante A e B in fase acuta previo un percorso diagnostico clinico e strumentale più veloce possibile e sotto monitoraggio continuo della pressione arteriosa e degli altri parametri vitali nonché sotto infusione continua di ipotensivi mantenendo la pressione arteriosa più bassa compatibile con la perfusione degli organi vitali. La riparazione chirurgica condotta in CEC si basò sull'utilizzo di protesi di dacron. La mortalità operatoria denunciata nel corso degli anni '80 da diversi cardiocirurghi (D.Miller 1983; J.Cacher e coll. 1981; W.Wolfe 1980; M.Ergin e coll.1985) era compresa tra l'8 e il 20% negli aneurismi di tipo A e pari al 13% in quelli del tipo B.

CHIRURGIA VASCOLARE PERIFERICA

Anche la **chirurgia degli Aneurismi dell'Aorta Addominale**, la cui indicazione alla cura chirurgica fu definita negli anni '80 come imperiosa nei diametri superiori ai 5 cm. si avvale di un ampio uso di protesi di teflon. In particolare, mentre i risultati della cura chirurgica d'urgenza in fase di rottura, erano penalizzati da una elevata mortalità (50%) ancora nei primi anni '90, l'operazione correttiva eseguita in elezione dava risultati più che soddisfacenti (superiori all'80%).

In realtà anche se i tentativi di curare gli aneurismi dell'aorta addominale furono eseguiti più volte fino agli anni '50 (A.Blakemore 1951) inserendo nell'aorta dilatata fili collegati a un generatore di elettricità secondo il vecchio procedimento di Corradi (1879) nella speranza di riempire la sacca aneurismatica di trombi, il primo intervento a lume aortico aperto fu eseguito nel **1951** da Charles **Dubost** che usò per la riparazione un'aorta di cadavere mentre la prima operazione con innesto di protesi vascolare porta la firma del chirurgo inglese Charles Rob di Londra, nell'anno 1954.

La tecnica operatoria andò poi raffinandosi fino a raggiungere un *optimum* verso la metà degli anni '60 con l'apertura longitudinale dell'aorta aneurismatica, l'inserzione dell'innesto e sua fissazione alle due estremità prossimale e distale e infine con la ricopertura del tutto con la parete anteriore dell'aneurisma legata intorno all'innesto previo adattamento dei lembi. Nel 1984 G.Lemole e coll. – e l'anno successivo M.Goddard e coll. – eliminarono le due suture dell'innesto a monte e a valle affidandosi semplicemente alla copertura a tenuta stagna del trapianto con la parete anteriore dell'aneurisma ribattutagli al di sopra, un'operazione questa molto più veloce (17') con perdita di sangue minima. La sua esecuzione si dimostrò particolarmente utile nei casi di rottura aneurismatica e soprattutto quando l'aneurisma interessava l'aorta soprarrenale.

Dopo che C.T.Dotter rese pubblica la proposta di applicare una protesi endovascolare di acciaio inox introdotta nel lume dell'aorta addominale dal basso attraverso l'arteria poplitea, diversi AA elaborarono nuovi tipi di protesi e nuovi metodi di fissazione delle stesse introdotte per via endoarteriosa dal basso: essi furono M.Choudhury nel 1979, E.Kornberg nel 1986, A.Balko nello stesso anno, H.Lazarus nel 1988 e nel medesimo anno anche i giapponesi M.Matsumae e coll., D.Mirich e coll. nel 1989, J.Parod nel 1991. Quest'ultimo effettuò con successo la prima applicazione nell'uomo della protesi

endoluminale nell'aneurisma aortico per via transfemorale (4 casi di aneurisma aterosclerotico e 1 caso di aneurisma dissecante).

Da allora fino a tutto il 1992 e oltre, gli studi sperimentali volti alla ricerca e alla messa a punto di una tecnica di innesto protesico endoluminale con la sua inserzione per via transfemorale si sono succeduti a tamburo battente, essendo però rimasti ancora irrisolti parecchi problemi come la possibilità di embolia e di occlusione degli orifizi dell'arteria mesenterica inferiore e delle arterie lombari, lo spessore obbligatoriamente molto sottile della parete della protesi per facilitarne l'introduzione per via transfemorale a cielo coperto e conseguentemente la sua possibile dilatazione successiva, lo spostamento della protesi con possibilità di provocare occlusione acuta delle arterie renali e iliache. Buona parte di questi e di altri problemi furono risolti negli ultimi anni del XX secolo ma al volgere della sua fine la tecnica operatoria più usata per la cura dell'aneurisma dell'aorta addominale era ancora quella con accesso addominale a cielo aperto consolidatasi ormai sulla base di una vastissima esperienza in tutto il mondo nel corso dell'ultimo trentennio.

La chirurgia delle **arterie periferiche ostruite dall'aterosclerosi** (asse iliaco-femorale e asse femoropopliteo), pur avendo avuto i suoi tentativi iniziali di cura fatti da A.Carrel nel primo decennio del Novecento, da J.Goyanes che nel 1906 praticò la sostituzione detta "plastica" dell'arteria ostruita con una vena, da J.Janu nel 1912 e P.Delbet nel 1906 che eseguirono la trombectomia disobliterante, tentativi tutti falliti a causa della trombosi sempre recidivante, trovò la prima soluzione positiva con la **tromboendarterectomia** sotto copertura eparinica eseguita in Portogallo il 28 Agosto **1946** da **J.Cid dos Santos** che fu il primo chirurgo ad usare l'**eparina** per rendere possibile qualsiasi intervento chirurgico endovascolare.

Nel 1949 il francese L.Bazy e un anno prima il suo connazionale R.Lérique pubblicarono le prime casistiche di tromboendarterectomie seguite da successo terapeutico. In America la prima scuola chirurgica che impiegò questo intervento fu quella dell'Università della California nelle persone dei chirurghi Jack Wylie, N.E.Freeman e F.H.Leeds negli anni 1951 e 1952. Tre anni dopo J. Cannon e W.Barker pubblicarono i buoni risultati ottenuti con la tromboendarterectomia del tratto femoro-popliteo con un metodo semiaperto usando uno stripper ad ansa di loro invenzione. Nel 1965 T.Inahara propose una variante tecnica che consisteva, una volta incisa la parete anteriore del vaso, nel rovesciamento della parete arteriosa così da poter rimuovere sotto il completo dominio della vista tutta la produzione ateromatosa che ostruisce il lume e a questo intervento venne dato il nome di "*eversion endarterectomy*". Questo metodo fu ulteriormente perfezionato dallo stesso autore che lo applicò con accesso extraperitoneale all'arteria iliaca e femorale interessata unilateralmente dall'ostruzione. J.Harrison e collaboratori nel 1967 associarono il metodo Inahara allo *stripping* semichiuso. La tromboendarterectomia di S.Sobel e coll. dell'anno 1966, che si avvaleva della dissezione con getto di anidride carbonica introdotto nella parete arteriosa sotto pressione incontrò difficoltà ad essere accettata dagli altri chirurghi vascolari e fu abbandonata per l'impossibilità di controllare l'estensione della dissezione parietale operata dal gas.

Nel 1980 E.Lerwick introdusse uno *stripping* con ansa mossa in modo oscillante dall'aria compressa; l'effetto pulente era stato ispirato all'autore dall'osservazione del moto oscillante dello spazzolino da denti elettrico. Purtroppo questo ingegnoso metodo fu reso pubblico nel 1985 quando ormai era già nato e si stava rapidamente diffondendo il *bypass* venoso autogeno di cui tratteremo più avanti. La serie più tarda di tromboendarterectomie eseguite con la tecnica semichiusa e controllate a 5 e più anni di distanza fu quella pubblicata da P.Walker e coll. nel 1981: su un totale di 119 operati la percentuale di successi era molto vicina a quella ottenuta negli stessi anni da altri chirurghi con i *bypass* di vena safena tanto che gli AA ne traevano la seguente conclusione: "...in assenza di una

vena safena disponibile, l'endarterectomia rimane un valido mezzo di rivascolarizzazione d'un arto in pazienti affetti da aterosclerosi ostruttiva femoropoplitea". Ronald Stoney direttore della Chirurgia Vascolare dell'Università di California, riassumendo l'apporto tecnico-curativo che la tromboendarterectomia aveva dato negli ultimi quaranta anni del Novecento ritenne, nel 1992, di poter affermare che "...tutti gli interventi vascolari, endarterectomie, innesti e nuove operazioni endovascolari non avrebbero trovato sviluppo se non si fosse capita la tolleranza che l'intima vascolare dell'uomo oppone al trauma. La tromboendarterectomia, fondamento della rivascolarizzazione chirurgica delle arterie occluse, ha fatto scoprire i misteri delle trombosi recidivanti dopo l'operazione correttiva. Se si tengono presenti questi fatti di importanza fondamentale, la tromboendarterectomia avrà un posto duraturo nella vasta disciplina delle malattie vascolari e della loro terapia." Quanto esposto finora induce a richiamare la storia dell'*angioplastica percutanea transluminale* e delle *protesi vascolari* applicate alla cura delle arteriopatie obliteranti periferiche e delle ostruzioni venose.

La prima applicazione di una **protesi endovascolare** per via transpoplitea sulla guida di un catetere sotto controllo radioscopico fu fatta da C.T.**Dotter nel 1964** come abbiamo già ricordato ma le limitazioni di carattere tecnico e lo scarso interesse per l'angioplastica transluminale percutanea (definizione tecnica proposta dallo stesso Dotter) non consentirono in America alcun sviluppo di essa fino all'anno 1983, quando Cragg e Dotter ripresero una vigorosa ricerca sperimentale. In Europa invece già nel **1977** l'inglese A.**Gruntzig** e collaboratori applicarono un **catetere a doppio lume e palloncino gonfiabile**, da loro stessi ideato nel 1972, **nelle arterie** coronarie e in quelle di molti altri distretti arteriosi. Anche l'inglese D. Cumberland negli anni 1982 e 1983 pubblicò due serie di casi operati con la dilatazione tramite cateteri a palloncino di arterie coronarie e renali. Nell'esecuzione di questa manovra la tonaca intima veniva fissurata e rotta mentre la tunica media subiva una sovradistensione tanto da creare un'interruzione multipla e permanente del tessuto elastico e di quello muscolare liscio. M.Hoffman, che nel 1981 pubblicò un suo studio anatomopatologico di queste lesioni provocate dal palloncino a distanza dall'intervento, descrisse una guarigione delle lesioni parietali con produzione di tessuto connettivo fibroso che però non riportava più il diametro del vaso arterioso al grado di stenosi esistente prima della dilatazione.

Nel 1982 Brooke Roberts ed Ernst Ring, chirurghi vascolari dell'Università di Pennsylvania a Philadelphia, di fronte all'estendersi della pratica dell'**angioplastica transluminale percutanea**, esaminarono in modo esaustivo la fisiopatologia della dilatazione forzata, i vantaggi e gli svantaggi del nuovo metodo di cura, i criteri generali per individuare quali erano i vasi suscettibili di buoni risultati con questa tecnica di angioplastica e le relative complicazioni. Le loro conclusioni furono le seguenti: "...è ancora troppo presto per poter essere sicuri di quale sarà il posto che occuperà in definitiva questo tipo di cura nel trattamento in generale della malattia vascolare perché la metodica è tuttora in fase di diffusione e non sono ancora noti i risultati a forte distanza. Se comparata alla cura chirurgica a cielo aperto essa presenta indubbi vantaggi anche se la durata dell'effetto curativo sembra essere minore. Noi riteniamo che ciò a cui si assiste attualmente ha già acquisito un posto nell'armamentario terapeutico di ogni centro di terapia delle malattie dei vasi periferici."

Nel 1984 Andrey Wilson e James Fuchs, rispettivamente insegnanti di radiologia e di chirurgia alla Duke University di Durham in North Carolina (USA) pubblicarono uno studio molto ampio sull'angioplastica percutanea transluminale corredandolo con una completa revisione delle varianti tecniche, delle indicazioni, delle complicanze e dei risultati di molte casistiche americane ed europee riguardanti i vari distretti arteriosi di applicazione di questo tipo di cura delle stenosi e ostruzioni arteriose da aterosclerosi e da altre forme morbose più rare. Questi AA confermarono quanto già segnalato da J.Alpert

quattro anni prima, e cioè che l'ostruzione che meglio risponde alla angioplastica con il palloncino di Gruntzig è quella lunga meno di 5 cm. e di tipo concentrico in arterie di medio e grande calibro, che le stenosi post-trapianto rispondono bene come quelle primitive da aterosclerosi, che ottimi risultati si possono ottenere ricanalizzando le arterie renali, il tronco celiaco e le arterie mesenteriche, che non c'è controindicazione a ripetere il trattamento. Anche i trapianti di vena safena sulle arterie coronarie avevano risposto bene alla dilatazione (Alpert 1979; A. Zajko e coll.1981). Nell'arco di 5 anni – tra 1979 e 1984 - l'angioplastica aveva completamente rivoluzionato gli schemi di terapia delle lesioni ostruttive arteriose da aterosclerosi. I confronti con la chirurgia a cielo aperto rivelarono risultati perfettamente sovrapponibili a tre e a cinque anni di distanza dall'intervento quando si trattava delle arterie iliache ma con qualche differenza nel caso del tratto femoropopliteo. Ottimi risultati furono anche ottenuti con la dilatazione delle arterie vertebrali nei pazienti affetti da insufficienza vertebrobasilare da A. Motarjeme e collaboratori che li resero noti nel 1982.

L'ipertensione da displasia fibromuscolare delle arterie renali e l'ostruzione aterosclerotica delle stesse, trattate con l'angioplastica dilatante percutanea, mostrarono nel primo caso un 40% di guarigioni stabili e un 50% di miglioramenti, nel secondo caso invece i risultati variavano in base ai differenti criteri di selezione dei pazienti da parte dei singoli AA e alla durata della malattia.

Nei primi anni '90 l'angioplastica dilatante fu in parte sostituita dall'avvento degli **stents intravascolari**, protesi dilatanti che venivano applicate all'interno del vaso ostruito per superare le due principali limitazioni della tecnica dilatativa, la vasta dissezione dell'intima e la scarsa ripresa del tessuto elastico, fenomeni peraltro contenuti nell'1-2% delle angioplastiche periferiche e nel 4-5% di quelle coronariche. Gli stents endovascolari con la loro permanenza *sine die* nella sede della loro applicazione impedivano infatti l'effetto di ripresa dell'elasticità parietale del vaso arterioso e creavano un canale rotondo che veniva ritappizzato da endotelio nell'arco di 4-6 settimane. Gli stents inventati ed entrati in produzione erano di due tipi, quelli a palloncino espansibile e gli autoespansibili. Infatti dal 1988 fino al 1995 fu tutto un fiorire di stents di ogni tipo fra i quali molto impiegati furono i Wiktor-Medtronic a palloncino gonfiabile su struttura di tantalio e anche non metallica, i biodegradabili della Mayo Clinic, gli stent temporanei francesi Gaspard e quelli temporanei americani di Schlansky-Goldberg e Le Veen entrati in uso nel 1990, gli autoespansibili a palloncino di J.C.Palmaz che si dimostrarono particolarmente adatti per le stenosi aterosclerotiche delle a.iliache (1990).

Molti chirurghi vascolari con ampie casistiche pubblicarono già nel 1992 il 90-92% di ricanalizzazioni di arterie iliache completamente occluse con l'applicazione transluminale di stents autoespansibili tipo Palmaz e tipo Gianturco-Rubin. Dopo il 1992 furono proseguiti negli USA diversi *trials* clinici con modelli nuovi di stent come lo "Strecker tantalum stent" e il "Wallstent-Schneider" già impiegati in Europa da diversi anni: 45 pazienti operati da R.W.Günther e coll. nel periodo 1989-1991; casistiche di H.P.Rousseau e coll 1989; di C.L.Zollikofer e coll.1991.

Nell'ostruzione aterosclerotica del segmento femoropopliteo lo stent Wallstent fu di gran lunga il più usato con un 70% di pervietà arteriosa controllata a 6 mesi in un totale di 65 operati che era la somma delle casistiche di Rousseau, di Günther e di Zollikofer nel periodo 1989-1991.

Nelle ostruzioni delle arterie renali la letteratura medica mondiale riferiva negli anni '90 poco meno di 100 casi operati e controllati a distanza di 6 mesi e 2/3 di pervietà vascolari stabili a tale data. Negli USA fu data la preferenza agli stent di Palmaz. In Europa e in America del Nord i Wallstent fornirono però risultati lievemente migliori: oltre l'80% di pervietà del lume vascolare a 6 mesi.

Le ostruzioni da tumori maligni per schiacciamento della v.cava superiore furono trattati prevalentemente con l'applicazione transluminale della protesi endovascolare "Z" di Gianturco, ma furono applicati anche gli stent di Palmaz e i Wallstent. Il successo fu ottenuto nel 90-100% dei casi così trattati. Nel corso degli anni '90 gli stent autoespansibili furono impiegati per la prima volta in rari casi di ostruzione venosa di differente eziologia (stenosi post-fistola da dialisi; trombosi essenziale della vena ascellare o sindrome di Tagariello).

Nel 1986 la rivista medica americana JAMA pubblicò i dati del *Consensus Development Panel* sulla prevenzione della trombosi venosa e dell'embolia polmonare : da 300.000 a 600.000 casi l'anno di trombosi venosa profonda con un minimo di 50.000 morti da embolia polmonare. Da allora agli anni '90 molti progressi furono fatti con la terapia anticoagulante preventiva ma molto attiva fu anche la ricerca di mezzi atti a conseguire l'embolectomia della polmonare e la cura della malattia venosa tromboembolica.

La storia dell'**embolia polmonare** da distacco di trombi è complessa e ricca di dati in parte contrastanti e sicuri. Tra quelli più lontani citiamo qui il fatto che, a quanto riferito da P. Rosenstein nel 1917, John Hunter stesso nel Seicento avrebbe suggerito la legatura venosa e la trombectomia per prevenire la temibilissima embolia polmonare. Certamente Virchow fu nel 1856 il primo a descrivere compiutamente l'embolia polmonare nella sua espressione anatomopatologica e a riprodurla sperimentalmente. Nel 1868 il francese Trousseau si interessò della prevenzione dell'embolia e **nel 1908 F.Trendelenburg**, avendo notato che alcuni pazienti colpiti da embolia massiva della polmonare non morivano immediatamente per asfissia, descrisse per primo la tecnica operatoria che contemplava una toracotomia d'urgenza, arteriotomia della polmonare ed estrazione del trombo. Da allora in Germania molti chirurghi tentarono senza successo l'operazione di Trendelenburg finché nel **1924 M.Kirschner** pubblicò il primo caso di embolectomia perfettamente riuscito. Il celebre chirurgo americano Alton Ochsner nel 1966 ricordava ancora l'entusiasmo che scoppiò al Congresso della Società tedesca di Chirurgia a Berlino quando Kirschner lesse la sua comunicazione. Da allora in molti ospedali tedeschi fu sempre tenuto pronto un *set* di strumenti per l'operazione di Trendelenburg da usarsi con la massima urgenza davanti a un caso di embolia della polmonare: l'operazione veniva eseguita direttamente nella stanza di degenza del paziente colpito da embolia. Nel 1928 il chirurgo tedesco G.Nyström pubblicò tre casi curati con successo con l'operazione di Trendelenburg e nel 1933, durante una visita negli USA per motivi di studio, consigliò che era opportuna un'attesa armata fino al momento in cui la morte non fosse sembrata imminente. Nel 1932 J.H.Gibbon e collaboratori in una revisione della letteratura mondiale raccolsero 140 casi nei quali era stata tentata in extremis l'operazione di Trendelenburg con solo 9 successi. La proposta di **Gibbon** fu quella di applicare a questi pazienti un **ossigenatore extracorporeo** onde prolungare la loro vita tanto da permettere di eseguire una embolectomia con buone prospettive di guarigione. Nel 1934 Gibbon e sua moglie svilupparono il progetto dell'ossigenatore extracorporeo ma solo nel 1960 P.Allison e collaboratori poterono eseguire la prima embolectomia della polmonare con successo grazie all'ipotermia. L'anno seguente E.Sharp e, indipendentemente, D.Cooley e collaboratori eseguirono con successo l'embolectomia d'urgenza con l'ausilio di un *bypass cuore-polmoni*.

La **prevenzione**, già proposta da Rosenstein nel 1917, con legatura della cava inferiore e trombectomia rappresentava un passo avanti sulla legatura delle due a.ipogastriche e delle a.spermatiche praticate da Trendelenburg nei primi anni del secolo. Nel 1932 M.DeBakey e A.Ochsner sostennero a loro volta la legatura della cava inferiore e nel 1934 l'americano J.Homans propose la legatura della vena femorale dal lato affetto da flebotrombosi profonda. Nel 1970 A.Ochsner praticò per primo la legatura preventiva della v.cava inferiore e questo semplice intervento che mise a riparo dall'embolia polmonare i pazienti

affetti da flebotrombosi degli arti inferiori e delle vene del bacino, acquistò molta popolarità negli USA finché le percentuali di mortalità legate a questo intervento furono tali da lasciare spazio all'idea di sostituire la eccessiva radicalità della legatura della cava inferiore con un meccanismo di filtrazione o di interruzione parziale del flusso venoso nell'interno del grande collettore cavale mediante plicature da suture trapassanti e riduzione del lume applicando *clips* esterne, e altri accorgimenti simili ad opera dei seguenti autori: F.Spencer 1962; J.Adams 1966; Barkett e collaboratori 1969; D.Epstein e coll. 1989; J.Roehm e coll. 1988. Con questi accorgimenti la mortalità diminuì ma i danni a carico dell'intima della cava causarono conseguenze fastidiose compresa la necessità di dover reintervenire in un secondo tempo per via laparotomica.

In questa opera di profilassi antiembolica fu fatto un ulteriore passo avanti con l'introduzione transvenosa senza laparotomia di oggetti riducenti del lume cavale ad opera di P.Eichelster e collaboratori che già nel 1968 avevano proposto la via percutanea, realizzata poi con cateteri venosi a palloncino da K.Moser nel 1971 e, nel 1970, da J.Hunter. Un ulteriore progresso fu quello dell'**ombrello pluriforato di K.Mobin-Uddin** fatto di Silastic e provvisto di sei punte di acciaio inox orientate radialmente per fissare la protesi all'intima della cava inferiore. Nel 1975 furono esaminati i risultati a breve termine di 2215 applicazioni dell'ombrello di Mobin-Uddin che rivelarono solo un 3% di embolie polmonari recidive con lo 0,8% di mortalità. Altre serie successive (anni 1980-1984) fornirono invece dati contrastanti: embolie recidivanti nel 9-12% con elevata percentuale di mortalità. Inoltre, a distanza di tempo, venne lamentato un 53-65% di occlusioni definitive della cava. Tuttavia i vantaggi offerti dal metodo Mobin-Uddin sugli altri metodi della stessa epoca furono tali da consentirgli una notevole popolarità e una vasta diffusione.

Dal 1973, anno della sua prima apparizione sulla stampa specializzata, il **filtro di J. Greenfield**, costruito a forma di cono lungo 46 cm e ancorato alla parete venosa da sei uncini, progettato con un disegno geometrico atto a convogliare l'embolo nell'incavo del cono, divenne il modello standard sul quale furono fatti i raffronti con tutti gli altri filtri endovascolari inventati in seguito. I risultati dopo 12 anni di impiego diedero un 4% di embolie recidivanti e una persistenza di pervietà venosa del 95-98% su serie di 470 operati e oltre.

Fino al 1984 l'inserzione nell'albero venoso attraverso la v.femorale per la cava inferiore e attraverso la v.giugulare per la cava superiore fu fatta a cielo aperto; dopo tale data invece fu eseguita sempre per via percutanea adottando obbligatoriamente un dilatatore 26 Fr., manovra che comportò dal 30% al 40% di trombosi della zona venosa di inserimento transfemorale, complicanza che indirizzò a sostituire il filo d'acciaio inox con quello di tantalio molto più flessibile e inseribile con un sistema *carrier* di soli 12 Fr. Tuttavia il passaggio dal 4% al 30% di migrazione distale del filtro richiese una modifica degli uncini da parte dello stesso Greenfield nel 1989.

Il filtro a "nido d'uccello" di Roehm e coll., costruito con un incrocio multiplo di fili di acciaio e proposto nel 1984, fu controllato nel 1988 con venacavagrafia ed ecografia in 37 su 440 pazienti e già in un gruppo così modesto fu osservato un 19% di occlusioni della cava, un 3% di embolie recidivanti e alcuni casi di migrazione del filtro.

Altri filtri inseriti per via percutanea furono quello a cono di Amplatz applicato in posizione invertita rispetto al cono di Greenfield e di cui D.Epstein e coll. diedero notizia con una serie di 52 operati e un 21% di occlusioni del lume cavale a 11 mesi di distanza, il Nitinol-Filter costruito con una lega di nickel e titanio malleabile a freddo e rigido a temperatura corporea (M.Simm e coll.1989) e il Vena-Tech Filter fatto di Phynox, un materiale simile a quello usato per gli elettrodi temporanei di pacemaker e inserito per via giugulare con cateteri 12 Fr. Quest'ultimo filtro fu molto impiegato in Francia (100 pazienti di un trial multicentrico pubblicato da J.Ricco e coll. nel 1988) e i controlli a

distanza di un anno dimostrarono un 8% di occlusioni della cava, un 29% di edema persistente degli arti inferiori e la migrazione verso il basso tra il 4% (in sede surrenale) e il 9% (sotto le v.iliache).

Nel 1992 fu pubblicato un nuovo metodo sperimentato in Francia su 65 pazienti affetti da trombosi venosa profonda di una gamba nel 1990 (C.Therry e coll. 1990) e consistente in un filtro cavale temporaneo (4 giorni e mezzo di media) lasciando in situ in tale periodo il catetere percutaneo inserito nella v.femorale dell'altro lato e continuando una terapia trombolitica della gamba malata; questo metodo diede risultati poco incoraggianti: sepsi nel 15% degli operati necessità di trasfusioni di sangue nel 38%.

I pazienti che in corso di una flebotrombosi profonda rivelavano segni di scompenso emodinamico e ipossiemia persistente furono identificati come il sottogruppo a maggior rischio di embolia massiva dell'arteria polmonare o dei suoi due rami principali (embolia a cavaliere)

L'estrema variabilità delle percentuali di mortalità riferite in letteratura (dal 24% al 93%) e il fatto che, nell'intervallo di tempo compreso tra la prima ora e le prime sei ore dall'avvenuta embolia, la maggior parte dei pazienti che sopravvissero mostrarono di rispondere abbastanza bene al trattamento conservativo, fecero sì che il punto critico diventasse quello di saper prevedere quali sarebbero i pazienti che richiedevano assolutamente un intervento di embolectomia d'urgenza per sopravvivere.

Nei casi in cui si arrivò in tempo ad eseguire un'angiografia polmonare la scelta che si presentò negli ultimi anni del Novecento andava fatta fra le tre seguenti possibilità: la terapia trombolitica i cui *trials* non avevano però ancora fornito un netto prevalere dei casi di sopravvivenza rispetto agli altri metodi, comportando invece un 50% di complicanze emorragiche, l'embolectomia chirurgica a torace aperto con o senza l'ausilio della CEC che, a tutto il 1991, aveva dato il 58% di sopravvivenza su 537 operati in CEC e il 48% sugli operati senza CEC, l'embolectomia transvenosa attraverso catetere introdotto nella polmonare e munito di una coppetta radioopaca in punta; in questo metodo una siringa da 30 ml operava l'aspirazione in modo che la coppa attirasse e accogliesse il coagulo ostruente il lume dell'arteria polmonare. L'estrazione della coppetta e del coagulo era seguita da ulteriori manovre ripetitive di aspirazione e pulizia endoluminale del piccolo circolo. L'esperienza dimostrò che esiste una quantità critica di embolo sopra la quale il flusso sanguigno nel lume dell'a.polmonare è insufficiente. Una volta rimossa la quantità critica si assisteva immediatamente al rialzo della pressione sia nella polmonare che nel circolo sistemico. Prima di rimuovere l'accesso transvenoso Greenfield e collaboratori inserivano un filtro cavale come misura profilattica aggiuntiva. Nel 1982 questo chirurgo vascolare dell'università Ann Arbor del Michigan pubblicò la prima serie di 19 pazienti trattati in questo modo con il 73% di sopravvivenza. Nel 1991 aggiornò la serie aggiungendo 32 pazienti con il 78% di sopravvivenza. Negli ospedali che disponevano della possibilità di eseguire angiografie della polmonare in urgenza il metodo di Greenfield appariva alla fine del secolo il più efficace e il più rapido da eseguire anche se l'avvento in pieni anni novanta dell'ecografia endovascolare e dell'angioscopia polmonare facevano ipotizzare l'abbandono dell'angiografia, una migliore selezione dei pazienti e un perfezionamento ulteriore della tecnica di cateterismo.

Michael De Bakey e la sua scuola chirurgica dell'università di Houston (Texas, USA) furono i pionieri della **sostituzione di arterie ostruite da aterosclerosi** con minaccia di gangrena mediante **bypass e innesti vascolari** costruiti con filo di dacron intessuto come una maglia ad uncinetto. La ricerca sperimentale di De Bakey ebbe inizio nel 1953 con l'applicazione di omoinnesti arteriosi prelevati da cadavere e trattati con le basse temperature (-80°C) e liofilizzati dopo essere stati sottoposti a sterilizzazione con raggi gamma e con il betapropiolattone. L'evoluzione dell'innesto dimostrò una progressiva

scomparsa delle tre tuniche dell'arteria che venivano sostituite da tessuto fibroso fatta eccezione per la persistenza di tracce di tessuto elastico. Nel complesso questa evoluzione strutturale era ben lontana dalla reazione di rigetto che si era soliti osservare negli omotraspianti di altri tipi di tessuto e, del resto, lo stesso De Bakey poté constatare il funzionamento di omoinnesti che in alcuni casi superarono i 15 anni di sopravvivenza. Altre volte però la dissoluzione dei tessuti dell'omoinnesto avveniva in modo veloce e massiccio oppure si verificava una rapida produzione di ateromi che ostruivano presto il lume del bypass, ragion per cui nel 1965 De Bakey concludeva la sua esperienza con queste parole: *"...il destino finale di un omoinnesto è imprevedibile, esso va dall'occlusione e rapida alterazione al mantenimento della funzionalità per molto tempo"*. Anche gli eteroinnesti con arterie di maiale e di cavallo furono sperimentati dalla scuola di De Bakey e O.Creech ne pubblicò i risultati nel 1954: subito dopo l'impianto il funzionamento si dimostrava ottimo ma la reazione di rigetto era molto più intensa rispetto agli omoinnesti ed entro un anno tutti gli eteroinnesti cessarono di funzionare, tranne uno che rimase pervio per più di quattro anni. Nel 1965 De Bakey, nel notare che sugli eteroinnesti non era stata ancora detta l'ultima parola perché erano ancora in corso esperimenti volti a modificare le loro caratteristiche proteiche, concludeva che: *"...attualmente nessuno di questi metodi ha fatto migliorare questi innesti al punto da desiderarne l'impiego clinico, essi continuano ad essere inferiori agli innesti di materie plastiche che sono più facilmente prodotte e disponibili"*.

Le protesi in materia plastica rivelarono comportamenti molto diversi a seconda della materia impiegata: si andava da una intensa reazione tissutale fino alla sua completa assenza. Dopo aver provato tessuti di orlon, nylon, teflon e dacron la scelta definitiva si fermò sul **dacron** che mostrò sempre di comportarsi come una sostanza inerte. Fu constatato che anche nell'uomo, come già nel maiale e nel cane, la faccia interna dell'innesto veniva rapidamente coperta da endotelio neoformato tanto che bastava una settimana perché venisse interamente rivestito al suo interno un innesto di dacron lungo da 5 a 6 cm. Superati alcuni problemi dovuti al fenomeno della porosità dell'innesto, al deposito di lipidi sul suo rivestimento endoteliale e alla qualità del tessuto tale da consentire di piegarsi senza obliterare il lume, nel 1965 DeBakey commentò la situazione di questa metodica di innesti con le seguenti frasi: *"...l'esperienza con le protesi di materiale plastico supera ora nel nostro centro i 6000 pazienti e abbiamo ben dimostrato che la protesi di dacron lavorato a maglia è bene accettata dal corpo umano. Nell'aorta e nei suoi rami maggiori la massima parte di questi innesti ha continuato a essere pervia per periodi indefiniti e le complicanze tardive sono state rare...nei vasi più piccoli invece l'incidenza della trombosi aumenta in proporzione inversa rispetto al calibro del vaso e in modo direttamente proporzionale alla quantità del flusso che lo attraversa e ciò è dovuto sicuramente al fatto che lo strato interno può in certi casi aumentare di spessore al punto di ridurre molto il calibro del vaso...E' chiaro che è necessario migliorare molto la costruzione di protesi prima di ottenere risultati soddisfacenti nei vasi molto piccoli"*.

A distanza di 17 anni Allan D.Callow, chirurgo vascolare del Tufts Medical Center Hospital di Boston, prese in esame i risultati di molte importanti casistiche di trapianti vascolari eseguiti negli USA, due delle quali controllate annualmente rispettivamente per 15 anni in 565 operati di ricostruzione femoropoplitea (R.Darling e R.Linton, 1972) e per 10 anni in 92 pazienti sottoposti al medesimo tipo di operazione (L.Sauvage e coll.1980). Dell'esperienza di Sauvage e collaboratori furono esaminati anche i risultati dei bypass aortofemorali (118 operati) e di protesi aortobisiliaca (185 operati). Dopo 5 anni la pervietà dei bypass era del 20% quando era stato usato un innesto di dacron e del 72% quando era stato usato il bypass autogeno venoso come nella casistica di Darling e Linton. Le protesi usate da Sauvage erano tutte del tipo tessuto a maglia con *velour* esterno (*velour filamentoso*) e risultarono pervie dopo 5 anni per il 53% in posizione femoropoplitea

mantenendosi tali dopo 10 anni in identica percentuale. Tutte le percentuali di pervietà delle protesi applicate in sede più alta (biforcazione aortica e tratto aorto-femorale) risultarono più elevate: rispettivamente 99% e 79%. Quando Callow riportava questi dati il numero dei bypass eseguiti annualmente negli USA era stimato intorno ai 550.000 dei quali 200.000 sotto forma di innesti autogeni venosi. Il modello allora più recente di bypass era rappresentato nei primi anni '80 dal politetrafluoroetilene espanso (nome commerciale *Goretex*) il quale, come i modelli precedenti di dacron, non si allontanava da percentuali di pervietà a 5 anni che oscillavano tra il 38% e il 28% a seconda che la protesi finisse sopra il ginocchio o sotto di esso. Callow concludeva che *“...la v.safena continua a essere il miglior sostituto arterioso al di sotto del legamento inguinale, le protesi di dacron non sono sostituzioni soddisfacenti quando vengono innestate sotto il ginocchio e la vena ombelicale umana e le protesi Goretex possono dare in una sede così periferica risultati leggermente migliori del dacron”*. Nello stesso tempo, convinto che la sostituzione ideale per un'arteria malata è quella dotata di una tunica intima viva, lo stesso Callow auspicava che *“le ricerche attuali sulle tecniche di impianto di cellule endoteliali dei vasi e sull'inibizione del processo di conversione da fibrinogeno a fibrina durante la guarigione del trapianto possono essere fruttuose”*.

Nel 1974 Peter Martin e Crawford Jamieson, chirurghi dell'Hammersmith Hospital di Londra, prendendo in esame i risultati a distanza del **bypass venoso autogeno** nelle lesioni traumatiche e aterosclerotiche del tratto arterioso femoropopliteo fissarono la loro attenzione sul fatto che i peggiori risultati si erano osservati nei soggetti più giovani nei quali più alta era stata nelle diverse casistiche la necessità di ricorrere all'amputazione in tempi successivi al bypass. Sulla base delle angiografie dell'arto inferiore affetto, ottenute con proiezioni particolari, che dimostravano che la femorale profonda era risparmiata nella massima parte dei malati di aterosclerosi con ostruzione del tratto femoropopliteo e iliocofemoropopliteo, fatta eccezione per l'esistenza di un ateroma all'origine della femorale profonda, già nel **1968 Martin** e coll. avevano pensato di correggere l'ipossiemia dell'arto interessato con una **“profundoplastica”**. Questo intervento, eseguibile in anestesia locale o epidurale, consisteva nell'arteriotomia della femorale comune, superficiale e profonda seguita da applicazione di un *patch* di vena autologa a forma di ellissi per allargare al massimo l'imbocco della femorale profonda. Nel 1971 pubblicarono i risultati della profundoplastica a tre anni di distanza dall'intervento in 217 pazienti di età varia dai 50 anni in su, in 173 dei quali era stata pure associata una endoarterectomia del tratto iliocofemorale: si ebbe oltre il 10% di amputazioni e più del 50% di notevoli miglioramenti. Con il passar del tempo la profundoplastica trovò indicazioni più precise ed elettive e ancora alla metà degli anni '90 continuava ad essere praticata con buoni risultati dovuti certamente al fatto che la femorale profonda è un'arteria che anche nelle più gravi forme di aterosclerosi rimane esente dalla malattia.

La **ricostruzione extra-anatomica del flusso arterioso** agli arti inferiori nell'aterosclerosi obliterante dell'asse femoropopliteo ebbe i primi contributi originali nel **periodo 1960-1963** con le pubblicazioni firmate da J.McChaugan e coll. (1960), C.Lewis (1961), R.Vetto (1962) J.Louw (1963). F.Blaissdell e coll. (1963). Le indicazioni sec. P.Haid e coll. dell'università di Chicago (1974) erano le seguenti: gravi malattie cardiopolmonari e ridotta aspettativa di vita, infezioni in atto, pelvi congelata da metastasi tumorali e da esiti di radioterapia, tromboembolia iliaca non curabile per via inguinale, laparotomie pregresse multiple. Il *bypass axillofemorale* fu eseguito per la prima volta da C.Lewis nel 1961 in un paziente con rottura di aneurisma aortico dissecante e apporto di sangue insufficiente agli arti inferiori; per ovviare a questa situazione Lewis collegò con una protesi vascolare di nylon l'arteria succlavia sinistra con un omoinnesto aortico. Le due casistiche più ampie risultavano fino al 1974 essere quelle di Blaisdell e coll (41 casi) e di Mannick e coll. (46

casi). Le percentuali di pervietà delle protesi a distanza di due anni (Blaisdell e Haid) e di cinque anni (Mannick) oscillavano tra 72% e 75%. Tranne Louw e Stipa che proposero l'impiego di un autoinnesto venoso, il bypass axillofemorale fu sempre eseguito dalla massima parte degli AA con protesi vascolari di dacron che permettevano un flusso sanguigno di 550ml/min. in caso di pervietà delle due arterie femorali superficiale e profonda e di 120ml/min. in caso di pervietà solo della profonda.

Il primo bypass da arteria iliaca sinistra ad arteria poplitea destra detto *bypass femorofemorale* fu effettuato da McChaugan e Kahn nel 1960 e due anni dopo da R.Vetto che pubblicò altri 10 casi di questo tipo. Questo ***crossover-grafting femorofemorale*** veniva usualmente fatto passare in un tunnel sottocutaneo sovrapubico impiegando una protesi vascolare di dacron del diametro di 8-10 mm. Nel 1974 Haid prese in esame 9 casistiche per un totale di 212 pazienti operati: la pervietà dell'innesto pari al 91% nei primi tempi del postoperatorio tendeva a mantenersi in media nell'88% dei casi a 5 anni di distanza con risultati soddisfacenti sul piano clinico. Quando esistevano indicazioni di sepsi a livello della regione inguinale dell'arto interessato da aterosclerosi obliterante, il *crossover-grafting* veniva fatto passare attraverso il forame otturatorio mantenendo la protesi in mezzo a tessuti sani e lontani dall'inguine infetto (operazione di bypass femorofemorale per via otturatoria sec. R.Shaw e A.Bave, 1963)

Negli anni '90 del Novecento, soprattutto nei centri di chirurgia vascolare degli USA, furono tentate e aperte diverse nuove strade di trattamento delle arteriopatie obliteranti. Una di queste fu chiamata **ricanalizzazione arteriosa con ultrasuoni**. Anche se i primi a suggerire la potenziale dissoluzione degli ateromi mediante gli ultrasuoni furono nel 1965 K.Anschuetz e collaboratori e, nel medesimo anno, anche W.Lane e collaboratori, i primi ad applicare e verificare la capacità degli ultrasuoni di sciogliere i trombi furono nel **1975** U.**Stumpff** e coll. e, nel 1976, G.Trubestein e coll. Questi ricercatori avevano usato *in vitro* e nei cani una sonda metallica rigida che emetteva onde ultrasonore di 26,8 KHz. Dopo le conferme pubblicate nel 1987 da R.Siegel e coll, nel 1988 da U.Rosenschein e coll. e nel 1991 da M.Ariani e coll. i quali descrissero la dissoluzione dei coaguli avvenuta nel giro di 4 minuti primi senza alcun danno per la parete arteriosa, la prima esperienza sull'uomo fu effettuata da Siegel del Cedars Sinai Medical Center di Los Angeles. I pazienti trattati da Siegel erano affetti da arteriopatìa obliterante del tratto femoropopliteo e di quello popliteotibiale, le sonde utilizzate erano di titanio e avevano uno spessore di 0,020 inches e la frequenza usata era di 20 KHz. Nel 1992 Siegel e coll. contavano 32 lesioni ateromatose trattate in 30 pazienti controllati poi per una media di 9 mesi: la ristenosi fu verificata nel 36% dei casi. Il gruppo di chirurghi vascolari diretto da C.Monteverde nel 1991, su 50 pazienti trattati con una frequenza di 22KHz, pubblicò un 80% di ricanalizzazioni immediate e un 12% di ristenosi ad un anno di distanza dall'intervento. In questa casistica furono denunciate diverse complicazioni (ematomi, occlusione arteriosa acuta, perforazione dell'arteria).

Tra i vantaggi della cura con ultrasuoni **Siegel nel 1992** affermava che con essa si riusciva a rimuovere un'occlusione arteriosa completa, comprese le lesioni calcifiche e recuperando un certo grado di distensibilità delle pareti a fronte di un trauma intimale minimo; egli riteneva inoltre possibile entro breve tempo l'applicazione di questo metodo anche al circolo coronarico e ad altri siti arteriosi meno accessibili. Il trattamento percutaneo con l'energia originata dagli ultrasuoni fu sempre eseguito in anestesia locale ed endoarteriosa associata a eparina e i pazienti venivano dimessi dopo 24-48 ore con prescrizione di una bassa dose di aspirina (75-325 mg)

Anche l'**energia laser** fu impiegata alla fine del secolo XX per le **angioplastiche endovascolari** essendosi essa rivelata capace di rimuovere selettivamente le placche di

aterosclerosi obliterante. Le aspettative sull'efficacia terapeutica dell'angioplastica con il laser e i grandi interessi commerciali ad essa collegati provocarono una rapida evoluzione di questa tecnologia che, nel caso dell'angioplastica, fu utilizzata fin dall'inizio sia con laser ad onda continua soprattutto a ioni argon con lunghezze d'onda comprese tra 488 e 514 nm, sia con laser ad onda pulsata prevalentemente a cloruro di xenon con una lunghezza d'onda di 308 nm. Gli esami istologici delle pareti arteriose trattate mostrarono una reattività piastrinica della superficie arteriosa molto più intensa dopo applicazioni di laser ad onda pulsata. I primi tentativi di portare il fascio di luce laser ad argon dentro l'arteria con una fibra ottica scoperta (R.Ginsburg e coll. nell'anno 1985) comportò una percentuale molto alta di perforazioni del vaso. Il successivo rivestimento della terminazione della fibra ottica con una calottina metallica consentì di interessare più uniformemente un maggior volume di tessuto con netta riduzione del numero delle perforazioni. Questa ansa-laser fu detta *hot-tip* laser e fu la prima ad essere impiegata in campo clinico associandola all'angioplastica con palloncino come tempo finale della procedura. G.Barbeau e coll. dell'università della Florida hanno usato fibre ottiche munite in punta di uno zaffiro che emette il 20% dell'energia sotto forma di un raggio sottile mentre l'80% viene emesso dallo zaffiro a contatto dell'ateroma. Come guida per localizzare la sede da trattare sono stati usati la radioscopia e il palloncino da angioplastica, due sistemi niente affatto precisi e certamente questo ha influito sulla non trascurabile percentuale di complicanze e di inesatto trattamento. Anche la difficoltà o addirittura l'impossibilità di controllare l'energia termica sviluppata *in loco* ha dimostrato di stimolare una forte proliferazione delle fibrocellule connettivali nelle lesioni della parete arteriosa lasciate dai laser (R.Hartz e coll.1988). Divenne dunque chiaro che l'azione terapeutica nel contatto laser-tessuto era possibile solo se si fosse riusciti a controllare l'emissione di energia.

Molte casistiche pubblicate tra il 1988 e il 1991 diedero percentuali di successi iniziali che andavano da un minimo del 40% (Wright e coll.1989 su 15 operati) ad un massimo del 90% (Criado e coll.1988 su 95 operati) e su tutte dominava la casistica di Lammer e coll, pubblicata nel 1991 con l'83% di successi iniziali su 338 operati. Su circa 1500 angioplastiche con il laser le complicanze oscillavano tra il 12 e il 53%. La ristenosi a distanza di tempo (entro 12 mesi) variava da un minimo del 22% (casistiche di Sanborn periodo 1988-89 e di Lammer periodo 1988-1991) ad un massimo del 50% (casistica di Barbeau 1989). Di conseguenza la maggior parte dei chirurghi e dei radiologi vascolari che si erano interessati a fondo di questo nuovo tipo di angioplastica a cavallo tra la fine degli anni '80 e i primi anni '90 fu portata a concludere che l'energia laser e i sistemi di emissione di energia termica erano di scarso valore pratico nell'arteriopatia obliterante periferica (S.Self e J.Seeger 1992). Le speranze di poter riutilizzare meglio l'energia laser nelle angioplastiche in quegli anni rimaneva legata ai primi tentativi di miniaturizzazione dello strumentario e di associare come guida l'angioscopia con ultrasuoni al trattamento laser, fatti questi che cominciarono in parte ad avverarsi alla fine del secolo.

Un altro metodo del tutto nuovo per curare le arteriopatie obliteranti periferiche fu l'**Aterectomia** ideata e realizzata con sistemi diversi **tra il 1987 e il 1992**. Si trattò, anche in questo caso, di un'operazione condotta per via percutanea o attraverso un'arteriotomia minima che, quando fu ideata, si prefiggeva i seguenti vantaggi sulle altre forme di angioplastica transluminale: 1°- una più alta percentuale immediata di successi con risparmio del tessuto subintimale 2°- più vasto campo di applicazione terapeutica rispetto all'angioplastica con palloncino (aterosclerosi diffusa; occlusioni complete) 3°- minor percentuale di ristenosi grazie alla riduzione volumetrica della massa ateromatosa.

Lo strumento ideato da K.R.Kensey che va sotto il nome commerciale di "*Trac-Wright System*" è un catetere flessibile al cui interno è contenuto un asse centrale rotante che

termina in punta con un eccentrico. Questo non intacca la struttura visco-elastica della parete arteriosa. I risultati mostrarono un 70% di pervietà arteriosa ad un anno di distanza dall'operazione. La complicazione più frequente fu la perforazione verificatasi dal 20% al 40 % degli operati. Il metodo Kensey è sembrato dunque non raccomandabile per la disobliterazione delle arterie iliache e tibiali.

Lo strumento ideato da J.B.**Simpson** è un catetere flessibile di 7-11 French la cui parte tagliente è data da una piccola lama circolare che ruota dentro una camera metallica provvista di una finestra da 15-20 mm. Una volta appoggiata con una certa forza questa finestra sull'ateroma la lama rotante provvede a polverizzarlo. I modelli più perfezionati degli anni '90 recavano un *chip* ad ultrasuoni che correggeva automaticamente l'allineamento della finestra all'ateroma. Nei primi 136 casi trattati da Simpson ci fu un 87% di successi iniziali. In seguito la ristenosi fu accertata nel 36% dei casi controllati. Polnitz e coll. su 94 operati con il metodo di Simpson contarono il 72% di pervietà arteriosa dopo un anno dall'intervento. Graor e coll. su ateromi lunghi meno e più di 5 cm. riscontrarono ad un anno il 93% e rispettivamente l'83% di pervietà arteriosa mantenuta. La maggior limitazione dell'aterectomia sec. Simpson è data dagli ateromi molto estesi e dalla rigidità dello strumento che ne impedisce l'applicazione nelle arterie tibiali e in quelle tortuose.

Il *Rotablator* di D.**Auth** è un catetere flessibile il cui strumento per aterectomia è fatto di un guscio metallico rotante a forma di pallone da football americano costellato di minutissime schegge di diamante che vanno da 22 a 45 micron e che funzionano da microlame. I gusci hanno diametri compresi tra 1,25 e 6 mm e vengono scelti in base al diametro dell'arteria da trattare. Questo strumento si è mostrato molto adatto per gli ateromi calcifici specie se presenti in pazienti diabetici. Una punta flessibile e sottile precede il meccanismo rotante e si insinua nel lume distorto della stenosi che può essere anche molto lunga per cui le stenosi lunghe costituirono una indicazione ulteriore per lo strumento di Auth. I successi iniziali tra il 92 e il 93% dei casi trattati si ridussero purtroppo al 67% dopo 6 mesi e al 9,5-20% dopo 24 mesi.

Lo strumento per aterectomia *TEC (Transluminal Extraction Catheter)* semiflessibile (5-9 French) ha una punta conica rotante e tagliente che procede montata su un filo-guida al centro. Durante la fresatura dell'ateroma viene mantenuta un'aspirazione continua dei detriti con contemporanea irrigazione con eparina. Su 126 lesioni trattate con il catetere TEC il successo iniziale si verificò nel 92% degli operati. In molti casi è stato necessario completare la disostruzione arteriosa con il palloncino. Su 16 operati sottoposti a controllo angiografico a distanza di sei mesi, quattro rivelarono una ristenosi (Wholey e coll. 1989). Samuel S.Ahn, chirurgo vascolare dell'università di California a Los Angeles, nell'esaminare i risultati e le complicanze di questi diversi metodi di aterectomia transluminale percutanea concludeva così: *"...fino ad oggi tutti gli strumenti usati per l'aterectomia non sono riusciti a ridurre la percentuale delle ristenosi della classica angioplastica con il palloncino. Nonostante le rimozioni delle masse ateromatose, la loro frammentazione e la levigatura dell'intima, il trauma inferto alla parete dell'arteria provocano invariabilmente un'iperplasia intimale. Finché il problema delle ristenosi non sarà risolto, l'aterectomia sarà limitata a quei casi dove l'angioplastica con il palloncino è inefficace o controindicata"*.

L'**angioscopia** rappresenta invece una tecnica nuova usata con una buona regolarità dai chirurghi e radiologi vascolari a partire dalla metà degli anni '80 del Novecento e da allora fino al 2000 ha conosciuto un impiego sempre maggiore sia come elemento di monitoraggio delle caratteristiche anatomiche delle lesioni endoluminali dell'aterosclerosi in fase di trattamento chirurgico sia come controllo delle varie fasi di esso. Ciò che permise questo utile impiego degli angioscopi furono la miniaturizzazione dei cateteri con fibre

ottiche e l'applicazione di minivideocamere ad alta risoluzione sterilizzabili. Pur non esistendo indicazioni assolute all'impiego dell'angioscopia, questa tecnica visiva ha incontrato un ampio consenso nell'ambiente specialistico.

Storicamente i primi tentativi sperimentali di angioscopia operativa risalgono al **1922** e al **1924** quando D.S.Allen e E.Graham e – dopo di loro – E.Cutler e collaboratori, eseguirono le prime endoscopie del cuore per curare i vizi valvolari. Nel 1957 R. Brock nel corso di un intervento per correggere la stenosi della valvola aortica esaminò per primo il lume dell'arco aortico introducendovi un endoscopio rigido. Nel 1966 S.Greenstone e coll. impiegarono un coledocoscopia flessibile a fibre ottiche per esaminare il lume delle arterie di cani vivi e l'aorta umana nel cadavere. **J.Vollmar** iniziò in Germania l'endoscopia vascolare **nel 1966** con uno strumento Hopkins rigido di 6,3 mm di diametro esterno. Egli e i suoi allievi usarono per primi il blocco endovasale con il catetere a palloncino gonfiabile e l'infusione di soluzione fisiologica per via endovenosa per vincere il fastidio dato dall'apporto sanguigno dei rami collaterali dell'arteria in esame. Dopo aver riscontrato un 7% di incidenti da sepsi, Vollmar e allievi adottarono un sistema di perfusione chiuso. Nel **1973** **H.Crispin** e **A.van Baarle** furono i primi a impiegare un **angioscopia a fibre ottiche** per monitorizzare le operazioni di tromboendarterectomia. Nel 1977 C.Olinger esaminò con l'angioscopia le carotidi di cadaveri di persone che in vita erano state sottoposte ad angiografia carotidea e scoprì una varietà di lesioni del tutto sfuggite all'esame radiologico. Nello stesso anno J.Towne e V.Bernhard eseguirono l'angioscopia in diversi tipi di ricostruzione arteriosa per aterosclerosi e conclusero che questo esame permette di scoprire difetti di tecnica che possono essere riparati durante la stessa seduta operatoria. Nel 1980 T.Tanabe e coll. pubblicarono la loro esperienza maturata nel corso di 12 anni di impiego di uno strumento Olympus a testina mobile del diametro di 4 mm. Seguirono tra 1980 e 1985 le pubblicazioni dei risultati delle due équipes di T.Hito e di D.Shure rispettivamente nella chirurgia ricostruttiva dei grandi vasi e in quella degli emboli della polmonare e dell'ostruzione cronica del circolo arterioso polmonare. Nel corso degli anni '80 le industrie misero a disposizione angioscopi a fibre ottiche di diametri sempre minori, provvisti di un miglior potere di risoluzione delle immagini e loro forte ingrandimento impiegando una videocamera miniaturizzata. I diametri degli angioscopi degli anni '90 erano arrivati a 0,2 mm, tali da permetterne l'applicazione nelle coronarie e nell'impiego percutaneo in molte sedi arteriose.

Le applicazioni definite nel corso degli anni '90 si dividono in diagnostiche e terapeutiche. L'impiego diagnostico, oltre che per l'identificazione dei trombi, di placche ateromatose, di emorragie, ulcerazioni, occlusioni, perforazioni accidentali in corso d'operazione, si dimostrò utile anche per l'esecuzione di biopsie così da poter influire sul processo prognostico e sulle decisioni terapeutiche secondarie come è il caso della scelta dei farmaci postoperatori. L'angioscopia si dimostrò utile anche nella valutazione di altre tecniche di diagnostica per immagini (ultrasuoni endovasali; duplex doppler scanner; RMN).

Le applicazioni terapeutiche comprendono il monitoraggio di molti interventi endovascolari come già detto (aterectomie, angioplastiche laser, angioplastiche classiche, applicazione di stent dilatatori, ecc.).

Tuttavia l'angioscopia dimostrò anche i propri limiti che sono rappresentati dai vasi di piccolo diametro come la maggior parte delle arterie distali rispetto alla poplitea, dalla tortuosità eccessiva di certi vasi, dalla breve durata delle fibre ottiche e dalla fragilità dello strumento, infine dalla possibilità di complicanze come iperplasia reattiva dell'intima, contaminazione batterica, sovraccarico di liquidi infusi, trombosi ed embolie secondarie.

Alla fine del XX secolo l'angioscopia, affermata come tecnica diagnostica uscita vittoriosa dalla fase sperimentale, appariva ancora un esercizio routinario limitato ai più importanti centri di chirurgia vascolare probabilmente per l'elevato costo dell'attrezzatura e la necessità di frequenti ricambi e di un apprendistato né breve né facile.

L'**ultrasuonografia endovascolare** ebbe un rapido sviluppo nel **periodo 1988-1992** grazie ai progressi tecnologici del cateterismo e dell'ecografia. Gli strumenti messi a punto in detto periodo recavano alla fine di un catetere endoluminale vari tipi di trasduttori capaci di fornire immagini delle cavità cardiache e del lume dei vasi in tempo reale. La frequenza degli ultrasuoni variava da 20 a 50 MHz con profondità di penetrazione nelle pareti vascolari rispettivamente da 4 cm a poco meno di 3 cm e con una finezza di definizione maggiore con 50 MHz. Le immagini bidimensionali ottenute previo lavaggio e irrigazione continua del lume vascolare con soluzione fisiologica rispondevano a sezioni trasverse di 360°.

Nel 1992 fu possibile migliorare l'*hardware* e il *software* dei computer ottenendo la **ricostruzione tridimensionale delle immagini in tempo reale**. Molte ricerche sia *in vivo* che *in vitro*, portate a termine nel periodo di tempo sopracitato, dimostrarono con assoluta certezza che le immagini endoluminali fornite dagli ultrasuoni sul diametro endoluminale del vaso e sullo spessore della sua parete aveva una precisione di 0,05 mm (W.Gussenhoven e coll.1989; G.Kopchok e coll. 1990; J.Mallery e coll. 1990, R.Neville e coll.1991 e altri ancora). Queste ricerche assodarono anche che è molto importante per l'esattezza di riproduzione dell'interno del vaso che la punta della sonda sia perpendicolare alla parete del vaso stesso e mai eccentrica. Una certa limitazione è dovuta alla presenza di calcificazioni dell'ateroma che possono creare una falsa immagine di tessuto fibroso. I confronti a tre fra immagini ottenute con la tecnica ad ultrasuoni, con l'angioscopia e con l'angiografia fecero concludere in netto favore delle prime due che dimostrarono la loro netta superiorità sull'angiografia convenzionale (S.Ramee e coll. 1991). Nell'anno 1992 Douglas Cavaye e collaboratori dell'Harbor-Uccla di Torrance in California riferirono sugli impieghi terapeutici delle sonde vascolari ad ultrasuoni che erano in quel periodo in pieno sviluppo. Venivano infatti provati gli abbinamenti degli ultrasuoni con immagini tridimensionali in tutti i diversi procedimenti di angioplastica (aterectomie, stents, laser, palloncino). Apparve allora particolarmente promettente l'abbinamento alla laser-terapia per la possibilità di una miniaturizzazione a basso costo. I primi risultati dimostrarono la reale possibilità di ottenere un accurato controllo della cura in atto e del suo risultato immediato. Negli ultimi anni del Novecento vennero dedicate diverse ricerche al progetto di unificare in uno stesso strumento l'applicazione diagnostica e quella terapeutica degli ultrasuoni e anche di associare in uno stesso strumento angioscopia e ultrasuoni per applicarli contemporaneamente alle procedure di angioplastica meccanica o al trattamento laser.

Si può ben affermare che non c'è un angolo della chirurgia vascolare che non sia stato esplorato per la prima volta da **Alexis Carrel**, il quale, nel **1906**, insieme a **C.Guyhrie**, eseguì **i primi trapianti venosi** nei cani. Ma da allora fino agli anni '50 del Novecento non ci fu più nessuno che si sia dedicato alla chirurgia riparativa e ricostruttiva del sistema venoso.

Il primo **Bypass venoso** porta la data dell'anno **1953** che corrisponde al tentativo chirurgico effettuato da **M.Kunlin** per curare l'ostruzione di una vena iliaca. Nel 1954 R.Warren e T.Thayer eseguirono un trapianto di vena safena per curare una stasi postflebitica. Infine nel corso degli anni '60 videro la luce le pubblicazioni di altri successi ottenuti con i bypass venosi da C.Hardin (1962), da M.Cerino e collaboratori (1964) e da W.Dale nel periodo 1961-1983.

Nel 1972 D.Hallberg puntualizzò per primo l'importanza decisiva di una differenza di pressione tra area da scaricare e lume del bypass ai fini di assicurare il mantenimento della sua pervietà nel tempo. Il successo di E.Palma nei bypass *crossover* di safena nel 1958 furono confermati sperimentalmente e nell'uomo da Dale vent'anni dopo. Le tecniche

impiegate furono differenti a seconda della sede dell'ostruzione venosa: *crossover* quando l'ostruzione riguardava la vena iliaca, anastomosi terminolaterale tra il terzo medio della safena e la vena poplitea quando l'ostruzione riguardava la vena femorale superficiale al suo terzo medio e inferiore, bypass di vena giugulare esterna con la vena succlavia (oppure innesto di safena) quando l'ostruzione riguardava la vena ascellare (sindrome di Tagariello).

Su un totale di 230 *crossover* di safena formato dalle tre casistiche di Smith-Trimble, di Husni e di Dale nel periodo 1968-1981, i risultati insoddisfacenti oscillarono fra il 20 e il 28% e quelli eccellenti tra il 58 e il 63%. I risultati soddisfacenti di bypass venosi safenopoplitei si mantennero fra il 60 e il 76%.

La **chirurgia valvolare venosa** dell'arto inferiore per curare la sindrome da stasi venosa da insufficienza valvolare vide all'opera negli anni '50 e '60 chirurghi vascolari europei ed americani sia in campo sperimentale sia nell'uomo: B.Eiseman e W.Malette 1953; A.McLachlin e coll. 1965; N.Psathakis 1968; D.Hallberg 1972. Tuttavia le tecniche elaborate da questi chirurghi non incontrarono favore probabilmente per la complessità e per le difficoltà tecniche insite in determinati passaggi dell'intervento chirurgico.

Fu R.L.**Kistner** che in un decennio (**1968-1978**) riuscì a far apprezzare e a diffondere la sua tecnica di valvuloplastica a cielo aperto – un metodo microchirurgico – con un 69% di risultati eccellenti e un 13% di risultati definiti buoni. Un'altra soluzione proposta da Kistner e da lui definita “*segment transfer operation*” consisteva nell'anastomizzare a tutta bocca una vena femorale superficiale con valvola incompetente sulla faccia laterale della safena che possiede una valvola competente o della vena femorale profonda provvista anch'essa di valvole competenti.

Infine un altro intervento praticato e suggerito da S.A.Taheri nel 1981 fu quello di interporre un tratto di 2 cm della vena brachiale provvista di valvola competente nella femorale superficiale comune. Nel 1982 John Bergan e coll. del reparto di chirurgia vascolare dell'università di Chicago (Illinois) diedero un giudizio positivo su questa operazione di Taheri che al suo autore aveva già dato risultati molto soddisfacenti ma concludevano che “*se questi risultati saranno confermati da altri chirurghi, il trapianto valvolare può essere un procedimento utile ma, attualmente, deve essere ancora ritenuto del tutto sperimentale*”. Del resto anche la semplice legatura della vena femorale superficiale incompetente sec. Linton (1948) aveva dimostrato di fornire ottimi risultati nella sindrome postflebitica purché la flebografia discendente avesse dimostrato la buona tenuta della vena femorale profonda.

I primi tentativi di ottenere in campo clinico su vasta scala la **trombolisi** con la **streptochinasi** e con l'**urochinasi** nelle trombosi venose risale all'anno **1978**. A.P.Fletcher e collaboratori avevano pubblicato già nel 1959 una prima serie di pazienti trattati per occlusioni arteriose periferiche con la streptochinasi per via endovenosa e nel 1963 G.McNicol e collaboratori usarono per primi l'iniezione endoarteriosa di questo farmaco trombolitico. Ma fu dal 1978 in poi che la streptochinasi e l'urochinasi, alle quali si è poi aggiunto l'**attivatore del plasminogeno** contrassegnato dall'acronimo *tPA*, furono ampiamente usate nella cura d'urgenza dell'infarto miocardico, della trombosi dei cateteri venosi, della trombosi acuta delle vene profonde delle gambe e delle braccia e nell'occlusione arteriosa periferica acuta e cronica. L'esperienza fatta nel corso degli anni '80 confermò che queste sostanze trombolitiche erano particolarmente indicate per il circolo periferico e nei pazienti che presentavano un rischio operatorio elevato. Negli anni '90 erano in fase di sviluppo numerose altre sostanze trombolitiche che nella fase sperimentale dimostrarono di migliorare l'efficacia della fibrinolisi riducendo al minimo l'attivazione sistemica del meccanismo fibrinolitico e quindi riducendo il rischio di

emorragie ma, all'avvicinarsi dell'anno 2000, nessuna di queste nuove sostanze era ancora entrata in uso clinico.

Le modalità tecniche escogitate per far giungere la sostanza trombolitica a ridosso del trombo e per consentirne una somministrazione prolungata nel tempo rappresentarono un ventaglio di opzioni la cui scelta teneva conto delle indicazioni e controindicazioni basate su una esperienza che negli anni '90 poteva ormai essere definita vasta e consolidata.

Nel **trattamento percutaneo delle occlusioni arteriose con trombolitici** il candidato ideale risultò essere quello colpito dall'insufficienza arteriosa acuta di un arto inferiore o superiore con un circolo collaterale che consente di mantenere vitale l'arto per 10-12 ore, in caso contrario diventava obbligatorio sottoporlo a tromboembolectomia chirurgica, bypass e trombolisi intraoperatoria. L'esclusione di una cura percutanea con trombolitici riguardava anche molte altre controindicazioni: anamnesi di emorragie gastrointestinali, di trombosi endocardica, di ictus recenti, di ipertensione grave, di retinopatia diabetica, di impossibile accesso arterioso ipsi- e controlaterale. La tecnica, consolidatasi sulla vasta esperienza di **T.McNamara e J.Fischer** (1985), si serviva di una infusione coassiale tramite catetere 5 Fr e mandrino cavo (0,035 inch di diametro esterno) dopo aver inserito l'estremità di questo catetere nei primi 2-3 cm del tratto occluso e aver portato il mandrino attraverso tutta la lunghezza del trombo. L'infusione seguiva un ritmo di 4000 Unità/minuto per 2-4 ore. Se l'angiografia di controllo mostrava che il trombo era stato tutto sciolto, la velocità d'infusione scendeva a 100.000 unità per ora utilizzando il mandrino che veniva ritirato alla parte centrale del trombo e continuava fino alla 48° ora. L'eparina veniva aggiunta per impedire la trombosi intorno al catetere.

P.Lawrence e G.Goodman nel 1962 riportarono dalla letteratura specializzata del periodo 1955-1992 sei casistiche americane che andavano da un minimo di 33 pazienti (quella di O'Donnell) ad un massimo di 465 (quella di Graor e collaboratori); soltanto due di queste casistiche riportavano i successi controllati ad un anno di distanza (rispettivamente 37% nella serie di Whittemare del 1992 e 56% in quella di Sullivan pure del 1992) mentre i successi iniziali andavano da un minimo del 21% (Sicard, 1985) ad un massimo del 94% (Graor 1990). Solo Graor però aveva usato l'attivatore del plasminogeno (tPA) oltre alla streptochinasi (SK) e all'urochinasi (UK), tutti gli altri avevano impiegato SK e UK. Le complicanze di tipo emorragico furono nettamente più frequenti dopo impiego di SK (dal 15% al 40%).

Per **trattamento intraoperatorio** si intende il ricorso ai **trombolitici** come aggiunta alla tromboembolectomia tramite cateteri Fogarty a palloncino come suggerito da L.**Cotton** e coll. nel **1962**. Nel 1964 M.Trapogas e nel 1974 J.Fiessinger usarono trombolitici in casi di trombi residuati alla tromboembolectomia con catetere a palloncino. Dal 1985 al 1992 furono pubblicate sette casistiche di fibrinolisi intraoperatoria per un totale di 142 insuccessi della tromboembolectomia con palloncino. I successi iniziali oscillarono fra il 64% e il 100% con il massimo dei buoni risultati ottenuti con la streptochinasi che tuttavia fu anche responsabile del maggior numero di complicanze emorragiche (dal 10,5% al 38%) mentre l'urochinasi ne determinò una quantità molto ridotta (da 1,3% a 4,8%).

Il **trattamento endoarterioso in arto isolato** è una tecnica che fu ideata da P.Lawrence e coll. nel **1986** sulla scia della tecnica d'isolamento inventata da A.Comerota e coll. per curare il melanoma degli arti. L'arteria viene isolata a cielo aperto e clampata a monte e si esegue la tromboembolectomia con apposite pinze o con catetere a palloncino. Se il controllo angiografico e angioscopico rivela persistenza dei trombi si applica un tourniquet a manicotto che viene gonfiato a 50 mm Hg oltre la pressione arteriosa massima del paziente. Segue l'infusione di trombolitico per un dosaggio massimo di 250.000 unità di urochinasi. La chiusura del vaso non deve superare i 30 minuti primi. I pochi casi trattati fino al 1982 da due chirurghi (F.Parent e coll. 1989; A. Comerota e coll. 1989) oltre a Lawrence e Goodman hanno avuto tutti pieno successo iniziale senza complicazioni di tipo

emorragico. Tuttavia il 30-50% degli operati dovette essere amputato sotto il ginocchio a distanza di tempo variante da 10 a 30 giorni dall'intervento.

Il **trattamento della flebotrombosi profonda** è diretto a prevenire l'embolia dell'arteria polmonare e dei suoi rami ed è consistito negli anni '80 e '90 nella somministrazione endovenosa di eparina, seguita dall'assunzione orale di Coumadin dopo lo stop dell'eparina. La terapia fibrinolitica fu proposta in aggiunta a quella eparinica in pazienti con flebotrombosi che durava da meno di 10 giorni e che presentavano un elevato rischio di sindrome postflebitica. In questi casi l'urochinasi veniva somministrata a bolo di 4400 Unità pro kilo nel giro di 10 minuti primi, seguita da altrettanta dose per ora per 48-72 ore. Tre ore dopo l'ultima somministrazione di urochinasi veniva iniettata eparina e quindi, dopo di questa, Coumadin per almeno tre mesi.

Se il trombo data da meno di 8 giorni l'urochinasi otteneva il 60% di lisi completa iniziale, il tPA invece solo il 50%. La sindrome postflebitica nelle casistiche esaminate a distanza di tempo comparve nel 25% dei controlli. La principale complicazione di questo tipo di trattamento con fibrinolitici aggiunti alla terapia classica con eparina e Coumadin, risultò essere quella emorragica con una percentuale di rischio che aumentava in proporzione diretta con il prolungarsi delle infusioni di trombolitici. Come antidoto per bloccare le emorragie minacciose per la vita del paziente fu usato con successo l'acido epsilon-aminocaproico.

Negli anni '60 ebbero successo terapeutico e buona diffusione nei maggiori centri di chirurgia *vascolare e addominale* le **anastomosi venose per la cura delle varici esofagee da ipertensione portale**. La prima anastomosi a imporsi fu quella terminolaterale tra la vena porta e la cava inferiore che però fu abbastanza rapidamente sostituita dalla anastomosi latero-laterale proposta da Valdoni perché più rispettosa della fisiologia del fegato in quanto permette la conservazione di un discreto apporto di sangue venoso di provenienza intestinale al parenchima epatico. Dopo qualche anno, sempre con l'intento di evitare l'instaurarsi della cosiddetta encefalopatia secondaria ad anastomosi porto-cava, si fecero strada altri tipi di anastomosi porto-sistemiche: anastomosi splenorenali con e senza splenectomia e l'anastomosi splenomesenterica con o senza interposizione di protesi vascolare. Quando l'esecuzione di queste anastomosi non otteneva risultati sul turgore delle vene esofagee non restava che ricorrere alla deconnessione azygos-portale. Questo insieme di misure chirurgiche di cui tratteremo più dettagliatamente l'exkursus storico nel capitolo che riguarda le malattie chirurgiche dell'esofago (v. pagina 356), misure il cui vero scopo era quello di preservare da morte da emorragia da varici esofagee i cirrotici in fase di prognosi severa, subì nel passare degli anni un notevole ridimensionamento del suo utilizzo con l'avvento della scleroterapia delle varici esofagee nel corso degli anni '70 e '80.

MICROCHIRURGIA VASCOLARE

Come applicazione della **microchirurgia** ai **piccoli vasi** questa particolare specializzazione nasce all'inizio degli anni Sessanta con i lavori sperimentali di J. Jacobson ed E. Suarez (1960) mentre l'uso del **microscopio operatore** risale al 1954 quando l'otoiatra D. Nylen di Uppsala eseguì con esso riparazioni di fistole labirintiche. Il perfezionamento di microscopi operatori (ancora Nylen nel 1972), di microstrumenti e di fili di nylon o prolene di spessore compreso tra 8 e 11 zeri e il contemporaneo addestramento di chirurghi che si sono dedicati con tutta la pazienza necessaria ad acquisire l'estrema delicatezza e atraumaticità tipiche dei chirurghi plastici hanno occupato un periodo di tempo che possiamo *grosso modo* calcolare pari a poco meno di 15 anni a

partire dal 1960. Verso l'ultima decade del secolo XX è stato possibile affermare che *“le applicazioni più frequenti della microchirurgia vascolare sono forse quelle di competenza del chirurgo plastico”* (Santoni-Rugiu-1989) che è diventato capace di perfezionare la tecnica delle **anastomosi microvascolari** fino a rendere possibili trasferimenti di ampi lembi di tessuti di ogni tipo dalla cute all'osso, dall'omento a dita amputate, da trasferimenti di dita dei piedi alle mani prive di dita, alla cura radicale del linfedema del braccio con anastomosi venolinfatiche e fino al trasferimento nella sede scrotale di testicoli ectopici ritenuti in addome, ecc.

La preparazione dell'anastomosi richiede una serie di accorgimenti molto precisi che, nella loro sequenza, sono: posizione del microscopio e dei suoi oculari tale da offrire al chirurgo e al suo assistente la migliore visuale possibile, disposizione di cuscinetti e teli sterili in modo che per tutto il lungo tempo richiesto per eseguire l'anastomosi siano evitati i movimenti inutili e far sì che quelli indispensabili siano agevoli e di ridotta ampiezza, partenza da una buona esposizione dei due vasi da anastomizzare aiutandosi con punti di trazione sulle parti molli vicine, accertamento del buon sanguinamento del vaso da anastomizzare, resezione atraumatica delle due estremità tenendo l'avventizia stirata e poi asportata in modo che sulla sezione risulti sporgente la tonaca muscolare, ispezione dell'integrità dell'intima e, se necessario, riresezione del vaso quando l'intima presenta lesioni microscopicamente visibili, conversione delle due branche scorrevoli dell'angiostato per avvicinare i due monconi che sono pronti per la sutura. L'anastomosi viene eseguita preferibilmente in senso termino-terminale perché nelle anastomosi terminolaterali di vasi del diametro di 1 mm il flusso del sangue va incontro a vortici e a irregolarità di flusso. Durante l'esecuzione dell'anastomosi il campo operatorio viene irrorato spesso con soluzione fisiologica eparinizzata al 10%. Applicati i primi due punti della sutura anteriore ai due estremi della stessa e tenuti in lieve trazione così da scostare la parete anteriore da quella posteriore, si completa con altri tre o quattro punti la sutura anteriore. Rovesciati gli angiostati ed esposta così la parete posteriore questa viene suturata nello stesso modo. Durante queste manovre i chirurghi si astengono assolutamente da toccare con le pinzette l'intima dei due vasi. Terminata l'anastomosi si allenta nelle arterie per primo l'angiostato a valle in modo che il sangue arrivi in modo refluo e il contrario si fa se si tratta di una anastomosi tra due vene. Il numero di punti non deve essere superiore a 10. Il campo operatorio viene abbondantemente lavato con soluzione fisiologica. Alla fine il controllo dell'anastomosi viene effettuato con un ingrandimento superiore a quello usato nelle manovre chirurgiche. Questa è la descrizione di una anastomosi che viene effettuata in campi di superficie e quindi nelle condizioni ideali ma quando si tratta di anastomosi da eseguire in regioni profonde del corpo dove non è possibile far ruotare gli angiostati, è giocoforza iniziare con il primo punto al centro della parete posteriore e da questo continuare ad applicare punti su di essa da un lato e dall'altro fino ad arrivare ai primi punti sulle due estremità della parete anteriore. Una alternativa è quella di ricorrere all'anastomosi terminolaterale.

In tutti i casi dove è stato eseguito un intervento di microchirurgia vascolare e soprattutto nei reimpianti di segmenti di arti o di altri organi amputati è necessario instaurare nell'immediato postoperatorio una terapia anticoagulante con aspirina (antiaggregante piastrinico), eparina (antitrombotico per eccellenza), dipiridamolo (non fa liberare le piastrine) e destrano a basso peso molecolare (inibitore dell'impilamento delle piastrine).

Le applicazioni pratiche della microchirurgia vascolare sono: 1°- i **reimpianti di arti** e grandi segmenti di arti di qualsiasi dimensione entro 6 ore dal trauma onde evitare il pericolo della gravissima *crush-sindrome*, ma, in caso di segmenti molto periferici e di piccole dimensioni, specialmente se conservati con il freddo non inferiore a 3-4°C, il tempo a disposizione diventa più lungo. 2°- i **Lembi liberi** che, se hanno dimensioni importanti, hanno assoluto bisogno di restare connessi per un certo periodo di tempo con il

corpo grazie ad un peduncolo nutritivo che sarà sezionato una volta accertata la capacità di vita autonoma grazie ai vasi neoformati alla periferia del lembo. A questa soluzione naturale del problema della vitalità dei lembi già nota da secoli per l'applicazione del lembo in zona vicina alla sua sede di origine e a quella del trasporto in sedi lontane dal punto di prelievo grazie a trasferimenti a catena numerosi ma con tempi molto lunghi è venuta in soccorso la microchirurgia che ha consentito di trasportare a qualsiasi distanza lembi comprendenti altri tessuti oltre alla cute (muscolo, osso, ecc.). Le anastomosi dei lembi liberi utilizzano di solito vasi di calibro maggiore come l'a.tibiale e la vena safena. Quelli più usati nel corso degli ultimi trenta anni del XX secolo erano l'inguinoaddominale per coprire difetti tissutali dell'arto inferiore (P.Santoni-Rugiu 1977), il dorsale del piede, il deltopettorale, quello della prima commissura interdigitale del piede. Il ricorso alla tecnica operatoria dei lembi liberi inizia sempre ricercando i vasi del lembo da trasferire da parte di una équipe di operatori mentre la seconda équipe prepara la perdita di sostanza da ricoprire con il lembo individuando i vasi che devono ricevere quelli del trapianto. Sono stati usati l'omento che contiene vasi di 2 mm di calibro per riparare i danni da irradiazione del plesso brachiale (E.**Morelli** 1983), il periostio costale con i vasi mammari interni nel trattamento delle pseudoartrosi, la sesta o settima costa per ricostruire una emimandibola, il muscolo estensore breve delle dita del piede per ovviare a una paralisi del n.facciale inveterata (G.**Salimbeni-Ughi** 1982), e altri ancora.

Dorso del piede, della mano e faccia volare dell'avambraccio sono le sedi ideali per prelevare **innesti vascolari venosi**, che sono l'altra arma, dopo l'anastomosi arteriosa e venosa, offerta dalla microchirurgia vascolare quando si tratta di casi nei quali non è possibile riavvicinare monconi vasali senza sottoporre l'anastomosi a tensione, come è frequente nel reimpianto di dita amputate: La lunghezza dei microinnesti vascolari non supera di solito i 4 cm e non è mai inferiore a 2 cm. Anche il prelievo del tratto di vene richiede la massima delicatezza e viene lavato abbondantemente con soluzione fisiologica????????? oppure angiostati singoli. L'applicazione dei punti di sutura segue l'ordine già sopra descritto per le anastomosi microvascolari.

CHIRURGIA dell' APPARATO RESPIRATORIO

Analogamente a tanti altri capitoli anche questo è stato improntato dall'improvviso e forte sviluppo di una branca chirurgica specializzatasi nel corso della seconda metà del Novecento. Ciò che ha consentito questo improvviso e rapido progresso furono le novità tecniche applicate per la prima volta su larga scala negli anni '40 nelle sale operatorie dei maggiori ospedali di tutto il mondo: 1) respirazione controllata a pressione positiva mediante intubazione tracheale (dapprima manuale e in seguito meccanica) su pazienti curarizzati 2) nuova semeiotica strumentale e di laboratorio (studio della funzionalità respiratoria individuale preoperatoria, tracheobroncoscopia, monitoraggio intraoperatorio delle funzioni vitali) 3) nuova strumentazione anestesilogica e chirurgica. Tutto questo non significa che le più gravi e diffuse affezioni dell'apparato respiratorio siano rimaste completamente sottratte ed estranee all'interesse diagnostico e terapeutico dei chirurghi del XIX e della prima metà del XX secolo: empiema pleurico, tubercolosi destrutturante del polmone, ascesso e gangrena polmonare, bronchiectasie, cancro del polmone, insuccessi del pneumotorace terapeutico furono altrettanti temi di studio e di programmazione terapeutica per molti chirurghi che cercarono di affrontare e innovare la chirurgia dell'apparato respiratorio.

Per quanto riguarda la **Tubercolosi polmonare** un internista inglese, James Carson, già nel 1820 aveva preconizzato la cura chirurgica basata su un pneumotorace artificiale ma i tentativi eseguiti in alcuni pazienti da un collega chirurgo su sua indicazione non ebbero successo a causa di sinfisi pleuriche. Bisognò attendere la fine del XIX secolo per incontrare i primi successi terapeutici del pneumotorace artificiale introdotto in Italia dal suo inventore Carlo Forlanini. Fu solo allora che ci si rese conto della necessità di rendere trattabili con il **pneumotorace** quei pazienti le cui aderenze pleuriche diffuse (sinfisi) o cordoniformi impedivano di ottenere un collasso ideale del polmone malato. La soluzione fu trovata dal chirurgo di Stoccolma H.C.**Jacobaeus** nel **1923** che inventò e diffuse la pratica della cauterizzazione delle aderenze pleuriche tramite un toracoscopio. All'inizio lo strumento era unico, accoppiava cioè la funzione illuminante-visiva e quella tagliente. Un importante miglioramento si ebbe negli anni seguenti con l'impiego di due strumenti separati, quello per individuare le aderenze e controllare l'azione tagliente dell'elettrobisturi il cui strumento veniva introdotto attraverso un accesso a parte.

Anche il movimento ritmico del diaframma fu preso in considerazione come possibile causa di mancata messa a riposo del polmone malato e il clinico tedesco C.A.**Suertz** propose nel **1911** la frenicotomia o **frenicoexeresi** che nelle mani di F. **Sauerbruch** diede buoni risultati, specialmente nella cura delle lesioni cavitari basse. La frenicotomia continuò ad essere praticata fino ai primi anni '50. Per ottenere la guarigione delle lesioni tubercolari basse fu anche proposto da **Banyai** nel **1931** e usato in pochi casi, il **pneumoperitoneo** che metteva a riposo i lobi inferiori facendo rialzare il diaframma. G.**Spina** però, nel 1981, scriveva che *“è stato del tutto abbandonato ma può trovare eccezionalmente indicazione per gravi emottisi da caverna sopradiaframmatica con lo scopo di diminuire l'azione traumatizzante dei movimenti diaframmatici”*.

L'altro classico intervento per collassare il polmone malato di tbc cavitaria, la **toracoplastica**, mosse i primi passi nel 1886 con il chirurgo svizzero De Cernville che reseccò parte delle prime tre o quattro coste in pazienti affetti da tbc apicale. Nel **1907** il tedesco P.L.**Friedrich** allargò la resezione costale portandola dalla seconda alla nona costa e asportando anche il relativo periostio per impedirne la ricrescita. Questa ampia demolizione lasciò un altrettanto ampio lembo pleuro-muscolo-cutaneo che, privo di sostegno rigido, sbandierava negli atti respiratori creando il fenomeno della respirazione paradossa accompagnato da crescente dispnea, subcianosi, acidosi respiratoria: dei 7 pazienti così operati 3 morirono. Due anni dopo questa operazione fu modificata in una esecuzione frazionata in due o più tempi preservando il periostio e asportando completamente la prima costa. Soprattutto questo ultimo accorgimento fu essenziale per far collassare completamente l'apice polmonare. I risultati migliorarono notevolmente. La prima toracoplastica negli USA fu eseguita da L.Freeman a Denver (Colorado). Verso il **1925** si diffuse la pratica della cosiddetta **“toracoplastica parziale”**, un intervento di demolizione costale sottoperiosteale localizzato secondo un programma mirato a schiacciare elettivamente la porzione di polmone interessata dalla lesione cavitaria. I sostenitori di questa pratica che consentiva la conservazione di una buona percentuale di funzionalità respiratoria al polmone malato, furono Alexander, Graf, Maurer, Rolland, Bernou e Frouchaud.

Negli anni '90 dell'Ottocento Tuffier ideò ed eseguì per primo con successo un altro tipo di operazione di collasso polmonare, il **pneumotorace extrapleurico** ottenuto creando una camera rifornibile periodicamente di aria dall'esterno con un apparecchio simile a quello di Forlanini. Lo scollamento veniva effettuato per via ottusa tra fascia endotoracica e pleura parietale e l'operazione fu particolarmente impiegata per i casi di sinfisi pleurica in pazienti con lesioni cavitari del lobo polmonare superiore. Come tempo supplementare al pneumotorace extrapleurico venne praticato anche da alcuni chirurghi il cosiddetto **“piombaggio extrapleurico”**, cioè il riempimento della cavità ottenuta con lo scollamento

tra fascia toracica e pleura parietale mediante un liquido inerte o garza jodoformica che veniva poi estratta a coalito dei tessuti avvenuto.

Sull'orma del pneumotorace extrapleurico **Semb** pubblicò nel **1935** il suo intervento di "**apicolisi extrafasciale**" che ebbe buona diffusione dimostrandosi molto utile per le lesioni apicali. In seguito lo stesso Semb formulò le linee definitive della sua **toracoplastica**: resezione completa delle prime tre coste ottenendo il collasso dell'apice su ogni versante e resezione parziale di quarta, quinta e sesta costa. Questo fu il tipo di toracoplastica che si impose negli anni '40 e fu ancora praticato da tutti fino agli anni '60.

Nel **1928** l'italiano **Monaldi** inventò e propose la "**aspirazione endocavitaria**" delle caverne tubercolari nelle quali, sotto guida radioscopica, veniva introdotto un sondino che, collegato ad una dolce aspirazione, faceva da drenaggio del contenuto cavitario ma serviva anche per immettervi direttamente farmaci disinfettanti e, quando furono finalmente disponibili, i farmaci antitubercolari. L'esperienza sanatoriale italiana accumulata con questo metodo di cura consentì di indicarne con sicurezza il campo d'applicazione elettivo che era quello delle caverne primitivamente isolate, cioè dopo regressione terapeutica dei focolai vicini e presentanti ancora una parete sottile e non rigida. In molti pazienti il metodo Monaldi rappresentò nel corso degli anni '30 e '40 il primo tempo di un programma terapeutico che comportava successivamente una toracoplastica o una resezione polmonare.

Il primo a sostenere, sulla base di un'ampia sperimentazione sull'animale, la fattibilità della **resezione del tessuto polmonare** e a suggerirne l'impiego per curare la tbc destrutturante del polmone fu a Napoli **D.Biondi** nel **1884** ma già un anno prima **Ruggi** aveva eseguito in Italia la prima resezione polmonare per tbc. Negli stessi anni il chirurgo tedesco **H.Block**, che aveva pure accumulato una notevole esperienza nella resezione del polmone sperimentale, asportò ambedue gli apici polmonari per tbc ad un suo cugino che morì poco dopo l'intervento. Una volta che l'autopsia rivelò che non si era trattato di tbc polmonare, Block si suicidò. Nello stesso anno (1893) il francese **E.Dyen** eseguì con successo una lobectomia parziale per tbc in un ragazzo di 10 anni di età. Nello stesso anno a Glasgow **W.Maceven** eseguì una pneumonectomia subtotale in un uomo che visse in buono stato di salute per altri 45 anni.

La scoperta degli **antibiotici e chemioterapici ad azione antitubercolare** (streptomina, PAS, isoniazide e altri) segnò alla fine degli anni '40 e nei primi anni '50 un radicale cambiamento di indirizzo nella cura della tbc polmonare e consentì anche una esecuzione più sicura delle tecniche di resezione più e meno estesa del tessuto polmonare essendosi affinate con il miglioramento della strumentazione (nuovi tipi di dissectori, elettrobisturi, bisturi ad azoto, nuovi materiali di sutura) e con una migliore conoscenza anatomica dell'ilo dei polmoni, dei lobi e dei segmenti polmonari. Nei primi anni '60 **L.Biancalana** e **A.E.Paletto** scrivevano che "*attualmente due tipi di intervento dominano il quadro della terapia chirurgica delle caverne tubercolari: la toracoplastica e le resezioni polmonari*". Infatti era ormai in atto da qualche anno l'abbandono progressivo del pneumotorace terapeutico, di quello extrapleurico, della frenicoexeresi, del pneumoaddome, della aspirazione alla Monaldi grazie ai successi della nuova cura sanatoriale dove al riposo veniva associata la somministrazione della terapia medica con i nuovi farmaci antitubercolari. Il numero dei pazienti che dopo un periodo di tre-sei mesi mostravano la persistenza invariata delle lesioni cavitari dei polmoni era fortemente diminuito e appariva in progressiva diminuzione man mano che entravano in commercio nuovi farmaci sempre più attivi contro il bacillo di Koch. A questa ridotta schiera di candidati alla terapia chirurgica veniva riservata nella maggior parte dei casi la scelta della **resezione**, diventata nel frattempo sempre più economica per motivi funzionali.

Negli anni '60 dei vari tipi di toracoplastica era sopravvissuta solo quella di Semb ma nel 1965 essa veniva riservata solo a pazienti di età avanzata e in condizioni generali troppo

scadenti; tutte le altre forme di tbc cavitaria non stabilizzata venivano sottoposte a interventi di resezione.

Altre forme di tbc polmonare suscettibili di cura chirurgica furono indicate ancora a metà degli anni '60 nel cosiddetto "*polmone distrutto*" la cui unica forma di cura era data dalla pleuropneumectomia o dalla toracoplastica totale, e nel tubercoloma del polmone giustiziabile con una resezione segmentaria o atipica.

Nel **1980** L.H.**Harrison** dell'università di Oklahoma, nel considerare i vari aspetti della cura chirurgica della tbc polmonare, ammetteva che l'entrata in commercio di due nuovi farmaci, l'etambutolo nel 1961 e la rifampicina nel 1963, aveva assottigliato il territorio di applicazione della cura chirurgica pur migliorandone i risultati. Il quadro delle indicazioni a cura chirurgica delineato da Harrison contemplava indicazioni "primarie" e "secondarie". Tra le prime erano comprese le forme cavitare, un lobo distrutto, una importante stenosi bronchiale, le bronchiectasie tubercolari dei lobi inferiori secondarie a vecchie lesioni tbc, insomma un pacchetto di lesioni tutte ribelli ad una cura continuata per 6 mesi con almeno due farmaci antitubercolari che non erano riusciti in tutto quel tempo a negativizzare le culture dell'escreato. A queste forme Harrison aggiungeva la sospetta concomitanza di una neoplasia, le lesioni sostenute dal bacillo di Koch di tipo III, le emottisi violente ripetute e una fistola broncopleurica.

Tra le indicazioni "secondarie" enumerava tutte le gravi e definitive alterazioni anatomopatologiche del polmone in pazienti con escreato negativo per bacillo di Koch. Giustamente Harrison concludeva che "*le indicazioni della chirurgia polmonare devono essere temperate dalle eventuali controindicazioni* (riserva funzionale respiratoria deficitaria, coesistenza di una malattia tumorale, tbc disseminata in altri organi e apparati) *e soprattutto dal buon senso e dall'esperienza personale*".

Fin dai primi anni '50, cioè da quando comparvero i primi casi di resistenza alle cure antibiotiche e chemioterapiche della tbc, ogni reparto chirurgico dove si praticava la chirurgia toracica per la cura della tbc si era dotato di un laboratorio per la ricerca dei ceppi resistenti ai farmaci antitbc con culture al verde di malachite addizionate di detti farmaci. Un altro accorgimento fu quello di indagare preliminarmente sullo stato di salute della parete bronchiale laddove sarebbero cadute la sezione e la sutura del bronco e questo tanto più dopo la dolorosa esperienza fatta all'inizio con le fistole bronchiali postoperatorie dovute a cedimento delle suture a causa dell'infiltrazione tubercolare della parete dei bronchi. Negli anni '60 furono identificati almeno tre gruppi di micobatteri atipici parzialmente o totalmente resistenti alla cura antitubercolare; in particolare i micobatteri del gruppo III mostrarono una resistenza *in vitro* a tutti i farmaci antitbc nel 50-70% dei casi degli anni '60 (B.G.Hattler e coll. 1970). Il 25% dei tubercolotici del gruppo III con escreato negativo rivelarono poi la presenza di micobatteri attivi negli *specimens* di resezione. Per questo motivo e per gli insuccessi della resezione polmonare condotta con criteri di eccessivo risparmio, Harrison consigliava di mantenersi generosi sia nell'indicazione alla cura chirurgica sia nell'ampiezza dell'exeresi in tutti i pazienti affetti da tbc sostenuta da micobatteri di gruppo III.

Le due complicazioni postoperatorie più temibili negli operati di exeresi polmonare per tbc furono fin dagli anni '40 la fistola broncopleurica e l'empiema postexeresi. Negli anni '80 la **fistola broncopleurica** era ancora presente nel 3-7% degli operati, gravata da una mortalità non inferiore al 25%. Purtroppo molto spesso i segni inequivocabili di questa grave complicazione postoperatoria non si rendevano riconoscibili prima di 10-12 giorni o addirittura dopo diverse settimane, in un periodo cioè in cui non è più possibile attuare un tentativo di chiusura della fistola con buone probabilità di successo. Quando invece la diagnosi di fistola broncopleurica avveniva precocemente, cioè entro i primi 3-4 giorni del postoperatorio, e l'immediato drenaggio del cavo pleurico residuo rivelava una continua e forte perdita d'aria tale da far fondatamente presumere un cedimento totale della sutura del

bronco, un tentativo di cruentazione del mocone bronchiale, sua risutura e copertura con un lembo pleurico e miofasciale era considerato più che giustificato. Quando invece la fistola compariva tardivamente la soluzione suggerita dagli AA che più si erano dedicati alla soluzione di questo problema – W.Barker e coll. nel 1971, J.Hankins e coll. nel 1978; N. Demos e J.Timmes nel 1973 - era quella di una toracoplastica di estensione e localizzazione adatte alla sede e all'ampiezza del cavo pleurico residuo e di una contemporanea mioplastica con un lembo del muscolo intercostale più vicino o del muscolo gran pettorale. L'empiema pleurico non tbc e non secondario a fistola broncopleurica veniva trattato negli anni '80 con drenaggio aperto, lavaggio quotidiano con liquido di Dakin allo 0,25% e instillazione di una soluzione di neomicina per 6-8 settimane come già descritto da O.Clagett e J.Geraci nel 1963 e convalidato da E. Stafford e dallo stesso Clagett nel 1972.

Ascesso e Gangrena del Polmone. Queste erano malattie piuttosto frequenti, dal decorso grave e a volte mortale, nella prima metà del Novecento, cioè in era preantibiotica. La loro insorgenza era secondaria a polmoniti batteriche e/o ad aspirazione accidentale di materiale settico o comunque di corpi estranei fortemente inquinanti. Nel **1899** il pneumologo austriaco A.**Fraenkel** aveva pubblicato una importante monografia sulla patologia e clinica di queste affezioni suppurative attribuendo la loro componente gangrenosa al 7,5% di tutte le polmoniti influenzali.

Negli anni '20 del Novecento i patologi diedero alle stampe diverse ed opposte tesi sul ruolo eziopatogenetico dell'embolizzazione (emboli settici) e dell'aspirazione tracheobronchiale. Nel 1926 E. Holman e collaboratori riuscirono a riprodurre nell'animale da esperimento ascessi del polmone iniettando nella trachea materiale settico prelevato dai bordi alveolari di persone affette da piorrea dentaria: dimostrarono così l'importanza e la reale esistenza del meccanismo patogenetico dell'inspirazione. Nel 1929 A.Lambert e C. Weeks accostarono per la prima volta il ruolo determinante dei microorganismi anaerobi nella produzione degli ascessi polmonari. Nel **1936** H.**Neuhoff** e A. **Touroff** pubblicarono il loro metodo di *drenaggio in due tempi* degli ascessi putridi o gangrenosi: il drenaggio attraverso toracotomia serviva a vuotare all'esterno l'essudato e il tessuto necrotico e nello stesso tempo a convogliare l'ossigeno dell'aria ambiente nel focolaio di lesione sostenuto da germi obbligatoriamente anaerobi. Questo metodo salvò molte vite ma lasciò spesso dietro di sé una fistola secernente cronica o una fistola bronchiale, ambedue notevolmente invalidanti.

Nel **1938** Raffaele **Paolucci**, clinico chirurgo dell'Università di Roma, tenne la relazione sugli ascessi e gangrene del polmone e loro cura al congresso di ottobre della Soc. Italiana di Chirurgia. In quell'occasione Paolucci, oltre a documentare la sua casistica di 103 interventi con una prevalenza di resezioni atipiche (84 casi) e piombaggi extrapleurici (50 casi), ricordò la prima lobectomia per bronchiectasie ascessuate eseguita in Italia da lui stesso e pubblicata da Ruggieri nel 1935. Negli anni '40 G.Ceccarelli eseguì con successo a Padova alcune **lobectomie**. Erano quelli gli anni in cui c'era dissenso tra i fautori della **lobectomia in due o più tempi** (Alexander eseguiva la semplice legatura del peduncolo e l'avvolgimento del lobo con garze come primo tempo e rimozione del lobo necrotizzato dopo 7-22 giorni; Robinson nel primo tempo si limitava a circondare il lobo di garze o guttaperca e asportava il lobo dopo 10 giorni; altre varianti furono quelle di Sauerbruch, Churchill, Bethune e i fautori della **lobectomia in un tempo** (Lilienthal 1922; Brunn 1929; Shenstone 1932) con mortalità progressivamente ridotte dal 60% del 1922 al 10% del 1932). Della "**pneumectomia**" Paolucci scrisse: "*è intervento grave di per sé stesso ma gravissimo e difficilmente sopportabile in un suppurante cronico e quindi mi risparmio di parlarne. La pneumectomia può trovare più utili indicazioni nei tumori. Forni ne ha raccolto nella letteratura 33 casi con 18 morti ma col progresso continuo e rapidissimo di*

questa branca della chirurgia non escludo che si possa in seguito adottarla anche in qualche caso di suppurazione cronica”.

Le **resezioni parziali e progressive** con il termocauterio, che tennero banco negli anni Trenta, furono il seguito di quelle proposte da **Graham** nel **1923** senza esteriorizzare il lobo malato dalla cavità toracica e cauterizzando – come già fatto da Sauerbruch nel 1920 - solo la parte malata con un comune ferro da saldatore portato al rosso. Era un intervento in due o più tempi di cui il primo consisteva nel demolire a tutto spessore la parete toracica per due o tre coste in corrispondenza della zona da aggredire e nel tamponare con garza la cavità così creata. La cauterizzazione veniva eseguita dieci giorni dopo. La ferita veniva poi ricoperta da una grossa falda di garza che non veniva rimossa prima di una settimana. Raramente bastava una sola seduta di cauterizzazione e, a distanza di tre settimane, le sedute di cauterizzazione procedevano - senza mai avvicinarsi troppo all'ilo - fino a eliminare del tutto il tessuto malato.

Nel **1947** fu E.M.**Kent** che per primo propose ed eseguì la resezione della parte di polmone malata con **legatura preventiva di vasi e bronchi** afferenti ad essa, ma, nel medesimo periodo, prese piede la pratica dell'**iniezione transparietale** con ago sottile di antibiotici direttamente nel cavo dell'ascesso e già nella seconda metà degli anni '50 il drenaggio transparietale e l'**antibioticoterapia locale** e per via generale riuscirono a risolvere rapidamente la massima parte di queste suppurazioni, che, spesso, trovavano da sole una via naturale di svuotamento aprendosi in un bronco di medio calibro. Con improvvisi violenti accessi di tosse veniva emessa una quantità variabile di pus più o meno nauseabondo (“vomica”).

A cominciare dagli anni '50 si diffuse sempre di più il controllo batteriologico dell'escreato e/o del materiale di drenaggio, un esame che rivelò la predominanza delle forme sostenute dagli *stafilococchi* nei bambini come esito delle polmoniti sostenute dallo stesso microorganismo, mentre negli adulti erano più frequenti le forme date dalla *Klebsiella pneumoniae* che era capace di dar luogo a una evoluzione molto temibile, la necrosi emorragica dissecante di rapida estensione. Nelle gangrene gli anaerobi responsabili erano i Bacteroides, il Fusobacterium, i cocchi anaerobi e lo Spheroforus. L'isolamento dei germi responsabili venne preso a base del trattamento antibiotico. In attesa dell'antibiogramma era l'esame microscopico dell'escreato che indirizzava alla scelta dell'antibiotico. Una prevalenza di germi Grampositivi portava a scegliere le cefalosporine o le penicilline resistenti alla penicillinasi (meticillina, oxacillina, cloxacillina, ecc.) mentre una prevalenza di Gramnegativi suggeriva di ricorrere subito alla Gentamicina. Per gli anaerobi si dava la preferenza alla penicillina G, alla lincomicina, al cloramfenicolo. Una volta ottenuti i risultati dell'antibiogramma si aggiustava il tiro con maggior esattezza.

Negli **anni '80 le resezioni polmonari** erano ormai quasi del tutto abbandonate e riservate solo a rari casi di ascessi cronicizzati perché ribelli ad ogni tipo di cura medica e di trattamento locale conservativo. Il tipo più comune di resezione effettuato era la lobectomia, mentre l'asportazione dell'intero polmone era riservata ai rarissimi casi di suppurazioni destruenti multiple. La cura chirurgica comportava comunque una mortalità operatoria media compresa tra il 5% e il 10%.

Molta importanza veniva data al drenaggio posturale e alle battiture dell'emitorace interessato e, quando l'espettorato era troppo denso, vischioso e difficilmente espettorabile, si ricorreva alla broncoaspirazione e al broncolavaggio. I tisiologi dell'università di Pavia C.Grassi e E. Pozzi scrivevano nel 1981 che “è importante misurare la quantità giornaliera di espettorato, che fornisce una indicazione rapida dell'efficacia della terapia” e, a proposito del drenaggio, osservavano che “il drenaggio attraverso toracotomia è oggi eccezionale, ma può rendersi necessario in alcuni casi con flora

particolarmente resistente agli antibiotici”, concetto che risponde all’antico imperativo della medicina galenica “*ubi pus, ibi evacua!*”.

Per ultimo l’A. di queste righe deve ammettere di non essere riuscito a trovare a fine del XX secolo aggiornamenti di rilievo sulle suppurazioni polmonari e ritiene che la spiegazione risieda nel fatto che si tratta di patologie obsolete, espressione di un passato in cui le cattive condizioni di nutrizione e di difese immunitarie avevano consentito il fiorire di questa patologia in mancanza di farmaci adatti a trattarla.

Bronchiectasie. La prima lobectomia per bronchiectasie fu eseguita con successo nel 1899 in Germania da F.Krause. I successivi interventi chirurgici per questa affezione furono però gravati nei primi decenni del Novecento da un’alta mortalità: Nel 1915 W.Meyer a New York denunciò una mortalità del 50% in 15 pazienti da lui operati di pneumonectomia. Va però considerato che all’epoca di Meyer non esistevano ancora mezzi adeguati a definire localizzazione ed estensione della malattia e allo sguardo dei posteri la asportazione di un intero polmone apparve certamente un’operazione troppo gravosa e sproporzionata rispetto alla gravità e alla sede solitamente bassa di questa affezione. Nel 1922 il chirurgo di New York H.Lilienthal denunciò una mortalità del 42% su 14 **lobectomie** da lui eseguite per malattia bronchiectasica, interventi condotti con legatura in massa del peduncolo vascolare dell’ilo lobare. Nel 1923 nel suo discorso d’apertura del congresso dell’associazione di Chirurgia Toracica americana S.Robinson affermò che “*ho sempre ritenuto che il maggior merito della chirurgia toracica sarà quello di eliminare questa grave malattia. Chi è ritornato entusiasta dalla guerra dopo aver spesso attirato in una grande ferita toracica un lobo polmonare, averlo pulito, lavato o anche asportato concludendo che la chirurgia toracica non presenta affatto quei pericoli tanto paventati e che le sue possibilità non sono diverse da quelle della chirurgia addominale, è giustificato se asporta nell’ospedale della sua città un lobo inferiore devastato dalle bronchiectasie*”. Dopo aver descritto le difficoltà incontrate nell’eseguire queste operazioni di exeresi polmonare aggiunse: “*tuttavia abbiamo avuto dei successi. Quattro anni fa la mortalità operatoria era del 50%, oggi invece è più bassa. Questo progresso è destinato a continuare*”.

Nello stesso anno (1923) E.A.Graham raccolse dalla letteratura angloamericana 48 casi di resezione polmonare per bronchiectasie con 17 guarigioni definitive e purtroppo un 52% di mortalità. In base anche alla propria deludente esperienza (un solo sopravvissuto su tre operati) pensò di abbandonare le resezioni e di limitarsi ad evacuare le dilatazioni bronchiali sacciformi piene di pus formando un drenaggio e distruggendo con il termocauterio le parti periferiche dei lobi malati. Nel 1925 la mortalità operatoria dei suoi venti operati era scesa con questo metodo al 20%, ma quattro operati, pur asintomatici, rimasero portatori di fistola broncopleurocutanea.

Intorno al 1915, in Francia, Charles **Lenormant**, chirurgo degli ospedali parigini e agregé della facoltà di medicina di Parigi, scriveva a proposito delle bronchiectasie: “*... per lo più i malati colpiti da queste caverne bronchiectasiche sono indeboliti dalla lunga infezione; molti presentano degenerazione amiloide dei visceri; tutti sono esposti a complicazioni a distanza, di cui la più frequente è l’ascenso del cervello. Per tutte queste ragioni la prognosi è riservatissima. Di solito si è ricorso alla **pneumotomia con drenaggio della cavità**. Garré e Sultan rilevano 57 osservazioni con 36 guarigioni e 21 morti (36%) ma la statistica più recente e più estesa (211 casi) di Cumrton dà la cifra molto vicina del 31% di decessi. Le bronchiectasie sacciformi sono le più favorevoli e non danno che una mortalità del 7%, mentre le bronchiectasie ampollari, a cavità multiple monolaterali hanno dato 8 decessi su 24 operati e le bilaterali 4 su 5 (Tuffier).*” Lo stesso Lenormant riferiva che la lobectomia, indicata in un lobo infarcito di cavità multiple, era stata praticata 8 volte con un 50% di mortalità. Garré in quegli stessi anni raccomandava la toracoplastica che fu

praticata anche da Lenhartz, Tuffier e Luxembourg; Brauer e Frank invece ottennero qualche buon risultato con il pneumotorace artificiale, Tuffier e Lambret con il pneumotorace extrapleurico. Sauerbruch in due casi e Willy Meyer su tre legarono l'arteria del lobo polmonare colpito con lo scopo di provocare un'atrofia del lobo stesso. Lenormant concludeva, dopo questa rassegna, che *“tutti questi metodi danno dei miglioramenti nelle conseguenze del riassorbimento settico piuttosto che la vera guarigione della malattia”*.

Nel 1931, presso la clinica di Sauerbruch, R.Nissen eseguì l'asportazione di un polmone per bronchiectasie legando in massa l'ilo polmonare in un ragazzino di 12 anni. Nel 1932 C.Haight eseguì la stessa resezione con la stessa tecnica e **nel 1937 E.D.Churchill**, che per primo aveva eseguito la legatura frazionata degli elementi ilari (arteria, vene, bronco) di un lobo polmonare, pubblicò 84 casi operati di **lobectomia** con una mortalità del 4,6%.

Nel 1940 B.Blades e E.M.Kent descrissero minutamente la tecnica di isolamento e legatura dei singoli elementi anatomici dell'ilo lobare inferiore, la stessa tecnica iniziata da Churchill nel 1931 per le lobectomie inferiori e da H.M.Davies per la pneumonectomia.

I miglioramenti della cura chirurgica di **exeresi lobare** furono dovuti non solo a questi perfezionamenti di tecnica operatoria ma anche alla più approfondita conoscenza del quadro anatomopatologico e della eziopatogenesi di queste lesioni (studi di Ameville e Lemoine in Francia, di Delarve, di Jennings e di Macklin in Inghilterra e in America) nonché alla introduzione in diagnostica della broncografia con olio iodato da parte dei francesi Sicard e Forestier nel 1922 ma perfezionata dall'italiano Lenarduzzi (Padova anni '40).

L'esperienza maturata dai chirurghi toracici nel ventennio 1945-1965 indirizzò a preferire resezioni polmonari sempre più limitate soprattutto nei bambini, negli adolescenti e nei giovani adulti con forme localizzate.

Le cure mediche consistenti nel drenaggio posturale accompagnato da battiture della gabbia toracica due volte al giorno, nell'antibioticoterapia endobronchiale e - se indispensabile - nel lavaggio bronchiale attraverso broncoscopio, nella ginnastica respiratoria, nella somministrazione per via generale di antibiotici a largo spettro nelle fasi acute dell'infezione bronchiale, erano indicate e praticate anche a lungo nelle lesioni giudicate reversibili in soggetti di più giovane età e negli adulti affetti da bronchiectasie diffuse bilaterali.

In quel ventennio (**1945-1965**) in Francia si interessarono al tema delle bronchiectasie i chirurghi Monod a Parigi e Santy a Lione, mentre in Italia vi si dedicò con particolare interesse scientifico la scuola torinese di Biancalana.

Negli **anni '70** il generale miglioramento dei risultati della cura conservativa contribuì a ridurre sempre più il numero dei pazienti candidati al trattamento chirurgico di resezione, e quando l'operazione chirurgica si rendeva assolutamente necessaria erano trascorsi almeno tre anni di cura antibiotica e fisioterapica. Le colture dell'escreato e la sensibilità dei germi coltivati verso gli antibiotici divenne un parametro di riferimento medico indispensabile e altrettanto si può dire per quanto riguarda la prevenzione fatta con i vaccini antinfluenzale e antipneumococcico che consentì di ridurre anche il numero dei nuovi casi.

Prima di operare i chirurghi cominciarono ad utilizzare la broncografia tridimensionale e ad individuare le caratteristiche del candidato ideale così come fu descritto nel 1971 da W.Glenn e collaboratori: *“malattia localizzata ad un solo lobo oppure a due segmenti contigui di due lobi polmonari”*. La casistica pubblicata nel 1966 da W.Sealy della Duke University di Durham (North Carolina – USA) riguardava 140 pazienti metà dei quali con malattia localizzata mentre l'altra metà era affetta da bronchiectasie diffuse. Questa seconda metà riconosceva come fattore eziologico un deficit immunitario. Le forme localizzate erano invece la conseguenza di broncopolmoniti ripetute e/o di aspirazione bronchiale di materiale estraneo. La mortalità globale fu inferiore all'1%, ma il gruppo delle bronchiectasie diffuse ebbe un 36% di guarigioni complete e definitive mentre il 53%

ebbe solo un miglioramento. Nel gruppo delle bronchiectasie localizzate l'80% guarì in modo definitivo e solo il 10% ebbe un miglioramento.

Un'importante casistica fu quella pubblicata da **J.Sanderson** e collaboratori nel **1974**: nell'arco di 15 anni furono curati per bronchiectasie 393 pazienti, due terzi dei quali con resezioni polmonari e un terzo con cure mediche. Tutti gli operati erano stati previamente sottoposti per 24 mesi a cura medica preparatoria e l'intervento chirurgico fu condotto sempre con intubazione tracheale mediante tubo di Carlens allo scopo di impedire che le manovre di isolamento del parenchima polmonare malato provocasse inondazione di pus nel polmone controlaterale

Nel **1979** **G.George** e collaboratori pubblicarono 216 resezioni polmonari praticate su 99 pazienti con una mortalità operatoria complessiva dell'1,4%. La strategia seguita da questi chirurghi per le forme bilaterali fu quella di operare in un primo tempo il lato dove la malattia appariva più grave e rinviando l'operazione sul lato opposto di 2 o 3 mesi. Il 5% dei pazienti con forme diffuse bilaterali sviluppò una sindrome di cuore polmonare cronico a distanza di 5 – 20 anni dall'operazione. In questi malati il numero medio di segmenti polmonari asportati fu di undici, un numero molto superiore a quello medio di tutta la casistica.

Nel 1984 John H. Clement della New York University – Bellevue Hospital Center scriveva che *“la terapia è rivolta nella maggior parte dei casi al controllo delle infezioni con antibiotici appropriati e drenaggio posturale”* e, dopo aver specificato le varie opzioni di cura medica, aggiungeva: *“la resezione polmonare si rende talora necessaria affinché la cura antibiotica abbia effetto, ma solo quando l'affezione sia localizzata e non progressiva o quando il trattamento medico sia inadeguato come rilevabile da ricorrenti polmoniti o infezioni bronchiali o da frequenti emottisi”*.

Negli **anni '90** è andato vieppiù diffondendosi il metodo della terapia e della prognosi fondate sulle cosiddette *“colture quantitative”* che hanno rivelato come il carico batterico sia strettamente correlato alla gravità della malattia. Robert **Fick** nel **1995** scriveva che *“la cura chirurgica non deve essere eseguita senza un rilievo completo dell'albero bronchiale”* e che le sue indicazioni sono limitate a *“bronchiectasie localizzate per emorragie o infezioni che provocano frequenti ricoveri ospedalieri o grave invalidità”*.

Empiema pleurico. Questa fu una delle malattie chirurgiche del torace più frequenti nel XIX secolo e nei primi tre decenni del XX. Alan Ochsner ricordava che nel 1927, quando iniziò l'attività di docente di chirurgia alla Tulane University, *“le operazioni al torace più frequenti erano i drenaggi di empiemi pleurici e di ascessi polmonari”*. J.Estlander in Francia propose nel 1879 la resezione costale per ottenere il collasso del cavo pleurico nell'empiema cronico e nel 1892 il francese E. Delorme e nel 1893 il chirurgo di Chicago C.S.Beck propugnarono invece per la medesima indicazione la decorticazione del polmone. Durante la I Guerra Mondiale la mortalità per empiema pleurico fu particolarmente alta raggiungendo medie intorno al 30% e, in certi settori dei vari fronti di operazioni, addirittura il 70%. Questi esiti infausti furono dovuti secondo E.A.Graham al drenaggio aperto del cavo pleurico instaurato prima che il mediastino avesse raggiunto una sua posizione stabile al centro del torace cosicché si verificava sbandieramento delle formazioni mediastiniche con respirazione paradossa, cianosi, acidosi respiratoria progressiva e morte. La triade curativa adottata da **Graham** nel **1918** contemplava: 1. drenaggio a tenuta d'acqua nella fase acuta; 2. sterilizzazione precoce e oblitterazione del cavo pleurico; 3. nutrizione iperproteica del paziente.

La scoperta dei sulfamidici negli anni '30 e degli antibiotici negli anni '40 e nei decenni successivi fece abbassare e quasi azzerare le percentuali di frequenza dell'empiema pleurico non tubercolare che l'American Thoracic Society classificò nel **1962** in tre fasi legate alla storia naturale della malattia e accompagnate da uno schema terapeutico già ben

collaudato. La prima fase fu chiamata “essudativa” perché caratterizzata da versamento pleurico sieroso con scarsa presenza di globuli bianchi; la seconda fase fu detta “purulenta” o di transizione, caratterizzata da essudato ricco di globuli bianchi e di depositi di fibrina sulla sierosa pleurica; la terza fase fu detta “cronica” a causa dell’organizzazione connettivale delle ciotte pleuriche invase da fibroblasti e da capillari neoformati. Questa organizzazione delle ciotte pleuriche aveva inizio da 7 a 10 giorni dopo l’inizio della malattia. La terza e ultima fase produceva incarceramento del polmone dentro una corizza fibroso-densa, rigida, inestensibile che impediva l’espansione polmonare nell’inspirio.

L’empiema è ancor oggi considerato nella stragrande maggioranza dei casi la conseguenza di una polmonite batterica (*empiema metapneumonico*) quando ovviamente non dipende da un inquinamento del cavo pleurico da parte di un trauma penetrante e inquinante. Pneumococco e streptococco soprattutto nell’era preantibiotica, stafilococco e altri germi invece in era antibiotica, soprattutto nei bambini, sono stati gli agenti responsabili più frequenti dell’empiema (M.H.Ravitch e R.Fein, 1961).

Nella seconda metà del secolo agli empiemi da polmoniti si sono aggiunti quelli secondari a interventi chirurgici sul torace e quelli dovuti a rottura in cavo pleurico di processi neoplastici o di ascessi polmonari o subfrenici.

Radiografia standard del torace, TAC, toracentesi esplorativa, esame microscopico dell’essudato e coltura degli agenti microbici isolati – ciò che riesce nel 50% dei casi – diventarono i passi necessari dell’iter diagnostico. La maggior parte dei casi guariva con l’antibioticoterapia generale e locale, con il vuotamento ripetuto, con il lavaggio giornaliero fino a ottenere liquido limpido, con il drenaggio chiuso a tenuta d’acqua e con quello ad aspirazione continua. Quest’ultima diventò obbligatoria a partire dagli anni ’50 tutte le volte in cui non si riusciva ad evacuare del tutto il cavo pleurico e si andava incontro ad un rapido accumulo di essudato. L’esperienza degli anni ’50 e ’60 dimostrò che il drenaggio tubulare chiuso era particolarmente utile nel paziente in stato tossiemico perché, pur non ottenendo la completa evacuazione del cavo pleurico e la auspicata riespansione polmonare, stabilizzava le condizioni generali del paziente consentendo di affrontare a tempo debito e nelle migliori condizioni una terapia definitiva che doveva essere senz’altro più aggressiva, cioè chirurgica, per aver ragione una volta per sempre della fase cronica. Questa cura chirurgica si identificava nella decorticazione pleurica e, nel caso di presenza di fistola broncopleurica, nella eliminazione del tramite fistoloso spesso ottenuta solo a prezzo di una lobectomia.

Nel 1980 John Alexander dello Sloan Kettering Cancer Center di New York e Walter Wolfe della Duke Univ. di Durham definirono le seguenti scelte operative: 1. in presenza di empiema pluriloculato drenaggio aperto e resezione costale 2. negli empiemi cronici postpneumonectomia asportazione di due coste con relativi muscoli intercostali, rovesciamento del lembo cutaneo della parete toracica posterolaterale e sua fissazione alla pleura. 3. decorticazione del polmone, di diaframma e di pleura parietale e drenaggi sottili multipli fino a scomparsa delle fughe d’aria dal polmone decorticato, procedimento questo indicato nei pazienti in terza fase con polmone incarcerato e inestensibile 4. toracotomia precoce in caso di emotorace infetto.

Sempre negli anni ’80 G. Spina, docente di malattie dell’apparato respiratorio dell’università di Palermo, sottolineava l’importanza dell’identificazione dell’agente batterico e dell’antibiogramma per la scelta dell’antibiotico da usare, dell’accorgimento di aspirare tutta l’aria residua alle manovre di lavaggio pleurico e ad estrazione del liquido, e dell’associazione topica di corticosteroidi nella fase acuta. Sec. Spina la maggior parte degli empiemi in fase acuta con questo trattamento giungevano a guarigione senza dover ricorrere a trattamento chirurgico, lasciando dietro di sé esiti modesti e ben tollerabili con una buona funzione respiratoria. Queste sono le ultime indicazioni sulla strategia curativa dell’empiema pleurico nella fase finale del XX secolo. Del resto la chirurgia dell’empiema

era andata vieppiù restringendosi ad un numero esiguo di casi clinici cronicizzati e ribelli a qualsiasi tipo di terapia conservativa.

Il lettore potrà trovare ulteriori informazioni sull'*empiema cronico della pleura* nel 3° volume di questa Storia della Medicina.

Cancro del polmone. Rappresenta il capitolo più importante e più discusso non solo della chirurgia toracica del Novecento ma anche di tutte le altre forme di cura di questa malattia. Detto dagli AA anglosassoni con dizione più appropriata "*carcinoma broncogeno*", il cancro del polmone è l'unica malattia chirurgica dell'apparato respiratorio che nel corso del XX secolo ha mostrato un progressivo e notevole aumento di frequenza, anziché una riduzione come è avvenuto per tutte le altre affezioni polmonari di natura infettivo-infiammatoria. Fino al 1935 le neoplasie del polmone erano ovunque considerate una rarità e interessavano con pari frequenza i due sessi. Negli USA J.**Adler** pubblicò nel **1912** una revisione di tutte le neoplasie primitive del polmone apparse in letteratura prima del 1900: 211 casi in tutto. Le rarissime operazioni fino allora eseguite avevano riguardato forme estremamente rare di tumori maligni come i sarcomi recidivanti della gabbia toracica con invasione per contiguità del polmone sottostante (caso pubblicato nel 1884 dal chirurgo di Zurigo, Krönlein).

Nel 1911 il tedesco H.Kümmel comunicò al Congresso Internazionale di Chirurgia un caso di cancro del polmone trattato con la pneumonectomia e legatura in massa del peduncolo polmonare; il paziente era sopravvissuto solo 6 giorni. Nel 1912 l'inglese H.M.Davies – già citato per aver introdotto la legatura e sezione frazionata dei singoli elementi dell'ilo lobare – eseguì la prima lobectomia per cancro e il paziente morì in ottava giornata del postoperatorio per empiema e sepsi. Comunque in quella occasione Davies scrisse che in certi stadi di sviluppo ancora iniziale il cancro del polmone può essere ancora asportabile e auspicò che tutti i pazienti affetti da sintomatologia broncopolmonare dovessero essere sottoposti subito ad esame radiologico del torace evitando in tal modo di giungere alla diagnosi troppo tardi e all'impossibilità di tentare una cura radicale.

Nel 1920 F.Sauerbruch pubblicò due casi di resezione polmonare per cancro e nel 1933 a Boston E.Churchill asportò in un paziente con successo il lobo inferiore e il lobo medio di destra per cancro. Il 5 aprile dello stesso anno E.Graham eseguì con successo la prima pneumonectomia per cancro in un medico legando in massa l'ilo del polmone e facendo seguire una toracoplastica per obliterare il cavo pleurico residuo. Il paziente visse a lungo e sopravvisse al suo chirurgo. Sempre nel **1933** il 24 luglio e il 3 novembre presso il Johns Hopkins Hospital di New York W.F.**Rienhoff** eseguì la pneumonectomia con legatura frazionata degli elementi ilari e usando una toracotomia anteriore.

Alan **Ochsner** eseguì la sua prima pneumonectomia per cancro il 15 aprile **1936** e il paziente era ancora vivo e in ottimo stato di salute trenta anni dopo; quello fu all'epoca il decimo caso nel mondo operato per cancro primitivo del polmone con pieno successo.

Nel **1950** il capo-scuola inglese P.R.**Allison** propose per primo la pneumonectomia radicale accompagnata da simultanea asportazione di tutti i linfonodi mediastinici (*svuotamento mediastinico*). Questa tecnica si impose nella fallace convinzione – supportata peraltro dagli studi anatomopatologici – che la diffusione prevalente del carcinoma primitivo del polmone avvenisse per via linfatica. Nel **1958** E.D.**Churchill** e collaboratori, basandosi sul fatto che il cancro del polmone diffonde precocemente e più spesso per via ematogena, proposero un'inversione di tendenza sostenendo che una **resezione conservativa**, cioè limitata a lobectomie o a segmentectomie o addirittura a resezioni polmonari atipiche, aveva gli stessi risultati a distanza della pneumonectomia radicale di Allison alla quale conseguiva comunque un danno funzionale notevole e sproporzionato alla estensione del tumore asportato.

La diagnosi di operabilità del cancro del polmone, visto il suo più elevato quoziente specifico di mortalità rispetto a tutti gli altri tumori maligni in molte età della vita adulta, acquistò **negli anni '60** grande importanza per il diffondersi di altre possibilità terapeutiche e per la contemporanea diffusione della chirurgia toracica anche in ospedali periferici. Nel 1964 L.Biancalana pose l'accento sull'importanza degli esami radiologici del mediastino (esofagografia, angiocardiopneumografia, duttografia, azygosgrafia) e della mediastinoscopia, dello studio radiologico del tumore e dei suoi rapporti con la parete toracica (sindrome di Pancoast) e con le formazioni mediastiniche, della biopsia linfonodale prescalenica, della broncoscopia, della possibile invasione pleurica, della ricerca di metastasi a distanza e della paralisi dei nervi ricorrenti e frenici. Per quanto poi riguardava la prognosi il giudizio di **Biancalana** suonava così: *“la prognosi del cancro del polmone è infausta per definizione: la sopravvivenza dei casi non trattati oscilla da poche settimane a 18 mesi dalla manifestazione clinica della lesione. La particolare malignità è data dal precoce interessamento di organi e tessuti di importanza vitale e dalla facile metastatizzazione”*.

Le **controindicazioni** ad una cura chirurgica elencate da Biancalana, ma condivise negli anni '60 dalla maggior parte dei chirurghi toracici, erano una diecina, tutte legate a vari aspetti di diffusione della malattia agli organi vicini e a distanza oltre alle controindicazioni dovute alle condizioni generali scadute e ai deficit di funzione respiratoria e cardiocircolatoria. Ne conseguiva che il 50-60% dei portatori di cancro polmonare veniva escluso da un intervento toracotomico.

L'intervento di elezione per i carcinomi dell'ilo polmonare era negli anni '60 la pneumonectomia con toeletta linfatica mediastinica e apertura o meno del sacco pericardico per accertare un eventuale interessamento del pericardio. Per le neoplasie periferiche l'intervento di elezione era la lobectomia ma venivano eseguite anche le resezioni lobari allargate seguite da anastomosi o reimpianto bronchiale sec. la tecnica descritta da **Mathey** (*sleeve resection*). I primi propugnatori nel mondo chirurgico americano delle sleeve-resections furono nel 1959 J.Johnston e P.Jones e nel 1960 D.Paulson e R.Shaw; in Italia questo tipo di operazione di alto significato funzionale fu ampiamente praticato con successo da C.A.Carlon a Udine dapprima e in seguito a Padova dal 1960 fino agli ultimi anni '80. Queste sleeve-resections furono anche accoppiate a terapia radiante preoperatoria ad alto voltaggio (4500 r in 4 settimane) da diverse équipes chirurgiche americane (J.Johnston e coll. nel 1959; Paulson e coll. nel 1962; R.Jensik nel 1966 presso l'università dell'Illinois). Le premesse anatomopatologiche per consentire l'esecuzione di una resezione-anastomosi sec. Mathey furono indicate da Jensik nelle seguenti cinque condizioni: reimpianto del bronco lobare superiore su una linea di amputazione molto alta del bronco principale destro dopo asportazione del lobo medio e di quello inferiore; reimpianto della parte più bassa del bronco intermedio sul bronco principale dopo asportazione del lobo superiore e di un tratto abbondante di bronco principale e di bronco intermedio; il medesimo procedimento a sinistra; reimpianto del lobo superiore sinistro sul bronco principale sinistro dopo asportazione del lobo inferiore, della lingula e di ampio tratto del bronco intermedio; reimpianto del bronco principale di sinistra sulla parte bassa della trachea 2 cm sopra la carena dopo asportazione del polmone destro con tutta la biforcazione tracheale.

I dati della mortalità operatoria della casistica di G.Ceccarelli, pubblicati da G.Tasca nel 1956, e quelli di L. Biancalana nel 1964 erano compresi tra il 4% e il 10% e la sopravvivenza a 5 anni tratta da un insieme di casistiche italiane e straniere oscillava da un minimo del 6% ad un massimo del 33%.

Anche se alcuni AA negavano all'istologia un significato prognostico, era opinione diffusa e consolidata alla fine degli anni '60 che il carcinoma indifferenziato o anaplastico (un

tempo detto “a piccole cellule” oppure “a cellule come grani d’avena”) fosse la forma più maligna del cancro del polmone. Anche all’adenocarcinoma veniva attribuita una scarsa operabilità accompagnata da prognosi sfavorevole mentre il carcinoma squamoso era definito resecabile nel 71% dei casi con sopravvivenze del 50% circa a 5 anni di distanza dalla resezione.

Nel **1974** C.F.**Mountain** e collaboratori della Task Force on Carcinoma of the Lung pubblicarono lo schema di **stadiazione TNM** per il cancro del polmone e negli anni ’80 questo schema, molto pratico e dettagliato, diventò la guida essenziale universalmente accettata per il giudizio di operabilità. Gli stadi ricavati da questo schema contemplavano due condizioni, quella di neoplasia occulta contrassegnata dalla formula Tx, N0, M0 e quella di tumore invasivo distinto in tre stadi: 1°- primo stadio con tre combinazioni possibili (T1,N0,M0; T1N1M0; T2,N0,M0); 2°- secondo stadio (T2,N1,M0); 3°- terzo stadio (T3 con qualsiasi N e M oppure N2 con qualsiasi T o M o ancora M1 con qualsiasi T o N). Per T1 si intendeva una neoplasia di diametro non superiore a 3 cm, per T2 quando il diametro superava i 3 cm e per T3 i tumori di ogni dimensione che invadevano per contiguità tessuti e organi vicini.

Nel 1980, avendo le precedenti esperienze dimostrato che nella metà dei pazienti affetti da tumore del polmone i linfonodi mediastinici erano già invasi, la **mediastinoscopia**, già introdotta dal celebre otorinolaringoiatra svedese E.Carlens nel **1959**, divenne per molte scuole chirurgiche il mezzo diagnostico principale e insostituibile per la diagnosi di operabilità.

I criteri di inoperabilità descritti nel 1980 da Robert Anderson e Carl Arentzen dell’università di Minneapolis (Minnesota) erano lievemente ridotti di numero rispetto a quelli enunciati da Biancalana 15 anni prima, perché l’invasione del pericardio, della gabbia toracica e le metastasi linfoghiandolari del mediastino omolaterale di un carcinoma squamoso non figuravano più tra le controindicazioni assolute. La filosofia resettiva degli anni ’80 dava la preferenza agli interventi più conservativi (lobectomie e sleeve-resections) purché tutto il tumore venisse rimosso lasciando adeguati margini di sezione bronchiale non invasa dalla neoplasia.

Le terapie neoadiuvanti e/o palliative (radioterapia, chemioterapia, immunoterapia) fornirono nei vari studi controllati degli anni ’60 e ’70 i seguenti risultati: 1°- la radioterapia preoperatoria non solo non migliorava i risultati della cura chirurgica, anzi li peggiorava. L’unica situazione che risentiva beneficio della terapia radiante era la dolorosa sindrome di Pancoast. Tuttavia la radioterapia dimostrò di essere talvolta utile nei pazienti in I e II stadio che non potevano essere operati per varie ragioni e in quelli in III stadio quando la malattia era limitata ad un solo emitorace (R.Anderson e C. Arentzen, 1980). La polmonite da radiazioni danneggiava la funzione respiratoria ed era controindicata in tutti i pazienti che presentavano deficit respiratori. 2°- la chemioterapia fu molto usata nel ventennio 1960-1980 sotto varie forme (farmaco unico; associazione di farmaci; chemio+radioterapia). Soprattutto se associata a radioterapia, la chemioterapia dimostrò di poter far regredire in modo sensibile la malattia nel 50% dei casi trattati ma senza alcuna incidenza sulla qualità di vita e sulle medie di sopravvivenza già note senza di essa. 3°- l’immunoterapia nel 1980 era ancora ai primi passi e gli unici dati – in parte promettenti – erano solo quelli sperimentali, quelli riguardanti l’assetto immunologico dei portatori di cancro del polmone e quelli dell’immunoterapia in pazienti affetti da altri tipi di cancro.

Nel corso dei **primi anni ’90** cominciarono a prendere piede le resezioni polmonari con linfadenectomia mediastinica eseguita **per via toracoscopica**, una tecnica meno traumatica di quella toracotomica classica e accompagnata da un netto miglioramento della visione ingrandita delle lesioni e dei limiti dell’aggressione chirurgica con l’ovvia conseguenza di un aumento delle resezioni atipiche che permettevano una migliore conservazione di tessuto polmonare funzionante. In Italia, presso l’Istituto dei Tumori di Milano, Ravasi

aveva già eseguito con questo ausilio tecnico lobectomie per cancro del polmone negli anni di passaggio tra gli ultimi anni '80 e i primi anni '90.

Nel 1995 Michael Iannuzzi e Galen Toews dell'Ann Arbor Medical Center e dell'Università del Michigan denunciarono che ogni anno negli USA morivano 140.000 persone per cancro del polmone e che il rapporto tra i malati maschi e femmine che dieci anni prima era di 5:1 si era ridotto a 2:1. Nonostante i grandi progressi nella diagnosi e cura di questa malattia i pazienti avevano ancora nel 1995 solo il 12% di probabilità di essere vivi a 5 anni dopo la cura chirurgica, e questo anche se ormai il fattore eziologico di gran lunga più importante era stato definitivamente individuato nel fumo di sigaretta ed era in atto da tempo una intensa campagna di prevenzione sociale. Fattori ereditari dove erano implicati gli enzimi P-450 formavano in quel tempo oggetto di studio assieme ad altri fattori chimici ambientali. Dei quattro tipi istologici (squamoso-epidermoide; adenocarcinoma; cr a piccola cellule; cr a grandi cellule) l'altissima malignità del carcinoma a piccole cellule fu confermata universalmente alla fine del secolo sulla base del suo rapidissimo sviluppo, sul fatto che la diagnosi veniva fatta nella quasi totalità dei casi a meno di 3 mesi dal suo inizio reale e perché più del 70% dei pazienti presentava ai primi sintomi già metastasi diffuse.

Quanto a indicazioni terapeutiche e alla terapia vera e propria Iannuzzi e Toews scrivevano che *“il sistema TNM è inutile nei pazienti affetti da tumore a piccole cellule soprattutto perché oltre l'80% di essi si trova sicuramente nello stadio III al momento della presentazione”* e che in questi casi, essendo esclusa la terapia chirurgica, si poteva puntare solo sulla radioterapia che però poteva ottenere un controllo locale della malattia in tre quarti dei pazienti prolungandone la vita.

Iannuzzi e Toews, sulla base di una vasta esperienza personale, illustrarono molto bene e dettagliatamente aspetti collaterali della malattia che in anni precedenti erano stati molto trascurati o ritenuti di scarso interesse clinico e che, invece, avevano dimostrato di influire negativamente e talora in modo determinante su ogni forma di terapia: si trattava dell'ostruzione endobronchiale per la quale la radioterapia e la laserterapia avevano dimostrato di ottenere dei miglioramenti, della frequente sindrome della cava superiore (75-80% dei casi), della compromissione cardiaca (nel 20-25% dei carcinomi a piccole cellule), delle sei diverse sindromi paraneoplastiche (sindrome dell'ormone antidiuretico inappropriato, sindrome di Cushing, sindrome di Eaton-Lambert, ipercalcemia, osteoartropatia ipertrofica, neuromiopatie), delle metastasi cerebrali presenti nel 15-30% dei casi a seconda della varietà istologica di carcinoma.

Negli ultimi anni del XX secolo continuavano studi di biologia molecolare sui vari fattori di crescita secreti da cellule maligne di tumori del polmone in coltura, sulla delezione del braccio corto del cromosoma 3 molto frequente nei carcinomi a piccole cellule e sulle famiglie di oncogeni *myc* e *ras* spesso amplificate ed esageratamente espresse nei tumori a piccole cellule e in quelli più aggressivi e resistenti alla chemioterapia.

Trapianto di Polmone. Il primo trapianto polmonare in chirurgia sperimentale porta la data del 1905 e quello sull'uomo la data del 1963. Da quell'anno fino al 1978 furono eseguiti altri 38 trapianti ma nessuno di questi operati fu dimesso dall'ospedale e uno solo era sopravvissuto più di 6 mesi. Le cause principali degli insuccessi erano l'infezione del polmone trapiantato e il cedimento completo della anastomosi bronchiale che fu imputato alla generosa somministrazione di corticosteroidi in funzione antirigetto. L'anno 1978 segnò uno stop e un ripensamento sui motivi degli insuccessi. Confortini nel 1983 scriveva che *“per quanto riguarda il trapianto dell'intestino e del polmone si sono eseguiti sporadici interventi ancora nella fase della pura investigazione clinica”* e aggiungeva che i migliori risultati erano stati quelli del trapianto di polmone con sopravvivenza fino a 10

mesi in un paziente trapiantato e che, rispetto al trapianto isolato di un polmone solo, migliori risultati avevano dato i trapianti *en bloc* di cuore e polmoni.

Alexander Patterson e Joel Cooper nel 1988 facendo una valutazione dello *status* attuale del trapianto di polmone e, ricordando che prima del 1978 c'era già stata una quarantina di trapianti di un singolo polmone, confermavano che la sopravvivenza massima di quei malati era stata di 10 mesi in un paziente che aveva potuto passare solo due settimane fuori dall'ospedale.

Il **1981** fu l'anno della ripresa guidata dal **gruppo di Stanford** quando finalmente si ebbero i primi trapianti con sopravvivenza a lungo termine grazie alla somministrazione di Ciclosporina A (CsA) come principale farmaco immunosoppressore e B.Reitz e collaboratori ottennero nel 1982 i primi successi terapeutici con il trapianto cuore-polmoni. Un anno prima D.Lima e coll. avevano reso noto l'effetto nefasto del metilprednisolone sul processo di guarigione dell'anastomosi bronchiale a fronte dell'innocuità a tale riguardo della CsA e dell'azatioprina. Fu anche dimostrato allora che un lembo di omento vitale applicato all'esterno del bronco del polmone donato ne aumentava l'irrorazione sanguigna proteggendo nel contempo il mediastino dalla sepsi secondaria a deiscenza della sutura anastomotica del bronco. Dovettero passare altri dieci anni perché il trapianto polmonare ottenesse una sopravvivenza vicina a quella dei trapianti di altri organi vitali. Solo nel **1992** verrà affermato con una certa sicurezza che *“il trapianto polmonare è la terapia più importante per le malattie polmonari in stadio terminale”* (J.Dauber e coll.)

La selezione dei riceventi di un omotrapianto polmonare alla fine degli anni '80 rispondeva ai seguenti requisiti: 1°- assenza di altre malattie gravi in altri organi e apparati 2°- assetto psico-sociale normale e ben orientato 3°- assenza di terapia cortisonica 4°- capacità di cooperare al programma di riabilitazione funzionale preoperatoria. Criteri relativi erano invece considerati l'età inferiore ai 60 anni, l'aspettativa di vita inferiore a 18 mesi, anamnesi negativa per malattie neoplastiche. Questi criteri selettivi variarono nel 1995 con l'abbassamento dell'età permettente a 50 anni per l'omotrapianto di cuore e polmoni, con l'aggiunta di una “adeguata funzionalità” del ventricolo sinistro, di una anamnesi personale negativa per il fumo o almeno di una interruzione risalente a tre mesi prima, di assenza di osteoporosi grave.

Per quanto riguardava la selezione del donatore alla fine degli anni '80 i requisiti indispensabili erano: 1°- compatibilità di gruppo sanguigno 2°- radiografia del torace assolutamente negativa per segni di malattia polmonare 3°- pressione parziale di ossigeno superiore a 300 mm Hg su una frazione d'inspirio di ossigeno al 100% con 5 cm. d'H₂O di pressione positiva a fine espirio. Nel 1995 nulla a tale proposito era cambiato.

Le possibilità tecniche sufficientemente collaudate tra il 1981 e la fine degli anni '90 erano tre: omotrapianto di polmone singolo, di entrambi i polmoni (effettuato preferenzialmente in due tempi corrispondenti ad altrettanti trapianti di polmone singolo), di cuore-polmone. Le rispettive indicazioni così come sono andate fissandosi intorno al **1995** erano le seguenti: 1°- per l'omotrapianto di polmone singolo la fibrosi polmonare nelle sue varie cause e forme, l'enfisema al suo grado estremo, la linfangiomatosis e, non ancora definitivamente valutate, l'ipertensione polmonare primaria e secondaria. 2°- per l'omotrapianto di ambedue i polmoni la sepsi polmonare, la fibrosi cistica, le bronchiectasie diffuse bilaterali congenite. 3°- per l'omotrapianto cuore-polmone la sindrome di Eisenmenger non correggibile e la cardiopneumopatia intrattabile (pneumopatia vascolare associata a miocardiopatia intrattabile).

Presso l'ospedale generale di Toronto, nell'Ontario, Patterson e Cooper eseguirono prima del 1988 15 trapianti di un polmone singolo su altrettanti pazienti affetti da fibrosi polmonare e di età compresa tra 15 e 59 anni. Solo 9 operati erano vivi e svolgevano una normale vita di relazione a distanza di periodi varianti da 4 mesi a 4 anni dall'operazione. Tra le diverse cause di morte un certo peso ebbero la sepsi precoce e quella tardiva (50%

dei 6 pazienti deceduti). Tra il 1984 e il 1986 i due chirurghi eseguirono 7 omotraspianti di cuore-polmone per varie cause (ipertensione polmonare; enfisema; bronchiectasie bilaterali; asbestosi all'ultimo stadio). Solo due di questi operati erano ancora vivi e in buone condizioni a distanza di due anni; la mortalità operatoria (prevalentemente per sepsi) colpì tre operati a 2-5 settimane dall'operazione; altri due operati morirono in seguito per bronchiolite obliterante.

Le maggiori casistiche mondiali erano nell'anno 1990 quelle del centro trapianti di Pittsburgh e di Stanford negli USA e degli ospedali Harefield e Papworth nel Regno Unito: la mortalità operatoria si aggirava in questi centri sul 25% (B.Griffith e coll.1987; C.McGregor e coll.1986) e le sopravvivenze a 1 anno oscillavano tra il 50% e il 60%.

Il trapianto di due polmoni *en bloc* con una ampia porzione di atrio sinistro e orifizi delle 4 vene polmonari fu praticato da Patterson e Cooper a partire dal 1986 in 7 pazienti di età compresa tra 17 e 43 anni: un solo paziente morì per cedimento dell'anastomosi tracheale mentre gli altri 6 tornarono alla loro vita normale senza bisogno di ricorrere all'ossigeno. Per l'immunosoppressione oltre alla CsA furono somministrate anche azatioprina e globulina antilinfocitica. Una volta accertata la buona e solida guarigione dell'anastomosi tracheale (di solito entro 2-3 settimane) gli AA passavano alla cura cortisonica che durò più a lungo che nelle altre due forme di trapianto onde prevenire la bronchiolite obliterante. Gli episodi acuti di rigetto si presentarono prevalentemente entro il primo mese dal trapianto e furono tutti superati con tre dosi giornaliere di metilprednisolone.

Sec. Patterson e Cooper il successo dei trapianti di polmone dipende da una severa selezione dei riceventi e dalla scelta di uno dei tre tipi possibili di trapianto in base alla malattia polmonare che ha ridotto i pazienti allo stadio terminale: il trapianto di polmone singolo sarebbe adatto per i pazienti affetti da fibrosi polmonare mentre il doppio trapianto andrebbe meglio per gli enfisematosi e per la malattia polmonare settica con buona o recuperabile funzione cardiaca. Le altre indicazioni fornite da questi AA erano identiche a quelle soprariportate.

I punti focali emersi dall'esperienza dei vari centri di trapianto polmonare erano ancora nel cuore degli anni '90 l'alta richiesta di trapianti a fronte di una scarsa disponibilità di donatori, la guarigione delle anastomosi bronchiali e tracheali e la pronta diagnosi di rigetto.

In Europa continentale il primo trapianto di polmone singolo fu eseguito nel Belgio da Fritz Derom nel 1968 ma fu solo dopo l'introduzione in uso clinico della CsA in Europa che questo tipo di trapianto subì un importante sviluppo. Il primo trapianto di polmone in Italia fu eseguito nel 1990 da Costante Ricci presso il Policlinico Universitario di Roma.

Chirurgia delle Metastasi Polmonari.- Dopo il fegato, il polmone è il viscere sul quale si impiantano più spesso metastasi di cancro primitivo di sedi varie (colon-retto, utero, mammella, rene,ecc.). Il **primo caso di metastasectomia polmonare** noto in letteratura é quello pubblicato nel **1939** da J.Barney e E.Churchill su "*J.Urology*", riguardava una lobectomia subtotale eseguita per asportare una metastasi di carcinoma renale scoperta 5 mesi prima della nefrectomia e asportata 15 mesi dopo. Il paziente era vivo ancora 12 anni dopo. Nel **1946** A.Edwards pubblicò su "*Thorax*" una sopravvivenza di 18 anni dopo resezione polmonare di metastasi di un sarcoma del perone. Nel **1947** J.Alexander e C.Haight pubblicarono su "*Surg.Gynecol.Obst.*" 19 casi, che andarono ad aggiungersi ad altri 5 riportati da altri AA, di metastasi, talvolta multiple, asportate con lobectomie o bilobectomie o anche con pneumonectomie. Uno di questi pazienti era vivo e in buone condizioni ad 8 anni e mezzo di distanza. Nel **1950** H.Seiler e coll. su "*J.Thor.& Cardiovasc.Surg.*" pubblicarono una revisione di tutti i 62 casi pubblicati fino ad allora: nel 68% di essi trattavasi di carcinomi e nel 32% di sarcomi. Nel **1955** J.Higginson pubblicò il caso di un paziente che era ancora vivo ad un anno di distanza dal terzo intervento di metastasectomia polmonare il cui tumore primitivo era un teratocarcinoma

del testicolo. Nel 1954 F.Kergin su "*J.Thor.Surg.*" scrisse che su 70 casi era stata constatata una sopravvivenza a tre anni del 30% simile a quella delle casistiche di resezioni polmonari per tumore polmonare primitivo. Gli stessi valori si ripeterono nel 1965 con il lavoro di N.Thomford e coll. pubblicato su "*J.Thor.& Cardiovasc.Surg.*". W.E.Dotter nel pubblicare un caso di metastasectomia polmonare (resezione a cuneo) in un paziente già operato nel 1960 di disarticolazione dell'arto inferiore sinistro per sarcoma osteogenico e di metastasi al lobo polmonare superiore destro, comunicava che l'operato era ancora vivo e in condizioni definite "eccellenti" nel marzo del 1967 ("*Surg.Clin.North Amer.*")

Da allora la letteratura continuò a raccogliere pubblicazioni ricche di informazioni sui risultati – nel complesso abbastanza soddisfacenti – delle metastasectomie polmonari, anche ripetute nel tempo. Segnaliamo alcuni lavori che per l'alto numero di interventi eseguiti o per la particolare lunghezza del periodo in cui gli AA hanno praticato questa chirurgia ci sembrano degni di essere citati: D.Morton e coll. (*Ann.Surg.*1973), K.Ramming ("*Surg.Clin.North Am.*" 1980), H.Pogredniak e coll. (*Ann.Thor.Surg.* 1988- su 16 anni di esperienza con metastasi di melanoma), D.Harpole e coll. (*J.Thor.&Cardiovasc.Surg.* – analisi di 945 casi – 1992), A.Van Geel e coll. ("*Cancer*" – su 255 casi – studio multicentrico europeo), U.Pastorino e coll. (*Chest Surg.Clin.North Am.*" 1998 – analisi di 5206 casi).

Nel 1999 R.Rosso e coll., della Chirurgia Toracica dell'Università di Torino, pubblicarono su "*Min.Chir.*" uno studio retrospettivo su 178 operati nel periodo 1960-1997 per metastasi polmonari di tumori maligni insorti in varie sedi e di natura diversa. La sopravvivenza totale a due anni fu del 47% e a cinque anni del 20%. Gli AA cercavano utili fattori prognostici per la sopravvivenza e questi furono individuati nel tipo istologico del tumore primitivo (fattore positivo per i sarcomi, negativo per i melanomi), nel numero delle metastasi (fattore positivo per un numero inferiore a 4 e viceversa), nella durata dell'intervallo libero da malattia (più lungo è, più alta è la sopravvivenza). L'esperienza di questi AA dimostrò inoltre che *"non bisogna escludere dall'intervento chirurgico i pazienti con metastasi polmonari sincrone al tumore primitivo nei quali è infatti possibile ottenere una buona sopravvivenza a due anni (42%) e discreta a cinque (15%)."*

Della chirurgia della mammella verrà trattata qui soltanto la storia del trattamento del cancro della mammella, cioè della malattia del seno che più ha interessato un vasto stuolo di studiosi di ambiti diversi: chirurghi, anatomopatologi, internisti, biologi, genetisti, farmacologi.

CANCRO della MAMMELLA

Fino ai primi anni '90 dell'Ottocento la terapia chirurgica del carcinoma del seno fu condotta senza una linea razionale unitaria che non fosse semplicemente quella ispirata dall'opportunità di rimuovere una lesione neoplastica cutanea destinata ad ulcerarsi in modo progressivo e sanioso o a trasformarsi in scirro assolutamente intrattabile, ripugnante e doloroso. I chirurghi di fine XIX secolo erano ben consci del grave problema della recidiva locale e, comunque, del carattere progressivo della malattia anche dopo che il tumore era stato asportato con varie modalità di tecnica operatoria, spesso coinvolgendo nell'asportazione estese aree di cute difficilmente ricopribili se non con innesti cutanei. Si cominciò dunque a cercare altre soluzioni per migliorare i risultati a distanza della cura chirurgica. A questo scopo – come riferito da Halsted – il chirurgo tedesco Volkmann *"aveva raccomandato di asportare la fascia del muscolo grande pettorale come si usa fare per una dimostrazione anatomica, e Heidenhain, un assistente di Küster a Marburg, aveva proposto di asportare anche le carni più superficiali dello stesso muscolo"*. Fu proprio

Halsted, che lavorava presso il Johns Hopkins Hospital di New York, a pubblicare nel **1890** e nel **1895** sul Bollettino dell'ospedale newyorchese il suo metodo che contemplò dapprima l'asportazione del gran pettorale e in seguito – indipendentemente da una proposta analoga di Willy Mayer – anche l'asportazione del piccolo pettorale aggiungendovi la linfadenectomia ascellare sopra- e sottoclaveare, tutte manovre che Halsted eseguiva “*en bloc*”. Halsted ammoniva anche a non frapporre tra biopsia del tumore e mastectomia “*radicale*” nessun intervallo di tempo tranne quello strettamente necessario per una valutazione “*macroscopica*” della natura neoplastica della lesione e a tale proposito scriveva che “*penso di essere stato in questo paese (gli USA) uno dei primi chirurghi capaci di fare la diagnosi macroscopica dei comuni tumori*”.

La situazione a fine Ottocento delle recidive locali del cancro del seno dopo rimozione chirurgica del tumore fu fotografata dallo stesso Halsted in una pubblicazione del 1894 dove comparava le recidive della mastectomia “*radicale*” con le mastectomie eseguite rutinariamente da 9 colleghi tedeschi scelti tra i principali chirurghi dell'Impero germanico e di quello austro-ungarico: mentre le recidive della casistica di Halsted non superavano il 6%, quelle pubblicate dai chirurghi tedeschi andavano da un minimo del 51-60% di Bergmann a Berlino ad un massimo dell'82% di Billroth a Vienna.

Nella prima metà del Novecento e anche fino agli anni '60 si continuò a usare la vecchia classificazione morfologica dei tumori del seno (cancro scirroso, adenomatoso, midollare) aggiungendovi con il passare degli anni altre varietà macroscopiche (cancro colloide, encefaloide, a pustole disseminate) completando il lungo elenco con forme del tutto particolari e più rare come il morbo di Paget che si presentava sotto forma di una falso eczema periareolare e del capezzolo, il cancro acuto delle gravide e delle puerpere e l'adenocarcinoma papillifero.

La seconda metà del XX secolo farà piazza pulita di gran parte di questa classificazione di interesse ormai soltanto storico, essendosi fatti strada nuovi valori quali il comportamento biologico del singolo tumore e la sua stadiazione clinica.

Nel **1945** F.W.**Foote** e F.W.**Stewart** descrissero per primi il “*carcinoma in situ*” della mammella, cioè lo stadio preinvasivo del cancro. Nel **1963** W.**Newman** dimostrò in modo definitivo l'alta pericolosità del carcinoma *in situ* pubblicando uno studio eseguito su 26 pazienti in 6 delle quali si svilupparono in modo pluricentrico 32 cancri con sede bilaterale. Dopo una prima fase in cui, anche in Europa, l'attenzione dei curanti si soffermò sul confronto dei risultati a distanza tra mastectomie con e senza linfadenectomia ascellare, confronto che confermò l'esattezza della visione di Halsted e la bontà del suo metodo, l'interesse si spostò sul numero e sulla sede dei linfonodi colpiti da metastasi.

Nel 1956 J.W. Pickren, del Presbyterian Hospital del Columbia Medical Center, contò una media di 38 linfonodi nel cavo ascellare di 204 donne colpite da cancro mammario delle quali 107 con metastasi ascellari. Da quel momento le metastasi linfonodali dell'ascella assunsero un grande significato prognostico e si ritenne universalmente doveroso sottoporre ad esame istologico tutti i linfonodi asportati in ogni intervento di mastectomia radicale sec. Halsted.

Tra il 1963 e il 1966 furono numerosissimi gli studi sul rapporto tra età delle pazienti ed evoluzione clinica della malattia (ne citiamo alcuni tra i più importanti: R.McDivitt e F.Stewart; S.Moore e R.Levis; E.Papadrianos e coll.; V.A.Gilbertsen). Nel 1963 C.Haagensen ed E.Cooley proposero una classificazione in 4 stadi designati da altrettante lettere dell'alfabeto (A,B,C,D) indicanti la progressiva gravità dei segni clinici obiettivi e questa stadiazione fu ampiamente usata da uno Studio Cooperativo Internazionale che non dava rilievo alle dimensioni del tumore primitivo e alla sua sede rispetto ai 4 quadranti del seno, rilevando invece con la massima attenzione i rapporti del tumore con la cute, con la parete toracica, con le dimensioni dei linfonodi ascellari palpabili e con la loro mobilità, con eventuali note di flogosi e presenza o meno di metastasi a distanza.

La storia naturale del cancro del seno fu studiata nel Regno Unito nel 1962 da H.Bloom e coll., in America del Nord nel 1927 da C.Daland e nel 1951 da M.D.Shimkin che, in totale assenza di cure, trovarono una vita residua dopo la diagnosi di 36-40 mesi e una sopravvivenza a 5 anni dalla diagnosi del 26% di donne di età compresa tra 60 e 69 anni nel periodo storico 1805-1933.

Nel **1966** le operazioni usate nel mondo occidentale erano sec. David C.Sabiston e William W.Shingleton della Duke University di Durham (North Carolina) le seguenti:

1. mastectomia radicale sec. Halsted
2. mastectomia superradicale con linfadenectomia sopraclaveare e della catena linfatica della mammaria interna sec. le proposte fatte da O.Wangensteen nel 1952, da J.Urban nel 1959 e da R.Handley nel 1963.
3. mastectomia radicale modificata sec. D. **Pathy** e W.**Dyson** (1952) con conservazione del muscolo gran pettorale. L'americano J.**Madden** nel 1965 propose la conservazione dei due pettorali eseguendo però lo svuotamento linfatico dell'ascella.
4. mastectomia semplice + radioterapia locale, metodo detto "di Edimburgo" proposto nel 1941 dal radiologo di quella città R.McWhirter in collaborazione con diversi chirurghi di Edimburgo e della Scozia. Tra il 1941 e il 1947 furono trattate con questo metodo 1882 pazienti. La sopravvivenza a 5 anni fu pari al 42% e, a dieci anni, al 25%. O.Clagett della Mayo Clinic di Rochester (USA) usò questo stesso metodo nel medesimo periodo ottenendo percentuali di sopravvivenza ancora migliori (59,3% dopo 5 anni)
5. radioterapia dopo modalità varie di mastectomia con percentuali di sopravvivenza a 5 anni comprese tra 45% e 72%.
6. escissione locale: metodo antico e già detestato da Halsted per i pessimi risultati, che tuttavia fu riabilitato nei primi anni '60 da alcuni chirurghi come l'inglese A.Poritt limitatamente a noduli molto piccoli e l'americano G.Crile che pubblicò una sopravvivenza del 65% a 5 anni in 20 pazienti trattate prima del 1965, data della sua pubblicazione.
7. I trattamenti aggiunti ai vari tipi di mastectomia: radioterapia pre- e postoperatoria; ovariectomia bilaterale nelle pazienti in età fertile; chemioterapia con Thio-tepa e con 5-Fluorouracile; ormonoterapia.

Sempre nel 1966 Sabiston e Shingleton completavano questo panorama dei vari tipi di cure con i dati riguardanti il linfedema postmastectomia radicale detto anche "*braccio grosso da mastectomia*" ricordando che già Halsted ne aveva a suo tempo parlato suggerendo alcune attenzioni atte a prevenirlo. Secondo lo studio di C.Danese e coll. pubblicato nel 1965 ben il 50% delle operate di mastectomia radicale era andato incontro a un certo grado di linfedema dell'arto superiore omolaterale ma solo il 5-10% era destinato a soffrire per gli inconvenienti, anche seri, del braccio grosso da mastectomia.

Infine per l'incidenza e la gravità del cancro della mammella in gravidanza, nel 1966 gli studiosi facevano ancora riferimento alle ricerche statistiche di S.W.Harrington pubblicate nel lontano 1937 e riferentisi ad osservazioni cliniche effettuate nel periodo 1910-1933: il gruppo formato da queste pazienti rappresentò solo il 2% in tutta la casistica di cancri del seno presa in esame e la sopravvivenza a 5 anni dalla mastectomia radicale sec. Halsted fu solo del 5% in presenza di metastasi linfonodali ma di ben il 61% nei casi di linfonodi indenni.

A metà degli anni '70 (febbraio 1976) Donald J.Ferguson e Paul Meier della Università di Chicago – Pritzker School of Medicine - pubblicarono uno studio sui risultati della cura chirurgica del cancro mammario del decennio 1960-1969 praticata su 492 donne delle quali metà era in stadio 1, un quarto in stadio 2 e un quarto negli stadi 3 e 4. Si trattò nel 98% dei casi di carcinoma duttale infiltrante, cioè della forma istologica più comune di carcinoma del seno. L'89% delle pazienti fu sottoposto a mastectomia radicale o superradicale, il resto a mastectomia semplice e modificata e a nodulectomia. I risultati a distanza fecero concludere che la sopravvivenza era simile dopo mastectomia radicale sec.

Halsted e dopo mastectomia superradicale sec. Urban, che non ci fu differenza sostanziale tra pazienti irradiate e non irradiate, che le percentuali di sopravvivenza a 5 e a 10 anni non erano troppo diverse da quelle di altre tre grandi casistiche inglesi, americane e canadesi del medesimo periodo (rispettivamente 59% contro 42-58% a 5 anni e 45% contro 25-51% a 10 anni), che la mastectomia superradicale rimaneva una scelta giustificata in certi casi e che gli interventi meno demolitivi della Halsted (Patey e Madden, nodulectomie) non avevano fornito risultati migliori a parità di stadiazione.

Nell'8° edizione del Manuale di Chirurgia di Cole e Zollinger, edito nel **1963**, H. Glenn Bell dell'Università di California ricordava che anche se *“alcuni clinici stimolati dalle pubblicazioni di McWhirter ritengono che la mastectomia semplice+rxterapia dia risultati altrettanto buoni di quelli della mastectomia radicale, la maggior parte dei chirurghi raccomanda caldamente quest'ultima”*; per quanto riguardava invece i trattamenti superradicali come la Urban o addirittura lo svuotamento linfatico completo del mediastino tramite sternotomia mediana sec. Wangenstein, affermava che *“bisogna che passi ancora del tempo prima di valutare in modo definitivo l'efficacia di queste operazioni allargate”*. Per il problema delle recidive Glenn Bell citava, oltre alla rxterapia, la castrazione o l'ormonoterapia con androgeni nell'età fertile delle malate e viceversa con estrogeni o cortisone nell'età postmenopausale dopo almeno 5 anni dall'inizio della menopausa stessa. In questo quinquennio il trattamento ormonico doveva essere basato sulla valutazione dell'attività estrogena della donna saggiata con biopsia vaginale ed esame del muco cervicale. Glenn Bell citò anche l'esperienza di A. Fracchia che in 55 pazienti trattate con l'adrenalectomia bilaterale aveva ottenuto buoni risultati in mastectomizzate nelle quali la recidiva era comparsa a distanza di 2-3 anni dall'operazione e la cui età media andava da 40 a 65 anni. La chemioterapia con agenti alchilanti o antimetabolici andava riservata sec. Glenn Bell ai casi più avanzati della malattia che non rispondevano più a nessun altro tipo di cura ma aggiungeva che *“...la chemioterapia adiuvante profilattica iniziata al momento della mastectomia radicale può rappresentare una certa promessa”*.

Nel Trattato Italiano di Patologia Chirurgica di G. Ceccarelli edito nel **1964** Pietro Tagariello scriveva: *“non vi è che una cura razionale per il carcinoma mammario: l'asportazione chirurgica...a tale scopo il metodo proposto da Halsted è il migliore...è consigliabile far seguire un ciclo di Roentgenterapia. Nelle forme inoperabili o in quelle già operate la castrazione diminuisce spesso la rapidità d'evoluzione delle metastasi e delle loro turbe funzionali e dolorose, gli ormoni androgeni a forti dosi (dai 5 ai 50 mg al giorno) agiscono nella femmina non in menopausa migliorando lo stato generale e rallentando l'evoluzione delle metastasi ossee e calmando i loro dolori...”* L'autore di questa storia della medicina può confermare per esperienza personale che la mastectomia di Halsted - seguita dapprima da Roentgenterapia e negli anni successivi da telecobaltoterapia e chemioterapia - fu l'atteggiamento terapeutico universalmente adottato dai chirurghi italiani ed europei fino agli inizi degli anni '80, riservando la mastectomia semplice alle donne ultrasessantenni.

Nel **1974** in un simposio sul tema dell'Oncologia Chirurgica Guy F. **Robbins**, capo del Breast Service presso il Memorial Sloan-Kettering Center di New York, riconobbe come unici fattori prognostici noti la dimensione del tumore primitivo, il quadrante del seno interessato dal tumore, la multicentricità e bilateralità della neoplasia, il carattere istologico, l'esistenza di metastasi, di braccio grosso da linfedema e il carattere infiammatorio di certe neoplasie. Tra i fattori discussi elencò la situazione della paziente rispetto ai cicli mestruali e il tipo di trattamento che si intendeva impiegare. Tra i fattori prognostici probabili l'autore enumerava lo stato immunitario delle pazienti, la dipendenza ormonale della neoplasia, l'eventuale stato di gravidanza o di puerperio e, infine, tra i fattori sconosciuti, citava lo stress. Per Robbins *“il controllo locale del carcinoma del seno è tutto quello che ci si può aspettare seguendo i regimi di terapia al momento*

disponibili...ed è essenziale fare ogni ragionevole sforzo per accertare se la malattia è limitata alla mammella o se ha interessato i linfonodi della mammaria interna, cioè se esiste una ragionevole possibilità di far guarire la paziente con una mastectomia radicale". Tra le cause di assoluta inoperabilità elencava: carcinoma infiammatorio del seno o mastite carcinomatosa, linfonodi sopraclaveari metastatici, braccio grosso da stasi linfatica, metastasi a distanza e gravi malattie internistiche. Le scelte curative di Robbins erano la mastectomia radicale di Halsted per tutte le neoplasie mammarie dei due quadranti esterni e la mastectomia superradicale di Urban per le lesioni circumareolari e dei quadranti interni, riservava le mastectomie di Madden e/o di Pathey per i carcinomi non invasivi e per quelle pazienti che non avrebbero tollerato una mastectomia alla Halsted. Robbins conveniva con Wanebo, Hovos e Urban sul fatto che, quando l'esame istologico estemporaneo rivelava una lesione inferiore a 1 cm di diametro, bastava eseguire una mastectomia alla Madden o alla Pathey. A proposito di queste lesioni minime J.P.Shah nel 1973 trovò che il 17,4% di esse era accompagnato da metastasi ascellari e che la percentuale di queste saliva proporzionalmente alle dimensioni del tumore raggiungendo il 74% nei tumori di diametro superiore ai 5 cm. Infine Robbins sottolineò l'opportunità di sostituire i dati di sopravvivenza a 5 anni dall'intervento di mastectomia con quelli a 10 anni. Una comparazione fra grandi casistiche americane dimostrò infatti che a tale distanza di tempo, a parità di stadiazione (stadi I e II), le mastectomie radicali avevano fornito percentuali di sopravvivenza nettamente superiori rispetto a quelle dopo mastectomia semplice e parziale sec. Crile: rispettivamente 59-70% e 34-48%.

Nel mese di dicembre **1984** il "*Surgical Clinics of North America*" dedicò un simposio al cancro della mammella in onore di **Philip Strax**, chirurgo che spese tutta la sua vita professionale alla ricerca dei mezzi per ottenere una diagnosi precoce del cancro mammario, e di **George Crile** che combattè una dura campagna solitaria in favore di una chirurgia meno demolitiva sviluppando il concetto della mastectomia "*limited*". La direzione del simposio fu affidata al direttore del reparto chirurgico della Cleveland Clinic Foundation Robert E.**Hermann** e al suo collega Avram M.**Cooperman** della direzione chirurgica al St. Clare's Hospital di New York, i quali nell'introdurre il tema ricordarono che nei precedenti 6 anni e mezzo intercorsi dalla pubblicazione (agosto 1978) di un altro simposio sul medesimo tema, erano apparse più di 4000 pubblicazioni sul cancro mammario mentre negli USA erano stati diagnosticati oltre mezzo milione di nuovi casi ed erano decedute per metastasi più di 150.000 persone. I due chirurghi puntualizzarono che il cancro del seno, già considerato in passato una malattia locale o regionale, era stato negli ultimi tempi universalmente riconosciuto come una "*malattia sistemica nella quale le micrometastasi si sono disseminate molto tempo prima della diagnosi di un nodulo tumorale al seno*". Tra le molte domande che intendevano porre ai partecipanti al simposio alcune riguardavano i progressi compiuti nell'ambito diagnostico e dalle cure adjuvanti ma la domanda più importante era quella che riguardava il trattamento chirurgico e specificamente se "*la chirurgia limited potesse essere valutata alla pari della mastectomia radicale standard con o senza radioterapia*".

L'esperienza dei due responsabili del simposio li portò ad affermare che la scoperta clinica e mammografica di lesioni occulte non era ancora il metodo ideale per mettere in evidenza un carcinoma mammario nel suo stadio più precoce e che era necessario allargare le indicazioni di una accurata indagine genetica e familiare, come pure le ricerche epidemiologiche e quelle sul settore dietetico. Tra le tecniche diagnostiche disponibili negli **anni '80** Strax enumerava le seguenti:

1.- **mammografia** introdotta da pionieri americani, francesi, olandesi e tedeschi negli anni '50 e '60, utilizzabile nel 1984 sotto 4 forme (tubi con anodo al molibdeno e varie combinazioni di immagini su pellicola; xeromammografia con tubi con anodo al tungsteno e piastra coperta da uno strato di selenio; radiografia elettronica; TAC). La mammografia,

comunque eseguita, era l'unico esame diagnostico capace di svelare la presenza di un tumore occulto, non palpabile.

2.- *termografia* che per scarsa aderenza alla possibilità del tumore di emettere calore (il 25% dei noduli tumorali più piccoli non dimostrano aumento di emanazione di calore) era un esame in via di abbandono presso molti istituti

3.- *ecografia* considerata utile come esame aggiuntivo al dato mammografico ma non utile per scoprire lesioni ancora non palpabili

4.- *transilluminazione o diafanografia* suggerita da Cutler ancora nel 1929. Fu migliorata adottando sorgenti di raggi infrarossi. Utile nella distinzione tra masse solide e liquide e tra lesioni benigne e maligne

5.- *risonanza magnetico-nucleare* (RMN) ancora poco usata ma accompagnata da grandi speranze sulla sua utilità diagnostica.

Strax concludeva che nessuna di queste tecniche diagnostiche poteva sostituire la combinazione data da esame clinico accompagnato da mammografia e che nessuna di esse eliminava la necessità dell'esame biotico. Sec. Strax ogni donna in età compresa tra 35 e 40 anni doveva sottoporsi ad una mammografia di base e tutte le donne di età superiore ai 40 anni dovevano sottoporsi ad un esame clinico accompagnato da mammografia ogni anno o, al massimo, ogni due anni.

Tra le novità recate al simposio da **Edwin Fisher**, anatomopatologo dell'università di Pittsburgh, ci furono la conferma che "*il cancro del seno rappresenta un gruppo eterogeneo di neoplasie*", che un cancro delle dimensioni di 0,5 cm scoperto con la mammografia era già un tumore biologicamente avanzato avendo superato le 27 duplicazioni della sua popolazione cellulare, che la donna affetta da una neoplasia di 1 cm di diametro era già affetta da una malattia sistemica, che il nuovo concetto di "*carcinoma minimo*" corrispondeva al carcinoma lobulare in situ, ai carcinomi intraduttali, ai cancri invasivi di diametro inferiore agli 0,5 cm, che la forma proliferativa della malattia fibrosocistica di Reclus doveva essere considerata non solo un precursore del cancro invasivo ma addirittura forse una espressione morfologica particolarmente precoce del cancro mammario e il medesimo significato doveva essere attribuito ad una particolare forma di lesione definita "*sclerosante e non capsulata*" messa a fuoco dallo stesso Fisher per la prima volta nel 1979. Anche i foci multicentrici del cancro del seno e la loro bilateralità furono due aspetti trattati con abbondanza di nuove acquisizioni da parte di Fisher. La multicentricità presente in proporzioni variabili tra il 14% e il 40% del cancro invasivo fu descritta come una prerogativa stabile nel 70% dei carcinomi lobulari in situ che non sono invasivi e che quindi non assumono quell'importanza clinica che fu loro attribuita da P.Rosen nel 1980. Le recidive locali osservate da Fisher e da altri AA. nell'ordine del 5-10% dopo mastectomia segmentaria si ridussero a solo l'1% dopo quadrantectomia.

La controlateralità del carcinoma mammario lobulare non invasivo citata da altri AA. intorno al 16% scendeva nel materiale studiato da Fisher allo 0,5% contro il 3,5% delle forme invasive.

Molto interessanti furono anche gli **aspetti prognostici** collegati a ben 20 diverse varietà anatomopatologiche come pure la scala crescente del numero dei linfonodi metastatizzati (da 4 a 7 e da 7 a 12-13 – Fisher e coll.1983), il diametro della metastasi (inferiore o superiore a 2 mm- Fisher e coll. 1978-1983), il superamento o meno della capsula linfonodale (stessi AA.,1976), la presenza o meno di centro germinativo nei linfonodi ancora sani (stessi AA, 1975-1980), il *grading* basato sulle caratteristiche del nucleo della cellula tumorale e sull'aspetto più o meno differenziato dei tubuli neoformati (Black e Speer, 1957), l'invasione tumorale dei vasi sanguigni e linfatici (Nime e coll.1957), la presenza o meno di recettori per estrogeni nelle pazienti più anziane che negli anni 1981-1983 fu trovata essere correlata al grado di differenziazione delle cellule tumorali.

Il “*consensus meeting*” dei National Institutes of Health degli USA sulla cura del cancro mammario stabilì nel **1979** che tutti i nuovi casi di questa malattia in stadio I e II potevano essere curati con la mastectomia radicale modificata da Madden (conservazione di ambo i pettorali) o sec. Pathey e Dyson (asportazione del piccolo pettorale).

Nel **1984** Roy Ashikari riferì che negli USA a partire dal “*consensus meeting*” del 1979 l’80-90% delle pazienti in stadio I e II era stato trattato con la variante di Madden o di Pathey e con rxterapia postoperatoria e che per il momento i risultati erano soddisfacenti. Umberto Veronesi e coll. in Italia e B.Fisher negli USA stavano in quel periodo portando avanti e avevano già dato alle stampe i primi risultati favorevoli, rispettivamente nel 1981 e nel 1977, dei loro *trials* randomizzati di chirurgia mammaria conservativa.

I chirurghi della Cleveland Clinics avevano abbandonato la mastectomia radicale di Halsted in favore di una chirurgia meno demolitiva già tra il 1955 e il 1957. Le opzioni da loro scelte in via definitiva nel 1957 erano state: a – mastectomia radicale modificata sec. Madden con asportazione della fascia del gran pettorale e accurata conservazione di tutti i nervi della regione nelle pazienti con sospette metastasi ascellari; b – mastectomia semplice nei tumori in sede mediale o centrale e inferiori a 2 cm di diametro; c – mastectomia parziale in pazienti con tumori inferiori a 2 cm di diametro a sede periferica e senza apparenti metastasi linfonodali.

Dal 1957 al 1976 furono trattate, usando queste opzioni, 1761 pazienti. Le percentuali di sopravvivenza furono pari al 64% dopo 5 anni, al 45% dopo 10 anni e al 34% dopo 15 anni.

Le recidive locali furono rispettivamente dell’11% a 5 anni, del 15% a 10 anni e del 16% a 15 anni. Il 7% delle pazienti trattate con mastectomia parziale sviluppò un nuovo tumore nella porzione di seno conservata perché giudicata sana alla prima operazione. Ciononostante i chirurghi della Cleveland Clinics si dichiararono nel **1984** soddisfatti della mastectomia parziale non seguita da radioterapia tanto che questa operazione era diventata per loro l’opzione principale nella cura delle pazienti con carcinoma primitivo del seno in stadio I o II.

Anche J.Bosworth e N. Ghossein, radioterapisti della Cornell University - Medical College di New York confermarono nel 1984 che ormai non c’era differenza nei dati riguardanti le recidive locali e la sopravvivenza tra pazienti trattate con la mastectomia radicale e quelle trattate con la mastectomia parziale seguita da radioterapia.

La messa a punto degli studi sui **recettori ormonali** e sulla loro applicazione terapeutica nelle donne affette da cr mammario fu pubblicata sempre nel 1984 in un lavoro magistrale da Charles **Hubay** e coll. dell’università di Cleveland. I precedenti storici da loro resi noti riportano addirittura al 1896, anno in cui Beatson eseguì la prima ovariectomia bilaterale in una donna affetta da cancro della mammella diffuso e notò che “*tutti i segni della malattia cancerosa prima esistenti erano scomparsi all’ottavo mese di distanza dall’operazione*”. Negli anni ’80 del Novecento era ormai assodato che un terzo delle donne malate di cancro del seno beneficiavano del trattamento ormonale. La terapia ormonale ablativa si era servita – come abbiamo visto più sopra – di ovariectomia, ipofisectomia e surrenectomia, quella farmacologica di ormoni maschili e quella addittiva di progestinici e di estrogeni, ma la grande novità fu l’introduzione in terapia degli **antiestrogeni nel 1979 (B.S.Stoll)** nella formula del **Tamoxifen citrato**, commercializzato sotto il nome di **Nolvadex**.

Il primo a riportare l’utilità delle misurazioni dei **recettori di estrogeni (ER)** nelle biopsie dei tumori mammari fu E.**Jensen nel 1971**. Dopo di allora l’esperienza fatta con queste misurazioni dimostrò che le pazienti con cellule tumorali ricche di ER rispondevano per il 60% molto bene ai trattamenti ormonali mentre quelle con tumori ER-negativi rispondevano solo nel 10% dei casi. Nel 1980 A.Manni e coll. trovarono che i tumori ER-positivi e ricchi anche di **recettori per il progesterone (PgR)** rispondevano bene alla terapia ormonale nel 75-80% dei casi. I trials condotti sul rapporto tra ER- e PgR-positività

e sopravvivenza a distanza rivelarono tra il 1981 e il 1983 che questo rapporto non solo esisteva realmente ma era anche direttamente proporzionale. Le conclusioni tratte da Hubay e coll. su questa materia furono le seguenti: a) la ricerca degli ER e PgR nelle cellule tumorali è utile per prevedere la sensibilità del tumore al trattamento ormonale; b) negli stadi I e II del cancro mammario il valore prognostico dei recettori sulla futura guarigione e sopravvivenza è notevole e affidabile; c) il trattamento adiuvante endocrino nelle donne con tumore ER-positivo sia in pre- che in postmenopausa si è rivelato efficace; d) sarebbe sempre opportuno misurare la quantità di ER e PgR.

La **chemioterapia del periodo 1979-1984** si basò su varie combinazioni di antitumorali come la L-PAM-5FU (L-fenilalanine mustard+5fluorouracile), la medesima più tamoxifen, il CMF (ciclofosfamide+metatrexate+5 fluorouracile) studiata da Bonnadonna, la medesima con aggiunta di vincristina e prednisone (CVFMP), questa stessa combinata con ovariectomia in donne il cui tumore era ER-positivo, ovvero con aggiunta di tamoxifen dopo la menopausa in tumori ER-positivi.

Richard Cooper dell'Università di Buffalo- New York dava la preferenza alla combinazione CVFMP tranne che nelle pazienti di oltre 60 anni nelle quali usava somministrare cytoxan, 5fluorouracile e tamoxifen. Lo stesso A. nel 1984 dichiarava che solo le pazienti a bassissimo rischio e aventi tumori PgR-positivi e ben differenziati, di piccole dimensioni e linfonodi normali venivano esentate da uno schema di chemioterapia adiuvante indifferentemente dalla loro età.

Nel 1986 le ricerche epidemiologiche di K.K.Carroll e di L.M.Braden e quelle di A.B.Miller sul grande tema dei rapporti che intercorrono tra nutrizione e cancro portarono a concludere che la spiegazione della netta differenza tra paesi a basso rischio di cancro del seno (Giappone) e quelli ad alto rischio (USA e altri paesi occidentali) era individuabile nel **fattore dietetico**, confermata dall'osservazione che per questo tipo di tumore appariva fondamentale il fatto che la residenza in aree ad alto rischio in età pubere e dello sviluppo della ghiandola mammaria aveva un valore critico. Anche l'anamnesi di una intensa attività sportiva tenuta in giovane età dimostrò un abbassamento del tasso d'incidenza del cancro in età matura e ciò venne spiegato con diverse abitudini dietetiche legate strettamente allo sport (dieta povera di grassi e ricca di carboidrati – R.E.Frisch e coll.1985).

Tutte le ricerche sperimentali sulle topine dimostrarono l'effetto favorente il cancro mammario di una dieta ricca di grassi (R.Kalameghan e coll.1984). Nel 1986 G.M.Williams e J.R.Weisburger dell'American Health Foundation di Valhalla-New York proposero come prevenzione l'abbassamento del livello dietetico dei grassi dal 40% al 20% introducendo una loro sostituzione con olio di oliva e olio di pesce. Presso il Roswell Park Memorial Institute di Buffalo-New York N.J.Wald e coll. nei primi anni '80 trovarono livelli bassi di vitamina A nella dieta usuale delle pazienti affette da cancro mammario e un loro studio prospettico fece ipotizzare con una certa fondatezza che i bassi contenuti plasmatici di vitamina E si associano ad un più elevato rischio di cancro del seno. C.Mehlin del medesimo istituto riferì nel 1986 che confronti internazionali facevano ipotizzare un possibile ruolo inibitore del selenio sullo sviluppo di un tumore del seno ma che l'alta tossicità di questa sostanza avrebbe ostacolato un suo ampio impiego nella popolazione femminile sana a scopo preventivo.

Nel **1990** la genesi del cancro della mammella veniva fatta risalire ad una **mutazione genetica** che si verificherebbe nel corso del processo di differenziazione delle cellule staminali in cellule epiteliali mature come già ipotizzato nel 1982 da J.Russo e collaboratori. Poiché gli ormoni controllano la differenziazione dell'epitelio mammario e regolano il ritmo di divisione delle cellule staminali, altre ricerche hanno dimostrato che gli epossidi di colesterolo (Petrakis e coll.1981) e le ammine eterocicliche (T.Sugimura 1985) influenzavano l'epitelio mammario e sia estrogeni che progestinici potevano essere

implicati nel processo carcinogenetico. Tutte le ricerche sviluppate negli anni '70 e '80 portarono dunque a concludere nel 1990 che il rischio di **mutazioni carcinogenetiche** è proporzionale al tempo richiesto perché tutte le cellule staminali siano sottoposte a differenziazione epiteliale, cioè alla durata dell'intervallo tra il menarca e il primo parto a termine nonché al numero dei cicli ovulatori avvenuti in questo lasso di tempo. In campo umano gli studi su questa materia avevano già dimostrato nel 1990 un maggior rischio legato ad un menarca in giovane età e ad una menopausa in tarda età ossia ad una più lunga durata della vita fertile ove questa non sia stata spesa in parti e allattamenti e soprattutto se il primo parto non è avvenuto in giovane età (B.Henderson e coll.1981; S.Shapiro e coll.1968; B.McMahon e coll.1973).

La mammografia degli anni '90, quasi universalmente eseguita su normale pellicola radiografica con almeno due proiezioni, continuò a soffrire dell'unica limitazione di accuratezza diagnostica dovuta alla eccessiva densità del tessuto mammario. I segni mammografici di malignità venivano distinti in primari, secondari e indiretti e i falsi negativi in esami condotti da personale specializzato si aggiravano sul 10-15%.

Dopo il primo *screening* randomizzato svoltosi a New York tra il 1963 e il 1967, che comportò una riduzione del 30% della mortalità per cancro mammario, lo sforzo americano nell'affrontare la necessità dello ***screening di massa*** ebbe una seconda vita tra il 1973 e il 1978 con esami mammografici eseguiti su 280.000 donne. Il miglioramento della tecnica mammografica consentì di scoprire il 42% di lesioni neoplastiche assolutamente non palpabili contro il 33% dello *screening* precedente. In due città olandesi, Nijmegen e Utrecht, furono eseguiti diversi *screening* tra il 1975 e il 1982 con riduzione della mortalità del 70%. In Svezia tra il 1977 e il 1984 lo *screening di massa* ridusse la mortalità del 31%. In Italia l'unico *screening di massa* praticato negli anni '80 fu quello organizzato dalla regione Toscana.

L'ecografia dell'anno 1990 fu giudicata dagli oncologi e radiologi americani "*un'utile aggiunta alla mammografia, che rimane l'unico mezzo valido per la diagnosi precoce di cancro del seno*" (L.W.Bassett e coll. 1990).

Nel corso dell'ultimo ventennio del Novecento risvegliò vivo interesse lo studio della patologia e della cura del ***carcinoma duttale in situ*** (chiamato anche carcinoma non invasivo, non infiltrante o intraduttale) e ciò fu dovuto al rapido aumento di nuovi casi diagnosticati con la mammografia. Si trattava di lesioni del diametro medio di 6 mm. **Nell'anno 1990** il numero dei nuovi carcinomi *in situ* formava già il 20% dei nuovi casi di cancro mammario che ricorrevano alle cure ospedaliere (M.D.Lagios). I patologi R.Wellings, H.Jensen e R.Marcum avevano descritto già nel 1975 che i due tipi di cancro *in situ*, quello duttale e quello lobulare, prendono origine in un lobulo della ghiandola mammaria e hanno dunque la medesima istogenesi pur dimostrando in seguito un potenziale biologico ben diverso. Le prevalenti piccole o piccolissime dimensioni dei cancri duttali *in situ* spinsero i chirurghi a contenere e ridurre la parte demolitiva dell'atto chirurgico, almeno per quanto riguardava le lesioni più piccole, essendo stata dimostrata una correlazione tra aumento delle dimensioni e aumento del rischio di recidiva e di invasione occulta. I risultati a distanza delle escissioni limitate e proporzionate alle dimensioni mammografiche e reali della neoplasia dimostrarono che le recidive locali si mantenevano nell'ordine del 12-13%, strettamente collegate al *grading* cellulare del tumore, e non furono lamentate metastasi linfoghiandolari.

Un problema molto dibattuto fu quello del comportamento da tenere di fronte ad una diagnosi di *carcinoma lobulare in situ*. L'indagine promossa nel 1988 da Blake e collaboratori che coinvolse 741 oncologi e chirurghi degli USA diede i seguenti risultati: il 54% degli interpellati consigliò la semplice osservazione clinica, il 33% consigliò la mastectomia unilaterale, il 9% la mastectomia semplice bilaterale e il rimanente 4% si dichiarò a favore di una terapia combinata radiante, chemio o ormonale. C.D.Haagensen,

una vera autorità nel campo del carcinoma lobulare *in situ*, fu il primo a sostenere che l'osservazione clinica e mammografica costituiva il metodo più indicato per questa particolare patologia del seno.

La **lumpectomia** è un vocabolo molto usato dagli AA angloamericani al posto di “escissione limitata”, “segmentectomia”, “tilectomia” e “mastectomia parziale” ma non fu mai usato al posto della **quadrantectomia**, termine usato invece in Europa, e particolarmente in Italia, dove fu impiegato per la prima volta presso l'Istituto Tumori di Milano diretto allora da Umberto Veronesi. Mentre per quadrantectomia si è sempre inteso indicare l'asportazione di uno dei 4 quadranti del seno (il più spesso quello superoesterno dove prevalgono di gran lunga le localizzazioni neoplastiche), per lumpectomia si intendeva *“la completa rimozione di un tumore della mammella con margini istologicamente negativi senza alcun riferimento a particolarità anatomiche della ghiandola mammaria”* secondo la definizione data da Michael Stone e da Blake Cady della Harvard Medical School nel 1990. La lumpectomia degli angloamericani equivale dunque alla **“nodulectomia”** europea. Infatti le incisioni cutanee erano tutte curvilinee e mai radiali, sempre proporzionate in lunghezza al diametro del nodulo che generalmente non doveva superare i 4-5 cm L'anestesia preferita era quella locale per infiltrazione, la lesione veniva centrata infiggendovi un sottile ago sotto radioscopia o ecografia. Per facilitare la ricerca dei recettori sul pezzo asportato non veniva impiegato l'elettrobisturi; il nodulo, una volta asportato, veniva orientato con punti di repere e segnato con inchiostro di china, quindi radiografato e successivamente sottoposto a esame istologico lungo tutti i margini. Stone e Cady facevano precedere alla lumpectomia una ricerca diagnostica su agobiopsia riservando l'impiego del True-cut alle lesioni di maggior diametro. La lumpectomia veniva completata con una dissezione del cavo ascellare attraverso una incisione curvilinea la cui concavità guardava l'apice dell'ascella, decorrendo dal bordo del gran pettorale a quello del latissimo del dorso.

Le pubblicazioni sulla cura del cancro della mammella degli anni '80 e '90 trattarono a fondo gli argomenti della cosmesi nella scelta del tipo di operazione e della cura adiuvante da applicare al singolo caso nonché la problematica del delicato rapporto medico-paziente nell'affrontare l'intero capitolo della cura e della prognosi della malattia in base alla sua stadiazione e tenendo conto del carattere, delle opinioni e orientamento della paziente.

Importanti furono i risultati pubblicati nel **1990** da Paul Peter **Rosen** e Susan **Groshen** del Memorial Sloan-Kettering Cancer Hospital di New York riguardanti 644 pazienti controllate in media per 18 anni. Questa accurata revisione chiudeva un'epoca, quella del trattamento chirurgico di routine basato sulla mastectomia di Halsted con svuotamento ascellare, e dimostrò che le pazienti con malattia T1N0 e diametro tumorale non superiore a 1 cm, con grading cellulare basso e tipo istologico tubulare, midollare, papillare o colloide, avevano avuto i migliori risultati (solo il 12% di recidive e un 10% di mortalità per cancro) mentre le pazienti con grading cellulare elevato e intensa infiammazione peritumorale avevano fatto registrare un 26% di recidive e il 24% di mortalità. La terapia adiuvante dimostrò di essere utile in questo secondo gruppo e di non essere indispensabile nel primo. Dei restanti due gruppi T1N1 (1-3 linfonofi positivi) e T1N1 con 4 e oltre linfonodi positivi i dati non si differenziavano da quelli già noti dagli anni precedenti: 32-57% di recidive e 28-51% di decessi per cancro.

Dopo l'evoluzione da modello anatomico a modello biologico subita dal cancro del seno nel corso degli anni '60 un ulteriore passaggio fu quello segnato negli anni '80 dalle vaste esperienze accumulate negli ultimi vent'anni di ricerche e di valutazioni dei risultati dei vecchi e nuovi schemi di cura.

Anzitutto gli studiosi di questo tema si erano preoccupati di affermare due concetti fondamentali: 1°- la morte dovuta al cancro della mammella è l'ultima conseguenza di un fenomeno esclusivamente cellulare: le micrometastasi già presenti al momento della

diagnosi. 2°- il cancro della mammella è una malattia eterogenea che si sviluppa in modo diverso da persona a persona per cui è necessario che venga fatto ogni sforzo per scegliere e adattare la cura ad uno schema non più generale ma individuale.

La novità proposta nel **1990** dal chirurgo inglese Michael **Baum** del Royal Marsden Hospital di Londra fu quella di richiamare l'attenzione sulle **scoperte in campo genetico** che porterebbero a spiegare l'eterogeneità del cr mammario come un fatto apparente dovuto ad epifenomeni, cioè a diversi gradi di amplificazione di una zona ben limitata e individuata del genoma, quella che decide il ritmo di duplicazione delle cellule tumorali. Baum ne deduceva che, se l'eterogeneità è solo apparente, dovrebbe bastare un'unica terapia per tutti i tumori del seno, e la terapia, anziché a base di sostanze citotossiche e ormonali, dovrebbe essere antivirale o genetica, tenendo presente che particelle provviste di attività trascrittasiica inversa erano già state scoperte due anni prima nei monociti circolanti di donne malate di cancro del seno (Al-Sumdaie e coll.1988).

Molta letteratura degli anni '80 e '90 si è interessata di altri aspetti del cancro mammario come la selezione delle pazienti in III stadio dove erano in corso la chemioterapia ad alto dosaggio e la sperimentazione con gli anticorpi monoclonali coniugati alla tossina e con il blocco dei fattori di crescita, le tecniche di ricostruzione della mammella dopo mastectomia, la cura del cancro mammario bilaterale, di quello delle gravide e delle puerpere che allattano, del cancro della mammella maschile, della prevenzione con tamoxifen nelle donne ad alto rischio e altri temi ancora dei quali non è possibile rendere conto in questo capitolo. Il loro solo elenco basta a dare una idea dell'enorme quantità di ricerca che questa malattia tanto diffusa nel mondo occidentale ha generato nell'ultimo scorcio del XX secolo.

CHIRURGIA dell'APPARATO DIGERENTE

Fonte inesauribile di informazioni e notizie storiche che riguardano l'evoluzione degli studi di patologia e clinica chirurgica dell'apparato digerente è stato per la prima metà del XX secolo (1900-1955) il famoso **Trattato di chirurgia del tubo digerente** e ghiandole annesse scritto da Warren Bickham di New York nel 1924, aggiornato tra 1938 e 1947 da Latimer Callander e nuovamente aggiornato da **Richard Shackelford** di Baltimora nel periodo **1949-1955**. Al contenuto di questo trattato e dei trattati di patologia chirurgica dei francesi **Begouin** dei primi anni del secolo e di **J.Patel** dei primi anni '40 l'A. ha fatto prevalente riferimento per i periodi qui citati. Per la seconda metà del XX secolo si è fatto ampio ricorso invece ai **simposi del Surgical Clinics of North America** della casa editrice Saunders e di altre monografie e pubblicazioni periodiche di detto periodo. I capitoli e paragrafi che seguono, come già fatto per le malattie chirurgiche del torace, riporteranno soltanto l'evoluzione storica degli studi e ricerche su alcune malattie scelte in base alla loro importanza sociale.

Chirurgia esofagea

Le **perforazioni dell'esofago**, dovute in massima parte a traumi inferti dall'interno del lume esofageo, hanno sempre avuto le loro sedi elettive all'altezza dei tre normali restringimenti del tubo esofageo e la gravità delle loro conseguenze è sempre stata legata all'interessamento della pleura e/o del pericardio. Anche se la sospensione immediata dell'alimentazione per os e la cura antibiotica ha potuto consentire un comportamento attendista permettendo la guarigione spontanea delle lesioni più piccole, il trattamento delle perforazioni dell'esofago era ed è rimasto chirurgico e, necessariamente, tempestivo. Praticato entro le prime sei ore dal trauma con la semplice sutura della perforazione ha sempre dato buoni risultati. Dopo le prime 6 ore l'intervento si è ridotto il più spesso al

semplice drenaggio e, quando il tempo trascorso dalla lesione era addirittura di più giorni, è stato ed è tanto più conservativo quanto meno eclatante era ed è l'infezione del mediastino.

Nel 1950 W.Seybold e coll pubblicarono una casistica di 39 operati con varie tecniche di drenaggio solo cervicale, cervicale e pleurico, solo pleurico e con tentativi di riparazione diretta delle lacerazioni: la mortalità fu di 12 pazienti su 39, ma la massima mortalità (66,7%) fu segnalata nei 9 pazienti affetti da mediastinite suppurativa ed empiema pleurico. In questa casistica, i cui tempi coprivano diversi anni della prima metà del secolo, la stragrande maggioranza delle perforazioni erano state causate da manovre di endoscopia con strumenti metallici rigidi; le rotture spontanee costituivano invece una percentuale minima, tanto da poter essere considerate eccezionali.

Nel 1981 G.Lepsien e J.,R.Siewert riportarono una frequenza delle perforazioni esofagee tripla rispetto a quella delle rotture o lacerazioni spontanee: l'80% delle perforazioni denunciate in letteratura risultava dovuto a strumenti nel corso di manovre a scopo diagnostico o diagnostico-terapeutico (impiego di esofagoscopio rigido, manovre endoesofagee con sonde dilatanti, con pinze da biopsia, con laser, con elettrobisturi, ecc.), l'8% era stato causato da corpi estranei ingeriti, il 5% da gravi ferite penetranti del torace e il 5% da ferite da arma da fuoco o da punta. Le perforazioni dell'esofago cervicale raggiungevano da sole il 51% di tutte, mentre quelle dell'esofago terminale si attestavano sul 30%. Il termine di tempo utile per eseguire una sutura della breccia con eventuale sua copertura con lembo pleurico o pericardico e immediato drenaggio endoesofageo e transtoracico più gastrostomia alla Witzel era passato nel 1981 dalle classiche 6 ore alle 8-12 ore e lo stesso valeva per le rotture dell'esofago addominale che venivano trattate con sutura e funduplicatio, drenaggio e riposo alimentare. Per le forme venute all'osservazione clinica dopo le 8-12 ore restavano indicate la gastrostomia alla Witzel con drenaggio pleurico se necessario, sonda esofagea più sonda duodenale d'alimentazione e copertura antibiotica. La mortalità delle perforazioni cervicali si attestava intorno al 5-10% mentre quella delle perforazioni dell'esofago toracico saliva al 25-30%. Sulla cura conservativa delle perforazioni e rotture spontanee esofagee furono importanti gli apporti scientifici di W.S.Lyons e collaboratori nel 1978 e di E.Triggiani e collaboratori nel 1977.

Le **stenosi esofagee benigne acquisite**, di solito da caustici, furono oggetto di studio nel 1951 da parte di P.Holinger e K.Johnston, i quali rimasero che le stenosi possono manifestarsi anche a distanza di anni dalla lesione acuta della parete esofagea e che per questo motivo i pazienti dovevano continuare le dilatazioni con le sonde di diametro crescente per mesi e, talvolta, per anni anche dopo la ripresa di una normale deglutizione. Un caso particolare era rappresentato nei primi decenni del Novecento dalla tardività della diagnosi di stenosi da caustici che veniva effettuata a distanza di molto tempo dall'evento lesivo per disfagia estrema dovuta ad una stenosi lunga spiraliforme o multipla magari accompagnata da megaesofago a monte, da forte dimagrimento e broncopolmonite *ab ingestis* da reflusso di secrezioni e cibo.

Quando l'esame radiologico con mezzo di contrasto rivelava stenosi molto serrate e/o estese il primo tentativo di dilatazione veniva fatto fino agli anni '40 introducendo un filo-guida di seta intrecciata di diametro 14 F e talmente lungo da poter percorrere tutto il tubo digerente fino a fuoriuscire dall'ano a distanza di diversi giorni. Veniva allora ancorato in regione perianale legandolo sopra un tampone di garza. Se invece esisteva già una gastrostomia praticata per fini alimentari, il filo-guida veniva estratto dalla bocca gastrostomica e fissato all'esterno della parete addominale. Quando il filo-guida non superava la stenosi e si aggrovigliava dentro il lume esofageo veniva introdotto un esofagoscopio dall'alto o dal basso (se era disponibile una bocca gastrostomica) e si tentava di dilatare sotto vista con grande cautela fino a poter far passare un filo-guida da

lasciare *in loco*. Il trattamento chirurgico era riservato ai pochi casi nei quali la cura dilatante non era riuscita a ripristinare una sufficiente canalizzazione, quando una deformità cicatriziale stenosante era troppo estesa e quando il trattamento dilatante doveva essere continuato per tutto il resto della vita.

La prevenzione delle stenosi esofagee da caustici fu iniziata a partire dal **1920** e proseguita fino agli anni '70 con il **metodo delle dilatazioni precoci** proposto dall'austriaco H.Salzer. Questo metodo dette ottimi risultati in mani esperte fino a quando fu introdotto l'uso dei cortisonici nel trattamento precoce del processo di cicatrizzazione delle lesioni da caustici del tubo esofageo sotto regolare controllo endoscopico.

Nel **1981** la terapia precoce cortisonica delle ustioni esofagee si basò sulla somministrazione di prednisone 2 mg pro kilo pro die e inizio delle dilatazioni su filo-guida tra l'8° e il 12° giorno dall'incidente ogni 2-4 giorni instaurando nel contempo una fistola alimentare gastrica o digiunale quando le lesioni esofagee erano molto estese e profonde; nella cura tardiva la scelta veniva fatta tra le dilatazioni in due sedute settimanali a ritmo decrescente fino ad una al mese e la cura chirurgica la cui indicazione diventava assoluta per i chirurghi toracici tedeschi G.Schattemann e J.R. Siewert, ma solo in caso di stenosi completa invincibile, non più trattabile con le dilatazioni e che non consentiva una sufficiente alimentazione per os. Una indicazione relativa era invece quella delle stenosi che per essere mantenute pervie richiedevano dilatazioni continue e *sine die*. Nel soppesare l'opportunità di una cura chirurgica i due AA tenevano anche conto del fatto che le lesioni da caustici avvenute in età infantile comportano a distanza di circa vent'anni la probabilità di sviluppo di un cancro prima e 1000 volte più alta delle persone che non hanno mai sofferto nella loro infanzia di ustioni all'esofago. M.Höllwarth e H.Sauer nel 1975 avevano denunciato infatti frequenze di una degenerazione maligna comprese tra l'1,2% e il 16%: si trattava dunque di un rischio neoplastico pari a quello legato ai difficili e complessi interventi di sostituzione esofagea con un'ansa digiunale.

Nel 1983 R.W.Postlethwait, della Duke University di Durham (North Carolina), raccolse tutte le casistiche pubblicate negli ultimi 40 anni a partire dal 1941 compresa quella di S.Belinoff e la cifra complessiva che ne risultò fu di 2267 pazienti con una mortalità del 13,6%. Tuttavia questa revisione bibliografica pose in evidenza il netto miglioramento di risultati curativi avvenuto con il passare del tempo: se la mortalità denunciata da Belinoff nel 1941 era ancora del 36,9%, quella pubblicata da J.Cardona e J.Daly nel 1971 era scesa al 2,8% su 145 pazienti. Le novità tecniche per quanto riguardava le stenosi precoci, oltre all'abbandono definitivo del metodo Salzer del sondaggio esofageo precoce e continuo e alla introduzione del trattamento cortisonico, furono quelle delle indicazioni alla cura chirurgica elaborate da Cardona e Daly nell'elenco seguente: 1°- stenosi completa e impossibilità di ristabilire un lume 2°- fortissima irregolarità del lume esofageo con formazione di sacche 3°- impossibilità di procedere a dilatazioni senza provocare una reazione infiammatoria periesofagea o una mediastinite 4°- presenza di una fistola 5°- impossibilità di mantenere stabilmente pervio un lume superiore a 40F.

Le **soluzioni chirurgiche** estratte dall'esame delle letteratura medica del **periodo 1941-1981** furono le seguenti: esofagoplastica ricostruttiva mediante lo stomaco (161 pazienti – 14,3% di mortalità – buoni risultati nell'87% dei sopravvissuti), sostituzione esofagea con un'ansa di digiuno (104 pazienti – mortalità pari all'8,6% - 88% di buoni risultati), interposizione del colon in posizione retrosternale nella maggior parte dei casi (325 pazienti – 4,9% di mortalità – 92% di buoni risultati). La maggior parte degli AA che hanno eseguito una interposizione retrosternale di ansa colica non ha asportato l'esofago per non aumentare l'indice di mortalità.

Acalasia esofagea è il nome che si è imposto dopo molte discussioni sulla natura ed eziopatogenesi del megaesofago funzionale dovuto a spasmo della muscolatura esofagea al

cardias. Le caratteristiche dell'acalasia furono individuate nell'assenza di lesioni organiche visibili ad occhio nudo e nella tipica evoluzione clinica della malattia in tre stadi che furono magistralmente descritti da **Plummer**: 1°- disfagia semplice 2°- ristagno esofageo modesto e rigurgito immediato 3°- ristagno cospicuo e rigurgito abbondante e ritardato.

Nel primo decennio del XX secolo tutti gli AA concordavano sul fatto che *“la dilatazione dell'esofago è causata da uno spasmo del cardias. Questa teoria, già ideata da Leichtersterne e Rolleston è stata difesa specialmente da Mikulicz e dai suoi allievi. Gli uni considerano il cardiospasmo come un disturbo puramente nervoso; per altri invece, come Martin, sarebbe uno spasmo riflesso provocato da un catarro del cardias”*. (Ch.Lenormant 1906). La terapia di allora, assistita dai controlli esofagoscopici e da lavaggi del megaesofago, era affidata dapprima alle dilatazioni con sonde di calibro crescente, alcune munite da palloncino gonfiabile per vincere la resistenza del cardiospasmo. Furono usate anche sonde armate di filo che portava la corrente ad alta frequenza che aveva una sicura azione antispasmodica (Tiroloix e Bensande). Nei rari casi in cui il cardiospasmo era così serrato e invincibile da non permettere il passaggio di una sonda si praticava una gastrostomia per poter dilatare il cardias per via retrograda con un cateterismo *sine die* (Martin) oppure con una divulsione brusca mediante pinza apposita (Mikulicz). Lenormant scriveva che *“solo in casi eccezionali, quando nessuno di questi metodi sia riuscito e la denutrizione diventa minacciosa, si sarebbe autorizzati a ricorrere a interventi molto più complessi e più gravi, come l'esofagostomia di Heyrovsky e Lambert o la cardioplastica fatta a somiglianza della piloroplastica di Wender e di Heller ed anche la resezione del cardias che Rumpel ha proposto nel cardiospasmo cronico, ma che non è stata mai eseguita”*.

Fu solo nei **primi anni '50** che gli studi istopatologici di **A.Lanzara e Tonelli** richiamarono l'attenzione degli studiosi su lesioni organiche dei gangli e plessi nervosi intramurali espresse in vario grado, anche fino alla **necrosi e scomparsa delle cellule gangliari** all'altezza del canale epicardio-cardiale, proprio là dove si verifica la stenosi funzionale spastica: i due AA italiani dimostrarono anche per primi che l'ipertrofia muscolare del cardias non è sempre uniformemente ripartita nelle due muscolature, prevalendo di solito a carico della muscolatura circolare. La terapia si basava ancora negli anni '50 per le acalasia al I stadio nella dilatazione con dilatatori di vario tipo come la sonda di Hurst n°50 F ripiena di mercurio, sonda che, a detta di E.Benedict, sarebbe stata la più sicura e avrebbe dato i risultati migliori, anche se in seguito lo stesso A. passò a preferire i dilatatori elastici come la sonda di Plummer a pressione d'acqua o d'aria oppure la sonda pneumatica a mercurio di McLaughlin e Pompa e, nei casi più evoluti, alla miotomia dell'esofago cardiale sec. Heller.

Abbiamo già detto che la cura chirurgica dell'acalasia nei primi decenni del Novecento era stata affrontata con operazioni molto impegnative e demolitive come l'escissione del cardias, la plastica esofagea associata alle plastiche allarganti del cardias, l'aggressione dell'esofago sopracardiale attraverso la via toracica transdiaframmatica anteriore e l'esofagogastrostomia sec. Rumpel per via toracica, operazione molto complessa ripresa da O.Wangensteen nel 1949 in 7 pazienti con discreti risultati. Si trattava tuttavia di operazioni gravate allora da una discreta mortalità e da numerose complicanze.

Negli anni 1952-53 Edgar Berman del Sinai Hospital di Baltimora diede alle stampe quattro pubblicazioni sulle plastiche esofagee, dichiarando la sua preferenza per **l'anastomosi gastroesofagea latero-laterale** sec. H. **Heyrowsky** che l'aveva ideata per curare la *“dilatazione idiopatica dell'esofago”* nel **1913**. Gli operati di Berman furono 16, tutti operati per via addominale. I risultati furono giudicati buoni nel 100% dei casi controllati a distanza di 12-37 mesi dall'intervento, ma la revisione della letteratura mondiale fatta su questo tipo di operazione dallo stesso Berman rivelò una mortalità media del 6,4%.

Una variante tecnica della esofagogastrostomia di Heyrowsky fu quella di Grondahl che consisteva nel prolungare l'incisione esofagea sul fondo gastrico e anastomizzando poi i due visceri in sutura allargante. Questa tecnica fu usata nel 1940 da Ochsner e De Bakey e nel 1945 da Clagett e collaboratori che la preferirono alla Heyrowsky.

R.Sweet invece nel 1954 diede la sua preferenza alla cardioplastica ideata nel 1910 dal chirurgo tedesco Wendel con accesso toracico sinistro e incisione del cardias a tutto spessore per poi richiudere la ferita esofagogastrica con tre piani di sutura applicati in senso circonfferenziale allargante.

Forti propugnatori della **cardiomiotomia alla Heller** furono invece nel 1948 R. Maingot e nel 1951 Hawthorne e Davis: negli anni '60 sarà proprio il metodo di Heller ad imporsi su tutti gli altri sopracitati per la sua semplicità e rapidità di esecuzione per via addominale e anche chi scrive impiegò questa tecnica più volte fino all'anno 1995 con ottimi risultati.

Nel 1981 l'eziologia dell'acalasia esofagea da necrosi e scomparsa delle cellule gangliari della muscolatura del cardias era un dato ormai definitivamente acclarato e universalmente accettato. Radiologia, manometria, endoscopia erano diventate esami diagnostici di routine con referti altamente caratteristici per questa malattia. I chirurghi tedeschi A.Blum e J.Siewert ponevano in quell'anno l'indicazione alla miotomia sec. Heller solo nei casi nei quali la cura dilatante non aveva dato risultati stabili e i dati manometrici e radiologici continuavano ad essere abnormi. La **terapia medica**, già considerata del tutto inutile e incapace di risolvere lo spasmo del cardias, fu fatta rivivere nel **1977** da H.**Weiser** e collaboratori con la somministrazione di un calcioantagonista, la **nifedipina**, in un paese, la Germania, dove nei primi anni '50 si usava ancora la dilatazione forzata del cardias con il dilatatore a 4 branche di Starck.

Nel medesimo periodo una vasta esperienza chirurgica fatta in tutto il mondo con l'operazione di Heller dettava la necessità di 4 cm di miotomia longitudinale sulla parete esofagea e di 2 cm su quella del fondo gastrico aggiungendo il consiglio di una funduplicatio che diventava assolutamente necessaria in caso di apertura accidentale del lume gastroesofageo. Già nel 1969 F.H.Ellis e A.M.Olsen avevano pubblicato un 83% di risultati definitivi buoni e ottimi mentre questi rimanevano entro il 77% dei casi trattati con le dilatazioni pneumatiche da G.Vantrappen e collaboratori prima del 1971.

Nel 1983 W.Payne e R.King della Mayo Clinic di Rochester affermarono che scopo della cura dei pazienti affetti da acalasia era di renderli asintomatici anche se la scomparsa definitiva dei disturbi non significava affatto una normalizzazione della peristalsi esofagea e della funzione dello sfintere esofageo inferiore (LES = *low esophageal sphincter*). Con il metodo dilatante pneumatico usato presso la Mayo Clinic si gonfiava il palloncino esattamente posizionato sul LES fino a 150-200 mm Hg. La cardiomiotomia nella stessa clinica veniva spinta dal basso all'alto fino a 7-10 cm, liberando la sottomucosa dallo strato muscolare per circa il 50%. I due chirurghi della Mayo Clinic pubblicarono su questo argomento la revisione di 27 anni di attività dal 1949 al 1975: 899 pazienti sottoposti a cardiomiotomia per via toracica sinistra e 431 curati con una o più sedute di dilatazione pneumatica. Nel primo caso i risultati buoni ed eccellenti furono l'85%, nel secondo il 65% e – rispettivamente - i risultati definiti discreti furono 9% e 16 % e quelli definiti cattivi 6% e 19%. La conclusione tratta da Payne e King fu che *“la miotomia è più efficace e sicura della dilatazione forzata”*.

In Europa – e particolarmente in Italia – la miotomia veniva preferibilmente eseguita per via addominale.

Malattia da reflusso gastroesofageo. Il reflusso gastroesofageo, evento fisiologico della persona sana e normale che si verifica più spesso subito dopo i pasti e durante il tempo del passeggio mentre è raro durante il sonno, può trasformarsi in una condizione patologica quando sono deficitari i normali meccanismi di difesa (rapida eliminazione del materiale

refluito per mezzo di una congrua ingestione di saliva, meiopragia della mucosa esofagea quando viene a contatto anche per breve tempo con varie sostanze refluite dallo stomaco e quando la natura chimica del materiale refluito è particolarmente lesiva) oppure quando la quantità refluita dallo stomaco è straordinariamente abbondante per rottura delle normali barriere anatomiche, per rottura delle barriere fisiologiche e per eccesso di contenuto gastrico. La combinazione di due o più di questi fattori determina disturbi da reflusso più o meno importanti.

La sofferenza della mucosa esofagea nelle esofagiti da reflusso comincia a evidenziarsi con iperemia ed edema nella parte più distale del tubo esofageo; in mancanza di cure le alterazioni si trasformano in erosioni dapprima isolate, poi confluenti, infine circolari. Biopsie eseguite nelle fasi iniziali dell'esofagite rivelano già aumento della desquamazione epiteliale, aumentata proliferazione di compenso nelle cellule degli strati sottostanti e allungamento delle papille del derma. Nelle esofagiti più gravi tutti gli strati della parete esofagea dimostrano di essere coinvolti dal processo di flogosi cronica con esiti in fibrosi e stenosi del lume (10-15% dei pazienti – C.Bremner-1976). L'epitelio di superficie fu visto subire una metaplasia che lo fa assomigliare all'epitelio antrale o fundico dello stomaco o addirittura all'epitelio della mucosa intestinale (A.Paull e coll in "*New Engl.J.Med.*"1976). Questo aspetto metaplastico costituisce il cosiddetto "**Esofago di Barrett**" dal nome del patologo che lo descrisse per primo. Circa il 10% dei pazienti portatori di "Esofago di Barrett" va incontro a degenerazione maligna (Cameron e coll. 1985; K.Herlhy e coll..1984 R.Kalisch e coll. 1984). E' questa la complicazione più grave cui può andare incontro un "esofago di Barrett", essendo le altre la stenosi e l'ulcera. Nel corso degli anni '90 su 150 pazienti affetti da esofago di Barrett con displasia di alto grado e sottoposti ad esofagectomia distale furono trovati complessivamente 61 adenocarcinomi misconosciuti pari al 40% dei casi operati (G.Catambrone e coll. in "*Min.Chir.*" del 1999).

La maggior parte delle persone che soffrono di bruciore retrosternale da reflusso viene trattata con successo con cure mediche. Le forme più importanti di reflusso sono dovute a grosse ernie jatali e ad esofago breve. Cibi ricchi di lipidi e abitudini nocive furono identificati come cause adiuvanti dell'instaurarsi di esofagiti da reflusso. Riduzione del peso corporeo, elevazione della testiera del letto, abbandono di cinture strette ai fianchi, pasti piccoli, frequenti e poveri di grassi, abbandono totale di bevande alcoliche, del fumo, di cibi e altre sostanze che eccitano la produzione di succo gastrico, uso di antiacidi e di acido alginico prima e dopo i pasti e prima di coricarsi costituiscono gli accorgimenti indispensabili che di solito ottengono la scomparsa dei disturbi da reflusso (G.Jameson e coll. in "*Surg.Clin.North Am.*" 1983).

Quando queste misure non bastavano la farmacopea della seconda e tarda metà del Novecento offriva il betanecolo che aumentava l'autopulizia dell'esofago, la **metoclopramide** per rinforzare lo sfintere esofageo inferiore, gli antirecettori H2 per diminuire la produzione di acido cloridrico e, nei casi più difficili, gli omeprazolici, il domperidone per facilitare lo svuotamento gastrico.

Ben pochi erano i pazienti che negli anni Settanta – periodo in cui questa malattia esofagea fu oggetto di una particolare intensità di studi clinici - dopo l'insuccesso della cura medica preferivano risolvere i loro disturbi ricorrendo alla chirurgia.

In realtà la **chirurgia riparatrice dell'ernia jatale** si era straordinariamente sviluppata dopo le prime segnalazioni e i risultati ottenuti dai pochi iniziatori tra i quali brilla la figura di P.R.Allison che, già nel 1951 pubblicò sulla rivista "*Surg.Gynec.Obst.*" un lavoro dal titolo "*Esofagite da reflusso, ernia jatale da scivolamento e anatomia della riparazione*". Nel 1973 lo stesso A. pubblicò su "*Ann.Surg.*" la sua esperienza di 20 anni con la riparazione delle ernie jatali. Allison trattava l'ernia jatale con un accurato intervento di chiusura della porta erniaria e di fissazione del cardias al pilastro sinistro dello jatus per via toracica sinistra bassa. Nel 1975 J.Behar e coll. pubblicarono su "*N.Engl.J.Med.*" i risultati

dopo 38 mesi di un trial prospettico in cui erano state poste a confronto la cura medica e la cura chirurgica dell'esofagite da reflusso e si concludeva che questa chirurgia con mortalità vicinissima allo zero diventava indispensabile quando la sintomatologia non cedeva nemmeno alla cimetidina.

La più vecchia operazione per via addominale ideata per far guarire l'esofagite da reflusso fu quella pubblicata dal caposcuola svizzero R.**Nissen** nel **1956** (*Schweiz.Med.Wft*) passata alla storia della chirurgia come la “**fundoplicatio di Nissen**”. Essa fu lievemente modificata da **Rossetti**, allievo di Nissen, e nel 1988 era considerata da J.Temple la migliore operazione anche se, rispetto ad altre tecniche, contava un più alto numero di sequele postoperatorie. Nel **1961** L.**Hill** pubblicò il suo intervento che consisteva, oltre che nella chiusura della breccia jatale, anche nella fissazione della parte più alta della faccia anteriore dello stomaco al legamento arcuato mediale (*J.Thoracic Cardiovasc.Surg*). Nel **1969** I.**Boerema** risolveva il problema dell'ernia jatale stirando lo stomaco in basso e fissandone la sua parete anteriore al peritoneo parietale. Nel **1977** R.**Belsey** pubblicò il metodo “**Mark IV**” per via toracica sinistra. La fundoplicatio parziale fu infine un metodo adottato con sfumature tecniche diverse da chirurghi americani ed europei (Dor; Lind; Toupet e altri).

Una tecnica che ebbe breve vita fu quella di **Angelchik** (1979) consistente nell'applicazione di un anello riempito di gel di silicone intorno al cardias e legato sul davanti con una fettuccina di poliestere: furono segnalate complicanze gravi come la caduta in cavo peritoneale della protesi e la sua penetrazione nel lume del tubo digerente per necrosi da decubito al cardias o al fondo gastrico. Il successo curativo nell'80% dei pazienti era stato brillante ma nel 1988 Temple giudicava questo metodo ancora non uscito definitivamente dal periodo di prova.

Nel **1996** A.Watson, della Royal Free Hospital School of Medicine di Londra, nel valutare la storia della chirurgia dell'esofagite da reflusso, ricordava che già T.De Meester nel 1986 in 100 casi consecutivi operati con la plastica “*floppy*” di Nissen aveva riscontrato il 91% di scomparsa del reflusso sintomatico e l'83% di quello obiettivo. Del resto D.Hetzel e coll. nel 1988 avevano pubblicato un 44% di pazienti trattati con omeprazolo 40 mg pro die che non avevano ottenuto alcuna guarigione dopo due mesi di cura e questo promosse ancora di più la scelta della cura chirurgica da parte di molti gastroenterologi. Ancora a Watson dobbiamo la notizia che nel 1992 S.T.Spechler aveva portato a termine un trial randomizzato e controllato che aveva dimostrato come la soluzione chirurgica dell'esofagite da reflusso si fosse dimostrata superiore alla terapia con gli antagonisti dei recettori H₂.

Gli anni Ottanta videro dunque un forte aumento numerico delle operazioni di plastica jatale per curare l'esofagite da reflusso e, verso la fine di quella decade, della loro esecuzione **per via laparoscopica**. Già nel 1996 risultavano essere state eseguite negli anni precedenti circa 6000 fundoplicatio laparoscopiche di vario tipo in tutto il mondo con una media di successi del 90%, una mortalità inferiore allo 0,5% e una media di morbidità oscillante fra il 5% e il 10%. Gli unici pazienti più difficili e delicati da trattare con la fundoplicatio laparoscopica dimostrarono di essere i grandi obesi e quelli affetti da esofagite transmurale.

Forse l'ultima grande statistica di fundoplicatio alla Nissen per via laparoscopica resa nota alla fine del Novecento fu quella pubblicata da C.Frantzides e coll., del Weiss Memorial Hospital di Chicago, su “*Surgery*” nel **1998**: 362 interventi con porta di accesso laparoscopico sulla linea mediana sovraombelicale impiegando uno strumento a 30° per facilitare la sezione dei vasi brevi del fondo gastrico. La conversione in laparotomia fu necessaria solo in tre casi (0,8) e le complicanze si verificarono in sette casi (1,9%). Nessuna mortalità. La durata media dell'operazione che nei primi 5 anni era stata di 2,7 ore era poi diventata di 1,8 ore, grazie al miglioramento dello strumentario e alla maggior

esperienza operatoria. I disturbi postoperatori che durarono meno di 60 giorni furono la sazietà precoce (72,6%), le eruttazioni e la flatulenza (40,6%) e la disfagia (20,7%). Dopo i primi due mesi si mantennero presenti per il 2,2% le eruttazioni e la flatulenza e per lo 0,5% la disfagia. Questi AA concludevano la loro esposizione affermando che, con una accurata selezione dei pazienti, una maggiore esperienza ed una tecnica ben standardizzata la funduplicatio di Nissen laparoscopica dava risultati buoni e sicuri.

Chirurgia delle varici esofagee sanguinanti nell'ipertensione portale. Nel 1951 A.Blakemore, nel pubblicare i risultati da lui ottenuti con l'anastomosi tra vena porta e cava inferiore in pazienti che avevano sofferto di pericolose emorragie da rottura spontanea di varici esofagee, ricordava che il collega internista Patee gli aveva detto di aver osservato un 34% di emorragie da varici esofagee in 124 pazienti affetti da cirrosi atrofica di Morgagni-Laennec. Le statistiche di allora testimoniavano che un paziente di questo tipo aveva solo il 50% di probabilità di essere ancora vivo ad un anno di distanza dalla prima emorragia. La giustificazione di una soluzione chirurgica a questo grave problema appariva a Blakemore tanto più giustificata dato che il 20% dei cirrotici che sanguinavano moriva nel corso della prima emorragia.

Nei primi anni '50 R.Shackelford scriveva che *“sfortunatamente non è stato ancora perfezionato un metodo allo stesso tempo non rischioso e sicuro per eliminare definitivamente le varici esofagee”*.

I principi che stavano alla base dei molteplici tentativi di cura e prevenzione di queste gravi emorragie, risposero, nel corso del tempo, all'idea di promuovere e favorire la circolazione venosa collaterale così da detendere la pressione venosa nelle varici, a quella di tamponare in emergenza la fonte emorragica, alle possibilità di asportare le varici e – infine – al concetto di ridurre drasticamente la pressione venosa nelle varici medesime. Nella pratica clinica non si mancò di ricorrere nel corso del Novecento a combinazioni di più d'una di dette soluzioni.

Così nei primi decenni del secolo fu proposto di eseguire l'**omentopessi** intraperitoneale da parte di **Talma-Morrison e Drummond** allo scopo di creare nuove comunicazioni venose anastomotiche tra circolo portale e circolo della cava e l'italiano **Schiassi** negli anni '40 modificò l'operazione di Talma fissando il grande omento alla guaina posteriore dei muscoli retti addominali in sede extraperitoneale. A sua volta Narath fissò il grande omento al sottocutaneo dell'addome. Anche se quest'ultima variante dell'operazione di Talma comportava il pericolo di ernie e di incarceramento di anse intestinali attraverso la breccia degli strati profondi della parete dell'addome, i risultati furono valutati buoni nel 30% degli operati. Trattasi di operazioni che negli anni '50 erano ormai del tutto abbandonate e sostituite dalle **prime anastomosi porta-cava e spleno-renali**, le prime proposte ed eseguite per la prima volta da A.Blakemore e J.Lord nel 1947, le seconde da R.Linton e coll. nello stesso anno in base alle ricerche sperimentali condotte e pubblicate nel 1930 da J.Olds e E.Stafford sulle anastomosi della circolazione epatica e di quella cavale.

Le prime anastomosi porta-cava terminolaterali, cioè con totale interruzione dell'arrivo di sangue portale al fegato, furono abbastanza presto sostituite dalle anastomosi latero-laterali che davano una minore incidenza di iperammoniemia e di deficit cerebrali ad essa secondari. Questi due tipi di anastomosi riducevano ai livelli desiderati la pressione venosa nell'ambito del circolo portale. Varianti tecniche furono i diversi tipi di anastomosi mesentericocavali. Alcune scuole chirurgiche, anche italiane, dettero invece la loro preferenza nel corso degli anni '70 all'anastomosi tra vena splenica e vena renale sinistra nelle due varianti terminoterminali che richiedeva obbligatoriamente la nefrectomia

sinistra e che fu eseguita da Blakemore adottando un tubo di connessione in vitallium, e la splenorenale termino-laterale che fu il metodo che subito si impose sul precedente.

Un metodo palliativo proposto e attuato da R.M.Moore e coll. nel 1950 per la cura dell'ascite da cirrosi epatica fu l'allacciamento della vena splenica. I risultati ottenuti nei primi 6 pazienti furono più che buoni perché il miglioramento dell'ascite durò per molti mesi, ma questa operazione non trovò diffusione né allora né in seguito.

Nel 1950 R.W.**Sengstaken** e A.H.**Blakemore**, nella ricerca di un metodo per tamponare l'emorragia da varici esofagee, descrissero un tubo di gomma provvisto di due palloncini gonfiabili indipendentemente l'uno dall'altro. Uno di questi palloncini aveva, una volta gonfiato, la forma di un salsicciotto lungo diversi centimetri, l'altro, applicato sul tubo in posizione più distale rispetto al primo, quando era gonfiato diventava un palloncino. Il tubo veniva inserito fino ad entrare con l'estremità distale nello stomaco e, in caso di emorragia esofagea in atto, si cominciava con il gonfiare il palloncino distale e si ritirava il tubo finché il palloncino urtava contro il cardias e faceva resistenza alla trazione, a questo punto si gonfiava il salsicciotto che arrestava la perdita di sangue dalle varici che venivano schiacciate e svuotate contro la parete esofagea. A questo punto il tubo veniva fissato all'esterno ad un peso di 1 Kg e lasciato pendere per un periodo non superiore alle 24 ore, e in seguito mantenendo la compressione delle varici sanguinanti per periodi non superiori alle 4-6 ore. La rimozione del tubo avveniva a sanguinamento definitivamente arrestato, quando cioè si presumeva che la rottura della varice fosse stata stabilmente chiusa da un trombo in via di avanzata organizzazione. Il successo del **tubo di Sengstaken-Blakemore** fu enorme ed ebbe una immediata diffusione in tutto il mondo, anche negli ospedali più periferici e meno importanti. Tuttavia le complicazioni dovute all'applicazione di questo sistema di tamponamento non mancarono: le più frequenti furono le polmoniti ab ingestis di saliva o sangue, le necrosi e ulcerazioni esofagee da compressione eccessiva e protratta oltre le fatidiche 6 ore, le ulcerazioni a livello nasale e del fondo gastrico, la risalita del pallone esofageo gonfio fino al faringe e alla bocca con pericolo di asfissia per cedimento del palloncino gastrico sottocardiale.

Fu per porre questi pazienti al riparo da questi incidenti che nel 1956 **Linton** pubblicò una variante del tubo di Sengstaken-Blakemore. Il tubo di Linton aveva, come l'altro, un triplice lume, ma era privo del palloncino esofageo a salsicciotto mentre la capacità del pallone endogastrico sottocardiale arrivava a 700-800 cc d'aria così da interrompere per compressione la comunicazione del circolo portale con le varici dell'esofago a partire dal cardias. Gli altri due lumi del tubo di Linton servivano per la pulizia del lume esofageo e per quella del lume gastrico. Dopo di allora nella dotazione ospedaliera il **tubo di Linton** venne a fare compagnia a quello ormai universalmente noto di Sengstaken-Blakemore.

Se nella terapia d'urgenza delle emorragie da varici esofagee il tamponamento – comunque eseguito - riuscì a risolvere la situazione critica del primo momento, alcuni AA si posero il problema di come rispondere alla domanda di assicurare l'emostasi cardioesofagea con modalità chirurgiche più sicure e foriere di risultati stabili, e cioè con la legatura diretta delle varici che avevano sanguinato e ciò tanto più in quei pazienti nei quali il tamponamento era riuscito ad arrestare in modo abbastanza stabile l'emorragia. **Linton** stesso nel 1966 dava conto sul "*Surgical Clinics of North America*" di 38 cirrotici da lui sottoposti in urgenza a **sutura delle varici** per via toracica sinistra con filo di catgut cromico calibro tre zeri montato su ago atraumatico: 28 operati sopravvissero (74%) ma in seguito dovettero quasi tutti essere sottoposti a splenectomia e anastomosi splenorenale terminolaterale. Si tenga però presente che questa operazione di legatura delle vene esofagee varicose in urgenza richiedeva una cardioesofagotomia longitudinale di 5-6 cm che veniva poi chiusa con una accurata sutura allargante in più strati, un intervento diretto sulle varici ben diverso da quello che verrà poi descritto nel 1979 dal chirurgo tedesco J.Siewert.

La **sclerotizzazione delle varici esofagee** sanguinanti fu proposta per la prima volta da W.Walters nel 1933 ad un meeting della Mayo Clinic dove si discuteva un lavoro che riguardava l'anatomia del sistema venoso dell'esofago; tuttavia il primo paziente che fu sottoposto a questa terapia era uno svedese che fu trattato da C.**Crafoord** e P. **Frenckner** nel **1936** usando un esofagoscopio metallico rigido e come sostanza sclerosante il **chinino-uretano**. I due AA pubblicarono questa loro esperienza solo nel 1939 dopo essersi accertati che il loro paziente era ancora vivo e non aveva più sanguinato. Crafoord e Frenckner usarono iniezioni a di alterni per la durata di un mese cominciando dall'esofago alto e procedendo sempre più verso il basso. Negli USA il primo caso di scleroterapia fu opera di H.Moersch presso la Clinica Mayo nel 1940 e le prime casistiche americane furono pubblicate dallo stesso Moersch nel 1947 e da C.O.Patterson nel 1946. In Inghilterra la scleroterapia fu propugnata a Oxford da R.Macbeth che, tra 1943 e 1955, curò 35 pazienti con sedute di scleroterapia ripetute a distanza di 6 mesi. Egli fu il primo a notare che la scleroterapia otteneva il massimo di successi quando l'occlusione portale era extraepatica.

Si può ben affermare che fino al secondo dopoguerra i risultati della scleroterapia erano incoraggianti ma l'interesse per le derivazioni venose portali nell'intento di correggere le cause delle emorragie da varici fece cadere l'ombra e il silenzio su un metodo così semplice e potenzialmente ricco di buoni risultati.

Nel 1990 John Terblanche considerava che *“è sorprendente che la scleroterapia sia stata largamente accettata solo negli anni Ottanta”*. Chi scrive è dell'avviso che la scleroterapia eseguita attraverso un endoscopio rigido era una tecnica certamente non agevole e non alla portata di tutti soprattutto perché non priva di grossi rischi; questo spiegherebbe perché la scleroterapia sia stata fatta “rivivere” e abbia trovato rapidamente un larghissimo impiego nei primi anni '80 quando ormai si erano affermati da tempo in tutto il mondo gli endoscopi a fibre ottiche flessibili. Terblanche era invece dell'opinione che la scleroterapia era stata fin dall'inizio un metodo propagandato e usato dagli otorinolaringojatri e aveva trovato spazio solo nella letteratura di quella specialità medica.

La prima tecnica impiegata fu quella della **iniezione endovaricosa** anche se fin dal 1960 E.Wodak, della scuola viennese, aveva usato le **iniezioni perivaricose**. Il tedesco H.Dench denunciava nel 1977 un 15% di mortalità primaria e Siewert – che ancora nel 1981 difendeva l'impiego dell'endoscopio rigido - considerava questa una bassa mortalità che a suo parere poteva essere valutata come tollerabile. Anche se risultati eccellenti erano stati comunicati a Belfast già nel 1973 dall'esperienza quindicennale di C.Johnston e H.Rowers, furono quelle dei trials di Città del Capo pubblicati da M.Bailey e J.Dawson e della Germania e dell'Austria pubblicati rispettivamente da K.Paquet nel 1978 e da Wodak nell'anno seguente a risvegliare il più vasto interesse verso la scleroterapia.

La messa a punto fatta nel **1990** da John **Terblanche** dell'Università e del Groote Schnur Hospital di Città del Capo si basò sul confronto della sua vasta esperienza con quelle delle più consistenti e serie casistiche pubblicate da altri AA in diverse parti del mondo dal Giappone all'Europa e all'America del Nord e portò alle seguenti conclusioni: 1°- la scleroterapia dovrebbe essere praticata con la tecnica di cui ogni singola équipe è maggiormente esperta e in cui si sente più sicura; 2°- appena viene diagnosticata una emorragia da varici esofagee la scleroterapia dovrebbe essere attuata immediatamente e, solo se questo non fosse possibile, si dovrebbe passare al tamponamento con una sonda a palloncino gonfiabile; 3°- quando un paziente sanguina più di due volte durante lo stesso periodo di degenza ospedaliera questo vuol dire che la scleroterapia non serve più e bisogna subito passare ad una sezione-sutura esofagea con lo stapler o alla confezione di uno shunt portosistemico; 4°- il trattamento ideale delle varici che hanno sanguinato è la scleroterapia con iniezioni ripetute a intervalli settimanali fino a eradicazione completa, seguita da controlli semestrali o annuali. Anche le varici recidive vanno trattate nello stesso

modo; 5°- la scleroterapia profilattica nei portatori di varici che non hanno mai sanguinato appare ingiustificata se eseguita di routine e cioè all'infuori dei trials.

Wolfgang E.Fleig del Policlinico universitario di Erlangen eseguì nel 1990 una revisione dei trials di profilassi dell'emorragia da varici esofagee, argomento di continua attualità data la persistente alta mortalità del primo episodio di emorragia (42-71%). Tutti i risultati ottenuti nei 6 trials controllati sulla scleroterapia profilattica, nei 4 trials della chirurgia profilattica e nei 6 trials randomizzati della **profilassi farmacologica con betabloccanti** (propanololo e nadololo) confermarono con dati molto evidenti e sicuri che l'unica profilassi giustificata sembrava essere quella farmacologica per la cui definitiva conferma Fleig auspicava la prosecuzione di studi randomizzati.

Nel 1966 Robert **Linton** del Massachussets General Hospital di Boston si chiedeva quale fosse il miglior tipo di anastomosi venosa tra circolo portale e circolo sistemico nei cirrotici con varici esofagee che avevano sanguinato e, dalle revisioni eseguite su 122 splenectomie con anastomosi splenorenale e 47 anastomosi portocava gravate da un tasso di mortalità operatoria rispettivamente dell'11% e del 15%, trovò che nello shunt splenorenale il coma epatico si era verificato solo nel 7% dei soggetti operati mentre nello shunt portocava si era avuto ben nel 68% dei casi. Anche l'ascite dopo shunt si verificò nel 7% delle anastomosi splenorenali e nel 24% delle portocava, mentre in ambedue i gruppi il risanguinamento avvenne nel 19% dei casi con una mortalità del 4%. La sopravvivenza a 5 anni dall'operazione fu del 57% dopo splenorenale e del 36% dopo portocava.

L'A. concludeva che *“tutti i cirrotici che hanno sanguinato da rottura di varici esofagee dovrebbero essere considerati candidati a una operazione di anastomosi venosa porto-sistemica”* anche se poi non mancava di aggiungere che *“uno dei soddisfacenti metodi d'urgenza per controllare varici esofagee sanguinanti è l'utilizzo del tamponamento cardioesofageo seguito da sutura transtoracoesofagea delle varici sanguinanti e, in un secondo tempo, dall'esecuzione di un'operazione di shunt”*. Queste valutazioni e preferenze terapeutiche erano già state fatte nel 1963 da Roger D.Williams, clinico chirurgo dell'Università statale dell'Ohio negli USA.

Nel 1975 Marshall **Webster**, insegnante di chirurgia al Presbyterian-University Hospital di Pittsburgh (Pennsylvania), dopo aver trattato il ruolo diagnostico di endoscopia, arteriografia nel suo tempo venoso, splenoportografia, esami radiologici con mezzi di contrasto ed esami della funzione e morfologia del fegato, si chiedeva se una cura decompressiva del sistema portale dovesse essere intrapresa in corso d'emorragia al posto di una manovra diretta sulla fonte d'emorragia rimandando a un secondo tempo e in condizioni di elezione la decompressione stessa. A tale proposito ricordava che L. Ottinger e i suoi collaboratori, i quali avevano praticato la legatura delle varici sanguinanti per via transtoracica, avevano avuto lo stesso indice di mortalità delle anastomosi portocavali o splenorenali eseguite in urgenza, che l'esofagogastrectomia era già stata abbandonata da un pezzo per l'altissima mortalità operatoria, che la splenectomia isolata aveva una possibilità di successo solo nei rarissimi casi nei quali le varici sanguinanti erano secondarie a una trombosi della vena splenica. Il fatto poi che, tra gli altri, anche M.Orloff e collaboratori avevano avuto successo con gli shunts portocava eseguiti in emergenza e che M.Nusbaum era riuscito a fermare in 40 pazienti su 41 l'emorragia esofagea iniettando nelle arterie mesenteriche la vasopressina con immediata forte riduzione della circolazione arteriosa e venosa nel circolo locale con abbassamento della pressione portale e arresto della perdita di sangue dalle varici dell'esofago, fu determinante nell'indirizzarlo a mantenere un comportamento attendista usando la compressione del sito di sanguinamento con la sonda di Sengstaken-Blakemore e, in caso di insuccesso di questa, ricorrendo alla vasopressina nel circolo enterico con infusione regolata a 0,1-0,3 unità al minuto nella mesenterica superiore per un periodo massimo di 24 ore. Solo se anche l'infusione di vasopressina

restava inefficace sul sanguinamento Webster passava alla esecuzione di uno shunt portocavale.

Quando Webster pubblicava questa sua esperienza (1975) era in atto un po' dappertutto una intensa ricerca di tecniche alternative all'anastomosi portocava onde ovviare alle sue gravi sequele (alta incidenza di encefalopatia epatica e accelerazione dell'insufficienza di fegato). Nel 1972 T.Drapanas aveva pubblicato uno studio sulla interposizione di uno shunt mesenterico-cavale e due anni dopo M.Lambert e collaboratori avevano denunciato le complicanze tardive degli shunts mesenterico-cavali nei bambini. Nel 1974 W.Warren e A.Salam proponevano un nuovo approccio al problema dell'ipertensione portale consistente in uno shunt mesenterico-splenorenale mentre lo stesso Warren insieme a Britton aveva messo a punto un'altra anastomosi selettiva splenorenale terminolaterale conservando la milza e legando le vene gastroepiploica e coronaria stomacica. Webster affermava che non era ancora possibile esprimere un giudizio definitivo su tutte queste forme di anastomosi selettive.

Nel **1981** il panorama degli shunt era riassunto così da J.N.**Maillard** e collaboratori: 1°- anastomosi porto-cava terminolaterale che era la tecnica più eseguita, 2°- anastomosi porto-cava laterolaterale utilizzata prevalentemente per curare l'ascite e meno usata per la cura delle varici, 3°- anastomosi con interposizione mesocavale di protesi di Dacron o di Goretex o con un tratto di vena giugulare interna (8-10 cm di lunghezza), 4° anastomosi meso-cavale latero-terminale ricorrente, usata particolarmente in età pediatrica, 5°- anastomosi splenorenale prossimale eseguita in terminolaterale con splenectomia, 6°- anastomosi coronaro-cava impiegando la vena coronaria stomacica della piccola curva gastrica; in questo caso si rendeva quasi sempre necessario ricorrere ad un allungamento interponendo una vena giugulare interna o una vena safena sec. Inokuchi, 7°- anastomosi splenorenale distale di Warren e coll. (1967), 8°- anastomosi improvvisate utilizzando la vena ombelicale, la vena ovarica (D.Grange e coll.1977), la vena mesenterica inferiore (Drews e Castagna, 1976).

Nel **1983** Marvin J.**Wexler** del Royal Victoria Hospital di Montreal ricordava che ben tre studi prospettici degli anni 1968, 1969 e 1970 avevano già dimostrato ampiamente che le anastomosi tra sistema venoso portale e sistemico non avevano alcuna giustificazione come trattamento primitivo della rottura delle varici esofagee. Altri quattro *trials* prospettici randomizzati su pazienti che avevano sanguinato, portati a termine e pubblicati tra il 1974 e il 1976 avevano dimostrato che questi pazienti sottoposti ad anastomosi portocavali e splenorenali non sanguinavano più ma la loro aspettativa di vita non era risultata affatto prolungata (H.Conn; B.Rueff e coll. e altri AA). Vi era stata anzi un'accelerazione dell'insufficienza epatica quando la diversione portocavale aveva tolto del tutto al fegato gli elementi nutritivi della digestione enterica. Si era inoltre verificata una discreta frequenza dell'encefalopatia e la media della mortalità operatoria si era assestata intorno al 15%. L'anastomosi splenorenale di Warren mostrò solo in una fase iniziale una certa conservazione della funzione epatica ma questo vantaggio sulla portocava andava perduto con il passare del tempo; inoltre la tecnica costosa e complicata richiedeva un apprendistato lungo e nel 25-30% dei malati lo shunt si rivelava ad addome aperto irrealizzabile, Wexler concludeva che la splenorenale di Warren non aveva ancora ottenuto nel 1983 una valutazione definitiva.

In precedenza (1979) Orloff aveva pubblicato i risultati di 255 anastomosi eseguite entro 8 ore e mezza dal sanguinamento in altrettanti pazienti non selezionati: 47% di mortalità, della quale il 55% per insufficienza epatica nonostante l'alto grado di preparazione del team chirurgico e l'ottima attrezzatura della clinica. R.T.Malt e collaboratori avevano pubblicato (1978) un *trial* randomizzato di anastomosi mesocavali e portocavali eseguite in urgenza per emorragie esofagee: ambedue gli shunt avevano presentato la stessa mortalità

(58% di media) con tempi operatori compresi tra 5,1 e 5,9 ore e, nei sopravvissuti, un'alta percentuale di trombosi delle anastomosi mesocavali.

Nel **1995** **B.Isaksson** e coll., della clinica chirurgica dell'Università di Lund (Svezia), riportarono alla ribalta lo shunt meso-cavale (MCS) con uno studio comparativo tra questa tecnica e la scleroterapia delle varici esofagee condotto su 45 pazienti scelti in modo random tra quelli di età compresa tra i 20 e i 75 anni, che avevano sanguinato da varici esofagee controllate con l'endoscopia, erano affetti da ipertensione portale e nei quali la cirrosi epatica era stata confermata istologicamente. Lo studio fu condotto tra il gennaio 1982 e il dicembre 1989. Nella confezione dello shunt mesocavale fu utilizzato un tubo di Goretex del diametro di 14 mm. I pazienti operati di MCS entrarono nel follow-up al 30° giorno del periodo postoperatorio, quelli trattati con le sedute di scleroterapia ad eradicazione ottenuta. Sanguinamento dopo l'inizio del follow-up si verificò 12 volte nei pazienti sottoposti a scleroterapia e vi furono 4 decessi; invece dopo shunt mesocavale i sanguinamenti furono 4 e non ci fu alcun decesso. Non ci fu alcuna differenza per quanto riguarda la encefalopatia dopo MCS. Non fu notata alcuna diversità di sopravvivenza tra pazienti in stadio Child A e B fra i due gruppi, mentre la sopravvivenza risultò significativamente maggiore negli operati di MCS rispetto a quelli eradicati con scleroterapia. Gli AA, in base a questi risultati, proponevano lo shunt mesocavale al posto della scleroterapia nei cirrotici in stadio Child C.

Dopo aver riferito la situazione attuale del 1983 di tutti i metodi allora praticati per fronteggiare il pericolo di vita rappresentato dalle varici esofagee che sanguinano, Wexler concludeva che le anastomosi, di qualsiasi tipo, tra i due sistemi venosi portale e sistemico avevano deluso tutte le speranze di poter prolungare la vita dei pazienti che avevano sanguinato da ipertensione portale ed erano state accompagnate ovunque, in condizioni di emergenza, da alta morbidità e da una mortalità operatoria proibitiva. Era venuto il tempo di un accesso diretto alla fonte dell'emorragia con la scleroterapia locale per via endoscopica che a Wexler appariva essere *“la cura più semplice, sicura ed efficace nella fase acuta”* e con la chirurgia diretta sulle varici (resezione e legatura delle stesse, transezione esofagea bassa con stapler; intervento di Sugiura). Queste operazioni venivano indicate nei casi in cui la scleroterapia aveva fallito lo scopo e mostravano di consentire una efficacia a lungo termine se eseguite in condizioni di sicurezza e su pazienti opportunamente selezionati.

Nell'aprile del **1990** Layton F. **Rikkers**, docente di chirurgia presso l'università del Nebraska, nel dirigere un simposio sul tema delle emorragie da varici esofagee dedicato a Dean Warren, deceduto il 10 maggio del 1989, introdusse il tema ricordando che nel 1970 Warren aveva formulato il concetto dell'anastomosi portosistemica selettiva mentre, quasi contemporaneamente, riappariva dal dimenticatoio la scleroterapia endoscopica e, negli anni '80, c'era stata la decade dei trapianti di fegato e, nello stesso tempo, si era verificata una migliore conoscenza fisiopatologica dell'ipertensione portale con la possibilità di influire sul risanguinamento con nuovi farmaci. *“Dunque – scriveva Rikkers – la cura delle emorragie da varici esofagee è in rapida evoluzione...alcune modalità terapeutiche sono applicabili a tutti i pazienti ma persistono molti punti controversi e la disponibilità di trattamenti non invasivi come la scleroterapia e la farmacoterapia hanno portato a riconsiderare la validità di una cura profilattica”*.

Se questo era il trend testimoniato dall'autorevolezza di Rikkers, c'era però ancora qualcuno che non voleva allontanarsi dal principio della cura dell'ipertensione portale creando un nuovo tipo di shunt e questi fu **M.Rossel** che nel **1988** pubblicò su *“Hepatology”* il primo caso di shunt portocavale intraepatico da lui chiamato con la sigla PCS e che era stato effettuato inserendo uno *stent* intraepatico introdotto dalla vena giugulare. L'acronimo diventò TIPS (*Transjugular Intrahepatic Portosystemic Shunt*). Lo stesso Rossel e i suoi collaboratori nel **1994** pubblicarono i risultati di una casistica che aveva avuto una

mortalità precoce da risanguinamento solo del 3% . La maggior casistica fu però quella di J.M.Lasserge e coll. che pubblicarono i risultati ottenuti in 90 operati nel 1995 sulla rivista "*Gastroenterology*" (mortalità precoce 13%). Nel **1997** J.Tyburski e coll. dell'università di Detroit pubblicarono i risultati di una serie consecutiva di 33 operati di TIPS. Il follow-up di 18 mesi fece rilevare una mortalità complessiva del 48% quasi del tutto imputabile ad insufficienza epatica progressiva in un quadro clinico di insufficienza multiorgano. La massima incidenza di mortalità e di risanguinamenti fu registrata nei p. arrivati all'intervento di TIPS in stadio di Children C. La pronta correzione di stenosi o di ostruzione dello stent salvò la vita ad alcuni pazienti mentre i dati di laboratorio che si rivelarono predittivi di morte entro i 18 mesi dall'applicazione dello shunt furono una bassa albuminemia iniziale, un forte aumento di bilirubinemia totale e un elevato tempo di protrombina anche dopo tentativi di correzione.

Nel corso degli **anni '90** cominciò ad affermarsi il principio della **legatura delle varici esofagee** con una tecnica identica a quella in uso da molto tempo per le emorroidi. Essa consisteva nello strangolare ogni singola varice con un piccolo elastico posizionato per via endoscopica. Questo metodo di cura veniva indicato soprattutto per la eradicazione progressiva delle varici che venivano e vengono legate singolarmente alla loro base a cominciare dalla giunzione gastroesofagea risalendo progressivamente verso l'alto fino a circa 7-8 cm al di sopra di essa. Le sedute in genere erano settimanali e, come consigliato da qualche autore, sotto copertura antibiotica. Nelle varici molto grosse e prominenti nel lume esofageo alcuni usavano l'applicazione di un doppio elastico. I disturbi lamentati dopo legatura furono dichiarati meno frequenti di quelli dopo scleroterapia.

Non rimane che far cenno a quei trattamenti chirurgici diretti sul settore fondo gastrico-cardias-esofago terminale che alla fine degli anni '90, pur essendo già entrati nel folto bagaglio terapeutico dei decenni precedenti, erano stati rivisitati e riammessi ad un loro utilizzo in casi disperati di sanguinamento inarrestabile o recidivante dopo un primo tentativo di scleroterapia d'urgenza.

Si tratta della **transezione esofagea** descritta per la prima volta nel 1964 da R.Milnes-Walker e ripresa poi con l'impiego dello stapler EEA (taglia e cucì circolare meccanico provvisto di una corona di agraphes) negli anni '80 (M.Wexler 1980; S.Wanamaker e coll.1983; R.Spence e W.Johnson, 1985) e della **devascularizzazione esofagogastrica** di **Sugiura** proposta nel 1973 ma rivisitata e ripresa con alcune modifiche negli anni '80 (R.Ginsberg e coll.1982; I.Mir 1982; M.Sugiura e coll.1984; T.Gouge e J.Ranson 1986; D.Barbot e E.Rosato 1987).

Il **trapianto di fegato** in condizioni di emergenza non controllabili con il tamponamento e nemmeno con la scleroterapia immediata - che pure restavano la strada maestra - fu preso in considerazione e ancora citato nell'anno 1990 quale estrema possibilità di cura definitiva da R.P.**Wood** e coll. dell'università di Nebraska ma la letteratura non fu poi generosa di dati sicuri a questo riguardo e l'indicazione sembra aver rappresentato più una curiosità che una possibilità reale di quegli anni. Ciò che è certo è che in tutti gli ospedali, anche in quelli lontani dalle grandi città, l'unica possibilità di cura in urgenza era stata identificata con unanime consenso, alla fine dell'anno 2000, nella cura farmacologica associata alla scleroterapia immediata o al tamponamento, con eventuale rinvio, in condizioni di elezione, per una derivazione portosistemica a centri più specializzati.

Cancro dell'esofago Charles Lenormant nel 1906 scriveva che la prima esofagectomia per cancro, "*proposta da Billroth che l'aveva studiata sopra il cane, era stata praticata da Czerny nel 1877*" mentre in altre pubblicazioni sull'argomento si legge che nel **1898** fu Ludwig **Rehn** in Germania a praticare la prima esofagectomia per cancro per via toracica concludendo l'operazione con una esofagostomia. Comunque prima del 1905 l'esofagectomia era stata eseguita solo 33 volte per cancri dell'esofago cervicale mentre in

quell'anno per la prima volta **C.Beck** a Chicago costruì un tubulo scolpito nella parete dello stomaco lungo la grande curva e sufficientemente lungo per poter essere spinto a rovescio verso l'alto dentro il torace al di sopra del cardias in sostituzione del tratto distale dell'esofago asportato per cancro. Nel **1909** gli americani N.Green e H.N.Janeway eseguirono sull'animale una mobilitazione dello stomaco che permise di trasferirlo in torace a sostituire la metà inferiore dell'esofago. Un malato operato con questa tecnica morì dopo 54 ore dall'intervento. L'aggressione ai tumori maligni dell'esofago toracico tentata da diversi chirurghi europei e americani **nei primi dieci anni del XX secolo** era considerata una autentica avventura. Si battevano **due vie**, quella **extrapleurica** mediastinica posteriore e quella **transpleurica** usando apparecchi ad iper- o ipopressione. La sutura diretta dei due capi esofagei dopo la resezione non riusciva quasi mai e i pericoli dell'infezione pleurica o mediastinica erano molto elevati. Tutto questo induceva Duval ad affermare che *“i risultati dei tentativi di cura radicale del cancro dell'esofago toracico e addominale sono stati fino ad oggi disastrosi. Dopo le prime operazioni di Foure e di Tuffier in Francia, di Rehn, Sauerbruch, Wendel, Kuttner, Willy-Meyer all'estero, più di 50 esofagectomie mediastiniche o transpleuriche sono state praticate e non sono state ottenute che 2 guarigioni recentemente da Zaaier e da Torek,”* Lo stesso De Quervain confermando le poche sopravvivenze e l'assenza di guarigioni durature era però dell'opinione che *“un progresso in questo senso è sempre possibile”*. Nel **1913** in Austria Walter **Denk**, operando contemporaneamente con due équipes, una per via addominale e l'altra per via cervicale, eseguì la mobilitazione per via ottusa e alla cieca dell'esofago toracico, lo legò su uno *stripper* ad anello del tipo usato per asportare la vena safena e in questo modo portò a termine la prima esofagectomia subtotale creando una tecnica operatoria che ancora nel 1923 veniva impiegata a Zurigo dal chirurgo Clairmont.

Nel 1913 a New York F.Torek pubblicò la prima esofagectomia per cancro seguita da guarigione in una donna di 67 anni che morì 13 anni dopo per polmonite. L'operazione di Torek era stata preceduta da una gastrostomia e terminò con una esofagostomia del moncone esofageo cervicale. I due stomi furono collegati tra loro con un tubo di gomma che ebbe la funzione di ricostituire la continuità del tratto alto del tubo digerente. Molti chirurghi vollero ripetere l'operazione di Torek ma non ebbero la stessa fortuna e quella parte del mondo chirurgico che era interessata alla soluzione del difficile problema rappresentato dal cancro esofageo da sempre accompagnato da un decorso fatale nella totalità dei malati, venne colta da un amaro e giustificato pessimismo. Ci fu però chi reagì e continuò nell'ingrata e dura ricerca: nel **1938** F.**Adams** e S.**Phemister** resecarono in un ospedale di Chicago il terzo inferiore dell'esofago e la parte alta dello stomaco per un cancro esofageo distale che invadeva il cardias e riuscirono ad anastomizzare l'esofago residuo al fondo gastrico appositamente conservato sulla grande curva. Nel corso degli anni Trenta si continuò in sedi diverse ad operare con intenti radicali l'esofago malato di cancro e nel 1941 A.Ochsner e M.De Bakey poterono raccogliere da una revisione delle letteratura medica mondiale 195 casi di resezione esofagea per cancro aggiungendone altri quattro da loro stessi operati con la stessa tecnica di Adams e Phemister.

Nel **1944** il chirurgo russo Sergei S.**Yudin** dello Sklifosovsky Institute di Mosca (1891-1954) pubblicò un metodo nuovo di ricostruzione della continuità digestiva alta usando un'ansa digiunale in 80 pazienti affetti da cancro esofageo con una mortalità ridotta a solo due operati; nel **1947** la sua esperienza con la ricostruzione esofagea era salita a 150 interventi e nel **1953** pubblicò i risultati ottenuti in diverse centinaia di esofagectomie tutte trattate con il ponte fatto con un'ansa digiunale. Nel **1954** R.H.Sweet pubblicò i risultati a forte distanza di tempo di 103 resezioni esofagee praticate in una casistica personale complessiva di 450 casi da lui osservati e curati.

Nel **1955** Shackelford scriveva che *“l'esofago può essere asportato in toto o in parte ma, una volta compiuta l'asportazione, spesso è difficile e talora impossibile ripristinare la*

continuità del canale alimentare. Questo è un problema più importante della resezione stessa del viscere e non sempre può essere risolto a resezione terminata con risultati completamente soddisfacenti” e aggiungeva che “se al momento stesso della demolizione non è possibile ripristinare la continuità del canale, il margine di sezione del segmento esofageo prossimale deve essere derivato all'esterno come per una esofagostomia onde derivare la saliva deglutita”. Tuttavia all'epoca in cui Shackelford scriveva così, l'orientamento generale era già quello di ricostruire la continuità del tratto alimentare portando stomaco o digiuno nel torace oppure collegando i due segmenti esofagei con un tubo di plastica.

Le operazioni radicali che furono eseguite tra il 1924 e il 1954 erano riconducibili alle seguenti tecniche: 1°- per i cancri dell'esofago cervicale esofagectomia cervicale con chiusura a lembo cutaneo in due tempi sec. Wookey (1947-1948); 2°- esofagectomia cervicale e laringectomia con chiusura con lembo cutaneo in due tempi sec. Wookey; 3°- esofagectomia cervicale e riparazione con lembo tubulare peduncolato sec. Bricker (1949) 4°- esofagectomia parziale in tempo unico e immediata sostituzione con tubo di plastica sec. Berman (1952-1953) 5°- esofagectomia parziale (4 varianti) a varia localizzazione seguita da esofagogastrostomia o esofagodigiunostomia sec. Sweet (pubblicate a Philadelphia nel volume “*Thoracic Surgery*” nel 1954); 6°- esofagectomia toracica totale in un tempo seguita da esofagogastrostomia sec. Shefts e Fischer (1949); 7°- esofagectomia toracica parziale media o alta seguita da esofagodigiunostomia in due tempi, dei quali il primo dedicato alla preparazione dell'ansa digiunale da trasporre in torace secondo il metodo originale di Rienhoff (1946) – questa operazione poteva essere fatta anche in caso di tumore inestirpabile lasciandolo in situ in una porzione di viscere sottratto al transito alimentare; 8°- esofago artificiale fatto con un segmento di intestino tenue isolato e ricoperto di cute sec. Longmire e Ravitch (1946); oppure sec. la tecnica di Yudin con strumenti di sua ideazione : 80 casi con 2 soli decessi nella pubblicazione del 1944; 9°- sostituzione endotoracica dell'esofago malato con il colon trasverso e ascendente sec. Orsoni e Lemaire (1951).

Questo elevato numero di tecniche operatorie basta da solo a rivelare le grandi difficoltà che il curante incontrava a causa delle caratteristiche anatomiche e anatomopatologiche del carcinoma esofageo. Come vedremo più avanti le soluzioni tecniche di asportazione del tumore e di immediata ricostruzione della continuità della via digestiva continueranno a svilupparsi sulla base delle proposte pubblicate nel 1954 da **Sweet**, lo studioso occidentale che più di tutti si accanì su questo difficile tema di tecnica operatoria. Tuttavia ancora nel **1963** Clarence Dennis e Marvin Gliedman della State University di New York scrivevano che “...sono stati proposti molti metodi di cura chirurgica ma nessuno può dirsi del tutto soddisfacente e la complessità di queste operazioni ha suggerito a molti chirurghi la saggia decisione di eseguire come primo passo una esplorazione dell'alto addome. La presenza o assenza di metastasi linfoghiandolari all'asse celiaco farà decidere circa un successivo intervento per rimuovere il tumore e, in ogni caso, questa esplorazione potrà permettere la preparazione di un canale retrosternale dove alloggiare un tratto di colon o di digiuno per costruire una nuova via alimentare tra esofago cervicale e stomaco...se poi la neoplasia visibile viene completamente rimossa, la sopravvivenza a 5 anni è del medesimo ordine di grandezza delle resezioni dei tumori dello stomaco e del pancreas, cioè tra il 10% e il 15%”.

E' però da notare che già nel 1957 K.Nakayama e F.Yanagisawa avevano pubblicato sulla rivista tedesca “*Chirurg*” i sorprendenti dati di una bassa mortalità operatoria (3,9%) su ben 739 resezioni esofagee per cancro da loro eseguite in Giappone.

Nel giugno del **1964** Herbert **Adams** della Lahey Clinic affermò che per i chirurghi era arrivato il momento di abbandonare l'atteggiamento pessimistico che continuava a gravare sulla cura del cancro esofageo e che bisognava fare ogni sforzo per asportare la neoplasia

qualsiasi fossero il suo volume e la sua estensione e ristabilire subito la continuità della parte alta del tubo digerente per poi sottoporre gli operati alla terapia radiante ad alto voltaggio. Per la prima volta Adams raccomandò di controllare al microscopio, nel corso dell'operazione, lo stato di invasione neoplastica o meno dei margini di sezione, e suggeriva di rimpiazzare con il colon il tratto di esofago asportato per carcinomi dell'esofago cervicale mentre per i tumori dell'esofago toracico bastava secondo lui un'attenta e meticolosa opera di mobilitazione dello stomaco, quel processo che prese da allora il nome di *"tubulizzazione gastrica"*. I punti importanti sottolineati da Adams erano la sicura vitalità del viscere trasposto, l'assenza di tensione a livello dell'anastomosi, la marcatura con clips da dura madre dei settori da sottoporre a terapia radiante ad alto voltaggio (bomba al cobalto o betatrone). Con l'adozione di questi principi Adams dichiarò che nell'arco degli ultimi 20 anni la resecabilità del cancro esofageo era passata nelle sue mani dal 40% iniziale a circa il 65% e la sopravvivenza a 5 anni dall'operazione dal 4% al 9%.

Nel dicembre del **1966**, in un simposio di chirurgia toracica John **Burge** e John **Ochsner** della chirurgia della Alton Ochsner Clinic di New Orleans, affermarono che i tre fattori responsabili della cattiva prognosi del cancro esofageo erano individuabili nell'elevata età della maggior parte dei pazienti, nella storia naturale della malattia e nella forte discrepanza tra l'alto grado di malignità della malattia e l'inizio troppo tardivo del suo sintomo principale, la disfagia. Infatti la letteratura raccolta da Burge e Ochsner rivelava che le metastasi erano ben riconoscibili in corso d'operazione nel 45-80% dei casi, che l'operabilità oscillava a seconda degli AA da un minimo del 22% ad un massimo del 75%, che, se la media dell'operabilità arrivava al 59,2%, la resecabilità accertata in corso d'intervento scendeva al 43,2% e che la mortalità operatoria raggiungeva il 25,9%. Anche la casistica della Ochsner Clinic non si allontanava da questi valori percentuali e, nella sopravvivenza a 5 anni dall'operazione, registrava il 12,5% su 125 operati, vicina dunque a quella di A.Logan (14,9% su 544 operati pubblicata nel 1963) e di R.Mustard e coll. del Toronto General Hospital (10,6% su 381 operati pubblicata nel 1956) restando tutte le altre casistiche occidentali tra l'8% di J.McManus su 158 operati (pubblicazione del 1956) e il 9% di F.H.Ellis e collaboratori su 909 operati (pubblicazione del 1959). Le tecniche usate nella Ochsner Clinic di New Orleans erano negli **anni '50 e '60** l'esofagectomia del terzo inferiore dell'esofago seguita da esofagogastrostomia per le neoplasie basse, l'irradiazione ad alto voltaggio preoperatoria seguita da esofagectomia ed esofagogastrostomia o esofagocolonstomia per i cancri del terzo medio; invece per i cancri del terzo superiore la trasposizione retrosternale del colon come primo tempo seguita da irradiazione e, come terzo tempo, dalla esofagectomia ed esofagocolonstomia.

L'associazione di una **irradiazione preoperatoria** con 3000-4500 r della neoplasia esofagea propagandata come molto utile dal giapponese **Nakayama** nel **1964** e da Parker e Gregoire nel 1965 indusse David **Skinner**, chirurgo dell'università di Chicago, ad effettuare nel **1971** un trattamento di questo tipo su 10 pazienti e, cinque anni dopo, a pubblicarne i risultati con questo commento: *"i risultati ottenuti con questo protocollo non sono stati sufficientemente incoraggianti per continuare ad applicarlo. Per un programma terapeutico che comprende diversi mesi di terapia e due operazioni impegnative i risultati dovrebbero essere nettamente migliori di quelli che si ottengono con una resezione in tempo unico...la resezione en bloc rimane per ora la pietra angolare del trattamento nella speranza che esao possa essere migliorata con i nuovi tipi di terapia adiuvante (chemio- e immunoterapia).*

Nel **1981** la **chemioterapia**, impiegata solo in casi selezionati di recidive dopo terapia radiante, si basava sulla somministrazione di 5-fluorouracile, bleomicina e combinazioni di farmaci alchilanti; forniva secondo G.A.Nagel risultati del tutto insoddisfacenti anche a scopo puramente palliativo.

Nello stesso anno R.Hünig, nel trattare il capitolo della terapia radiante pre- e postoperatoria, descriveva due schemi elaborati in Giappone, quello di J.Akakura provato su 346 malati non selezionati dei quali 117 sottoposti a 5000-6000 rads in 30-40 giorni (mortalità operatoria pari al 20,8% degli irradiati e 13,2% dei non irradiati) e lo schema di Nakajama provato nel 1969 su 64 pazienti irradiati con 2000-2500 rads in 4-5 giorni dopo il primo tempo della sua operazione in tre tempi (vedi sopra – mortalità operatoria del 4,3%). Più vicino allo schema di Akakura fu quello dell'americano R.D.Marks che nel 1976 pubblicò i risultati dell'irradiazione con 4500 rads in 3 settimane e mezza su 332 pazienti dei quali 101 poi resecati (mortalità operatoria del 18%).

La terapia radiante fu molto usata anche come unico mezzo palliativo perché, rispetto alla cura chirurgica, presentava minore mortalità e minore frequenza di complicazioni. L'unico studio comparativo di terapia radiante *versus* terapia chirurgica fu quello detto “**Studio di Edimburgo**” diretto e pubblicato **tra il 1969 e il 1977** da J.G.Pearson: dal 1949 al 1977 erano stati irradiati a scopo curativo 720 pazienti dei quali solo 432 furono poi operati; le percentuali di sopravvivenza, suddivise secondo la sede del tumore, furono per i 2/3 superiori dell'esofago l'11% dopo cura chirurgica e il 19% dopo radioterapia; per il terzo inferiore furono rispettivamente l'11% e il 12%. Pearson dimostrò che il risultato della cura radiante dipendeva dall'estensione del tumore riconoscendo un limite critico intorno ai 10 cm di lunghezza. Gli svantaggi della terapia radiante furono individuati nel lento miglioramento della disfagia, nella alta frequenza delle recidive locali e delle stenosi cicatriziali che nei sopravvissuti oltre i 5 anni avevano richiesto la cura dilatante o chirurgica.

Il “**fenomeno giapponese**” scoppiato tra il 1970 (Akakura) e il 1980 (Akijama) caratterizzato dalle alte percentuali di resecabilità dei cancro esofagei, dall'alta sopravvivenza e dalla infima mortalità operatoria – tutte percentuali in netto contrasto con quelle delle 12 più importanti casistiche occidentali del medesimo decennio – fece sorgere molti interrogativi, alcune ipotesi e vivaci discussioni nel corso di incontri internazionali dedicati al tema del carcinoma dell'esofago nel corso del ventennio 1970-1990 senza però che si sia riusciti a trovare di questo “fenomeno giapponese” una spiegazione plausibile.

Ricordiamo ora quali erano le scelte di **tecnica operatoria** disponibili per i tumori dei 2/3 inferiori dell'esofago all'inizio degli anni Ottanta così come furono pubblicate dal tedesco J.Siewert con la collaborazione di F.Fékété e di J.Lortat-Jacob: 1°- esofagectomia subtotale distale senza ricostruzione primaria del transito alimentare, con esofagostomia cutanea al collo e gastrostomia alla Witzel; 2°- resezione esofagea per via toracotomica destra e ricostruzione primaria della via alimentare con esofagogastrostomia su stomaco tubulizzato e portato in torace; 3°- resezione del cardias per via combinata addominale e toracica destra e interposizione di ansa digiunale tra esofago medio e duodeno oppure con esofagodigiunostomia su ansa digiunale a Y sec. Roux più enteroenteroanastomosi sull'ansa stessa; 4°- esofagectomia per via toracotomica sinistra seguita da tempo addominale di tubulizzazione dello stomaco ed esofagogastrostomia finale terminolaterale; 5°- esofagectomia e sostituzione dell'esofago con un tratto di colon (destro o trasverso, iso- o antiperistaltico) in posizione retrosternale. L'esofagocolonstomia era terminolaterale e la colongastrostomia pure.

Nel **1983** R.W.Postlethwait, della Duke University di Durham (North Carolina) osservò una netta diminuzione delle deiscenze anastomotiche – una delle più gravi e letali complicazioni dell'esofagogastrostomia o digiunostomia – dal 10% delle suture fatte a mano al 2% di quelle meccaniche fatte con lo stapler. Una novità tecnica che lo stesso A. aveva appreso dal chirurgo giapponese Akiyama, diffondendola poi in occidente, fu quella della resezione della piccola curva gastrica con tutti i linfonodi dell'asse celiaco prima di trasportare lo stomaco in torace al posto dell'esofago asportato.

Sempre nel 1983 i fratelli Orringer, del Michigan Medical Center, proposero a scopo dichiaratamente palliativo la dissezione digitale alla cieca dell'esofago toracico per via transjatale dal basso e per via transcervicale dall'alto asportando poi l'esofago toracico malato senza aprire il torace. Dal 1979 al 1982 Orringer estirpò con questa tecnica 94 cancri esofagei ricostruendo nella stessa seduta operatoria la continuità della via digerente nel mediastino posteriore con una mortalità operatoria dell'8,2% e con perdite ematiche comprese tra 1200 ml e 1100 ml. La sopravvivenza di questi pazienti fu di 13 mesi.

Nel **1994**, in un simposio dedicato alla chirurgia nei pazienti anziani, Robert Gorman e collaboratori, dell'Università di Pennsylvania, riconobbero che i pazienti con metastasi a distanza o con invasione delle strutture anatomiche adiacenti all'esofago erano universalmente considerati inoperabili e quindi affidati al nuovo *trend* di cure palliative incentrate nell'intubazione della stenosi neoplastica con vari tipi di imbuto applicati per via endoscopica pur non essendo ancora abbandonati altri metodi palliativi come la riduzione della massa neoplastica per mezzo della laserterapia e della terapia radiante. Nel procedimento diagnostico, oltre all'essenziale e classico apporto dei sistemi radiodiagnostici e dell'endoscopia, questi AA rilevarono l'ottima qualità delle informazioni fornite dall'ecografia sia sulla condizione dei linfonodi regionali sia sullo stato di infiltrazione tumorale della parete esofagea e delle strutture vicine.

Per quanto riguarda la resezione, la scelta degli **anni Novanta** correva tra la tecnica transjatale di Orringer e altri e quella transtoracica con la classica resezione en-bloc di Skinner e altri.

La comparazione dei risultati ottenuti con queste due tecniche fu fatta da J.M.Strietz nel 1992, il quale dimostrò che *“ambedue danno eccellente palliazione della disfagia e comportano valori simili di mortalità e complicanze e anche la sopravvivenza a lungo termine era la stessa”*. Nel **1991** H.Yamanaka e collaboratori rilevarono che l'approccio transjatale aveva una mortalità nettamente inferiore nei pazienti anziani con scarse riserve di funzione respiratoria. Quando poi la neoplasia del terzo medio dell'esofago era ancora confinata alla parete del viscere e ai linfonodi regionali (stadio II della AJCC) la resezione per via transtoracica dimostrò di ottenere i migliori risultati.

Nel **1997** apparve su *“Arch.Surg.”* un lavoro di L.Swanstrom e P.Hansen, del reparto di chirurgia mininvasiva dell'Università dell'Oregon che rendeva conto dei risultati ottenuti in 9 pazienti operati di esofagectomia totale per via laparoscopica nel periodo 1993-1996: gli AA contarono tre decessi, due per metastasi ma senza recidiva locale e uno per insufficienza cardiaca a distanze di tempo di 10, 13 e 33 mesi dall'intervento. Si trattò di una tecnica operatoria estremamente impegnativa condotta con un primo tempo addominale per la confezione del tubulo gastroduodenodigiunale e per l'isolamento *en bloc* dell'esofago e della metà sinistra dello stomaco compresa una piccola parte del fondo gastrico e un secondo tempo di completamento della preparazione del pezzo da asportare per via combinata laparoscopica e cervicotomica. L'anastomosi tra moncone di esofago cervicale e fondo gastrico era di tipo terminolaterale previa fissazione del fondo gastrico alla fascia prevertebrale. La durata dell'operazione fu di 8 ore nei primi casi e di 6 ore negli altri. Gli AA. sottolineavano la soddisfacente risposta postoperatoria da parte degli operati che poterono tutti essere rialimentati per os dopo controllo con gastrografin della tenuta dell'anastomosi dopo 48 ore dall'operazione. La complicanza più frequente (6 pazienti su 9) fu la raucedine che scomparve spontaneamente dopo 14 mesi:

I precedenti lavori sull'esofagectomia per via laparoscopica erano stati quelli di N.Sadanaga e coll su *“Am.J.Surg.”* del 1994 e quello di A.De Paula e coll. su *“Surg.Laparosc.Endosc.”* del 1995.

Altri AA dei primi anni Novanta avevano pubblicato esofagectomie per cancro per via toracoscopica destra (A.Cuschieri e coll. su *“J.R.Coll.Surg.Edimb.”* del 1992), per doppia via laparotomica e toracoscopica destra (O.McAnena e coll. su *“Brit.J.Surg.”* del 1994) e

per via combinata toracoscopica e laparoscopica (B.Dallemagne e coll. su “*Minim.Invasive Ther.*” del 1992).

All'avvicinarsi della fine del secolo molti entusiasmi per una chirurgia di exeresi allargata e “d'assalto”, tipica degli anni '60 e '70, e rinfocolata nel passaggio agli anni '80 dall'avvento degli **stapler**, si erano sopiti di fronte al persistere delle delusioni legate al mancato miglioramento delle sopravvivenze a lungo termine. Infatti al notevole affinamento della tecnica operatoria, al miglioramento della preparazione degli operandi e della loro selezione non avevano corrisposto uguali miglioramenti dei risultati curativi. Tuttavia l'exeresi chirurgica rimaneva il trattamento migliore a scopo curativo con un tasso di sopravvivenza del 15-20% a 5 anni nei casi in cui il chirurgo riteneva di aver fatto una resezione completa. Se però si teneva conto che al momento della diagnosi oltre la metà dei pazienti risultava inoperabile e che le exeresi veramente curative assommavano a non più del 10%, lo scoraggiamento poteva apparire giustificato. Solo il tumore superficiale ancora intramucoso trattato chirurgicamente o con distruzione fotodinamica utilizzando i derivati dell'ematoporfirina aveva fornito risultati definiti eccellenti con più del 70% di sopravvivenza a 5 anni. Le exeresi palliative consentivano una sopravvivenza in condizioni accettabili tra i 9 e i 21 mesi. Nel 1994 D.Sawant e E.Moghissi pubblicarono la loro esperienza in questo campo esercitata su una casistica di 537 pazienti affetti da carcinoma non resecabile (in “*Eur.J.Cardiolog.Thorac.Surg.*”). Nel 1999 M.Gentile e coll., della cattedra di chirurgia toracica dell'Università di Napoli, pubblicarono su “*Min.Chir.*” una piccola casistica di resezioni palliative (8) e di bypass retrosternali con stomaco e colon (18): la mortalità fu dell'11% e la sopravvivenza di 12,5 mesi nei resecati e di 11,5 negli operati di by-pass palliativo retrosternale.

Si era fatta strada negli ultimi due decenni una nuova visione del valore intrinseco dei nuovi **metodi palliativi** che, all'annuncio del XXI secolo, stavano guadagnando sempre nuovi favori. Le **protesi esofagee** venivano impiantate previa dilatazione con i dilatatori a oliva di Eder Puestow introdotti su filo-guida posizionato mediante endoscopio pediatrico di 9 mm o fibroscopio di 11 mm. Le manovre venivano eseguite sotto controllo radioscopico e per lo più in neuroleptoanalgesia così da consentire di concludere in unica seduta le dilatazioni e l'impianto della protesi. Molto usata fu fin dall'inizio la **protesi di Célestin** che era un tubo di lattice elastico rinforzato da una spirale di nylon e provvisto di un filo radioopaco; in seguito furono impiegate anche le protesi **Keymed**, anch'esse dotate come le precedenti di un sistema di sostegno inferiore che impediva la loro risalita. La possibilità di introdurre la protesi senza rischi attraverso la stenosi fu facilitata dalla invenzione del cosiddetto “**strumento di Nottingham**” che era fatto di due supporti flessibili che scorrevano uno dentro l'altro mentre l'estremità prossimale aveva una impugnatura di comando con un sistema di bloccaggio che fissava la protesi nel posto voluto espandendo un cilindro a rivestimento aperto. L'esperienza complessiva con l'applicazione delle protesi nei cancro inestirpabili dell'esofago, iniziata con la casistica di **Palmer** nel 1973, comportò una mortalità media del 6,3%, legata essenzialmente alle perforazioni. La percentuale media dell'emorragia fu del 3% e quella della migrazione spontanea del 7,5% come riferito da H.Gouerou e C.H.Guez alla fine degli anni Ottanta. Negli **anni '90** ci si orientò verso le **protesi autoespansibili** e nel 1995 fu segnalato che le complicanze erano risultate più rare con le protesi metalliche autoespansibili anziché con le protesi di polivinile e di lattice.

Nel 1999 I.Norberto e coll. della I° Clinica Chirurgica dell'Università di Padova, pubblicarono su “*Min.Chir.*” la loro esperienza nella palliazione dei cancro inoperabili di esofago e di cardias con le tecniche endoscopiche: in un totale di 265 pazienti usarono le protesi (prevalentemente le Celestin pediatriche e le metalliche espansibili rivestite) e la laserterapia e i risultati furono definiti buoni in circa l'80% dei casi. La sopravvivenza media era stata di 4 mesi.

Per quanto riguarda il **trattamento radioterapico** i dati pubblicati intorno agli ultimi anni del secolo davano una sopravvivenza del 5% a 5 anni ma con risultati modesti sulla disfagia. Risultati più interessanti vennero segnalati in quegli anni da Rambaud e Bouhnik per quanto riguardava l'associazione chemio-radioterapica.

Chirurgia gastrica – Mezzi decompressivi e diagnostici

La chirurgia dello stomaco del secolo XX si è valsa di mezzi di decompressione e di diagnosi nuovi o perfezionati rispetto a quelli usati nella seconda metà dell'Ottocento.

Il **sondino naso-gastrico** fu introdotto nella chirurgia dello stomaco da A.L.**Levin** nel **1921**. Dapprima fatto di gomma dura, a lume unico, con un solo occhiello laterale subito a monte della punta, graduato o meno con le distanze naso-cardias, narici-piloro e narici-duodeno, il tubo di Levin fu in seguito fabbricato in materiale plastico e morbido a partire dagli anni '50. Nel corso degli anni Venti venne usato solo per drenaggio a sifone; nel **1933** O.H.**Wangenstein** introdusse il metodo dell'**aspirazione continua** e nel medesimo anno J.R.Paine propose l'applicazione del tubo di Levin a scopo profilattico per evitare che si instaurasse una sovradistensione dello stomaco. Per quanto possa sembrare strano, vi fu un periodo tra il 1936 e il 1950 in cui l'entusiasmo per i buoni risultati ottenuti con l'impiego del tubo di Levin condusse ad un suo uso eccessivo, anche al di fuori di una corretta indicazione e ciò ebbe una serie di complicanze quali ulcerazioni e stenosi esofagee, edemi e stenosi laringee, lesioni infiammatorie dei polmoni e perfino perforazioni del tubo digerente. Questi incidenti riportarono ad un impiego più prudente del sondaggio gastrico e duodenale fissando il periodo massimo di permanenza del tubo di Levin a 5 giorni e consentendo il riposizionamento dello stesso – ove assolutamente necessario - dopo 3-4 giorni. L'uso dell'**apparecchio di Wangenstein per aspirazione continua** fu progressivamente abbandonato negli anni del secondo dopoguerra quando furono resi noti squilibri elettrolitici dovuti alla forte perdita di succo gastrico e di succo duodenale. Indubbiamente però la chirurgia gastrica in genere e le affezioni stenose del piloro e del ventricolo trovarono nel sondino di Levin un notevole aiuto terapeutico immediato o quanto meno temporaneo.

La grande utilità diagnostica della **gastrosopia** fu saggiata per la prima volta nel **1881** da **Mikulicz** anche se i primi tentativi diagnostici senza risultato erano stati fatti da Kussmaul nel 1868. Diversi chirurghi si sono dedicati nella prima metà del Novecento allo studio e alla confezione di sempre nuovi modelli di gastroscopi. Il modello rigido che fu più usato fu quello di **Jackson** che era provvisto di otturatore terminante a forma di oliva e del portalampadina; la tecnica d'introduzione e di esame diretto delle pareti gastriche richiedeva una grande precisione e, in mani esperte, non più di mezz'ora. I soggetti con stomaco ptosico ad asse prevalentemente verticale erano quelli ideali perché permettevano il massimo raggio di esplorazione anche se molte erano le aree non esplorabili, soprattutto nel fondo gastrico. Nel periodo in cui fu usato il gastroscopio di Jackson fu sempre circondato da un'aura di diffidenza e di reverenziale timore dovuti alla difficoltà tecnica e alla delicatezza delle manovre di intubazione e di osservazione che esigevano un apprendistato non facile e breve. Questo spiega perché nei manuali di diagnostica degli anni '40 si affermava che *“la gastrosopia non può essere considerata un esame di routine; può solo rappresentare un valido complemento dell'indagine radiologica dello stomaco ma non deve sostituirla”*. Così si esprimeva Shackelford nella revisione del trattato di chirurgia dell'apparato digerente di Bickam e Callender nel periodo 1938-1947.

Il primo **gastroscopio flessibile** – un tubo lungo 71 cm di diametro variabile da 8 a 12 mm provvisto di 48-51 lenti – fu ideato da A.**Schindler** nel **1958**. Le componenti di questo strumento erano il segmento prossimale metallico rigido, il segmento flessibile

rappresentato da una molla spirale ricoperta di gomma dentro alla quale erano collocate le lenti con distanza focale fissa, un canale per pompare l'aria nello stomaco, l'asta porta lampadina e filo elettrico, un dito di gomma che proteggeva la estremità endogastrica dello strumento e garantiva una discesa atraumatica del tubo nell'esofago e nel ventricolo. Sfuggivano all'esaminatore parte della piccola curva antrale e il fornice juxtacardiale. Altri modelli di gastroscopi semiflessibili che sfruttavano lo stesso schema costruttivo di quello di Schindler furono ideati prima della seconda guerra mondiale da F.Moutier e da Alvarez. I gastroscopi moderni che sono arrivati a fornire l'esame completo di tutte le pareti gastriche associandovi la possibilità di prelievi biotici, di operazioni resettive endoscopiche, di manovre emostatiche sulle fonti d'emorragia, di documentazione fotografica sono i figli e i nipoti del **primo fibroscopio** (endoscopia a fibre ottiche e luce fredda) introdotto in diagnostica endoviscerale da **Hirschowitz** nell'anno **1958**. Negli ultimi anni Cinquanta ebbe vita per qualche decennio la **gastrocamera**, un apparecchio flessibile che recava in punta una macchina fotografica miniaturizzata comandata dall'esaminatore che eseguiva, sfruttando punti di repere di cui lo strumento era dotato, una ricognizione fotografica delle pareti gastriche illuminate dalle fibre ottiche della sonda che permetteva anche di distanziare le pareti tra loro con l'insufflazione.

Gastrostomie

La gastrostomia, cioè l'abboccamento del lume gastrico alla cute dell'addome fu adottata fin dall'Ottocento allo scopo di prevenire la morte per inanizione dei pazienti affetti da ostruzione completa del lume esofageo e questa fu pure l'indicazione usata per buona parte del secolo XX. Nella prima metà del Novecento la gastrostomia fu anche impiegata come primo tempo di un più complesso programma chirurgico che prevedeva l'interruzione prolungata dell'alimentazione naturale *per os* (Maynard e Froux, 1964) in pazienti con paralisi dei muscoli della deglutizione dopo poliomielite o difterite, negli esiti di ustioni dell'esofago, negli psicopatici che rifiutavano il cibo e il sondino nasogastrico, ma si trattò di indicazioni che furono complessivamente adottate solo molto di rado. A seconda del tempo di durata in funzione della gastrostomia, questa poteva essere di tipo detto "sieroso", cioè con la sierosa gastrica fissata alla parete dell'addome, e questo era il tipo più adatto per le gastrostomie di breve durata; in quelle invece che dovevano durare a lungo si adottava il tipo detto "mucoso" che, a differenza di quelle di tipo sieroso, non abbisognavano di un catetere a dimora per essere mantenute aperte e funzionanti: le fistole di tipo mucoso erano formate da un tubulo ricavato dalla parete anteriore dello stomaco appositamente scolpita a tutto spessore da sinistra a destra lungo la grande curva (metodo di Janeway- De Page e metodo a lungo tubo gastrico di Beck-Jianu) oppure, negli stomaci dilatati e flaccidi, attirando la parete gastrica anteriore nello spessore della parete addominale fino alla cute ancorandola con piani di sutura sovrapposti strato per strato (metodo di Ssbanaajew e Franck). Tutte queste gastrostomie di tipo mucoso e di lunga durata furono eseguite con intenti di cura definitiva e subirono anche alcune varianti di tecnica operatoria. Il prototipo invece delle gastrostomie di tipo sieroso e di breve durata fu quello ideato da **Witzel nel 1891**. Nonostante le varianti di Marwedel e collaboratori, di Stamm-Senn, di Brunschwig e di Kader, l'operazione di Witzel fu senz'altro la gastrostomia più eseguita grazie alla sua estrema semplicità e rapidità di esecuzione. Il catetere preferito per mantenere intubata la Witzel fu generalmente quello di Petzer a testa rotonda. Forse impropriamente il nome di "gastrostomia" fu usato da J.Fabris e G.Smith nel 1956 (e in seguito anche da R.Gilchrist e da T. Holder e R.Gross) per indicare l'applicazione di un catetere di Foley a palloncino gonfiabile di 10 ml nella parte più avvicinabile alla parete addominale anteriore del fondo gastrico che ad essa veniva fissato con alcune suture. Il catetere aveva lo scopo di detendere lo stomaco dal gas che viene inghiottito dal paziente nel quale erano state effettuate anastomosi intestinali: in pratica il

Foley gastrostomico suppliva alla funzione di un sondino nasogastrico lasciato a permanenza per due o tre giorni, cioè fino a ripresa della canalizzazione intestinale, e spesso mal sopportato dagli operati.

L'adozione dei nuovi metodi di dilatazione esofagea negli ultimi decenni del Novecento ridussero notevolmente l'esecuzione delle gastrostomie che venivano effettuate nei casi di stenosi serrata dell'esofago per cui si può affermare che alla fine del secolo la gastrostomia classica aveva mutato le sue caratteristiche tecniche e anche le sue indicazioni. Infatti già **nel 1979 M.Gauderer e P. Ponsky** avevano pubblicato le loro prime esperienze con la cosiddetta **PEG** (*Percutaneous Endoscopic Gastrostomy*) e da allora si erano andate sviluppando tre diverse modalità tecniche di PEG: 1°- metodo "a spinta" di Ponsky-Gauderer 2°- metodo Sacks-Vine (1983) 3°- metodo detto "dell'introduttore" di Russell (1984). Questi tre metodi si avvalevano tutti di filo-guida, di un gastroscopio e di una cannula che veniva applicata in posizione transparietogastrica dall'esterno e poi rimossa una volta che un catetere a palloncino fosse stato collocato nella sede definitiva.

Alla PEG fu contrapposto nel 1981 da R.M.**Preshaw** la **PNG** (*Percutaneous Nonendoscopic Gastrostomy*), un metodo il cui controllo dell'esatto posizionamento del catetere introdotto dall'esterno attraverso un trequarti veniva fatto iniettando poche gocce di liquido di contrasto sotto visione radioscopica. Varianti di questa PNG riguardanti il tipo di ago e di catetere furono proposte da diversi AA tra il 1986 e il 1990. Uno studio comparativo tra la PEG *versus* gastrostomia chirurgica classica fu condotto da G.V.Stiegmann nell'anno 1990 e dimostrò che il vantaggio più evidente della PEG consisteva nella sua maggiore rapidità di esecuzione. Le controindicazioni risultavano essere le medesime per i due tipi di gastrostomia percutanea (ascite, coagulopatie, patologia della parete gastrica). Le indicazioni erano anche le stesse: pazienti che temporaneamente o permanentemente non possono assumere cibi *per os*. Anche tutte le complicanze furono le medesime. Gli studi retrospettivi sulla mortalità eseguiti prima del 1992 dimostrarono che le percentuali di mortalità dopo PEG erano nettamente inferiori rispetto a quelle dopo gastrostomia chirurgica classica (P.C.Shellito e R.Onalt,1985; H.S.Himal e S.Schumacher, 1987; C.Ho e coll.su 233 operati, 1988). Nel corso degli ultimi cinque anni del Novecento la PEG – notevolmente migliorata nei materiali *disposable* – diventò la tecnica di gastrostomia più usata grazie alla sua estrema facilità di esecuzione, alla sicurezza e ai buoni risultati. Contemporaneamente ci fu un notevole allargamento delle indicazioni (malati neurologici, necessità nutrizionali nel postoperatorio di operazioni ampiamente demolitive dell'apparato digerente e soprattutto del tratto faringo-laringo-esofageo, e altre ancora) e conseguentemente si registrò un netto aumento dei pazienti sottoposti a PEG. Nel caso di una PEG permanente si sostituì la sonda di alimentazione con un "bottono a pressione" che facilitava molto le cure locali. Tra le controindicazioni più importanti J.Rambaud e collaboratori riportavano nel 1995 la impossibilità di una buona transilluminazione della parete addominale durante l'endoscopia per obesità, ascite, grande epatomegalia o cicatrice xifoombelicale. Il posizionamento di una sonda alimentare transparietogastrica con la PEG ha dimostrato in moltissime casistiche di riuscire nel 95% dei casi. Tra le complicanze minori furono citati l'infezione cutanea di solito prevenuta da una antibioticoterapia preventiva, lo spostamento del catetere, il reflusso gastro-esofageo, il pneumoperitoneo di risoluzione spontanea e asintomatico e l'ileo riflesso pure di risoluzione spontanea. Le complicanze maggiori consistenti in fistole gastrocoliche, emorragia gastrica, peritonite, infezione parietale grave hanno inciso in meno del 2% dei casi prima dell'anno 2001.

Ulcera peptica

Con questa definizione vengono comprese tutte le ulcere gastriche, duodenali e delle anastomosi gastroduodenali. La forte diffusione di questa malattia e la sua incidenza

negativa in campo sociale ha rappresentato nei primi 80 anni del Novecento uno dei capitoli più importanti delle spese sostenute dagli enti previdenziali e dallo stato per numero di ricoveri ospedalieri e di interventi chirurgici. Infatti la cura chirurgica delle molte forme di ulcera peptica ribelli alle cure mediche ha dominato per tutto detto periodo incontrastata finché la scoperta della Cimetidina e, pochi anni dopo, dei farmaci che bloccano la pompa protonica che presiede alla formazione dell'acido cloridrico da parte del corpo e fondo gastrico, hanno praticamente quasi azzerato i casi clinici richiedenti assolutamente una cura chirurgica. Per lo più si tratta di complicanze che negli ultimi anni del secolo furono affrontate con cure conservative.

Nei primi due decenni del secolo XX l'unica operazione che veniva eseguita per curare l'ulcera peptica era la **gastroenteroanastomosi** che sostituì tutta una serie di operazioni precedentemente in voga come l'esclusione pilorica, le piloroplastiche di vario tipo, la duodenosfinterectomia anteriore, la cauterizzazione dell'ulcera previa gastrotomia e la resezione dell'ulcera. La gastroenterostomia (**GEA**) – in pratica era una gastrodigiunostomia fatta utilizzando la prima ansa digiunale a valle del Treitz - si effettuava abboccando alla parete anteriore o posteriore dello stomaco, in posizione orizzontale, obliqua o verticale, l'intestino. La base razionale di questo intervento consisteva nel consentire una rapida evacuazione del contenuto gastrico nel lume intestinale e ciò risultava molto utile nei casi in cui l'ulcera peptica aveva provocato una stenosi a livello antrale-pilorico o nella prima porzione del duodeno, ma anche nella neutralizzazione dell'acidità gastrica mediante l'arrivo nello stomaco del contenuto alcalino dell'intestino così da interrompere il meccanismo patogenetico dell'ulcera che fino a tutti gli anni Quaranta veniva identificato con l'iperacidità gastrica. Nel **1947** Jean **Gosset**, chirurgo degli Ospedali di Parigi, già non dava più credito ai molti che sostenevano la teoria patogenetica dell'iperacidità come, del resto, non credeva a chi chiamava in causa una carenza di aminoacidi e dell'istidina in particolare. Anche la teoria secondo la quale l'ulcera peptica era il risultato di una modificazione chimica del muco gastrico era già stata scartata dai più. L'ipotesi che si stava imponendo sulle altre alla fine degli anni Quaranta era quella di uno *“squilibrio neuro-vegetativo associato a spasmi della muscolatura e a meiorpragia vascolare che, sotto la semplice azione delle emozioni, di persistenti abbattimenti dell'umore, di lesioni infettive minime, favorirebbe l'insorgenza di turbe digestive caratterizzate da ipermotilità e iperacidità portando talvolta al formarsi di un'ulcera”*. Così Gosset, che peraltro aggiungeva: *“non bisogna negare l'imprecisione di queste nozioni che, se non chiariscono l'eziologia dell'affezione, possono però orientare la terapia su nuove strade: la sezione dei nervi vaghi potrebbe ridurre l'acidità e la motilità gastrica. Se questo metodo dovesse dimostrarsi efficace verrebbe a confermare l'importanza del fattore vagale nell'eziologia delle lesioni ulcerose”*. Comunque, con la GEA i pazienti ottenevano un discreto beneficio con l'attenuazione e talora con la scomparsa dei dolori. I controlli a distanza di 20 e più anni dall'operazione dimostrarono che il 50% degli operati si considerava definitivamente guarito, un 12,50% dichiarava di aver ottenuto un notevole e duraturo miglioramento (Douglas Clark di Glasgow) mentre tutti gli altri erano incorsi in una recidiva dei disturbi o non ne erano mai stati nemmeno parzialmente liberati. Un inconveniente di non scarso rilievo di tutte le GEA – indipendentemente dalla tecnica praticata - fu quello dell'insorgenza di una ulcera peptica nuova molto dolorosa e facilmente sanguinante a livello proprio della GEA. Questo tipo di ulcera che fu chiamato *“ulcera anastomotica”* fu osservato con maggior frequenza nei soggetti con più alta produzione di succo gastrico acido e in coloro dove alla GEA veniva aggiunta una entero-enteroanastomosi sec. Braun tra ansa digiunale afferente e quella efferente rispetto alla GEA. Questa digiuno-digiunostomia comunemente detta “secondo Braun”, fu in effetti introdotta nella pratica chirurgica da Jaboulay nel 1892. Le GEA eseguite nei primi 30 anni del Novecento erano state ideate ed eseguite per la prima volta

alla fine del XIX secolo: GEA anteriore antecolica di Wölfler nel 1881, GEA retrocolica posteriore di von Hacker nel 1885. Raramente usate furono invece la GEA anteriore retrocolica e la GEA ad Y sec. Roux. Ancora nel 1947 il ricorso alla confezione di una GEA per le ulcere peptiche non complicate non era ancora del tutto abbandonato in favore della resezione gastrica di cui parleremo fra poco. Con i sistemi anestesilogici di allora le resezioni per ulcere alte della piccola curva, di quelle penetranti nel fegato e nel pancreas e di quelle della faccia posteriore della C duodenale che richiedevano operazioni complesse e molto lunghe venivano da molti sostituite con la vecchia GEA la cui mortalità non superava il 3%.

Fu nel corso degli **anni Trenta** che molte scuole europee e americane si volsero in favore della **resezione gastrica**, un intervento già eseguito per primo da Teodoro **Billroth** a Vienna e dalla sua scuola alla fine dell'Ottocento, ma certamente più impegnativo della GEA e gravato ancora da una più alta mortalità. Lo scopo dichiarato (vedi Jean Gosset, 1947) della resezione dei 2/3 o dei ¾ distali dello stomaco nei casi di ulcere ribelli alla cura medica fu quello della " *exeresi simultanea della area ulcerosa e di una larga porzione di stomaco per ridurre la sua acidità*". Si trattò di estendere verso l'alto la zona interessata dalle prime resezioni praticate nel corso degli anni '20 che erano limitate al piloro e all'antro e che erano seguite da risultati insoddisfacenti.

Nella resezione gastrica classica degli **anni '40**, quella che avrebbe tenuto il campo – insieme o meno alla vagotomia (vedi più avanti) – fino agli **anni '70**, le due linee di sezione cadevano in basso sulla prima parte del duodeno al di sotto dell'ulcera se si trattava di ulcera duodenale e, in alto, al passaggio tra terzo medio e terzo superiore dello stomaco. La ricostruzione della continuità del tubo digerente veniva eseguita o anastomizzando le due trancie di sezione tra loro (il che risparmiava il tempo della loro chiusura) previa mobilizzazione della seconda porzione duodenale con la manovra di Kocher e questo rispondeva al **metodo I di Billroth**. Questo tipo di resezione-anastomosi già abbandonato negli anni '40 e '50 del Novecento fu fatto rivivere solo per un breve periodo nel corso degli anni '60 sotto l'impressione sfavorevole data dal reperto di una certa quota di carcinomi del moncone gastrico nei risultati a forte distanza di tempo (oltre 15 anni) dalla esecuzione di una **Billroth 2**. Questa consisteva nella anastomosi tra residuo gastrico e prima ansa digiunale eseguita in varia forma: *oralis totalis* per via transmesocolica sec. **Reichel-Polya** oppure *oralis partialis* sempre per via transmesocolica sec. **Hoffmeister-Finsterer**. Queste due modalità furono le più eseguite anche se alcuni adottarono altre tecniche come quella preferita da Kocher tra parete posteriore del moncone gastrico e trancia del duodeno, oppure quella di Pean tra parte più distale della sezione gastrica e moncone duodenale o ancora la duodenogastrostomia di Finney-von Haberer in cui l'anastomosi era laterolaterale. Molto usata fu la posizione antecolica dell'ansa digiunale anastomizzata al moncone gastrico e utilizzata per la prima volta nel 1885 dallo stesso Billroth che eseguì una anastomosi tra stomaco e digiuno laterolaterale, modificata poi nel 1917 da Balfour in terminolaterale con l'aggiunta di una digiuno-digiunostomia a valle. La particolare anatomia della trancia di sezione gastrica richiese nei primi 20 anni del Novecento un attento perfezionamento delle tecniche di sutura sia per quanto riguardava il tipo dei fili e degli aghi (curvi, retti, montati o a mano) sia per quanto riguardava il modo di eseguire la sutura (semplice alla Lembert, incavigliata a scopo emostatico, introflettente per assicurare un perfetto affrontamento delle pareti sierose, per strati, a tutto spessore, ecc.) e fondamentale fu l'apporto in questo campo dei chirurghi **Cushing e O'Connell**. Anche la strumentazione fu adattata alle esigenze di questa operazione e così fecero la loro comparsa diversi tipi di gastroenterostati e di speciali pinze per il duodeno. Un altro punto molto delicato della tecnica di resezione gastrica e che vide un profluvio di proposte al riguardo fu quello dei metodi di **chiusura del moncone duodenale** nella Billroth 2: affondamento a uno o a due piani sec. Parker-Kerr, metodo a

due piani di Rienhoff, chiusura con tamponamento dell'ulcera duodenale penetrante nella testa del pancreas sec. McNealy oppure con la tecnica di Nissen, metodi di chiusura con borsa di tabacco su trancia aperta e su trancia chiusa con sutura continua; quando – in casi peraltro eccezionali - il moncone duodenale era così rigido, sclerotico e corto da non poter eseguire una sua chiusura per affondamento senza compromettere la pervietà dell'ampolla di Vater, si ricorreva alla duodenostomia temporanea su catetere sec. la tecnica ideata da Priestley e Butler nel 1951. La stragrande maggioranza di queste tecniche fu progressivamente abbandonata negli ultimi 15 anni del Novecento con l'avvento e l'affermarsi delle suturatrici meccaniche (stapler lineari GIA e TIA) che però richiedevano per maggior sicurezza l'aggiunta di suture con filo sottile a punti doppi staccati o addirittura l'affondamento sotto un unico strato di sutura introflettente alla O'Connell per la grande facilità a filtrare tra i punti metallici della bile e del succo pancreatico-duodenale con fastidiose sequele postoperatorie.

Una soluzione tecnica molto usata di fronte ai duodeni "difficili" da parte di tanti chirurghi fino a tutti gli anni '50, e che ora riveste solo il valore di una curiosità storica, fu quella detta della *esclusione dell'ulcera duodenale* consistente nel sezionare il viscere molto a monte dell'ulcera, cioè all'antro gastrico, eseguendo quindi la mucosectomia del tratto di antro rimasto a valle della sezione e quindi nella sua chiusura con doppio o triplice strato di sutura. In questi casi l'ulcera rimaneva *in situ* con il rischio di tutte le possibili complicazioni (emorragie, deiscenza della sutura antrale e peritonite).

Le **complicazioni dell'ulcera peptica** (*emorragia, stenosi, perforazione*) furono trattate con modalità differenti nel corso del secolo man mano che si affinavano nuovi metodi e nuove strumentazioni. L'**emorragia**, quando era massiva, veniva curata con attesa armata (borsa di ghiaccio all'epigastrio, coagulanti, trasfusioni, gastrolusi con acqua a temperatura di ghiaccio fondente) nella speranza di ottenere una emostasi spontanea che consentisse di poter eseguire la cura chirurgica dell'ulcera in condizioni di elezione. Il malato veniva frequentemente controllato con l'esame emocrocitometrico e con la misurazione della pressione arteriosa. Fu calcolato nella prima metà del Novecento che l'emorragia complicava il decorso di un'ulcera peptica, gastrica o duodenale che fosse, in oltre il 5% dei malati e la mortalità assoluta prima del 1950 fu valutata tra il 2,5% e il 10%. Nel 1937 Blakford scrisse che il 96% di tutti i decessi da emorragia da ulcera peptica riguardava pazienti di età superiore ai 45 anni e che il 78% di queste morti avveniva nel corso del primo episodio emorragico. Nel 1931 H.Bockus e J.Bank trovarono che nei loro pazienti ospedalizzati per il primo episodio emorragico da ulcera la mortalità era stata del 14,3%. Questi dati e la constatazione anatomopatologica che le emorragie massive dissanguanti erano quelle provenienti da erosioni di una delle arterie pancreaticoduodenale superiore, gastroduodenale, epatica, gastrica sinistra, gastroepiploica destra o pilorica, spinsero nel 1955 Shackelford e coll. a collocare tra le indicazioni assolute all'intervento chirurgico d'urgenza tutte le emorragie gastroduodenali le cui perdite superavano in quantità tutte le possibilità di sostituzione immediata ma "*a condizione che la presenza e la localizzazione dell'ulcera siano già state radiologicamente accertate*" il che significava escludere da una laparotomia esplorativa la maggior parte di questi poveri malati. Va detto infatti che nella stragrande maggioranza dei pazienti con emorragie gastroduodenali gravi i mezzi di allora, che sono stati appena ricordati, riuscivano quasi sempre a frenare l'emorragia. Non furono pochi però i malati che, trattati in questo modo, riprendevano a sanguinare dopo un po' di tempo e il risanguinamento in questo caso era spesso fatale. Altre volte il chirurgo, di fronte al carattere cataclismatico dell'emorragia, decideva di operare d'urgenza trovandosi costretto a cercare ad addome aperto la fonte delle perdite di sangue attraverso un'ampia gastroduodenotomia. L'emostasi chirurgica avveniva con l'apposizione di uno o due punti doppi di sutura con filo non riassorbibile che legavano l'arteria interessata passando attraverso il cratere ulceroso gastrico o duodenale. Altri si avventuravano in una resezione

gastrica o gastroduodenale d'emblée esponendo tuttavia il malato ad un maggior rischio *quoad vitam*. Grande interesse suscitò la pubblicazione nel 1938 nelle *Mémoires* dell'Académie de Chirurgie francese del chirurgo russo S.Yudin che ideò il tamponamento delle grandi ulcere sanguinanti e penetranti nella testa del pancreas con un lembo di duodeno arrotolato a mo' di "lumaca".

Sarà la diffusione della pratica gastroscopica nella seconda metà degli anni '60 a permettere una diagnosi immediata della sede e della qualità della fonte emorragica (ulcera, neoplasia, varici) e della sua gittata, aggiungendo ben presto metodiche di **emostasi endoscopica** che risolvevano positivamente la maggior parte dei casi in fase acuta. Nel caso in cui le manovre emostatiche per via endoscopica non potevano fermare l'emorragia, fu proprio l'endoscopia a porre indicazione ad un intervento chirurgico immediato rendendo quest'ultimo molto più mirato e di più breve durata.

Purtroppo non furono molti i reparti chirurgici che in Italia negli anni '60 decisero di attrezzarsi autonomamente con un servizio di endoscopia digestiva attivo 24 ore su 24, ma quelli che lo fecero si misero nelle condizioni di salvare molte vite.

In un simposio sulla chirurgia gastrica pubblicato nel mese di Aprile **1992** dall'editore Saunders diversi AA si occuparono di fare il punto sulle complicazioni dell'ulcera peptica a cominciare dall'emorragia. **B.Stabile** ricordò che già nel 1984 aveva avuto occasione di occuparsi di questa complicazione e di aver riscontrato dall'esame della letteratura che nell'80% circa dei casi l'emorragia tende ad arrestarsi spontaneamente, ma anche che l'ulcera che risanguina – quasi sempre sulla parete posteriore del bulbo duodenale - diviene la più frequente causa di morte da ulcera peptica. Scrisse anche che per quanto riguardava la mortalità, questa non era affatto cambiata da quella riportata da J.Devitt e collaboratori nel 1966 e cioè che la morte era dovuta ad inadeguata e ritardata trasfusione di sangue e a cura chirurgica insufficiente. I grandi centri di chirurgia americani avevano confermato nella seconda metà del secolo le accuse di Devitt e avevano dimostrato che un atteggiamento più aggressivo poteva abbassare la mortalità fino a valori inferiori al 6%. Le indicazioni ad una operazione d'emostasi in urgenza elencate da Stabile erano le medesime già elencate da Shackelford nei primi anni '50 ma vi si aggiungeva l'esperienza endoscopica che dagli anni '70 in poi aveva consentito di precisare in urgenza – e quindi con immediatezza – sede, causa e tipo di sanguinamento. Uno studio prospettico sui fattori di rischio pubblicato nel 1990 da F.Branicki e coll. era stato condotto in 433 casi di emorragia da ulcera duodenale e aveva dimostrato che, ancora in pieni anni '80, il 75% dei casi di morte era dovuto a risanguinamento durante la degenza ospedaliera. Premesso che la scelta del tipo di operazione per ulcera sanguinante dipende dall'età e dalle condizioni generali del malato, dalla sede e dal ritmo della perdita ematica, Stabile affermava che non si doveva limitarsi alla legatura per trasfissione del vaso sanguinante ma che era opportuno nella stessa seduta praticare anche la cura chirurgica dell'ulcera con una vagotomia tronculare più drenaggio gastrico o addirittura con una vagotomia selettiva. Con quest'ultimo tipo di trattamento praticato in poco meno di 300 casi Johnston aveva denunciato una mortalità operatoria del 4,8%, una percentuale di risanguinamento del 2,6% e una recidiva di ulcera peptica del 5,6% nell'arco dei primi tre anni dall'intervento.

Nel medesimo simposio del 1992 **C.Sugawa e L.Joseph** trattarono invece gli aspetti tecnici e clinici della cura endoscopica d'urgenza dell'emorragia da ulcera peptica. Il primo dato importante tratto dall'ormai vasta esperienza endoscopica riguardava le previsioni sul comportamento dell'emorragia: quando questa era di carattere "attivo", cioè di tipo arterioso o a nappo, aveva il massimo delle probabilità di continuare a sanguinare o di risanguinare dopo un primo stop comunque ottenuto. Le ulcere con massima probabilità di emorragia inarrestabile o recidivante erano – in base all'esperienza endoscopica – quelle della parete posteriore del duodeno o della parte alta della parete posteriore dello stomaco vicino alla piccola curva mentre le ulcere prepiloriche avevano una prognosi nettamente

migliore. Sugawa e Joseph affermarono che ogni reperto di protuberanza pigmentata (vaso ben riconoscibile oppure coagulo sentinella) costituiva indicazione al trattamento endoscopico, che l'endoscopista non doveva tentare di rimuovere coaguli che coprivano un'area non sanguinante e che, di fronte ad emorragia in atto, doveva essere disponibile e pronta una sala operatoria così da poter passare rapidamente, se necessario, dall'endoscopia alla chirurgia d'urgenza. Le tecniche endoscopiche di emostasi impiegate negli anni '80 e '90 erano: 1°- elettrocoagulazione monopolare (successo nell'80-90% dei casi; rare perforazioni denunciate da alcuni endoscopisti olandesi); 2°- elettrocoagulazione bipolare o multipolare (4 trials nel Regno Unito e 2 di Laine in America - risultati buoni - molte varianti tecniche); 3°- sonda termica con temperatura massima di 250° (applicazioni pulsate - 97% di stop - 18% di risanguinamento); 4°- fotocoagulazione laser Nd:YAG (ancora in fase sperimentale negli anni '90 - risultati contrastanti - attesa di perfezionamento della tecnologia laser - alto pericolo di perforazione e di scatenare emorragie profuse dalla arteria gastroduodenale); 5°- metodi iniettivi (sclerosanti, soluzioni saline ipertoniche con e senza adrenalina, alcool deidrato al 98-99%, polidecanolo all'1% - stop dell'emorragia nel 93% dei casi); 6°- agenti topici (cianoacrilato, avitene; miscele metalliche semifluidi - risultati contraddittori, serie casistiche troppo piccole); 7°-metodi meccanici (applicazione di clips, tamponamenti con palloncino endoduodenale, suture metalliche elicoidali - buoni risultati in Giappone, scarsamente usati in USA e in Europa). Sugawa e Joseph concludevano la loro ampia documentazione indicando una preferenza per la sonda termica e per l'elettrocoagulazione bipolare, riconoscendo però che i metodi iniettivi sono *“sicuri, efficaci ed economici”*.

Per la **stenosi da ulcera peptica** la diagnosi radiologica aveva fornito quadri molto caratteristici già nel corso degli anni '30 a seconda della sede e del tipo di stenosi: le stenosi piloriche date dalle ulcere juxtapiloriche o da quelle duodenali venivano clinicamente distinte in “lievi” (vomiti di quantità non superiore a 500 ml) e “serrate” (nel materiale vomitato presenza di alimenti ingeriti due o tre giorni prima); nelle stenosi lievi e incomplete il segno radiologico tipico era lo spasmo prolungato del piloro e il liquido radioopaco ancora parzialmente presente a 6 ore di distanza dalla sua ingestione; nelle stenosi serrate il liquido di contrasto scendeva flocculando in mezzo al liquido di stasi gastrica dentro ad uno stomaco fortemente dilatato e lo svuotamento non era ancora completo dopo 12 ore. Le stenosi mediogastriche dovute ad una vecchia ulcera della parte media della piccola curva davano un quadro radioscopico e radiografico caratterizzato da due serbatoi intervallati tra loro dal cosiddetto “canale intermedio” con un aspetto simile a clessidra. La radioscopia distingueva queste stenosi di tipo organico, stabile, dalle false stenosi mediogastriche dovute a spasmo come pure da quelle dovute a processo neoplastico nelle quali il tragitto intermedio era sempre lungo, tortuoso, rigido, centrale e costeggiato da immagini lacunari.

Di fronte ad una stenosi pilorica serrata il chirurgo degli **anni '40** si trovava di fronte alla scelta tra una gastroenteroanastomosi, intervento considerato meno impegnativo, e la resezione gastrica da effettuarsi in anestesia locale o rachidea, intervento considerato più impegnativo per il malato ma anche più radicale dal punto di vista curativo. L'orientamento degli ultimi anni '40 e primi anni '50 era a favore della resezione gastrica la cui mortalità nelle migliori casistiche non superava il 3% ma sia per l'uno che per l'altro tipo di operazione chirurgica le previsioni non erano semplici né ottimistiche per quei pazienti nei quali la stenosi serrata datante da troppo tempo aveva provocato danni al peso corporeo, alla protidemia, all'ematosi, alle condizioni generali con compromissione della capacità dei tessuti di cicatrizzare. Di qui una certa quota di mortalità legata a deiscenze di suture viscerali e della parete addominale e una percentuale maggiore di infezioni postoperatorie. Davanti a casi di questo genere fu proposta la digiunostomia d'alimentazione, un'operazione di scarsa portata per il malato ma di grande efficacia

nutritiva perché metteva il paziente in condizione di nutrirsi adeguatamente attraverso lo stoma digiunale fino a riottenere quello *status* e quella situazione protidemica che avrebbe consentito di affrontare con maggior sicurezza una resezione gastrica. Negli **anni '70 e '80** anche per le stenosi si ricorse alla vagotomia tronculare con antrectomia e GEA transmesocolica con buoni risultati. Deludenti furono invece quelli della vagotomia selettiva che fu presto abbandonata. Per le stenosi mediogastriche dove un tempo il chirurgo si trovava di fronte a lesioni di dubbia natura il ricorso alla resezione gastrica subtotale diventava la regola. Nella seconda metà del XX secolo questo tipo di patologia poteva dirsi del tutto scomparso e di esso non ci rimane che il ricordo delle vecchie descrizioni degli anni '30 e '40.

La **perforazione d'ulcera peptica** venne trattata in Italia nella stragrande parte dei casi con la laparotomia d'urgenza e la sutura della perforazione fino alla fine del secolo; tuttavia non mancarono da parte di alcune scuole altre forme di cura come la resezione gastrica d'emblée e la cura conservativa con drenaggio aspirante della cavità gastrica (come suggerito da scuole francesi) tramite sondino nasogastrico a dimora per alcuni giorni. Presso l'Università della California Meridionale e quella del Sud Alabama A.J.Donovan e coll. nel decennio 1969-1979 usarono, in pazienti selezionati perché ad alto rischio, il metodo conservativo dopo aver controllato la fuoriuscita del mezzo di contrasto liquido dalla perforazione in peritoneo libero. Su 109 pazienti così trattati la mortalità complessiva fu del 4,9%. Buoni risultati furono dunque ottenuti indifferentemente anche con questo metodo alternativo alla sutura ma esso può essere oggi ricordato come un fenomeno isolato che non ha avuto continuazione negli anni finali del secolo. A questo suo destino contribuì certamente anche l'esperienza americana di Lane e di molti altri chirurghi americani che riservarono questo metodo conservativo ai perforati in pessime condizioni o in stato di shock settico, con l'ovvia conseguenza di una elevatissima mortalità.

Nei paesi anglosassoni il più comune metodo di trattamento dell'ulcera peptica perforata fino ai primi anni '80 fu - fin da quando Graham e Roscoe lo propagandarono nel 1937 - la chiusura della perforazione con un **patch di omento**.

La mortalità da perforazione d'ulcera peptica nella prima metà del secolo presentò valori elevati in proporzione crescente con il crescere delle ore trascorse tra l'evento e il momento d'inizio della cura chirurgica. Gosset nel 1947 riportava una mortalità non superiore al 10% se l'operazione veniva eseguita entro le prime dieci ore. Dopo 24 ore saliva al 75%: queste sono cifre spaventosamente alte rispetto ai risultati della seconda metà del Novecento. Infatti negli anni 1971 e 1972 l'inglese R.A.Booth e gli americani J.M.McDonough e J.H.Foster denunciarono mortalità comprese tra il 2,9% e il 10%. Solo la casistica di G.L.Jordans e coll, che contemplava però per la maggior parte interventi definitivi come la resezione gastrica o la vagotomia, presentò nel 1974 una mortalità del 21% e a questo alto tasso di mortalità avevano contribuito pazienti anziani portatori di altre importanti malattie. Infatti i pazienti di età inferiore ai 50 anni di età e in buone condizioni fisiche avevano fatto registrare nella stessa casistica meno dell'1% di mortalità. Nel 1970 i chirurghi scozzesi A.J.McEwan e G.F.Milligan avevano segnalato tre fattori responsabili dell'aumento della morbidità e mortalità: 1°- età superiore ai 50 anni 2°- malattie internistiche presenti 3°- attesa superiore alle 6 ore tra momento della perforazione e arrivo sul tavolo operatorio.

Tra le soluzioni chirurgiche con intento definitivo ha avuto un posto importante negli USA e nel Regno Unito la *vagotomia tronculare sottodiaframmatica con piloroplastica allargante* introdotta dal chirurgo di Edimburgo J.W.Dowden ancora nel lontano 1909. Negli USA fu **De Bakey** a propagandola nel **1940** spiegandone tutti i vantaggi (asportazione dell'ulcera perforata, prevenzione della stenosi pilorica, durata dell'operazione di poco superiore a quella della semplice sutura con il patch di omento, sede usuale della ulcera perforata che facilita questa operazione, escissione dei margini

duri e callosi dell'ulcera che impedirebbero una buona cicatrizzazione in caso di semplice sutura). Le grandi casistiche americane e inglesi di questo tipo di intervento (K.Bennett e co ll. 1985; J.Boey e coll.1982; J.Pierandozzi e coll. 75 casi,1960; J.Weinberg 1963) riportarono valori di mortalità compresi tra lo zero e il 15,4%.

Del resto, sempre a proposito delle divergenze che nel Novecento divisero i chirurghi sul tipo di trattamento da riservare alla perforazione di ulcera peptica, vale la pena di ricordare che J.Boey e coll. tra il 1982 e 1988 pubblicarono i loro trials prospettici che mettevano a confronto la chiusura semplice della perforazione con il patch omentale e la sua contemporanea associazione alla vagotomia tronculare: nel primo gruppo la necessità di reintervenire a distanza di tempo per la persistenza di sintomatologia da ulcera peptica fu nettamente più elevata rispetto ai pazienti vagotomizzati. Un altro dato offerto dalle casistiche di Boey (1982), Kirkpatrick (1980) e Nemanich (1970) fu quello delle complicanze settiche secondarie a semplice chiusura della perforazione e di quelle secondarie a operazione definitiva d'emblée: questi AA conclusero che la cura chirurgica definitiva d'emblée poteva essere tranquillamente eseguita ove non fossero trascorse più di 48 ore dalla perforazione. Nella disamina riguardante quale dovesse essere preferito tra i vari tipi di operazione definitiva da eseguire immediatamente J.Jordan nel 1982 dava la preferenza alla chiusura della perforazione con patch omentale associata a vagotomia gastrica prossimale la cui mortalità nella sua casistica non aveva mai superato l'1% degli operati. Negli **anni '80** la maggior parte dei chirurghi del mondo anglosassone appariva orientata in questo stesso senso mentre in Europa continentale si continuava largamente a praticare la sutura semplice della perforazione affidando il paziente alla continuazione di una terapia medica con cimetidina o suoi derivati oppure si preferiva passare, nei casi favorevoli, alla resezione d'emblée.

Nel **1990** comparvero le prime pubblicazioni sulla cura **per via laparoscopica** di ulcere duodenali perforate (P.Mouret e coll.; L.Nathanson e coll.), nel 1991 ci fu la pubblicazione dei casi operati da Katkhouda e nel **1992 A.Cuschieri**, dell'Università di Dundee in Scozia, descrisse i dettagli tecnici della cura laparoscopica dell'ulcera perforata con accorgimenti personali. L'A. riportò nello stesso lavoro la sua esperienza laparoscopica nella vagotomia tronculare e divulsione pilorica con palloncino, nella vagotomia superselettiva sec.Barker (superselettiva anteriore e tronculare posteriore) e nella vagotomia di Taylor che è una selettiva anteriore con una tronculare posteriore seguendo la tecnica laparoscopica messa a punto dalle scuole di Nizza e di Dundee.

Nel 1992 David Feliciano del Grady Memorial Hospital di Atlanta, in un *up-date* su questo argomento, concludeva che *“l'operazione più appropriata in una perforazione d'ulcera duodenale acuta in un paziente privo di qualsiasi controindicazione è la semplice chiusura con un patch omentale”* ma all'epoca in cui Feliciano scriveva queste parole era diventato generale l'impiego di **omeprazolo** nell'immediato postoperatorio dei perforati.

E' venuto ora il momento di ricordare la **storia della vagotomia** nella cura dell'ulcera peptica. Se, come abbiamo appena citato, fu l'inglese Dowden a propugnare nel 1909 la vagotomia nella cura della ulcera peptica perforata assieme alla escissione dell'ulcera, la vagotomia come metodo curativo radicale dell'ulcera duodenale – ma non dell'ulcera peptica dello stomaco! – fu proposta da L.**Dragstedt** nel **1945**. In Italia questo metodo era già stato pensato e proposto da Francesco **Schiassi** e attuato da Gino **Pieri**, un allievo della scuola chirurgica romana di Roberto Alessandri. Una indicazione da tutti accettata fu, fin dal secondo dopoguerra, la cura con vagotomia dell'ulcera gastroduodenale secondaria a resezione gastrica. W.Walters e coll. già nel 1952 riportarono un 66,7% di guarigioni stabilizzate a 5 anni di distanza dalla vagotomia tronculare sopradiaframmatica sec. Dragstedt. Più controversa fu in quel tempo la questione concernente il valore curativo della vagotomia nell'ulcera peptica non complicata. Il comitato dell'Associazione

Americana di gastroenterologia per l'ulcera peptica dichiarò nel 1952 che *“i risultati della sola resezione gastrica parziale furono superiori a quelli ottenuti con la vagotomia completata da GEA e uguali a quelli della resezione gastrica associata a vagotomia salvo per una più alta frequenza in questi ultimi casi dell'acloridria dopo istamina”*. La letteratura del periodo compreso tra 1950 e 1955 registrò molte discussioni e pareri opposti, tanto che nel 1955 Shackelford, nel licenziare la revisione del celebre trattato di tecnica operatoria scritto da Bickam, e già revisionato da Callander, scrisse: *“...altro tempo dovrà trascorrere prima di poter esattamente valutare il ruolo che la vagotomia può avere nella cura dell'ulcera gastroduodenale”*.

L'esperienza mondiale con la **vagotomia trionculare al cardias** fece emergere nel corso degli **anni Settanta** una serie di osservazioni negative (paralisi gastrica, rapido transito intestinale e diarrea, recidiva d'ulcera nel 5-15% dei vagotomizzati, predisposizione alla formazione di calcoli biliari e all'insufficienza pancreatica esocrina) che le varie scuole chirurgiche cercarono di correggere in diversi modi: con l'aggiunta di una antrectomia o di una piloroplastica o di una gastrodigiunostomia e tra queste tre modalità impiegate per correggere il mancato o insufficiente svuotamento gastrico la migliore risultò essere l'antrectomia che – a prezzo di un lievissimo aumento della mortalità - ridusse subito la percentuale delle recidive d'ulcera. Tuttavia tutti riconobbero che la vagotomia tronculare danneggiava seriamente la fisiologia gastrica e nell'anno 1970, indipendentemente, due équipes chirurgiche, quella di E.Amdrup e J.Jensen e quella di D.Johnston e R.Blackett, realizzarono un nuovo tipo di vagotomia già pensato e provato sperimentalmente nel 1957 da C.Griffith e H.Harkins, la *“vagotomia gastrica prossimale”*, che in seguito fu chiamata *“vagotomia delle cellule parietali”* o anche **“vagotomia selettiva”** o *“altamente selettiva”* consistente nella minuziosa interruzione di tutti i rami vagali che innervano la parete anteriore e quella posteriore del fondo e del corpo gastrico con assoluto rispetto dei tronchi nervosi principali e dell'innervazione dell'antro gastrico, del fegato, delle vie biliari, del pancreas e dell'intestino. Era un tipo di intervento molto delicato che richiedeva pazienza e molto più tempo disponibile rispetto alla vagotomia tronculare. La mortalità che, dopo vagotomia tronculare con o senza antrectomia, con o senza derivazione gastrointestinale, aveva oscillato tra lo 0,5% e l'1,8% si ridusse a valori compresi tra lo 0,1 e lo 0,3%. Gli effetti collaterali più sopraricordati che andavano dall'11% al 29% dei vagotomizzati scesero al 3-8%.

Nel 1992 B.E.Stabile, della Medical School di San Diego di California, raccolse tutta la letteratura che riguardava 20 anni di esperienza con la vagotomia selettiva o gastrica prossimale su oltre 10.000 pazienti controllati da 6 mesi a 18 anni dopo l'intervento: la mortalità operatoria fu dello 0,2%, le recidive ulcerose del 9,1% e i risultati definiti eccellenti o buoni dell'86,4%.

Per evitare che con la vagotomia selettiva si provocasse un'eccessiva devascularizzazione del corpo e del fondo gastrico (le interruzioni delle fibre vagali periferiche coinvolgevano infatti la interruzione dei vasi di accompagnamento delle stesse), nel 1985, T.V.Taylor e coll. proposero la **sieromiotomia** solo della parete anteriore del corpo e fondo gastrico associandovi la sezione del vago posteriore al cardias. Questa operazione che nel 1992 era già stata praticata più di 600 volte dette gli stessi risultati della vagotomia selettiva sopracitati. Infine nel **1991 N. Katkhouda** pubblicò i primi 10 pazienti trattati con vagotomia selettiva **per via laparoscopica** usando 5 trequarti e impiegando tempi compresi tra 60 e 110 minuti; non vi furono sequele e tutti gli operati furono dimessi dopo 5 giorni ritornando al lavoro entro i primi 10 giorni. La riduzione dell'acidità gastrica fu pari al 79%.

Negli ultimi anni del Novecento anche la resezione gastrica cominciò ad essere eseguita per via laparoscopica.

Anche se le resezioni gastriche e le vagotomie di diverso tipo continuarono ad essere praticate per curare la malattia ulcerosa fino alla fine del secolo, il loro numero subì una progressiva riduzione dovuta ai grandi successi della terapia medica: tra i centri chirurgici più attivi nel mantenere attiva la terapia chirurgica dell'ulcera peptica devono essere ricordati quello scozzese di Dundee e quelli francesi di Nizza e di Parigi.

La **terapia medica** dell'ulcera gastrica in fase attiva era basata nel **1995** sulla sospensione immediata di aspirina e dei FANS, nella somministrazione di antiistaminici H₂ (ranitidina 300 mg/die o famotidina 40 mg/die) per 6-8 settimane, alternativamente alla somministrazione di inibitori della pompa protonica (omeprazolo 20 mg/die o pantoprazolo 30 mg/die per 8 settimane) e sucralfato 4g/die. Se il prelievo gastroscopico dimostrava presenza di ***Helicobacter pilori*** si associava la **cura antibiotica** fino ad eradicazione controllata. Nelle persone anziane, in quelle che avevano sofferto di precedenti emorragici o perforativi o di recidive ulcerose veniva consigliata una terapia di mantenimento anche dopo aver accertato endoscopicamente l'avvenuta guarigione dell'ulcera. Ad ogni controllo endoscopico, compreso l'ultimo, che di solito veniva fissato per la 12^o settimana di cura, era consigliato di eseguire biopsie con ricerca dell'*Helicobacter pilori*.

Per l'ulcera duodenale il trattamento seguiva uno schema che ben poco si differenziava da quello dell'ulcera gastrica salvo per l'accentuata importanza che veniva attribuita all'eradicazione del *Helicobacter pilori* dove alla ranitidina venivano associati amoxicillina, metronidazolo e subcitratato colloidale di bismuto o sucralfato. Fu ampiamente dimostrato che la eradicazione (valutata ad un mese di distanza dalla fine della cura) aveva permesso di far cicatrizzare ulcere ribelli a tutti gli altri trattamenti conservativi e questo aveva indotto gli internisti a tentare sempre la eradicazione prima di ricorrere all'intervento chirurgico. Le ricadute dopo eradicazione, di per sé rare, furono giudicate sempre come legate a una reinfezione.

Una questione che ha dato origine a pareri contrari e a lunghe e accese discussioni fu nella prima metà del Novecento quella della ***Degenerazione cancerosa dell'ulcera gastrica***: negli anni Quaranta gli anatomopatologi e i chirurghi si trovarono divisi in due schiere opposte, quelli che sostenevano questa possibilità e che arrivarono a definire questa degenerazione una delle quattro complicanze classiche dell'ulcera dello stomaco e quelli che la negavano ostinatamente sostenendo che le ulcere gastriche non subivano mai una degenerazione in senso *mali moris* e che ogni volta che un'ulcera gastrica rivelava all'esame istologico il suo carattere carcinomatoso si trattava in effetti di un cancro ulceriforme o ulcerato. Gosset, che credeva nella degenerazione maligna di un'ulcera gastrica, concludeva che, poiché ad occhio nudo non era sempre possibile per il chirurgo distinguere la vera natura di un'ulcera gastrica e poiché "*l'ulcera degenerata non è affatto un mito*", la resezione doveva essere la più generosa possibile e rimpiazzare per sempre la vecchia gastroenterostomia.

In realtà la prima descrizione della trasformazione cancerosa dell'ulcera gastrica fu fatta dal Rokitsansky nel 1842. In seguito Wilson e Mac Carty ritennero nel 1909, in base a loro ricerche istologiche, che il 70% dei carcinomi gastrici avesse origine da un'ulcera semplice. Il celebre chirurgo Balfour seguì per molti anni, fino alla morte, 1280 suoi operati di gastroenteroanastomosi per ulcera dello stomaco e trovò che solo nel 6% di essi si era sviluppato un cancro gastrico che li aveva portati all'*exitus*. Nei primi anni sessanta De Blasi e Rubino scrivevano "*è opinione generale oggi che la percentuale di ulcere che si trasformano in cancro non superi il 5-6% e gli stessi studiosi che la pensavano diversamente hanno modificato la loro opinione, per es. Mac Carty è passato dal 71% del 1909 al 9,7% del 1928.*"

Nel 1964 anche Malcom Veidenheimer della Lahey Clinic nel trattare i "Problemi nel trattamento dell'ulcera gastrica" continuò ad ammettere la trasformazione maligna

dell'ulcera in circa il 5% dei casi e affermò che *“è ben noto che le ulcere benigne e maligne dello stomaco non possono essere assolutamente distinte con l'osservazione gastroscopica che è valida soltanto per accertare la completa guarigione dell'ulcera dopo la cura”*.

Dunque non si rinunciava ancora ad ammettere che l'ulcera gastrica – l'*ulcus simplex* di definizione classica – nasceva sempre come una lesione benigna della parete gastrica di cui si erano individuate molte cause e che non andava incontro a cancerizzazione, rimanendo benigna qualsiasi fosse la sua ulteriore evoluzione (guarigione, perforazione, emorragia, stenosi da iperproduzione di tessuto connettivo scleroso denso). Nel 1976 Andrew Ippoliti e John Walsh, della Veter. Adm. Wadsworth Hospital Center di Los Angeles, in un loro studio sulle nuove teorie sulla genesi dell'ulcera peptica, scrissero che *“l'ulcera gastrica può formarsi quando i meccanismi di difesa locale, come secrezione mucosa, rinnovo cellulare e vascolarizzazione, sono poco efficienti. Il reflusso di bile nello stomaco e la retrodiffusione locale di idrogenioni possono essere le condizioni necessarie per dare inizio ad una gastrite e quindi predisporre la mucosa gastrica all'ulcera peptica”*. Dagli anni Settanta in poi non si trovano più notizie sulla trasformazione cancerosa di un'ulcera dello stomaco nella letteratura medica che riguarda quest'ultima se non sotto espressioni piuttosto ambigue: Jean-Claude **Ramnaud** e coll. ad es. scrivevano nel 1995 che *“l'ulcera-cancro è una entità anatomica per la quale il concetto di degenerazione è controverso”* e che *“in circa il 4% dei casi il tumore gastrico può essere associato ad un'ulcera cronica e la sua scoperta viene fatta solo sulle biopsie multiple o sul pezzo di gastrectomia. La prognosi è favorevole quando il tumore è superficiale”*. Comunque alla fine del Novecento nessun chirurgo ammetteva più la possibilità della degenerazione maligna di un'ulcera gastrica.

Cancro dello stomaco

Nel Novecento questa malattia fu oggetto di molti studi e il numero delle pubblicazioni che l'hanno riguardata nel corso del XX secolo può ben dirsi incalcolabile. Alcuni dati epidemiologici possono essere considerati come definitivamente acquisiti e sono: l'età di comparsa che preferisce i 65-75 anni d'età, la predisposizione prevalente (2:1) del sesso maschile, l'insorgenza favorita in una ristretta porzione di casi dalla gastrite atrofica, dalla degenerazione di polipi adenomatosi, dalle rare forme di anemia di Biermer e della gastrite ipertrofica di Menètrier, un'incidenza del 2-5% nelle persone affette da anemia megaloblastica, la maggior frequenza nelle persone di gruppo sanguigno A, la forte differenza di frequenza nelle diverse popolazioni (10 decessi ogni 100.000 abitanti negli USA, 30 nel Regno Unito, 36,6 in Germania, 28,6 in Francia, 45 in Giappone) e, infine, le notevoli variazioni che queste cifre hanno subito nel volgere dei decenni con progressiva ma ben evidente riduzione del numero totale di nuovi casi per anno dapprima negli USA e successivamente in Europa Occidentale. In Germania Federale le percentuali d'incidenza del cancro gastrico dal 1955 al 1975 erano scese dal 54,3% al 36,6% nei maschi e dal 44,8% al 25,7% nelle femmine.

La classificazione anatomico-clinica internazionale **TNM** (tumore-linfonodi-metastasi) ha fatto distinguere anzitutto l'**early gastric cancer** (T1 con neoplasia solo nella tonaca mucosa), il T2 (infiltrazione della tonaca sottomucosa), il T3 (infiltrazione iniziale della tonaca muscolare), il T4 (invasione di tutto lo strato muscolare) e il T5 (affioramento in sierosa). Nel 1971 T. Sakita e coll. suddivisero l'*early gastric cancer* in due classi che corrispondevano a: 1°- tre tipi diversi di *early g.c.* 2°- *early g.c.* combinato nel quale sono presenti tutti e tre i tipi. Precoci risultarono in tutti gli studi effettuati in ogni parte del mondo la metastatizzazione linfonodale e la diffusione in altri visceri.

La prognosi estremamente severa dovuta a queste caratteristiche del cancro gastrico spinse i chirurghi ad adottare già nel corso degli **anni '40** un atteggiamento ben più aggressivo di

quello fino allora tenuto dall'inizio del secolo. Nel primo ventennio del Novecento la gastro-enterostomia “si imponeva nei casi di stenosi cancerigna del piloro, quando la pilorectomia era impossibile. La prognosi operativa era abbastanza grave (25% di mortalità sec. Hartmann) per lo stato cachettico in cui si trovavano i malati. Le sopravvivenze lunghe erano eccezionali, ma il miglioramento dei malati liberati dai vomiti e dai dolori era notevole...La gastroenterostomia posteriore di von Hacker sarà da preferirsi, quando si potrà farla, alla gastroenterostomia anteriore di Wölfler”. La gastrectomia totale serve per le lesioni diffuse. Essa ha dato dei successi operatori, ma abbastanza raramente è praticabile. La gastrectomia parziale talora consisterà nella resezione della parte mediana dello stomaco (cancro mediogastrico), ma nella maggioranza dei casi consisterà in una pilorectomia. In tal caso la sezione dal lato dello stomaco dovrà essere a 4 o 5 cm dal limite apparente del tumore e a 3-4 cm dal lato del duodeno sotto il piloro. Bisognerà resecare la piccola curvatura per la maggiore estensione possibile e sempre al di là del punto in cui vi penetrano i vasi coronari. I tre gruppi di gangli regionali (coronari, sottopilorici e retropilorici) si dovranno estirpare insieme al tumore come proposto da Hartmann e da Cuneò (**A.Gosset**, nel Compendio di Patologia Chirurgica-traduzione di Dominici-**1920**). Le casistiche pubblicate fino al 1939 mostravano che circa il 50% dei pazienti presentavano al momento della diagnosi un cancro inoperabile: su 100 malati giudicati operabili, 35 avevano subito solo una laparotomia esplorativa oppure una operazione palliativa (gastroenteroanastomosi), 65 erano stati sottoposti a resezione gastrica più o meno allargata con il 13% di mortalità e solo il 14% di guarigioni definitive. Gli inoperabili di queste casistiche erano quelli che già alla visita e agli esami radiologici risultavano in fase di metastatizzazione evidente (metastasi sopraclaveari o sintomo di Troisier, metastasi ovariche bilaterali e pelvi congelata o tumori detti di Krukenberg, metastasi ombelicali, polmonari, ecc.). Tutti gli altri venivano trattati con la laparotomia esplorativa con la speranza di poter eseguire una cura chirurgica utile nel senso della guarigione o almeno di una palliazione, perché “né la clinica né la radiologia possono dare indicazioni attendibili sull'estensione del tumore, la sua diffusione all'interno dell'addome e le possibilità d'exeresi” (**Jean Gosset, 1947**). La cosiddetta “**gastrectomia larga o allargata**” degli **anni '40** contemplava per i cancri del terzo inferiore e terzo medio dello stomaco la resezione subtotale di questo sezionandolo a 2-3 cm al di sopra del limite apparente della neoplasia e, al disotto, sezionando il duodeno a 2-3 cm dal piloro. La resezione veniva condotta in modo da asportare *en bloc* con la neoplasia anche le catene linfoghiandolari retropilorica, coronaria stomacica, gastroepiploica e il grande epiploon. Solo per il cancro del cardias veniva eseguita la gastrectomia totale con ricostruzione della continuità digestiva mediante un'anastomosi esofago-digiunale. La mortalità operatoria media delle maggiori casistiche oscillava tra il 10% e il 20%. I risultati a distanza di tempo erano deludenti: il 70% dei pazienti trattati con intendimenti curativi moriva di recidiva a livello dei linfonodi juxtaaortici e retropancreatici, del fegato, dei polmoni e della cavità peritoneale. Questi esiti furono interpretati già prima del 1950 come espressioni dell'evoluzione naturale di una insemminazione della neoplasia preoperatoria e non valutabile con i mezzi d'allora nel corso dell'operazione demolitiva per cancro.

Nel **1965 Lauren** distinse due tipi anatomico-istologici di carcinomi gastrici: il tipo detto “**intestinale**” e il tipo detto “**diffuso**”. Era una distinzione macro- e microscopica di altissimo interesse prognostico e terapeutico che finì per influenzare la scelta del tipo di cura, perché le numerose osservazioni che corredarono questo studio dimostravano senza ombra di dubbio il carattere nettamente maligno del tipo diffuso a differenza del carattere moderatamente maligno di quello intestinale. Successivamente (**1977**) **Ming**, basandosi sulla relativa frequenza di forme miste intestinali e diffuse modificò la suddivisione di Lauren in quella di tipo “**espansivo**” (prognosticamente migliore) e di tipo “**infiltrativo**”

(prognosticamente peggiore). Gli esami radiologici - che già dagli anni venti e trenta avevano sfruttato con il pasto opaco l'aspetto significativo delle immagini dette "lacunari" caratteristiche dei tumori dello stomaco - e soprattutto gli esami endoscopici consentirono di ottenere a partire dagli anni '70 nella maggior parte dei casi buoni criteri per scegliere il tipo migliore di terapia chirurgica da adottare.

Le tecniche chirurgiche disponibili ed effettuate largamente negli anni '50 erano state le reseziezioni gastriche subtotali con ricostruzione sec. Billroth 1 o sec. Billroth 2, meno frequentemente la gastrectomia totale e ancora meno spesso la stessa con splenectomia *en bloc* e linfadenectomia secondo la descrizione pubblicata da **Graham** per la prima volta nell'anno 1940 e fatta rivivere da Longmire nel 1947 ma modificata nel 1949 da Orr e nel 1950 da Larrey.

Nel 1958 S.F.Marshall pubblicò i risultati a lungo termine di queste operazioni e delle diverse modalità di operazioni palliative eseguite presso la Lahey Clinic di Boston in 1708 pazienti fino al 1954 e nel 1967 M.C. Veidenheimer e C. Hume Logan pubblicarono i risultati a lungo termine di queste diverse operazioni praticate in 687 pazienti presso la stessa clinica nel decennio 1948-1958. Il confronto tra i risultati delle due casistiche non fu molto incoraggiante perché la sopravvivenza a 10 anni di distanza rimaneva ferma in ambedue al 9,5% e quella a 5 anni di distanza al 13,7%. Erano invece diminuiti i dati della mortalità operatoria mentre la percentuale di operabilità era rimasta fissa al 37%. In considerazione del basso indice di sopravvivenza e del più elevato tasso di mortalità clinica l'indirizzo terapeutico consolidatosi presso la Lahey Clinic negli anni '50 si spostò in favore della gastrectomia subtotale con omentectomia, svuotamento linfoghiandolare e splenectomia.

I cambiamenti di strategia chirurgica avvenuti nel corso degli **anni '70** furono messi in evidenza nel **1981** dal chirurgo tedesco **Siewert** che descrisse la scelta del tipo di operazione a seconda del tipo di lesione e del suo stadio nei seguenti termini: 1°- per le lesioni sicuramente precancerose (tumori polipoidi di 2-3 cm di diametro e lesioni "borderline" della mucosa antrale) asportazione con ansa diatermica e controlli successivi oppure, nei casi più preoccupanti, una semplice resezione classica sec. Billroth 1. 2°- per l'*early gastric cancer* resezione gastrica subtotale quando la lesione aveva sede nell'antro e gastrectomia totale per quelle del terzo prossimale e del tipo diffuso di Lauren; 3°- per i tumori cosiddetti "*curabili*" (T1 e T2 . N1 –Mo) resezione gastrica subtotale solo per i tumori di tipo intestinale di Lauren a sede antrale e parte bassa del corpo gastrico e linfadenectomia dell'arteria gastrica sinistra; per tutte le altre forme gastrectomia totale. 4°- per i tumori considerati "*resecabili*" (T1-2-3 – N1 e N2 – Mo), fatta eccezione per i pazienti ultraottantenni, gastrectomia totale semplice per le neoplasie a sede antrale, ma gastrectomia allargata a splenectomia e linfadenectomia totale per le neoplasie di corpo e fondo; 5°- per i tumori suscettibili di "*resezione palliativa*" (T3 o T4 – N3 –M1) resezione subtotale asportando anche eventualmente un tratto di organo contiguo interessato dal cancro; eventualmente anche gastrectomia totale. L'importante era ottenere margini di sezione liberi da tumore.

La letteratura degli anni '80 dava una resecabilità teorica del 70% ma una resecabilità con intenti radicali limitata al 40-50%. Nel 30% dei casi l'operazione corrispondeva ad una laparotomia esplorativa e in un 10-20% ad un'operazione palliativa. Il 10% delle osservazioni cliniche era già definito inoperabile a tutti gli effetti alla fine dell'iter diagnostico. La mortalità dopo gastrectomia totale degli anni '70 e '80 si aggirava tra il 10 e il 30%. La sopravvivenza a 5 anni su 5848 operati di gastrectomia totale nel decennio 1960-1970 fu del 15,5%, quella su 11270 operati del decennio 1970-1980 fu del 15,3%. Risultati migliori furono quelli degli operati per forme "intestinali" di Lauren con sede antrale.

Più sopra abbiamo citato ***l'early gastric cancer***: è venuto il momento di ripercorrere la sua storia. Nel 1962 la Società Giapponese di Endoscopia Gastroenterologica, in seguito a migliaia di osservazioni gastroscopiche su certe forme precoci di cancro gastrico, elaborò il concetto di "*early gastric cancer*" dove l'aggettivo *early* (precoce) non aveva alcun riferimento alle dimensioni del tumore né alla durata dei sintomi. Per *early cancer* si intendeva solo un adenocarcinoma gastrico limitato alla mucosa e alla sottomucosa indifferentemente dall'invasione o meno dei linfonodi satelliti.

Questo *early cancer* ha una sua storia che inizia nel lontano 1883 quando il patologo di Lipsia G.Hauser descrisse per primo una invasione di cellule epiteliali nella mucosa gastrica fino alla *muscularis mucosae* in un materiale prelevato da una neoplasia gastrica. Nel 1908, sempre a Lipsia, il patologo M.Versè fu il primo a mettere in luce il rapporto tra adenomi o polipi gastrici e cancro dello stomaco fondando il suo studio su 12 casi trovati in 10.000 autopsie. Nel 1914 L.Wilson e I.McDowell descrissero per la prima volta piccoli carcinomi alla periferia di ulcere dello stomaco specificando che alcuni di questi cancri non oltrepassavano e non penetravano nella *muscularis mucosae*. Nel 1938 J.Saeki pubblicò a Tokio in lingua tedesca il rapporto da lui studiato in Giappone fra lunga sopravvivenza e tumori gastrici superficiali (91% di sopravvivenza a 5 anni in 202 operati di gastrectomia per quello che in seguito verrà chiamato *early gastric cancer*). Nel 1942 A.P.Stout pubblicò 15 casi operati di gastrectomia per "*superficial spreading carcinoma*" (cancro a diffusione superficiale). Nel 1948 i francesi R.A.Gutmann e coll. pubblicarono a Parigi una monografia dal titolo "*Il cancro iniziale dello stomaco*" e vi scrissero che "*trattasi di cancri istologicamente classici, poco evoluti in profondità attraverso il chorion e ancora appena estesi in superficie e che non hanno oltrepassato un'area di circa un centimetro*" Finalmente nel 1962 G.Friesen e coll. della Mayo Clinic di Rochester pubblicarono la prima casistica americana che consisteva di 65 pazienti portatori di *early gastric cancer* osservati nell'arco di 25 anni: solo il 7,7% di questi malati aveva presentato metastasi nei linfonodi perigastrici e la sopravvivenza a 10 anni dalla cura chirurgica era stata del 75%.

Poiché il cancro dello stomaco rappresentava la neoplasia maligna più frequente in Giappone la Società giapponese di endoscopia gastroenterologica diede il via ad un programma di screening endoscopico gastrico nazionale. Questo screening rivelò che l'*early gastric cancer* raggiungeva il 36% di tutti i cancri dello stomaco. Parallelamente a questa scoperta si verificò un balzo dal 10 al 26% delle sopravvivenze a 5 anni di tutte le forme di cancro resestate e complessivamente considerate.

Nel 1981 P.Green e coll. confrontarono due gruppi di malati di cancro gastrico, 28 *early g.c.* e 130 cancri avanzati e constatarono che la durata media dell'anamnesi era di tre anni nel primo gruppo e di sei anni nel secondo. Questi dati rinforzarono l'ipotesi emessa da Lambling e Guillard nel 1948, sec. la quale esisterebbero due tipi di cancro gastrico, uno ad evoluzione lenta e l'altro a evoluzione rapida. Bastava questa verità a spiegare il notevolissimo divario di risultati e di prognosi nei due casi, togliendo, sec. Bernier, ogni valore all'urgenza diagnostica nelle forme di cancro avanzato. Lo stesso A. infatti, in base a considerazioni di natura clinica, anatomopatologica ed evolutiva affermò nel 1987 che "*al momento della diagnosi il cancro dello stomaco ha già oltrepassato i 2/3 o i ¾ della sua vita e che quindi "non si può parlare mai di diagnosi precoce" nemmeno nel caso dell'early g.c. che egli preferiva chiamare "carcinoma gastrico superficiale"*.

Nel 1992 D.R.Farley e J.H.Donohue della Mayo Clinic riesaminarono la situazione generale delle cure praticate ai casi di *early g.c.* e i loro risultati, e conclusero che, nonostante la grande varietà di operazioni chirurgiche adottate in tutto il mondo per queste forme di cancro in stadio precoce – che andavano dalla gastrectomia totale alla escissione locale allargata con tutte le forme intermedie di resezione e svuotamento linfonodale – la sopravvivenza media a 5 anni di distanza dall'operazione oscillava nelle varie casistiche

dal 60% al 100%. I confronti furono fatti tra 235 casi operati in USA e in Canada, 505 in Europa e 3041 in Giappone. Le recidive osservate nelle tre aree furono rispettivamente del 6,8%, del 9,9% e del 2,7%. La mortalità operatoria fu rispettivamente del 2-7%, del 2% e dello 0,4-8%. In tutti i gruppi le percentuali di mortalità più elevate riguardavano gli esiti di gastrectomia totale. Nei pazienti che non erano in condizioni tali da poter affrontare un trattamento chirurgico, in Giappone, fu praticata anche la chirurgia endoscopica e l'uso dell'esame ecografico per via endoscopica rivelò che i migliori candidati per questo tipo di cura erano i pazienti con piccoli tumori sporgenti nel lume gastrico e limitati alla tonaca mucosa.

Nel 1989 T.Okamura suggerì di usare la chemioterapia adjuvante per l'*early g.c.* ma alla fine del secolo non esistevano ancora dati che comprovassero l'utilità dei vari tipi di cura adjuvante *èer l'early g.c.*

Nel 1992 James Smith e Murray Brannan del Memorial Sloan-Kettering Cancer Center di New York confermarono che, mentre l'*early g.c.* senza metastasi linfoghiandolari presentava un'ottima curabilità e una altrettanto ottima prognosi *quoad vitam*, il cancro avanzato dello stomaco continuava ad essere gravato da una prognosi pessima e da basse percentuali di sopravvivenza a distanza dall'intervento di resezione del tumore. A questo riguardo i notevoli miglioramenti diagnostici (endoscopia, ultrasuonografia endogastrica, TAC, grading citologico) avevano consentito una stadiazione più esatta del tumore e della sua propagazione ma i mezzi chirurgici erano rimasti quelli introdotti e affinati nel corso del Novecento con l'ultima aggiunta (anni '90) della chirurgia laparoscopica, del bisturi ad ultrasuoni e di altri minori accorgimenti tecnici che permettevano una più completa dissezione linfonodale.

Due novità venute alla luce nel corso degli anni '80 e '90 furono la tendenza del cancro gastrico a diventare, con il passare degli anni, sempre più frequente in sedi alte come dimostrato da ricerche condotte presso la Duke University degli USA e presso il Michigan Medical Center, e quella della distinzione fra cancro gastrico di tipo detto "epidemico" a sede antrale, così chiamato perché correlato alla dieta usuale del paziente, e cancro gastrico di tipo "endemico" a sede alta, una distinzione questa che si rifletteva sui valori di morbilità e mortalità più elevati per i tumori a sede alta rispetto a quelli antrali (P.Correa, 1985).

Quanto alla scelta del tipo di operazione da adottare nelle forme alte e in quelle del cardias le opinioni espresse in letteratura nei primi anni '90 erano le più varie andando da un atteggiamento rinunciatario che persisteva fin dal 1976-77 basato sulla convinzione che "*la prognosi del cancro del cardias è così cattiva che qualsiasi trattamento chirurgico è soltanto palliativo, per cui si dovrebbe eseguire la gastrectomia subtotale più semplice e meno estesa possibile*" (B.Cady e coll.) a diverse opinioni nettamente contrarie e chiaramente più radicali. Presso lo Sloan Kettering Cancer Center di N.Y. negli anni '90 si dava la preferenza alla resezione gastrica prossimale con splenectomia e linfadenectomia salvando i vasi gastroepiploici di destra. Per le neoplasie mediogastriche invece, tra i tre interventi disponibili – gastrectomia alta radicale subtotale, gastrectomia totale radicale e gastrectomia totale con splenectomia e pancreatectomia *en bloc* – la preferenza dei chirurghi nordamericani ed europei andava alla seconda opzione, essendo stato dimostrato che fra detta opzione e la terza possibilità molto più grave e mutilante, l'indice di sopravvivenza a 5 anni era simile.

Per le neoplasie dell'antro gastrico era generale il consenso sulla resezione gastrica distale con linfadenectomia e trancia di sezione gastrica a 5 cm a monte del limite alto della neoplasia, asportando quasi tutta la piccola curva ("**resezione a scalino**").

Una vicenda storica interessante fu quella che riguarda la linfadenectomia perigastrica radicale.

La conoscenza anatomica del **sistema linfatico dello stomaco** risale all'anno 1907 allorché fu descritto per la prima volta compiutamente dagli anatomici inglesi J.K.Jameson e J.F.Dobson. La prima operazione di linfadenectomia basata su quella descrizione anatomica fu eseguita e descritta per la prima volta nel 1951 da G.McNeer e G.Pack dello Sloan Kettering Cancer Center di N.Y. ma abbiamo riportato più sopra come già nel secondo decennio del Novecento la resezione gastrica per cancro veniva completata con la linfadenectomia di tre catene linfonodali su proposta di Hartmann e di Cuneò. Nel 1953 D.A.Sunderland e coll. dello stesso Sloan Kettering Center descrissero pure per primi la diffusione del cancro gastrico alle varie stazioni linfonodali a seconda della sede del tumore primitivo e fu quindi nel **1953** che la dissezione radicale dei linfonodi gastrici cominciò a far parte di routine delle operazioni di gastrectomia per tumore. Nel 1969 V.A.Gilbertsen pubblicò sulla rivista *Cancer* i risultati dei suoi sforzi per una chirurgia più radicale ed estesa dell'adenocarcinoma gastrico in 1983 pazienti, rendendo note alte percentuali di morbidità e mortalità e una netta riduzione della sopravvivenza a 5 anni di distanza dall'intervento. Ne seguì un abbandono quasi generale della linfadenectomia estesa da parte dei chirurghi americani, mentre in diversi paesi europei e in Giappone essa diventava lo standard curativo. **Alla fine degli anni '90** si impose la tecnica di rimozione *en bloc* del tumore e della rete linfatica di drenaggio relativa alla sede della neoplasia come descritto da **Sunderland** e in base alla tabella dei linfonodi regionali gastrici predisposta dalla Società di Ricerca Giapponese per il cancro dello stomaco pubblicata nel 1981.

Una tabella prospettica pubblicata nel 1992 da Smith e Brannan su 100 pazienti, dei quali solo 5 con *early g.c.*, prevedeva che dei rimanenti 95 solo 30 sarebbero risultati resecabili con intento curativo e per loro la sopravvivenza a 5 anni di distanza dall'operazione era prevista rispettivamente del 90% nei casi T1No, del 58% nei T2No, del 50% nei T3No, solo del 20% nei molti casi N1 e del 10% negli N2. Sempre nel corso degli anni '90 Kevin E. Berns e altri chirurghi della Mayo Clinic si chiedevano ancora quale fosse il vero valore della linfadenectomia estesa di fronte alle macroscopiche differenze dei risultati clinici tra le casistiche occidentali e quelle giapponesi. Esaminando queste forti discrepanze apparentemente incomprensibili, concludevano che *"...l'incidenza, la stadiazione e forse la biologia del cancro gastrico in Giappone e in Occidente finiscono per confondere le valutazioni della linfadenectomia radicale e perciò patologi e chirurghi devono acquisire familiarità con il sistema di stadiazione internazionale unificato per il cr gastrico, prestando massima attenzione all'identificazione accurata e all'esame rigoroso dei gruppi linfoghiandolari regionali perigastrici ed extraperigastrici. Solo su queste basi potranno essere portati a termine dei trials prospettici basati sullo stesso sistema di stadiazione"*.

Nei primi anni del XXI secolo continuarono a essere pubblicati resoconti e studi epidemiologici che si riferivano a quanto avvenuto negli ultimi anni o decenni del Novecento.

Tra i lavori di epidemiologia si segnala quello degli autori spagnoli X.Puig e coll. che studiarono la mortalità complessiva per cancro dello stomaco e le sue tendenze evolutive in Catalogna nel periodo 1986-2000: la mortalità risultò diminuita dal 1986 all'anno 2000 del 3,13% nei maschi e del 3,91% nelle femmine specialmente nelle zone abitate lungo o vicino alla costa mediterranea piuttosto che nell'interno dove pure si era comunque verificata una netta diminuzione. Questo risultato fu attribuito dagli AA al miglioramento delle abitudini alimentari.

A loro volta S.Sipet e coll., pur ricordando che nell'anno 2000 il cancro gastrico era ancora la terza neoplasia più frequente del pianeta (9% di tutti tumori maligni) e che ogni anno si manifestava con 876.000 nuovi casi accertati, affermarono che si era verificata una riduzione di frequenza tra il 1980 e il 2000, dovuta alle modificazioni delle abitudini alimentari con un accentuato ricorso a frutta e verdura fresche rispetto al passato quando si ricorreva di più a frutta e verdura conservate. Nel ripetere l'elenco dei fattori di rischio per

cancro gastrico già noti da tempo gli AA aggiungevano l'infezione da *Helicobacter pylori* ormai da tutti accettata come possibile fattore patogenetico. Tra i consigli dietetici che avrebbero favorito la riduzione del numero di nuovi casi di cancro gastrico gli AA citavano anche l'impiego molto ridotto del sale da cucina.

In Giappone C.Kunisaki e collaboratori nel 2006 pubblicarono una indagine pluriospedaliera di confronto tra le gastrectomie tipo D2 (con linfadenectomia solo regionale) e quelle D3 (con linfadenectomia paraaortica) su 580 casi di cancro gastrico avanzato operati tra il 1992 e l'anno 2000. Si trattava di 450 gastrectomie D2 e 150 D3. I dati di sopravvivenza non rivelarono differenze sostanziali fatta eccezione per le neoplasie il cui diametro era compreso tra i 50 e i 100 mm e che avevano un pN2 avanzato. In questi ultimi casi la D3 aveva dato risultati migliori.

Gli stessi AA studiarono i risultati dello screening di massa effettuato in Giappone tra aprile 1992 e marzo 2000 su 1050 pazienti diagnosticati solo con il pasto opaco baritato. L'obiettivo era appunto quello di valutare l'attendibilità di questo mezzo diagnostico nello **screening di massa**. I risultati mostrarono una tendenza a diagnosticare soggetti più giovani di sesso maschile con neoplasie mediogastriche di tipo macroscopicamente "superficiale", di diametro ridotto e in stadio più precoce. Questi pazienti mostrarono di avere meno metastasi linfonodali e in essi furono molto più frequenti le gastrectomie eseguite con intenti e prospettive curative. Tra i pazienti nei quali la resezione ebbe intenti curativi il tumore era di diametro più piccolo degli altri e anche il numero delle metastasi linfonodali era inferiore sia nei tumori early che avanzati. L'analisi multivariata rivelò che lo screening di massa era un fattore prognostico indipendente insieme al grado di profondità della lesione neoplastica, al numero delle metastasi linfonodali, all'età e al diametro della neoplasia. Kunisaki e coll concludevano che lo screening di massa con pasto baritato è capace di svelare il cancro gastrico in uno stadio precoce consentendo buoni risultati terapeutici.

Gli italiani V.Ceriani e collaboratori del Policlinico universitario di Milano pubblicarono nel 2006 i risultati di uno studio retrospettivo sulle gastrectomie tipo D2 nella cura del carcinoma gastrico in 57 pazienti operati tra il 2000 e il 2004. La mortalità postoperatoria fu pari al 2%, le recidive furono del 10% e la sopravvivenza complessiva fu calcolata intorno al 36% dopo 4 anni dall'operazione. Gli AA affermarono che questi dati stavano in armonia con quelli della letteratura corrente dagli anni '80 del Novecento in poi. Tra i fattori prognostici di cattivo segno, oltre a quelli già citati da tanti studiosi e a tutti noti, Ceriani e coll. ricordavano anche il grading elevato della neoplasia.

Sempre nel 2006 i cileni J.A.Csendes e collaboratori si occuparono di uno studio retrospettivo sulla evoluzione della reseccabilità e della mortalità da gastrectomia totale e subtotale per cr gastrico. Il periodo esaminato comprendeva 35 anni di attività chirurgica espletata su 3000 pazienti tra il 1969 e il 2004: lo studio è molto interessante perché suddiviso per gruppi di 4 decenni. Nel corso di questi 35 anni fu osservato un continuo e costante aumento della reseccabilità che si spostò dal 49% del 1969 all'85% del 2004 e contemporaneamente ci fu una costante e progressiva riduzione della mortalità media dal 17% del 1969 al 2% del 2004 per le gastrectomie totali e dal 25% all'1% per le subtotali.

Con queste ultime annotazioni sembra all'Autore di aver sufficientemente illustrato il paragrafo del carcinoma gastrico così come è stato diagnosticato e curato nel corso del XX secolo. Il lettore avrà potuto rendersi conto che si tratta di una materia di esclusivo interesse chirurgico ed è proprio per questo motivo che si è ritenuto di non far cenno a cure alternative (terapia radiante e chemioterapia) che pure furono tentate ma sempre con risultati del tutto insoddisfacenti.

Ernia iatale da scivolamento

Il perfezionamento della radiologia diagnostica del tubo digerente e di altri esami strumentali a carico di esofago e stomaco consentirono negli **anni '40** del Novecento di mettere a fuoco la diagnosi di esofagite da reflusso di succo gastrico causata da ernia in torace del fondo gastrico e a questo tipo di ernia fu dato il nome di **ernia iatale diaframmatica** o ernia diaframmatica di tipo I per distinguerla da altre forme di ernia diaframmatica molto più rare e alcune anche di tipo congenito. L'ampia messe di studi svolti su questa malattia nella seconda metà del secolo XX dimostrò che l'ernia da scivolamento, priva di sacco erniario, era sempre la conseguenza dell'indebolimento delle strutture anatomiche deputate all'ancoraggio dell'esofago addominale allo hiatus diaframmatico: mesoesofago posteriore e legamento freno-esofageo. L'indebolimento fu riconosciuto come dovuto all'iperpressione endoaddominale cui si aggiunge nel tempo un certo grado di retrazione del tubo esofageo da ipertono della muscolatura longitudinale. Accanto allo stragrande numero di ernie di questo tipo del tutto asintomatiche furono individuate alcune patologie secondarie alle ernie stesse: esofagite da reflusso dovuta a lunghi tempi di contatto della mucosa esofagea con il succo acido dello stomaco, rigurgiti e disfagie, dolore retrosternale, anemie da piccole perdite ematiche protratte nel tempo da lesioni esofagee, sintomatologia broncopolmonare da aspirazione durante il sonno del materiale rigurgitato. Prima della scoperta farmacologica della cimetidina (anni '70) la cura medica era affidata agli antiacidi con alto potere tampone e alla riduzione dell'obesità con proibizione di tabacco, alcool, caffè e cibi grassi. Negli ultimi decenni del secolo entrarono in uso gli antisecretivi – dapprima gli antagonisti dei recettori H₂ della istamina, cioè i cimetidinici, poi i farmaci che bloccano la pompa protonica che presiede alla produzione di acido cloridrico - cioè gli omeprazolici – e l'uso della metoclopramide ad alte dosi per rinforzare il tono dello sfintere esofageo inferiore (il cosiddetto **LES**, acronimo di **low esophageal sphincter**), la sopraelevazione di 15-25 cm a capo del letto e l'uso di particolari cuscini per mantenere la testa e il busto durante il sonno in posizione semiseduta rispetto al resto del corpo. Nella maggior parte dei casi, specialmente in assenza di esofagite cronica o grave, la terapia medica si dimostrò sufficiente a eliminare la sintomatologia soggettiva e ad evitare danni alla mucosa esofagea.

La cura chirurgica che si propone di ridurre l'ernia del fondo gastrico in addome, di mantenere questa riduzione e di sopprimere il reflusso gastroesofageo fu affrontata fin dagli ultimi anni '40 dal caposcuola americano P.**Allison** con un'operazione per via toracotomica sinistra che consisteva nell'incisione e preparazione di un collareto esofagofrenico che veniva fissato, con punti staccati trapassanti, al diaframma. Le recidive che si contarono con questa tecnica chirurgica furono molte e nel corso dei tre decenni successivi fu tutto un fiorire di nuove proposte tecniche che passavano dal contemporaneo uso, presso quella stessa scuola chirurgica americana, della correzione per via addominale, per via toracica e per via combinata toracoaddominale come venne illustrato nel **1962** da un grande specialista di questo tipo di chirurgia, il dott. David P. **Boyd** della Lahey Clinic di Boston. La impossibilità di esplorare compiutamente il versante addominale dell'ernia e il pericolo comportato dall'esecuzione di una toracotomia in soggetti anziani con scarsa funzionalità respiratoria, spinse rapidamente i chirurghi americani ed europei verso la soluzione definitiva del problema terapeutico adottando in prevalenza l'accesso laparotomico. Le tecniche ideate e suggerite furono molte e già questo sta a denotare la difficile e spesso non soddisfacente soluzione del problema delle recidive. I principi ai quali queste tecniche si ispirarono furono sostanzialmente due: 1°- ricostruzione dell'angolo gastroesofageo di His 2°- creazione di una formazione a valvola all'altezza del cardias. In ambedue i casi veniva ovviamente contemplata anche la chiusura della porta erniaria.

Nel **1956** il chirurgo svizzero R. **Nissen** diede alle stampe un metodo correttivo dell'ernia molto semplice, consistente nella sola gastropessi (fissazione dello stomaco) alla faccia peritoneale del diaframma usando l'accesso laparotomico.

Nel **1955** I.**Boerema** e R.**Germes** avevano pubblicato sul "*Zentralblatt für Chirurgie*" una tecnica di **gastropessi anteriore** da essi definita "*geniculata*": essa consisteva nel fissare a punti staccati la piccola curva gastrica alla parete anteriore dell'addome applicando le suture con forza traente verso il basso. Analogamente all'operazione di Nissen non veniva fatto alcun intervento diretto sullo hiatus diaframmatico.

La gastropessi continuò ad essere usata con varie modifiche nel 1965 da H.Ziperman e coll. e da J.Bennett che fissava la parete posteriore dello stomaco a strutture meno mobili della parete addominale anteriore e nel 1966 da E.Volleweider e da L.Hill e coll. che fissavano la piccola curva gastrica al legamento arcuato mediano dello hiatus aortico.

Nel **1956** R.**Nissen** pubblicò anche un secondo metodo da lui chiamato "*funduplicatio*" che consisteva nel far passare il fondo gastrico opportunamente mobilizzato a sinistra, dietro all'esofago per poi suturarlo al davanti su sé stesso a punti staccati; dieci anni dopo aveva già operato in questa maniera 380 pazienti e aveva segnalato il 96 % di successi.

Nel **1964** Boyd affermò che qualsiasi fosse la via di accesso usata le recidive incidavano in ambo i casi per il 10%. A quella data l'A. dava la preferenza alla via di accesso laparotomica per la maggior parte dei casi non complicati in stomaci a bassa acidità e aggiungeva volentieri una piccola piloroplastica allargante oltre alla ricostruzione dell'angolo anatomico di His suturando poi il fondo gastrico al diaframma.

Nel **1964** in Francia L.**Pendinielli** ottenne il 93% di risultati soddisfacenti impiegando una piccola striscia di cute per mantenere l'angolo di His e i suoi connazionali M.Rampal e coll. idearono la fissazione del cardias adoperando il legamento rotondo.

Nel **1966** Gustaf **Lindskog** della Yale University School of Medicine pubblicò la propria esperienza con l'accesso toracico e, previa adeguata preparazione delle formazioni anatomiche di cui faceva parte anche un'ampia incisione pleurica per sfruttare un piano di clivaggio tra pilastro destro dello hiatus e il pericardio, concludeva l'intervento con due suture separate, quella dello hiatus dietro l'esofago e quella di tutto il contorno esofageo al diaframma. Data la non visibilità del piano sottodiaframmatico, Lindskog, nelle ernie di maggiori dimensioni, si aiutava con una controincisione sulla cupola dell'emidiaframma sinistro, manovra questa considerata da Boyd responsabile di conseguenze funzionali spiacevoli. A distanza di una media di 2,7 anni l'operazione di Lindskog aveva dato nella sua casistica personale il 90% di risultati definiti eccellenti mentre nella casistica di R.Sweet la sua correzione per via toracica aveva dato nel 1952 l'83% di risultati soddisfacenti su 111 operati e in quella di L.Groves i risultati soddisfacenti erano stati dell'82% su 180 operati.

Sempre nel **1966** L.**Hill** e coll. ricostruirono l'angolo di His e suturarono il fondo gastrico al diaframma più prevenire le recidive che per aumentare l'angolo stesso ed ebbero successo in oltre l'80% degli operati

Nel **1967** D.Skinner e R.Belsey pubblicarono un 85% di buoni risultati valutando a distanza di tempo i 1030 operati con la tecnica detta "*Mark IV*" consistente in una invaginazione dell'esofago nello stomaco e ricostruzione dell'angolo di His..

Un lavoro pubblicato nell'agosto del **1967** sul *Surgical Clinics of North America* da Richard **Earlam** e Henry **Ellis** della Mayo Clinic di Rochester riportava 79 voci bibliografiche, un numero che basta da solo a rivelare il forte interesse del mondo chirurgico internazionale per l'argomento della cura chirurgica dell'ernia jatale; tuttavia i due AA ritenevano che "*la riparazione di un'ernia da scivolamento non complicata è ottenuta nel migliore dei modi ricostruendo la normale anatomia come ad esempio con la tecnica di Allison*" e che "*gastropessi, funduplicatio, accentuazione dell'angolo di His e creazione di un meccanismo valvolare sono operazioni prive di un vero significato*

fisiologico. Il loro successo è probabilmente il riflesso della loro capacità di prevenire le recidive”.

Nel **1974** Leslie Ottinger del Massachussets General Hospital di Boston asseriva che negli USA le indicazioni per un trattamento chirurgico dell’ernia da scivolamento erano rimaste solo due: l’insuccesso terapeutico dopo 6 mesi di cura medica e le complicanze dovute al reflusso gastroesofageo. Secondo Ottinger tre erano le tecniche chirurgiche più usate allora: la Mark IV di Belsey per via toracica, l’operazione di Hill per via addominale e la funduplicatio di Nissen o di Nissen-Rossetti, variante ideata da Rossetti onde evitare la “*gas-bloat syndrome*” avvenuta in un certo numero di funduplicatio e consistente nella distensione gastrica per incapacità di eruttare il gas ingerito, sindrome descritta da E.Woodward e coll. nel 1971.

Negli stessi anni ’70 in Europa le tecniche chirurgiche più diffuse, oltre alla Nissen-Rossetti, erano quelle ideate dai francesi **Lortat-Jacob** (sutura del fondo gastrico, previamente liberato dalle connessioni con la milza, al lato sinistro dell’esofago) e di **Toupet** (emivalvola posteriore, cioè una specie di Nissen eseguita solo per metà avvolgendo con il fondo gastrico solo la faccia posteriore del cardias). Un altro intervento derivato dalla Nissen fu quello di **Dor**, detto emivalvola anteriore perché in questo caso il cardias veniva coperto e avvolto dal fondo gastrico previamente liberato dalle connessioni spleniche solo sulla sua faccia anteriore.

Nel **1981** gli AA tedeschi **A.Blum** e **J.Siewert** limitarono le indicazioni assolute alla cura chirurgica dei gradi III e IV dell’esofagite da reflusso e cioè della stenosi peptica e dell’endobrachiesofago, mentre le forme più lievi di grado I e II erano da loro considerate come indicazioni *relative*. Questa relatività dipendeva dal successo o dall’insuccesso della cura cimetidinica valutata con l’endoscopia rispettivamente dopo 12 settimane e dopo 24 settimane. Questi AA davano la personale preferenza alla tecnica chirurgica di Nissen-Rossetti aggiungendovi una vagotomia superselettiva. I risultati soddisfacenti di questo tipo di operazione combinata erano riportati come superiori all’80% sia nella casistica personale che in quelle della letteratura da loro esaminata.

Nel **1983** Mark Orringer del Michigan Medical Center pubblicò i risultati ottenuti in 37 pazienti affetti da sclerodermia e stenosi peptiche dell’esofago da reflusso gastrico trattate con la gastroplastica di Collis accoppiata ad una funduplicatio sec. Nissen oppure all’operazione di Belsey. Si trattò di ottenere – grazie all’applicazione dello stapler GIA – un allungamento del tubo esofagogastrico spostando l’ingresso nello stomaco almeno 5 cm più sotto della posizione originaria del cardias, avvolgendo poi questo prolungamento del tubo esofageo e il vecchio cardias con il fondo gastrico residuo. I primi a curare l’esofagite da reflusso chirurgicamente erano stati nel 1971 F.Pearson e coll. dell’Università di Toronto. I controlli radiografici sugli operati di Orringer evidenziarono persistenza di reflusso solo nei pazienti che avevano avuto una funduplicatio Mark I di Belsey e la valutazione clinica dei risultati a distanza fornì nel complesso un 89% di completa scomparsa della sintomatologia preoperatoria con una persistenza del reflusso gastrico nell’11% degli operati.

Nel **1987** P.Zeitoun e coll. pubblicarono i seguenti giudizi sui risultati delle varie tecniche chirurgiche sopraricordate: la tecnica di Allison era quella contrassegnata dal maggior numero di recidive e dai confronti eseguiti tra le tecniche di Belsey Mark IV, Hill e Nissen risultava che “*quest’ultima era la più efficace nei riguardi del reflusso gastroesofageo mentre le tecniche di Toupet, Dor e Hill potevano essere preferibili a quella di Nissen che sarebbe stata da riservare ai casi di esofagite più grave. La operazione di Lortat-Jacob dava risultati incostanti soprattutto nelle piccole ernie tanto che non era possibile raccomandarla in tali casi*”. Questi AA si esprimevano anche in favore dell’associazione con una vagotomia superselettiva.

Nel **1992** S.J.Spechler e il Department of Veterans Affairs Gastroesophageal Reflux Study Group pubblicarono sul *New England Journal of Medicine* i risultati di una ricerca prospettica cooperativa randomizzata a vasto raggio sulla cura medica e chirurgica delle forme complicate di reflusso gastroesofageo. Questa ricerca dimostrò che la fundoplicatio di Nissen, correttamente eseguita, rappresentava la migliore forma di terapia dopo aver comparato tra loro la sintomatologia soggettiva, lo stato di guarigione delle lesioni esofagee e il ritorno senza danni della mucosa esofagea all'esposizione di solo bevande e cibo. Inoltre la cura chirurgica, rispetto ai sacrifici richiesti da una cura medica protratta per lungo tempo o addirittura *sine die* risultò nettamente preferita dai pazienti arruolati in quello studio.

Nel **1993** Jeffrey H.Peters e coll. della Southern California Medical School confermarono che *“l'esperienza e studi randomizzati hanno dimostrato che la fundoplicatio di Nissen è una correzione efficiente e duratura comportante minimi effetti collaterali e capace di dare l'abolizione dei sintomi nel 91% degli operati per oltre 10 anni”*.

Nel **1992** gli australiani G.L.**Falck** e coll. pubblicarono per primi i risultati ottenuti con la fundoplicatio di Nissen eseguita tutta **per via laparoscopica**. **Gorman** e coll. dell'Università di Pennsylvania, affermarono nel **1994** che la tecnica minimamente invasiva della laparoscopia era la più indicata per praticare le operazioni di correzione dell'ernia jatale da scivolamento specialmente nei soggetti anziani. Effettivamente l'impiego della laparoscopia per la cura delle ernie jatali si affermò progressivamente anche grazie alla contemporanea **applicazione di patch di prolene** per rinforzare la chiusura della porta erniaria. Come già ricordato a pag.355 fugace fu l'interesse per il tentativo di semplificare la riparazione dell'ernia jatale con l'anello di silastic di **Angelchick**, che, una volta fatto passare attorno all'esofago addominale veniva chiuso legando le due fettucce delle sue estremità. Le facili dislocazioni di questo dispositivo ne fecero abbandonare ben presto l'uso durante gli anni '80.

Nel **1998** i cileni A.**Csendes** e coll. dell'Hospital J.J.Aguirre di Santiago, pubblicarono su *“Surgery”* i risultati remoti (follow-up di 100 mesi) della Nissen in 152 pazienti consecutivi affetti da esofago di Barrett (ulcera o stenosi dell'esofago da reflusso cronico). Prima dell'operazione, che era stata una gastropessi posteriore con calibrazione dell'esofago su sonda n°30 in 130 pazienti e una fundoplicatio sec. Nissen o sec. Nissen-Rossetti negli altri 22, oltre all'endoscopia e agli esami istologici erano stati eseguiti un accurato esame manometrico, la misurazione del reflusso acido nell'esofago e il monitoraggio di 24 ore dell'esposizione al reflusso di succo duodenale. Nel postoperatorio la visita chirurgica, il controllo radiologico, l'endoscopia ed eventuale biopsia furono eseguiti ogni 1 o 2 anni mentre la manometria e i test del reflusso acido ogni cinque anni. La definizione di recidiva o di insuccesso fu basata su due fattori: la recidiva clinica con presenza di un Visick di III° o IV° grado e la recidiva documentata all'endoscopia e all'istologia.

La mortalità fu dello 0,7%. Negli esofagi di Barrett non complicati l'insuccesso o la recidiva assommarono al 54% mentre in quelli complicati raggiunsero il 64%. Una lieve displasia comparve in 15 pazienti dopo 8 anni e l'adenocarcinoma in quattro. I controlli del pH delle 24 ore e quelli con Bilitac dimostrarono una riduzione rispettivamente del reflusso acido e del reflusso di succo duodenale ma mai una riduzione entro limiti fisiologici. Il parere definitivo degli AA era negativo sulla potenzialità curativa delle tecniche operatorie impiegate concludendo che *“nei pazienti affetti da esofago di Barrett il reflusso di sostanze lesive è più importante della semplice riparazione di un cardias meccanicamente e cronicamente difettoso, difficile da riparare fino al punto di trasformarlo in una valvola che funzioni del tutto in modo normale”*.

Questa pagina di storia di ricerche intense e appassionante si chiuse apparentemente in modo definitivo negli ultimi anni del Novecento con la forte riduzione dei casi di esofagite grave e incorreggibile con cure mediche, casi per i quali rimaneva indicata come soluzione

ottimale la funduplicatio di Nissen o di Nissen-Rossetti eseguita per via laparoscopica, mentre l'omeprazolo e gli altri farmaci del suo gruppo si attestavano saldamente al primo posto nella terapia e nella prevenzione dell'esofagite da reflusso insieme alle norme igieniche di vita già definite nei primi anni Settanta del secolo XX.

Cura chirurgica dell'Obesità

L'interesse a trovare una soluzione chirurgica per le grandi obesità caratterizzate da mancata risposta alla terapia conservativa che tendeva e tende a fallire – anche se praticata con cura e coscienziosamente – quando il sovrappeso supera il 100% del peso ideale, si è fatto vivo dapprima negli USA dove le statistiche curate dalle società di assicurazione avevano pubblicato nel 1952, in occasione del 6° incontro annuale dell'Associazione dei Medici Americani della Assicurazioni ramo Vita, percentuali di mortalità (per aterosclerosi cardiovascolare e cirrosi in persone superobese) veramente spaventose. Nel **1954** **A.J.Kremen** e coll. comunicarono all'American Surgical Society di aver eseguito una messa fuori funzione di un tratto di intestino digiuno di 36 pollici e di intestino ileo di 18 pollici: dopo un breve periodo di controlli dichiararono che il paziente stava bene, perdeva lentamente peso e non accusava diarrea. Nella discussione che ne seguì P.Sandblom riferì che già V.Henrikson aveva tentato anni prima di curare un caso di obesità resecando un tratto di intestino tenue; il paziente aveva perduto peso ma poi era stato difficile mantenere il peso raggiunto. Nonostante molti chirurghi avessero definito tali tentativi delle "bravate" screditando i due colleghi, altri decisero di continuare nella ricerca di una tecnica chirurgica valida a combattere l'obesità patologica senza provocare danni irreparabili alla fisiologia della nutrizione.

L'idea di cortocircuitare il piccolo intestino anastomizzando il digiuno al colon fu messa in pratica da **L.Lewis** e coll. **tra il 1962 e il 1966** e da **J.H.Payne** e coll. **tra il 1963 e il 1969**; il segmento di digiuno risparmiato e lasciato quindi in funzione era lungo da 15 a 20 pollici. Anche **L.Wood** e **A.Chremos** adottarono la stessa operazione nel 1963. Nella maggior parte dei casi i risultati furono catastrofici per steatorrea indomabile, per forti perdite elettrolitiche e insufficienza epatica. Nel **1967** **A.Morgan** e coll. – e negli anni 1969 e 1970 **H.W.Scott** e coll. – si affiancarono ai chirurghi sopracitati nello sperimentare una nuova variante tecnica costituita da una **digiunoileostomia** che riduceva le superfici di assorbimento dei principi alimentari da parte del tenue ma manteneva intatto il tratto ileocecale tanto decisivo per il riassorbimento dell'acqua e degli elettroliti. La quantità di tenue conservata andava da 14 a 15 pollici di digiuno e da 4 a 10 pollici di ileo. I risultati migliorarono in modo strepitoso: bastava infatti una modica restrizione calorica per ottenere una riduzione del peso pari a 10-11 libbre al mese nei primi tempi e di 2 libbre al terzo anno dopo l'operazione. A distanza di tre anni mantenendo una dieta ipocalorica il peso corporeo si assestava sui valori raggiunti.

Nel 1974 **John Braasch** della Lahey Clinic Foundation di Boston consigliava di incoraggiare gli operati di by-pass intestinale per obesità ad assumere acidi grassi a catena media al posto dei normali grassi della dieta anglosassone e supplementi di vitamine liposolubili. Secondo Braasch fondamentali per il successo erano un'attenta selezione degli operandi, una tecnica chirurgica (digiunoileostomia terminolaterale) meticolosa, frequenti controlli dei pazienti dimessi presso l'ospedale dove erano stati operati data l'assoluta necessità di frequenti controlli degli elettroliti, dei parametri della funzione epatica e di altro ancora.

Nel **1981** **B.Husemann**, per il grande Trattato tedesco di Gastroenterologia Chirurgica diretto da **Allgöwer** e coll., descrisse la situazione del momento e i risultati fino allora ottenuti con la correzione chirurgica dell'obesità patologica. Dopo aver ricordato le

controindicazioni nei disturbi ormonali, nella funzione epatica alterata, nelle psicopatie e nell'etilismo cronico, e dopo aver precisato i limiti di applicazione tra i 18 e i 50 anni di età, una buona disposizione a collaborare da parte dell'operando nel seguire un preciso e lungo follow-up, affermò che la sua esperienza e quella di Buchwald (1974), D.Hallberg (1976), P. Salmon (1975) e Scott (1970) consigliavano di lasciare nel corso di una digiunoileostomia un tratto di ileo terminale non superiore a 50 cm. Un altro punto fondamentale messo in luce da Husemann era quello della necessità di adeguare la esclusione funzionale del tenue alla sua lunghezza complessiva dato ch'essa può oscillare da 4 a 8 metri e quindi era necessario regolarsi sulla lunghezza effettiva del tenue in ogni singolo paziente non dovendosi escludere dalla funzione digestiva né più né meno del 7-8% della totale lunghezza. Poiché la riduzione della lunghezza del digiuno incide negativamente sull'assorbimento elettrolitico e quella dell'ileo terminale sull'assorbimento proteico, quando, nei controlli postoperatori, capitava di registrare un calo ponderale troppo rapido o viceversa assente oppure una perdita elettrolitica non compensata o ancora un deficit proteico troppo importante e pericoloso era necessario reintervenire e – previa demolizione dell'anastomosi escludente - correggere l'entità dell'esclusione del digiuno e di quella dell'ileo. I risultati per quanto riguardava il calo ponderale ricalcavano quelli già pubblicati da Morgan e da Scott negli anni precedenti (vedi sopra). Altri risultati importanti furono la normalizzazione dell'insulinemia e quindi della tolleranza ai carboidrati, l'abbassamento fino a valori normali della trigliceridemia e della colesterolemia. La proteinemia e l'albumina serica risultarono direttamente dipendenti dalla lunghezza dell'ileo terminale che secondo Husemann non doveva essere mai inferiore ai 20 cm.

Le **operazioni di by-pass gastrico** ideate e modificate da Edward **Mason** dell'Università di Jowa in un lungo periodo che va **dal 1967 al 1980** durante il quale aveva provato tutte le tecniche appena citate, non interferivano sul processo digestivo perché si proponevano semplicemente di ridurre la capacità di serbatoio dello stomaco limitando in tal modo direttamente l'assunzione di cibo. Le varianti escogitate a tal fine furono diverse: resezione gastrica sec. Billroth II, gastropastica, gastrectomia funzionale, *vertical banded gastroplasty*, by-pass bilio-pancreatico. La prima di queste operazioni di riduzione della capacità gastrica tramite una resezione subtotale sec. Billroth II (cioè con una gastrodigiunostomia e non con una gastroduodenostomia) non risultò sufficientemente capace di ridurre il peso corporeo perché il piccolo serbatoio gastrico residuo tendeva a svuotarsi rapidamente e quindi non si otteneva la riduzione automatica dell'assunzione di cibo dovuta a sazietà. Anche la divisione della cavità gastrica in due scomparti a forma di clessidra mediante una sutura delle due pareti tra loro per 2/3 della circonferenza a partire dalla piccola curva lasciando uno stretto passaggio sulla grande curva (gastropastica) si rivelò poco efficace perché lo scomparto superiore si dilatava in breve tempo facendo mancare la necessaria sensazione di sazietà. Un primo netto miglioramento fu ottenuto con la cosiddetta **resezione funzionale sec. Erlanger** che consisteva nella sezione completa dello stomaco a poca distanza dal cardias, affondamento della trancia di sezione gastrica distale escludendo così dal transito degli alimenti ben 2/3 di cavità gastrica e abboccamento di stretto diametro tra residuo gastrico sottocardiale e intestino digiuno. Fin qui le tecniche operatorie impiegate in Europa fino al 1981. In USA Edward **Mason** cominciò nel **novembre 1980** a impiegare il suo metodo detto **vertical banded gastroplasty** che dimostrò di saper evitare molte delle già lamentate sequele delle precedenti forme di bypass gastrico pure usate negli USA. La mortalità operatoria denunciata nel 1981 da Husemann, limitata però all'esperienza – per quanto vasta – dei chirurghi tedeschi, era inferiore all'1% mentre Mason aveva denunciato dieci anni prima (1971) il 2,8%. Per Husemann era decisivo il problema delle complicanze tardive (*dumping syndrome* e ulcera peptica anastomotica). Dopo by-pass gastrico la perdita di peso raggiungeva nelle casistiche tedesche degli anni '70 il 40% nei primi 6 mesi e si arrestava nel secondo anno

del periodo postoperatorio. Come già visto per il by-pass digiunoileale alla perdita di peso corrispondeva con assoluta regolarità il progressivo miglioramento di tutti i parametri metabolici già alterati dalla obesità patologica (colesterolemia, trigliceridemia, ecc.).

Nel 1987 E. **Mason** pubblicò con tutti i dettagli di tecnica il metodo della *Vertical banded gastroplasty* sviluppato continuamente nel corso di 6 anni. Questa operazione consisteva nella costruzione mediante stapler GIA di un prolungamento del tubo esofago-gastrico lungo la piccola curva e nel suo restringimento allo sbocco distale con un anello di rete di Marlex applicata attorno ad una sonda gastrica di Ewald di diametro 32 French. Il foro di passaggio attraverso le pareti gastriche dell'anello di Marlex veniva ottenuto con uno stapler circolare EEA. Mason continuò ad informare il mondo chirurgico sulle sue esperienze con la chirurgia dell'obesità dal 1967 al 1995 arrivando a definire la sua *Vertical banded gastroplasty* un'operazione che era diventata semplice, sicura ed efficace nell'ottenere il desiderato calo ponderale con il minimo rischio. Ciò era stato ottenuto dopo 35 anni di tenace applicazione di modifiche e affinamenti, un'esperienza tutta particolare e originalissima che portò il chirurgo americano a concludere che *“non esiste un'operazione che porti tutti gli obesi ad un peso normale senza che corrano rischi”* e che *“più complesse sono le operazioni, più alto è il rischio di incorrere in effetti secondari indesiderabili”*.

Già nel 1992 negli USA le operazioni chirurgiche per la cura dell'obesità patologica erano diventate un campo d'azione riservato a chirurghi specializzati che si riconoscevano, dopo un apprendistato specifico, nella *American Society for Bariatric Surgery* la quale tiene regolari incontri nella primavera di ogni anno a partire dal 1983 dove i risultati dell'attività dei soci vengono comunicati dettagliatamente al National Bariatric Surgery Registry.

Malattie Infiammatorie Croniche dell'Intestino (Enterite regionale o Morbo di Crohn – Colite ulcerosa e Colite granulomatosa).

Nel mondo medico anglosassone tutte queste malattie furono raggruppate all'inizio della seconda metà del secolo sotto la comune dizione di *“Inflammatory bowel diseases”* e questa denominazione apparve giustificata perché raccoglieva in sé il comune carattere infiammatorio cronico e l'incertezza eziologica di forme morbose molto poco conosciute nella prima metà del Novecento. Poiché la storia naturale e quella degli studi di queste malattie intestinali sono diverse l'una dall'altra, essa verrà qui di seguito riportate separatamente a iniziare dalla enterite o ileite regionale più nota in determinati ambienti con il nome di morbo di Crohn.

Morbo di Crohn. Anche se nel 1813 C. Combe e W. Saunders pubblicarono sugli Atti del College of Physicians di Londra la comunicazione dal titolo *“Su uno strano caso di stenosi e ispessimento dell'ileo”*, questa malattia fu poi chiamata *Regional Ileitis*.

Nei primi due decenni del Novecento l'ileite regionale degli autori di lingua inglese rientrava in Europa Continentale nel gruppo detto dei *“Restingimenti del Tenue”* (P. Duval, 1920) dovuti ad esiti cicatriziali di enteriti acute come i 15 casi pubblicati da Reach o di enteriti croniche ma certamente non di natura tbc né luetica. La terapia di queste forme che si manifestavano soprattutto con il quadro clinico delle occlusioni intestinali recidivanti era detta *“incontestabilmente e solo chirurgica”*. P. Duval scriveva però che *“l'intervento dev'essere praticato in periodo di calma, e differito, se possibile, in periodo di ostruzione subacuta. I due mezzi disponibili “ erano “ l'entero-enteroanastomosi e l'enterectomia ampia seguita da entero-enteroanastomosi terminolaterale o laterolaterale data la differenza considerevole tra i calibri dei due segmenti intestinali da anastomizzare”*. L'A. non pubblicava dati riguardanti le guarigioni e la mortalità operatoria.

La *Regional Ileitis* fu interpretata come forma morbosa specifica e indipendente solo nel 1932 da B. Crohn, L. Ginzburg e G. Oppenheimer. Una volta diventata universalmente nota come **Morbo di Crohn** fu in seguito descritta come reperto occasionale e raro della pratica chirurgica ma provvisto di caratteristiche anatomopatologiche piuttosto costanti: parete

intestinale ispessita e di consistenza cartacea, lume intestinale fortemente ridotto, mesentere e linfonodi ispessiti fino a 2 cm di diametro. La regionalità della malattia che nei primi tempi sembrò essere strettamente confinata agli ultimi 20-50 cm di ileo, fu in seguito descritta –anche se più raramente - in tutte le sezioni dell'intestino tenue dal duodeno al colon, dove sec. **S.Warren** e **S.Summer** che la studiarono a fondo nel **1954**, la componente istologica è diversa da quella tipica della colite ulcerosa. Il quadro microscopico descritto da questi AA era quello di una linfangite granulomatosa progressiva che interessava tutte le reti linfatiche della sottomucosa, della muscolare e della sierosa intestinale. La formazione di tessuto granulomatoso pseudotubercolare con infiltrazione di monociti, leucociti e cellule mesenchimali fu descritta da S.Warren e S.Summer come il secondo tempo del processo al quale fanno seguito l'ulcerazione della mucosa, la fistolizzazione e la possibile perforazione in cavo peritoneale. Nel 1939 J.Ravdin e C.Johnson, in una revisione della letteratura medica comparsa su questo argomento fino a quella data, citarono un totale di 261 casi di M. di Crohn dell'ileo terminale e 80 con interessamento del cieco, 20 con estensione fino al colon ascendente, un solo caso esteso fino al colon trasverso, 79 casi in tratti diversi dal duodeno all'ileo terminale, 13 casi esclusivamente del grosso intestino dal cieco al colon trasverso. Nel 1949 lo stesso Crohn ritornò sull'argomento con una ponderosa monografia che si basava su 298 casi da lui studiati personalmente e di questi 222 definiti "cronici", solo 16 "acuti" e, per i restanti, forme combinate ileodigunali o ileocoliche. Nel 1946 H.L.Bockus, ma anche lo stesso Crohn, descrissero il caratteristico quadro della enterite regionale cronica evoluta dopo studi radiologici a base di pasti baritati e di clisma opaco.

Nel corso degli anni '40 la letteratura medica si arricchì di nuove pubblicazioni e di apporti casistici riguardanti le fasi acuta e cronica della malattia, i risultati del trattamento chirurgico e il serio problema delle recidive. Gli interventi chirurgici eseguiti nella fase acuta – spesso su errata diagnosi di appendicite acuta - furono identificati da Shackelford in 4 tipi: chiusura della laparotomia e rinuncia a qualsiasi manovra chirurgica sull'intestino malato (soluzione definita "ideale" dallo stesso Crohn), esecuzione dell'appendicectomia senza altre misure (W.Nickel), resezione dell'intero tratto intestinale malato e del suo mesentere previa esplorazione di tutto il tenue onde escludere eventuale presenza di altri segmenti intestinali malati, nel qual caso si ripiegava sul metodo conservativo (C.Dennis, 1943 e 1949), e infine enterostomia sola o derivazione intestinale interna bypassando il segmento colpito.

Gli interventi in stadio cronico furono descritti nel 1951 da J.Garlock e coll. nelle serie seguenti: anastomosi ileotrasversocolica con sezione dell'intestino a monte del tratto malato e sua chiusura e affondamento (Garlock e Crohn, 65 operati, 9 recidive); resezione del tratto intestinale malato in tempo unico (Crohn 55 operati, 9 decessi e 9 recidive), resezione in due tempi (sezione dell'ileo a monte e ileotrasversostomia nel I tempo e resezione del tratto malato dopo 3 settimane (Crohn 27 operati, 3 decessi e 8 recidive); variante della resezione in due tempi sec. Mikulicz che prevedeva l'esteriorizzazione dell'ansa malata sulla quale in tessuto sano a monte e a valle venivano applicate due pinze di klemmer per 48 ore, tempo necessario per il formarsi di aderenze escludenti il cavo peritoneale dall'inquinamento batterico; l'enterostomia a canne di fucile che ne risultava veniva chiusa in un secondo tempo a distanza di 14 giorni (S.F.Marshall della Lahey Clinic, anno 1940, 55 operati, mortalità 5,5% e recidive 9,6%).

Tra i risultati migliori riportati da Shackelford nella sua revisione del 1954 della letteratura sull'argomento, la più bassa mortalità operatoria fu quella del 3% della resezione in due tempi nei 64 operati di C.W.Mayo e E.S.Judd, e la percentuale più bassa di recidive (9,2%) fu quella pubblicata da J.E.Rhoades nel 1939 su 125 operati. Tra gli interventi che furono eseguiti prima degli anni '50 in caso di recidive multiple va citata anche l'ileosigmoidostomia.

Nel 1955 Clarence **Dennis** e Paul **Lear**, del King County Hospital di New York, nella parte da loro curata nel Trattato di Tecnica Operatoria di W.H.Cole molto diffuso in America alla metà del Novecento, si dichiararono a favore di una cura chirurgica precoce del m. di Crohn onde prevenire la diffusione della malattia ad altri segmenti intestinale e le sue complicazioni tipiche. A quell'epoca erano già stati abbandonati i metodi dell'astensione chirurgica e dei bypass intestinali con anastomosi ileocolica e la scelta rimaneva tra la resezione seguita immediatamente da ripristino della continuità intestinale, metodo preferito da Dennis e Lear e da altri chirurghi (J.Garlock 1951, R.Colp e D. Breilings 1952) e la resezione in due tempi. Lo stesso Dennis ma anche G.Miller tentarono in alcuni pazienti la vagotomia trattandosi di malati che erano contemporaneamente affetti da colite ulcerosa: ne riportarono un'impressione positiva (1948).

Nel 1964 Bentley P.Colcock della Lahey Clinic di Boston si dichiarò a favore della resezione del segmento intestinale malato come metodo di elezione analogamente a Barber Waugh e ad altri della Mayo Clinic che nel 1962 avevano pubblicato i loro 257 casi operati. La casistica di Colcock constava fino a tutto il 1960 di 346 resezioni senza mortalità e gravate da una morbidità dell'1,73% con un 37% di recidive, valore questo insoddisfacente ma del tutto simile a quello della letteratura internazionale di quegli anni. Una seconda resezione si rese necessaria solo nel 20% trattandosi di recidive fortemente attive come sintomatologia mentre nel restante 80% furono convenientemente trattate con cure mediche.

Indubbiamente il maggior problema terapeutico dell'enterite regionale di Crohn e della colite granulomatosa era dato dalla imprevedibilità della recidiva il cui tasso era comunque elevato tanto da far porre nel 1957 a John von Prohaska e a Erik Houttuin dell'Università di Chicago le seguenti domande: 1°- *quanto intestino apparentemente sano deve essere resecato a monte e a valle dell'enterite regionale?* 2°- *bisogna operare il più presto possibile o è meglio attendere il formarsi di masse addominali palpabili e magari fistolizzate? Si deve operare sempre e comunque?* Basandosi sulla propria esperienza von Prohaska rispondeva a questi interrogativi difendendo un atteggiamento interventista di fronte alle forme acute e a tutte le complicanze tipiche del m. di Crohn (subocclusione, fistolizzazioni interne ed esterne, masse addominali accompagnate da diarrea) e una certa generosità nel resecare un buon tratto di intestino apparentemente sano a monte e a valle della lesione. Nel contempo però raccomandava un atteggiamento improntato alla cautela e alla conservazione di intestino apparentemente sano nel caso di lesioni multiple lungo l'intera lunghezza del tenue.

L'interesse dei clinici e dei patologi per l'enigma eziologico e i problemi terapeutici delle tre malattie infiammatorie dell'intestino (m. di Crohn, colite granulomatosa e colite ulcerosa) rimase sempre molto vivo fino alla fine del XX secolo.

Nel giugno del 1974 Frank C.**Wheelock Jr .**, del Massachussetts General Hospital di Boston, pubblicò quella che appare una sintesi aggiornata delle conoscenze sulle tre malattie infiammatorie dell'intestino nella popolazione del New England. Per quanto riguarda il m. di Crohn o Enterite regionale scrisse che il 60% dei casi aveva sede sull'ultima ansa ileale, che il 40% circa di questi malati va incontro in prosieguo di tempo a localizzazioni più alte della malattia e che il 10% ammalava di una colite granulomatosa. Altri rilievi messi in luce da questo A. riguardavano la mortalità riferita intorno al 10%, le alte percentuali di recidiva – dal 35% al 75% nella letteratura medica dell'epoca – l'indipendenza di queste dal tipo di operazione praticata e la differenza dell'intervallo privo di malattia tra operazione chirurgica e recidiva che risultò essere di 2,7 anni dopo un'operazione di semplice bypass e di 5.3 anni in media dopo una resezione del tratto intestinale malato. L'atteggiamento terapeutico dell'A. fu del tipo conservativo, in favore della cura medica che all'epoca della sua pubblicazione era basata su somministrazione di cortisonici, azulfidina, antibiotici e dieta assolutamente priva di scorie con periodi di

nutrizione esclusivamente parenterale durante gli accessi di esacerbazione del morbo. Secondo Wheelock la cura chirurgica diventava indicata solo nelle complicanze acute dell'enterite (addome acuto da perforazione intestinale, occlusione, peritonite, fistolizzazioni varie). Per quanto si riferiva alle scelte intraoperatorie ad addome aperto l'A. consigliava di trattenersi da qualsiasi atto chirurgico sul tenue se l'operazione – come spesso succedeva – era stata intrapresa con l'errata diagnosi di appendicite acuta e l'ansa terminale malata non era né perforata né stenotica. In tal caso ci si limitava ad asportare l'appendice ileocecale e niente di più.

Altri AA – anche in Italia – negli anni '60 e '70, oltre a togliere l'appendice, infiltravano con novocaina il mesentere dell'ansa ileale malata. Quando invece l'operazione chirurgica era dovuta alle complicanze locali del m. di Crohn, Wheelock teneva un comportamento eclettico in base alle condizioni locali e generali del malato non escludendo la possibilità di limitarsi a eseguire un bypass anastomizzando l'ileo sano a monte (reciso però da quello sottostante malato) con il colon trasverso e magari ricorrendo persino ad una ileostomia temporanea di fronte all'impossibilità tecnica di praticare un'anastomosi in tessuti sani. Di regola sconsigliava l'asportazione dei linfonodi mesenterici malati, contrariamente a quanto propugnato dai suoi predecessori.

Nel **1981** gli autori tedeschi Ch. **Harfarth** e W.**Dölle**, nel trattare il capitolo del m. di Crohn per il Trattato di Gastroenterologia Chirurgica diretto da Allgöwer e coll. per le edizioni Springer, elencando gli undici sinonimi del m. di Crohn vi riconoscevano l'identità istopatologica con la colite granulomatosa segmentaria e cronica e con la ileocolite cronica per quelle forme del morbo di Crohn che interessano più o meno esclusivamente il grosso intestino. Nel caso di manifestazione improvvisa di una forma acuta che simula un attacco di appendicite gli AA suggerivano di eseguire comunque sempre l'appendicectomia, di trattenersi dal fare biopsie di parete intestinale per il serio pericolo di creare fistolizzazioni, e di asportare invece a scopo biotico un linfonodo del mesentere che fosse chiaramente interessato dalla flogosi. Il consiglio di non resecare l'intestino infiammato appariva giustificato dal fatto che gli accessi acuti del m. di Crohn tendono a spegnersi spontaneamente *“senza bisogno di ulteriore terapia entro 4-6 settimane”*. Dalla esposizione di Harfarth e Dölle si apprende che negli USA la frequenza della malattia era aumentata nel ventennio 1960-1980 come in Europa. L'aumento di incidenza in Svezia tra 1958 e 1973 andò da 3,5 a 6 nuovi casi ogni 100.000 abitanti e, in Svizzera, da 1,1 a 2,6 nuovi casi tra 1960 e 1966; in Inghilterra tra 1958 e 1974 l'aumento fu di 2,2 volte e per la forma colica di 7,6 volte. Gli studi epidemiologici precedenti il 1980 davano un'incidenza uguale nei due sessi, due punte di massima frequenza nei soggetti sui 20 anni e 60 anni d'età. Una certa familiarità della malattia, specie tra fratelli, era già stata riscontrata dallo stesso Crohn per un valore pari al 5% circa su una casistica molto ampia. Il frequente accompagnamento con la colite ulcerosa e con la spondilite anchilosante di Bechterew, sia nello stesso paziente che nell'ambito della stessa famiglia, fece pensare a **fattori genetici**: infatti l'antigene HLA-B27 della spondilite anchilosante fu trovato presente nell'80% dei malati di m. di Crohn e di colite ulcerosa.. Altre patologie spesso presenti nei malati di Crohn e/o nei loro famigliari furono indicate in eczemi, rinite allergica, febbre da fieno e asma. Nei bambini la comparsa di un m. di Crohn condizionò manifestamente un ritardo della crescita e della pubertà. Particolarmente ricco fu l'apporto dei due autori tedeschi nel campo diagnostico dove ebbero modo di sottolineare l'utilità di una endoscopia con biopsia rutinaria di esofago, stomaco e duodeno che *“permette non di rado di scoprire manifestazioni asintomatiche del m. di Crohn nel tratto gastrointestinale alto e di documentarle istologicamente”*. Oltre a riportare l'indice di attività della malattia elaborato e proposto da Best e coll. nel 1976 e considerato *“utile per una individuazione individuale, collettiva e di confronto”*, Harfarth e Dölle, dopo aver ricordato che le percentuali di sopravvivenza a 20 anni dalla diagnosi erano ridotte del 22% rispetto agli

individui sani, si soffermarono nel puntualizzare l'attento dosaggio della **salazosulfapiridina** che, a loro parere, non doveva superare i 50 microgrammi per ml onde evitare gravi effetti collaterali, la graduale riduzione dei glicocorticoidi con attenzione alle importanti conseguenze a carico del midollo osseo e dell'apparato digerente, infine indicavano le speranze suscitate dalle prime esperienze con il **metronidazolo**, del quale peraltro ricordavano il divieto di un suo uso a lunga scadenza per la possibilità di favorire la comparsa di un processo neoplastico e/o neuropatico periferico. Per quanto riguardava la terapia chirurgica i due autori segnalavano tre errori tecnici da evitare nella confezione delle anastomosi intestinali e, tra questi, anche l'impiego di materiale di sutura diverso dall'acido poliglicolico, e concludevano con una tabella che riportava le percentuali di recidive dopo cura chirurgica e gli anni di intervallo libero tra l'operazione e le recidive di 16 casistiche pubblicate tra il 1954 e il 1975 per un totale di 1985 operati: una media di recidive del 36,8% e intervalli liberi che andavano da uno a ventinove anni.

Nel giugno **1987**, a 14 anni di distanza dalla pubblicazione degli studi di Wheelock, il clinico chirurgo della Mont Sinai School of Medicine di New York, Adrian J. **Greenstein**, pubblicò sul *Surgical Clinics of North America* il suo 22° lavoro sulla chirurgia del m. di Crohn, basato su una esperienza specialistica pluridecennale riguardante 434 pazienti affetti da questa malattia e osservati e curati tra il 1960 e il 1986. L'80% di quei 434 pazienti fu sottoposto a cura chirurgica dopo insuccesso di quella medica, il 36% per forme perforative (ascessi, perforazione in peritoneo libero e fistole di vario tipo) e il restante 64% per forme non perforative (ostruzione, emorragie, megacolon tossico, malattia intrattabile con cure mediche). Nel complesso la grande maggioranza dei casi fu trattata in elezione; le perforazioni in peritoneo libero con conseguente peritonite acuta batterica costituirono una eventualità non comune, tanto che a sua volta Greenstein ne raccolse in tutta la letteratura medica solo 99 casi (pubblicazione del 1985) e per la maggior parte nel tratto malato dell'ileo terminale o subito a monte di esso. Lo stesso autore, che ebbe occasione di curare d'urgenza 21 pazienti, si limitò ad eseguire una semplice sutura della perforazione senza mortalità operatoria e concludeva: *“la pietra angolare del trattamento di queste perforazioni in peritoneo libero è la laparotomia immediata con diversione prossimale del transito intestinale e ricostruzione della continuità dell'intestino rinviata ad un secondo tempo”*. Nella pubblicazione di Greenstein del 1987 qui citata sono descritti con abbondanza di dati i vari tipi di fistole del m. Crohn (addominocutanee, perianali, enteroenteriche, enterocoliche, enterovesicali e rettovaginali), gli ascessi intra- e retroperitoneali, gli ascessi epatici, la rarissima emorragia massiva (1.2%) descritta anche da F.Dombal e coll. nel 1971 e dallo stesso Greenstein e coll. nel 1975, e il megacolon tossico descritto come complicazione del m. di Crohn da A.Buzzard e coll. nel 1974, da Greenstein nel 1985 e da R.Turnbull e coll. nel 1971.

Per quanto riguarda la *vexata quaestio* che durava da 50 anni sulla lunghezza del tenue normale da resecare, dopo aver citato le differenti opinioni sostenute da Colp e Dreiling nel 1952, da Crohn e Yarnis nel 1958, nonché quelle dei chirurghi britannici e svedesi più inclini a resezioni moderate di tessuto sano, Greenstein sosteneva che verso la metà degli anni '80 in genere i chirurghi americani si accontentavano di asportare solo 2 cm circa di tessuto sano a monte e a valle del segmento malato, aggiungendo: *“la logica di questa condotta si fonda su una serie di studi recenti che dimostrano non esserci differenza nella percentuale di recidive anche se si lasciava traccia di malattia a livello delle trancie di sezione enteriche”*.

I primi a riconoscere l'indipendenza nosologica e nosografica del **Morbo di Crohn Colico** dalla colite ulcerosa con la quale in precedenza era stato confuso, furono nel **1960** H.E.**Lockhart-Mummery** e B.C.**Morson**. Da allora la cura medica e quella chirurgica del m. di Crohn colico subirono una progressiva evoluzione. Di questo argomento si curarono nel 1993 Scott A.Strong e Victor W.Fazio, della Cleveland Clinic Foundation dove fino al

1975 erano stati curati e studiati da R.G.Farmer e coll. ben 615 casi di m. di Crohn dei quali il 41% interessava, oltre che l'ultima ansa ileale, anche il colon destro e il 27% solo il colon e il retto. Strong e Fazio trovarono che due terzi di questi malati avevano la malattia diffusa a tutto il colon mentre la restante terza parte aveva un m. di Crohn segmentario e, nel complesso, il 50% presentava anche interessamento rettale. La sintomatologia si fondava su una triade: dolore (55%), sanguinamento rettale (46%), malnutrizione (22%). La diagnosi era a sua volta basata su un'altra triade, fonte di dati diagnostici tutti altamente caratteristici: esame radiologico, endoscopia, esame istologico. Solo nelle panproctocoliti più gravi la colonscopia poteva incontrare difficoltà insormontabili nella diagnosi differenziale con la colite ulcerosa ma in questo caso l'istologia, rivelando il tipico aspetto granulomatoso del Crohn con le cellule giganti di Langhans, permetteva di risolvere il problema diagnostico. Il trattamento medico era basato sulla somministrazione di sulfasalazina, di aminosalicilati come la mesalamina, di corticosteroidi utilissimi solo nelle fasi acute ma incapaci di mantenere le fasi di remissione, di antibiotici (preferibilmente metronidazolo); infine nel corso dei primi anni '90 furono usati anche i farmaci immunosoppressori (azatioprina e ciclosporina) con risultati contrastanti ed effetti collaterali che portarono alla sospensione di questo indirizzo di cura. Tuttavia l'evoluzione del m. di Crohn colico spesso e a lungo accompagnato da scarsa sintomatologia soggettiva, finiva per dar luogo a quelle complicazioni che rendevano improcrastinabile la cura chirurgica: fistole e ascessi nel 16% dei casi, perforazione in peritoneo libero in tre casi su cento (Bundred e coll. 1985), emorragia massiva dall'1,4% al 13% (D.Renison e coll.1983), mancata risposta alle cure mediche dopo 4 – 6 mesi, profilassi del cancro del grosso intestino il cui rischio per i pazienti affetti da Crohn colico fu valutato pari a 5-6 volte maggiore rispetto alla popolazione di pari sesso ed età (ricerche degli svedesi A.Ekbom e coll su 1655 malati studiati e controllati per 30 anni – pubblicazione dei risultati nel 1990). La scelta del tipo di operazione chirurgica da effettuare dipendeva naturalmente dalla sede e dall'estensione delle lesioni e quindi andava dalle resezioni coliche limitate – che peraltro erano le più esposte al rischio della recidiva – alla colectomia totale con ileorettostomia e infine alla proctocolectomia.

Nel 1995 su "*Journal de Chirurgie*" S.Parent e coll. della clinica chirurgica universitaria di Nancy pubblicarono una casistica di 106 operati di resezione intestinale (36 del tenue, 10 del colon e 60 di tenue e colon) con una morbidità postoperatoria del 17,9% e una mortalità dell'1,9%. Si trattava di malati in cui il m. di Crohn durava in media da 4 anni. I risultati a distanza di 4-16 anni furono giudicati soddisfacenti tranne in un caso che andò incontro alla sindrome di intestino corto. Furono rioperati 19 pazienti corrispondenti al 18% di tutta la casistica.

Quando la malattia di Crohn interessava la regione anale e perianale con ragadi, ulcere, fistole e stenosi, Strong e Fazio consigliavano un atteggiamento conservativo e di insistere con la cura medica fin quando era possibile. La cura chirurgica più delicata e difficile era quella delle fistole per la quale gli AA propugnavano la tecnica chiamata dell'avanzamento del lembo di mucosa anale, tecnica che consentiva di non sezionare le fibre sfinteriche e, in caso di insuccesso, non peggiorava la situazione locale.

Ad interessarsi delle malattie del tenue nell'anziano fu, tra gli altri, anche Rennie Ann **Rosenthal** degli ospedali dell'Università di Chicago nel **1994**. Le novità presentate in questo studio furono che, analogamente a quanto già osservato per la colite ulcerosa, **il m. di Crohn negli anziani** tendeva a preferire le parti più distali dell'intestino tanto che le sedi colica e rettale mostravano di pareggiare quantitativamente quelle del tenue, che le forme diffuse a tutto il tenue o a tutto il colon erano eccezionali e che il quadro clinico non era diverso da quello della stessa malattia nelle età più giovani. Certamente la diagnosi nei vecchi risultava ritardata di tre volte dall'inizio dei sintomi soggettivi rispetto alle età più giovani (6,4 anni contro 2,4). Ora una diagnosi precoce offrirebbe negli anziani un grande

vantaggio perché due studi pubblicati nel 1985 (P.Fabrics e coll; J.Rhodes e coll.) hanno mostrato che meno del 25% degli anziani malati di Crohn richiedono, se diagnosticati in tempo, la cura chirurgica. Questa purtroppo veniva affrontata obbligatoriamente a causa delle complicazioni, cosa che avveniva nel 33% degli ultrasessantenni rispetto all'8% dei soggetti più giovani. Ciononostante la mortalità operatoria di questi anziani appariva contenuta tra lo 0% e il 10% (casistiche specializzate in anziani di Fabrics e coll, 1985 e di Tchirkow e coll. 1983). La frequenza delle recidive, secondo i dati forniti da una revisione della letteratura medica internazionale sul m. di Crohn pubblicata dagli studiosi svedesi A.Softely e coll. nel 1988 e riportata da Rosenthal nel 1994, appariva essere influenzata positivamente dall'avanzare dell'età come fu confermato anche dagli inglesi W.P.Joyce e coll. nel 1992. La mortalità legata al m. di Crohn diminuiva anch'essa con l'avanzare dell'età dei pazienti cosicché la sopravvivenza media tra i 45 e i 60 anni risultava essere la stessa della popolazione generale (I.Grimm e coll. 1990).

Colite Ulcerosa: appartiene, insieme al m. di Crohn, alle “*inflammatory bowels diseases*” degli AA inglesi, americani e scandinavi del periodo 1950-1980. In precedenza era nota con il nome di “colite ulcerativa essenziale o idiopatica” o ancora “criptogenetica”. Nel **1920**, nel Compendio di Patologia Chirurgica francese diretto da Duval, Gosset, Jeanbrau, Lecéne e Lenormant la colite ulcerosa è ricordata tra le cosiddette “*coliti ribelli*” alle cure mediche e a tal proposito si legge che “*al giorno d'oggi le indicazioni alla cura chirurgica sono le seguenti: insuccesso della cura medica prolungata, colite parietale con ulcerazioni gravi della mucosa e infiltrazione della tunica media dell'intestino crasso, disturbi gravi della nutrizione generale*” e che “*tale cura chirurgica deve ispirarsi al fatto che bisogna evitare il passaggio delle materie fecali settiche sulle ulcerazioni coliche che le mantengono e aggravano*”. Le soluzioni chirurgiche adottate di volta in volta erano: “*una enterostomia che in questi casi sarà una tiflostomia od una appendicostomia*” oppure “*una anastomosi intestinale che fa direttamente passare il contenuto intestinale dal tenue nel retto*”. Il primo a praticare una tiflostomia con questa indicazione fu il chirurgo francese Folet nel 1895. Nei primi anni del Novecento D.Giordano, chirurgo di Venezia, praticò l'ileosigmoidostomia con e senza esclusione del colon. Gibson praticò la fistola cecale per eliminare i gas (*ventilfistel*) e solo in piccola parte le feci. **A.Gosset** nel **1915** si pronunciava a favore della ileosigmoidostomia perché “*l'anastomosi sopprime anche gli inconvenienti fisici e morali dell'ano contronatura*”. La chiusura dell'ano praeternaturale veniva fatta da molti chirurghi dopo 3, 4, 18 mesi. Labey e Nehrkorn già nel 1903 avevano registrato guarigioni delle coliti “*ribelli*” in 7 su 13 casi con la tiflostomia, in uno su tre casi con l'ileostomia, in 7 su otto casi con la colostomia sinistra, in 6 casi su sei con fistole cecali o appendicolari e in 9 casi su 10 con l'ileosigmoidostomia con o senza esclusione colica.

Nel suo grande trattato di patologia chirurgica edito a Parigi nel **1947**, **J.Patel** ne trattava solo la forma acuta emorragica mentre un anno prima (**1946**) **H.L.Bockus** la definiva “*una sindrome di tipo suppurativo e ulceroso legata incostantemente ad un'evidente infezione virale specifica ma sempre associata a lesioni batteriche o tossiche della parete intestinale e condizionata da diversi fattori immunologici, allergici, alimentari o neurologici*”. Basta questa lunga proposizione per rendere evidente il lato oscuro dell'eziologia di questa strana forma morbosa del grosso intestino capace di trasformarsi in poche ore in un vero e proprio dramma emorragico che metteva in pericolo la vita dei pazienti.

Nel **1932** i patologi **F.Rankin**, **J.Bargen** e **L. Bute** avevano osservato che nel 95% dei casi il processo ulceroso aveva origine nel retto per estendersi poi progressivamente a tutto il colon. Una volta arrivato alla valvola ileocecale il morbo si arrestava salvo nel 20% dei malati nei quali procedeva oltre danneggiando la mucosa dell'ileo terminale. Le forme plurisegmentarie erano definite rare, tra il 5% e il 15%.

Nel 1949 B.Colcock scrisse che nei malati che soffrivano di colite ulcerosa (CU) da più di 9 anni si sviluppava un adenocarcinoma in un caso su tre. D'altronde nel 1953 J.Felsen e W.Wolarsky scoprirono che la frequenza di un cancro del colon su 1072 malati di CU da loro osservati era stato pari allo 0,65%, una percentuale non superiore a quella dei cancri del colon insorti in persone del tutto sane.

La epidemiologia degli **anni '40** mostrava che la CU era una malattia diffusa in tutto il mondo con una massima frequenza nei soggetti di età compresa tra i 20 e i 40 anni senza risparmiare l'età infantile. Le forme croniche venivano distinte da Shackelford nel tipo continuo e in quello recidivante e fin dagli anni '30 e '40 le ricadute vennero imputate a turbe emotive o psichiche o ad abusi dietetici o ancora a impiego di lassativi troppo energici. La diagnosi si fondava già negli ospedali di allora sui reperti dell'esame rettosigmoidoscopico e di quello radiologico. Nella diagnosi differenziale si prendevano in considerazione la dissenteria batterica, la colite amebica, il m. di Crohn colico detto allora colite granulomatosa e la poliposi congenita. In Italia nel 1932 il Trattato di Terapia Speciale Medica di Nicola Pende metteva in evidenza l'arretratezza della classe medica italiana, ferma ancora a una classificazione delle coliti dei primi venti anni del secolo XX: vi erano trattate le enterocoliti, l'enterocolonpatia muco-membranosa o colica mucosa di Nothnagel, le dispepsie intestinali di varia origine ma della colite ulcerosa e del m. di Crohn nemmeno un cenno! Troveremo solo nei primi anni '40 una descrizione completa e aggiornata della colite ulcerosa.

Nel **1950 W.Sloan** e coll. comunicarono in un simposio dedicato alla CU le osservazioni da loro condotte su 2000 pazienti affetti da CU: la poliposi "benigna" rappresentò la complicazione più frequente perché fu diagnosticata nel 19% dei casi e la degenerazione di detta poliposi in adenocarcinoma colico fu riferita in quell'occasione da altri studiosi in valori compresi tra il 2,5% e il 25%, tanto che Lahey, il quale riteneva sicura la degenerazione entro 5 anni in un quarto di tutti i casi, propose la colectomia in tutti i pazienti con CU evoluta in stadio polipoide o pseudopoliposo.

Per Sloan e coll. la seconda complicazione della CU in ordine di frequenza era la stenosi (11% su 2000 casi) mentre fu raro invece il riscontro della perforazione (2%), di ascessi e fistole (5%), di emorragia massiva (1% su 2000), di artrite (5%). C.Dennis nel 1945 aveva affermato che nella sua esperienza la flebotrombosi nei malati di CU era comparsa così spesso che aveva deciso di prepararli sistematicamente la notte prima dell'intervento chirurgico con 200 mg di dicumarolo.

Nella sua monografia sulla CU edita nel 1950 F.Lahey affermò che la cura medica otteneva risultati soddisfacenti – anche se mai definitivi – solo in due terzi dei casi lievi e in un terzo di quelli gravi, tutti gli altri dovevano ricorrere alla cura chirurgica. Altri AA degli anni '40 avevano invece valutato che l'opera del chirurgo si rendeva necessaria solo nel 5-20% di tutti i pazienti affetti da CU. Evidentemente nell'arco di un decennio la chirurgia aveva dimostrato di cominciare ad imporsi sulla cura medica. I metodi operatori più adottati in quegli anni erano tre: ileostomia, colectomia parziale, colectomia totale. Nel 1948 C.Dennis e coll. pubblicarono a loro volta l'esecuzione della vagotomia sopradiaframmatica in 28 malati di CU ottenendo un buon miglioramento che si mantenne per almeno 6 mesi (periodo del follow-up) in 11 pazienti su 15 ma negli altri 13 non fu osservato lo sperato miglioramento; si trattava però di persone in cui la malattia era allo stadio iniziale e con alterazioni tissutali del colon ancora reversibili.

Nel 1951 R.J.**Schlitt** e coll. proposero la **neurectomia viscerale pelvica** per ottenere le interruzione completa delle vie di innervazione del sistema autonomo di tutti i visceri pelvici: su 11 operati il follow-up fu protratto da 2 mesi e mezzo a 4 anni e i risultati furono definiti ottimi in 5 casi, buoni in 4 e nulli in un paziente sul quale fu poi eseguita una vagotomia e in seguito un'ileostomia; a 5 mesi di distanza dalla neurectomia pelvica il paziente morì e l'autopsia rivelò una colite ulcerosa in stadio avanzato con peritonite acuta

purulenta. Da allora di vagotomia e di neurectomia pelvica per curare la colite ulcerosa non si parlò più e la bibliografia non citò più interventi sul sistema nervoso autonomo.

Le indicazioni alla **ileostomia** negli **ultimi anni '40** erano le seguenti: 1°- attacco acuto di tipo fulminante che non rispondeva ad alcun tentativo di cura medica e che provocava rapidissimo peggioramento delle condizioni del paziente; 2°- mancata risposta alle cure mediche 3°- emorragia massiva associando in questo caso l'ileostomia alla colectomia parziale o totale in "*soggetti accuratamente selezionati*" come sottolineò Shackelford; 4°- perforazione subacuta, ascesso, peritonite, fistola 5°- occlusione intestinale; 6°- poliposi diffusa accertata endoscopicamente e istologicamente 7°- degenerazione maligna se la neoplasia aveva superato i limiti di un'utile operabilità, altrimenti associata a resezione colica o coloretale 8°- infezioni articolari ricorrenti ad ogni esacerbazione di una CU cronicizzata 9°- incontinenza anale da fibrosi dell'ano-retto.

Va detto subito che solo in pochissimi casi fu possibile in quegli anni ricostruire la continuità intestinale dopo ileostomia per guarigione stabilizzata della CU. Nel 1950 Lahey comunicò che questo gli fu possibile solo in 25 casi, in un terzo dei quali fu purtroppo costretto a ricorrere di nuovo all'ileostomia e in tal caso per sempre.

L'ampio impiego dell'ileostomia, che aveva l'unico pregio di "*mettere a riposo il colon-retto*" e la necessità di provvedere alla raccolta a perfetta tenuta delle feci ileali liquide (data la loro forte azione infiammatorio-erosiva sulla cute) fece fiorire una letteratura particolare dedicata ai vari tipi di contenitori e di creme e pomate per il primo periodo postoperatorio e per l'impiego definitivo.

Se nel 1944 R.Cattell aveva reso noto di aver eseguito una colectomia per CU solo nel 20% dei casi da lui stesso osservati, E.Kiefer e coll. due anni dopo (1946) affermarono che "*la cura medica della colite ulcerosa cronica di origine idiopatica è solo un controllo e non una terapia radicale, essendo la colectomia totale l'unico mezzo oggi disponibile per ottenere la guarigione definitiva*". Le indicazioni alla colectomia dei primi anni '50 secondo Shackelford (riportate nella sua revisione del vecchio testo di Bickham e Callander) erano le seguenti: 1°- mancata risposta alla cura medica dopo ileostomia; 2°- occlusione e presenza di alterazioni organiche irreversibili; 3°- emorragia infrenabile o massiva; 4°- artrite ribelle anche all'ileostomia; 5°- poliposi; 6°- degenerazione maligna asportabile; 7°- trasformazione di una ileostomia in una ileo-anostomia sotto controllo sfinterico (tecnica di Ravitch, 1950).

Nel 1951 R.Warren e L.S.McKittrick pubblicarono la casistica e i risultati della cura chirurgica della CU in 240 pazienti osservati tra il 1930 e il 1949 presso il Massachusetts General Hospital di Boston. Su 210 ileostomie la mortalità fu del 17,6% nella maggior parte per peritonite e malfunzionamento dello stoma, su 113 colectomie subtotali fu dell'8,8%, su 49 proctosigmoidectomie fu del 4% e non vi fu alcun decesso nei 7 pazienti operati di colectomia totale. I due AA nel discutere le cause degli insuccessi furono portati a dichiarare – per quanto riguardava la mortalità dopo ileostomia che si era dimezzata nel corso degli anni '40 rispetto a quella degli anni '30 – che "*questa caduta di mortalità è dipesa in parte dalle nuove tecniche di anestesia, trasfusione e cura antibiotica, ma in misura assai più ampia da una scelta più esatta dei tempi per intervenire e da una più vasta esperienza nei dettagli del trattamento postoperatorio immediato dopo ileostomia*".

Questa dichiarazione mette bene in luce il deciso e netto cambiamento delle cure ancillari e dell'esperienza chirurgica avvenuto nei paesi anglosassoni nel corso degli anni '40 con anticipo di quasi un decennio su quanto si verificò nel resto del mondo dopo la II guerra mondiale.

Nel **1963** in Italia **A.De Blasi** e **M.Rubino**, della clinica chirurgica dell'Università di Bari, davano come "eccellenti" i risultati dell'ileostomia sia sotto forma definitiva che come primo tempo di un programma di resezione colica. Dopo aver messo bene in chiaro che la CU nasce nel retto e procede nel suo sviluppo naturale verso l'alto arrestandosi all'altezza

della valvola ileocecale e superandola solo eccezionalmente, i due AA affermavano che nelle condizioni particolarmente gravi che richiedevano la demolizione del grosso intestino occorreva “sempre” asportare anche il retto. La mortalità media era data al 20% e la guarigione con le cure mediche al 50% . Per De Blasi e Rubino l’evenienza di un adenocarcinoma in pazienti affetti da CU rappresentava una “associazione” e non una degenerazione delle lesioni tipiche della CU, ma il fatto che la frequenza del cancro fosse nella CU del 5 - 10% li portava ad affermare che *“la colite ulcerosa può essere considerata uno stato precanceroso perché la frequenza del cancro nei malati che ne sono affetti è 30 volte superiore che nel resto della popolazione”*.

Nel 1964 Clarence **Dennis**, della State University di New York, tra le complicazioni della CU citava un 4,2% di degenerazione carcinomatosa, un 7,1% di poliartrite e un 7,5% di tromboflebiti, riconosceva la grande utilità della cura medica con i corticosteroidi che *“modificavano il quadro clinico e il decorso delle fasi acute”* della malattia ma rilevava anche la pericolosità del loro impiego protratto (pericolo di perforazioni intestinali e peritonite, dilatazione acuta del colon trasverso che presagiva un’imminente perforazione). Tra le norme dietetiche nuove apparse negli anni ’50 ci fu il divieto assoluto di assumere latte e latticini. Comunque per Dennis le indicazioni alla cura chirurgica erano rimaste nel 1963-64 le medesime dei due decenni precedenti anche se sembravano concentrarsi sempre più su un unico tipo di soluzione chirurgica di sicuro risultato: la colonproctectomia totale con ileostomia definitiva. Dennis ammetteva che in casi selezionati l’ileo-anostomia di Ravitch o di Schneider poteva essere indicata o che si poteva tentare di conservare il retto. Tuttavia avvertiva che ambedue queste soluzioni comportavano un maggior rischio di mortalità e di esiti funzionali insoddisfacenti.

Sempre nel 1964 anche Neil W.Swinton e F.Warren Nogent della Lahey Clinic scrivevano che *“ogniquale sia possibile effettuarla con buoni margini di sicurezza la colectomia totale è l’operazione di scelta”*, intendendo però con “colectomia totale” l’asportazione di tutto il colon e di tutto il retto con ileostomia definitiva e – a proposito di quest’ultima – si soffermavano ad esporre i dettagli della tecnica di eversione della mucosa ileale da anastomizzare alla cute dell’addome sottolineandone l’enorme importanza per evitare tutte quelle complicazioni descritte in letteratura prima che fossero pubblicate le precisazioni tecniche di B.Brooke (1952) e di R.Turnbull (1957).

Anche John von Prohaska ed Erik Houttuin nel 1967 convennero con quanto già affermato dagli AA che abbiamo appena citato ma, in più, fecero emergere il concetto-base sec. il quale *“ogni nuovo caso di colite ulcerosa deve essere trattato con cura medica da uno specialista gastroenterologo competente”* valorizzando con questa affermazione la nuova specializzazione internistica di gastroenterologia apparsa allora da poco negli USA. Per von Prohaska e Houttuin la proctocolectomia doveva essere sempre eseguita in unico tempo applicando gli accorgimenti suggeriti da Turnbull nella confezione dell’ileostomia che finiva per essere la parte più delicata di tutta l’operazione. Lo scritto di questi AA si diffondeva molto sulla prevenzione delle complicanze postrettocolectomia (occlusione intestinale, infezione di ferita, sua deiscenza, persistenza di fistole anali, impotenza sessuale).

Nel 1974 Frank Wheelock del Massachusetts General Hospital di Boston giustificava ancora, accanto alla proctocolectomia, l’esecuzione di una colectomia totale con ileostomia e conservazione del retto inutilizzabile anche se la maggioranza degli AA era ormai decisamente orientata in favore della demolizione totale del grosso intestino.

Nel periodo compreso **tra il 1968 e il 1976** fecero la loro comparsa nella letteratura medica specializzata numerosi lavori che mettevano in risalto i diversi lati negativi dell’ileostomia alla Brooke e Turnbull: deiscenza della ferita perineale, dermatite peristomale, difficile manutenzione dello stoma, depressione psichica degli operati, senso d’isolamento, difficoltà nei rapporti interpersonali e altro ancora. Le lamentele, anche a distanza di anni

dall'intervento radicale riguardavano il 40-45% degli operati. La novità di tecnica chirurgica che affrontò con successo la soluzione di tutti questi problemi fu la costruzione della cosiddetta **pouch ileale**, cioè di un serbatoio ileale ottenuto con varie modalità (a S, a J o laterale) prima di inserirlo alla fine dell'operazione all'interno dello sfintere anale accuratamente preservato durante le manovre di resezione del retto. Questo serbatoio con le volute dell'ansa ottenute suturandola su sé stessa in vario modo aveva lo scopo di rallentare la emissione delle feci liquide trattenendole per un tempo sufficiente a riprendere un tenore di vita più vicino al normale grazie alla funzione sfinterica anale conservata. La spinta determinante fu data da L.W.**Martin** e coll. nel **1977** con la pubblicazione sulla proctectomia mucosa che permetteva di conservare l'apparato muscolare dell'ano-retto.

Nel **1980** seguì l'ulteriore sviluppo della *pouch* ileale pelvica con le tecniche suggerite da A.G.**Parks** e coll. e da J.**Utsunomiya** e coll. Dal 1980 in poi l'ileostomia definitiva in parete addominale scomparve progressivamente per lasciar posto alla ileo-pouch-ano-anastomosi. Questo nuovo tipo di proctocolectomia ebbe anche l'enorme vantaggio di conservare la normale funzione erettile del pene e una normale funzione vescicale.

Tra il 1 Gennaio 1981 e l'1 Gennaio 1986 presso la clinica Mayo di Rochester furono sottoposti ad una anastomosi ileo-pouch-ale 506 adulti affetti da CU. Il primo periodo postoperatorio fu protetto nel 95% degli operati da una ileostomia addominale temporanea che impediva alle feci liquide del tenue di raggiungere la pouch. La chiusura di questa ileostomia protettiva veniva effettuata dopo 8-12 settimane durante le quali la pouch e il segmento non funzionante di tenue venivano irrigati per eliminare il muco che vi si accumulava e per esercitare le contrazioni volontarie e involontarie dello sfintere anale. Anche se nel 1987 non era ancora possibile fare previsioni a lungo termine sul mantenimento dei buoni risultati ottenuti con questo fenomenale passo avanti della tecnica di proctocolectomia, le considerazioni tratte da John Pemberton della Mayo Clinic lo portarono a concludere che *“se i benefici offerti da questo tipo di operazione superino o meno le complicanze e i problemi ad esse potenzialmente collegati, è una questione ancora da definire. Per il momento la massima parte dei pazienti ha risposto con entusiasmo a questo intervento e al suo ovvio beneficio di restituire la continenza delle feci”*.

Nel **1995** J.**Ramnaud** e Y.**Bouhnik**, nel loro manuale di gastroenterologia, trattando della tecnica dell'anastomosi ileo-ale citavano tra le controindicazioni (lesioni sfinteriche gravi, età superiore a 65 anni e obesità patologica) anche la confezione della pouch a J oppure a W nei soggetti obesi con mesentere corto; per migliorare il numero e la consistenza delle defecazioni suggerivano la loperamide e la somministrazione di una mucillagine. La mortalità era definita *molto bassa e non specifica*, e la morbidità era riferita al 46%, per occlusione intestinale (20%), infezione addominale e pelvica (5%), tutte complicanze che obbligavano ad asportare la pouch. Le ricerche sul contenuto della pouch e sulla sua mucosa aveva dimostrato una colonizzazione da parte di una flora microbica aero-anaerobica abbondante e capace di sintetizzare acidi grassi a catena corta. Furono osservate spesso metaplasia colica e atrofia dei villi, L'esperienza degli anni '90 dimostrò che la pressione a riposo dello sfintere anale, bassa all'inizio, ritornava alla norma entro 6 mesi - 1 anno. La contrazione volontaria, grazie all'esercizio continuo dei primi tempi dopo l'operazione, diventava superiore al normale. La discriminazione tra gas, liquidi e solidi si conservava bene e l'angolo ano-retto si manteneva. Una perdita frequente fu quella del riflesso retto-ale inibitore ma senza conseguenze funzionali. L'esperienza di un decennio dimostrò che il reservoir ha una valida compliance alla distensione (valore medio di tenuta sui 300 ml circa) e che l'evacuazione ha dimostrato di diventare volontaria, rapida e completa. Uno dei pericoli fu identificato nella stenosi che si imparò a prevenire con autodilatazioni digitali.

Le maggiori casistiche americane ed europee di fine secolo fornivano i seguenti dati: continenza perfetta diurna nel 75% degli operati e notturna nel 50%. Gli altri pazienti

lamentavano piccole perdite intermittenti che però miglioravano con il passare del tempo. La necessità di ripiegare su una ileostomia permanente si era verificata in media solo nel 2% degli operati. L'infiammazione grave della pouch detta **pouchite** aveva afflitto il 22% dei malati affetti da rettocolite ulceroemorragica mentre in quelli operati per poliposi colica si era verificata solo nel 7%. Il reperto endoscopico aveva rivelato una mucosa edematosa, iperemica, disseminata d'ulcerazioni, friabile e facilmente sanguinante. La pouchite veniva curata con metronidazolo (1g/die/10 giorni) e con clisterini o supposte di mesalazina da 1 g. In genere si trattava di episodi unici o scarsamente recidivi ma vi furono casi in cui nessuna cura medica e topica ottenne beneficio e si dovette passare alla exeresi della pouch.

L'apporto più importante in campo bibliografico fu forse quello di Richard **Grotz** e John **Pemberton** della Mayo Medical School di Rochester nel **1992** su "*Surgical Clinics of North America*": in 11 anni presso la Mayo Clinic furono sottoposti alla confezione di pouch ileale per colite ulcerosa 1400 pazienti. Alle dimissioni il 79% era del tutto continente, il 19% era quasi del tutto continente e solo il 2% era incontinente. Il 94% dei pazienti aveva 10 o meno evacuazioni al giorno e il 96% aveva solo 2 o 1 evacuazione notturna entro 10 giorni dalla chiusura dello stoma ileale addominale. Alle dimissioni furono prescritti farmaci che rallentano il transito ileale. Mortalità: 2 operati su 1400. Mortalità media della letteratura d'epoca: da zero ad 1,5%. La frequenza della pouchite nella casistica della clinica Mayo fu del 31% e il suo trattamento fu basato sugli antibiotici e, nei pazienti che non rispondevano a questa cura, sulla sulfasalazina. Nel 1992 presso la clinica erano in corso studi –pilota con supposte di glutamina (P.Wyschmeyer e coll.) e con allopurinolo (K.Levin e coll.). Grotz e Pemberton richiamavano l'attenzione sulla gravità e sul difficile trattamento delle infezioni pelviche precoci (5% degli operati), della sepsi addominale diffusa (6%) e delle fistole pouch-perianali tardive (5%). A fine secolo era ancora aperto il problema chirurgico di quali fossero la forma ideale di una pouch e la migliore tecnica di anastomosi ileo-anale.

Nel **1999** su "*Min-Chir*-" R.**Arcidiacono** e coll. di 8 grandi ospedali italiani pubblicarono i risultati di un trial di terapia topica intestinale con schiuma di *beclometasone dipropionato* (BDP) in 63 pazienti affetti da rettocolite ulcerosa (53,3%) e da proctosigmoidite (46,7%). Questo steroide appartiene a quelli dell'ultima generazione detti "*a grossa molecola*" e a "*first pass epatico*" perché la sua elevata azione antiinfiammatoria non ha conseguenze sistemiche venendo degradato al primo passaggio attraverso il fegato. Il trattamento transanale in unica volta giornaliera la sera prima di coricarsi durò 28 giorni e la tolleranza a fine cura fu giudicata da buona ed eccellente dall'82% dei pazienti. I controlli endoscopici documentarono un miglioramento obiettivo nel 74,5% dei malati mentre il miglioramento clinico si limitò al 65,2%. Il miglioramento istologico medio di tutti i casi migliorati fu del 56,9%. Gli AA concludevano che la molecola di BDP rappresentava un valido mezzo terapeutico della colite ulcerosa e delle proctosigmoiditi.

Malattia Diverticolare del Colon

La prima trattazione chirurgica di questo tema della patologia colica che ho trovato nella ricerca bibliografica è quella di E.**Spriggs** e O.**Marxer** pubblicata sulla rivista medica inglese "*Lancet*" nel **1927**. A quell'epoca mancavano ancora statistiche attendibili sulla percentuale di portatori di **diverticolosi del colon** nei quali questa condizione era e rimaneva per tutta la vita asintomatica; i primi a pubblicare un **29%** di diverticolosi in persone affette da disturbi riferiti a **malattia diverticolare** furono appunto i chirurghi inglesi Spriggs e Marxer. Per costoro i sintomi più frequenti della malattia diverticolare erano il dolore addominale, la stipsi e il meteorismo intestinale. Lo stato di diverticolosi fu visto fin dagli anni '30 da H.Ochsner e J.Bargen complicarsi con l'infiammazione dei

diverticoli (**diverticolite**) con una evoluzione molto varia (occlusione intestinale, peritonite stercoracea diffusa o localizzata da perforazione, ascessi, fistole di vario tipo) ed emorragie improvvise e copiose di sicuro carattere arterioso e di frequente arresto spontaneo.

La sede preferita dei diverticoli sec. Spriggs e Marxer era quella sul sigma e sul colon discendente: rispettivamente nel 58% e 45% nella loro casistica. Ciò spiega perché ancora a metà degli anni '40 uno dei più noti chirurghi ospedalieri parigini, J.**Hepp**, anziché parlare di diverticoliti acute e di malattia diverticolare cronica come già facevano i suoi colleghi anglosassoni, preferì parlare rispettivamente di sigmoiditi acute e croniche scrivendo nel **1947** che *“il chirurgo è chiamato solo a vedere le forme acute gravi e dovrà essere di principio parco di indicazioni operatorie perché un alto numero di attacchi acuti di sigmoidite guariscono con le cure mediche”* (riposo, borsa di ghiaccio locale, disinfettanti intestinali e bismuto). Anche se questo chiaro invito alla cautela trovò vastissimo consenso soprattutto di fronte alle forme evolute in piastrone infiammatorio tanto frequente in epoca antibiotica appena iniziata, la chirurgia d'urgenza aveva già trovato fin dagli anni venti piena giustificazione davanti ad una peritonite diffusa da perforazione intestinale, del resto piuttosto rara come fu attestato nel 1940 da E.Hayden che ne osservò solo tre casi su 140 pazienti affetti da diverticolite acuta. Tuttavia anche le nefaste conseguenze della diverticolite cronica, soprattutto sotto forma di fistole enterovescicali in pazienti che accusavano fecaluria e pneumaturia e di quelle nella cavità uterina, nelle anse del tenue o alla cute dell'addome in zone vicine o lontane, richiesero l'intervento dei chirurghi come lo dimostrano i 144 pazienti operati nel 1947 da J.Pemberton e coll.

L'esame radiologico con clisma opaco fu considerato fin dagli anni '30 l'indagine ideale per la diagnosi di diverticolosi e di certi tramiti fistolosi cronici. La sigmoidoscopia invece – che a Pemberton aveva dato un 14% di positività diagnostica, appariva nel 1946 a H.Bockus un esame di scarsa utilità diagnostica ritenendola indicata solo *“per escludere la possibilità di alterazioni associate al di sotto del punto di impianto del diverticolo”*.

Per quanto riguarda la terapia chirurgica delle diverticoliti complicate **gli anni '50** si arricchirono nella letteratura specializzata di numerose casistiche, segno che l'argomento era diventato di moda e aveva riscosso l'interesse dei chirurghi; citerò solo le casistiche più importanti: C.Mayo e C.Blunt 202 casi; J.Pemberton e coll. 100 casi; L.Fallis e M.Marshall 47 casi. A queste si aggiunsero nel 1953 i 114 casi pubblicati da C.Welch e coll. L'analisi dei risultati complessivi di tutte queste osservazioni cliniche indusse Shackelford nel 1954 ad affermare che *“il migliore e più sicuro metodo di cura delle fistole sigmoidovescicali è l'intervento in tre tempi”* dove il primo e terzo tempo erano rispettivamente la confezione e la chiusura di un ano praeternaturale sul colon trasverso, mentre il secondo tempo serviva ad eliminare il tratto fistoloso e a resecare il tratto di sigma malato. Lo stesso Shackelford poi, prendendo in considerazione la diverticolite cronica recidivante, priva però di complicanze di immediato interesse chirurgico, scriveva che *“i ripetuti attacchi di diverticolite rappresentano un rischio reale per la vita del paziente”* e dunque il concetto secondo il quale la diverticolite sarebbe stata una “malattia autolimitante” andava rivisto in favore di un atteggiamento più interventista che prevedesse di risolvere definitivamente i pericolosi disturbi lamentati dal paziente con una adeguata resezione intestinale del tratto malato. Identico atteggiamento fu dieci anni dopo, nel **1963**, quello preso da C.Dennis e da M.Gliedmann nell'8° edizione del Manuale di Chirurgia di Cole e Zollinger.

Oltre all'opportunità di resecare il sigma sede di diverticolite cronica, questi AA, sulla base delle ricerche svolte da Welch sull'evoluzione naturale della malattia diverticolare, si esprimevano in favore della resezione nei soggetti giovani onde arrestare la malattia nelle sue prime fasi. Per le forme acute e pericolose per la vita del paziente essi rimanevano sulle posizioni sopraricordate a proposito degli anni '50.

Nel **1965** Grant **Rodkey** e Claude **Welch** del Massachussetts Generale Hospital di Boston pubblicarono la casistica di malattie diverticolari osservate nel periodo **1960-1964**: in 200 casi la mortalità fu del 5,5% concentrata quasi tutta nei pazienti operati d'urgenza per gravi complicanze acute. L'operazione considerata ideale da questi due Autori fu la resezione del sigma eseguita in due o in tre tempi che – nella lunga esperienza accumulata tra il 1942 e il 1964 in quell'ospedale (418 pazienti operati di resezione colica per malattia diverticolare) aveva comportato solo il 2,1% di ricadute.

Nel **1978** Donald **Gallagher** e Thomas **Russell** dell'Università della California confermarono quanto già esposto dagli AA degli anni '50 e '60 scrivendo che *“i pazienti che hanno avuto un episodio documentato di diverticolite acuta guarita con terapia medica sono soggetti a recidive che possono essere più pericolose, specialmente se hanno meno di 60 anni”* e devono quindi sottoporsi a resezione del segmento intestinale malato. Anche l'altro gruppo di pazienti anziani affetti da diverticolite cronica di carattere ostruttivo per fibrosi densa e ispessimento delle pareti intestinali richiedeva la resezione intestinale e, a proposito di questa, i due AA avvertivano che *“la guida del chirurgo dev'essere la ricerca di parete colica normale per eseguirvi l'anastomosi dopo resezione”*. Nella loro pratica operatoria Gallagher e Russell ammisero di essere stati obbligati in certi casi a ricorrere all'operazione di Hartmann (esclusione dal transito delle feci dell'intestino a valle della resezione e confezione di un ano preternaturale) quando non fu possibile nemmeno eseguire una fistola mucosa distale. Del resto anche l'ano preternaturale sul colon trasverso non fu sempre sufficiente ad impedire una deiscenza dell'anastomosi colica eseguita subito dopo la resezione.

Nel **1983** Mark **Killingback** del Sidney Hospital in Australia pubblicò i risultati di una vasta ricerca condotta dal Royal Australian College of Surgeons tra il 1967 e il 1970 sul tema della diverticolite perforata e della sua cura. I casi accettati dai supervisori delle casistiche furono 248 e rispondevano tutti ai requisiti di essere stati diagnosticati e sottoposti a laparotomia d'urgenza. L'età media di questi pazienti fu di 60 anni con una lieve prevalenza dei maschi sulle femmine. Nel 64% si era trattato del primo attacco di diverticolite acuta e nel 31,9% l'esame radiologico dimostrò aria libera in addome. I chirurghi riuscirono ad identificare la sede della perforazione solo in 95 casi prevalentemente sul sigma (199 su 248), Furono eseguiti sette diversi tipi di operazione con una netta prevalenza dei drenaggi semplici o associati a colostomia (159 su 248); le resezioni-anastomosi furono 37, le resezioni sec. Hartmann 17. La mortalità complessiva fu dell'8,8%.

Nel **1994** B.**Shoji** e J.**Becker** nel trattare il tema delle malattie coloretali negli anziani ricordarono che già nel 1979 L.Morganstern e coll. avevano descritto una forma di *“diverticolite maligna”* dei pazienti più anziani caratterizzata da alta morbidità e mortalità a causa di una forte infiammazione flemmonosa accompagnata da ostruzione colica e fistolizzazione. I due AA sostennero a questo proposito la necessità di dare inizio ad una cura medica “aggressiva” e a un trattamento chirurgico precoce onde evitare una evoluzione così funesta. Shoji e Becker confermarono quanto già noto da tempo sulle opzioni operatorie (cura in tempo unico oppure in due o in tre tempi).

Nel 1995 J.C.Rambaud e Y.Bouhnik indicavano l'impiego di farmaci attivi contro gli anaerobi (Augmentin oppure Flagyl), ghiaccio locale e sospensione dell'alimentazione orale negli attacchi di diverticolite acuta mantenendo però una “attesa armata” fino a risoluzione spontanea della fase acuta. Se non c'era necessità di intervenire “a caldo” (resezione dell'intestino malato e doppia colostomia, a monte e a valle) gli AA consigliavano di rinviare la soluzione “a freddo” (resezione e anastomosi in tempo unico) a 2-3 mesi dalla fine dell'episodio acuto.

Nel corso degli **anni '80 e '90** si fece strada in molti centri ospedalieri europei e americani la cura chirurgica della malattia diverticolare cronica con resezione e anastomosi in tempo unico.

Cancro del Grosso Intestino

Nel **primo decennio** del XX secolo J.P.Tuttle su una casistica di 2434 tumori maligni dell'intestino comprendente quelli del tenue e del duodeno trovò che il cancro del colon era 2,7 volte meno frequente di quello del retto ma 2,2 volte più frequente di quello del cieco e 10,5 volte più di quello del tenue.

Le tre condizioni in cui i clinici di quei tempi si trovavano a fare la diagnosi di un cancro del grosso intestino si verificavano: 1°- quando non esistevano che dei semplici disturbi colici. 2°- quando c'era una tumefazione palpabile a carico dell'intestino. 3°- quando si era stabilita un'occlusione intestinale

Il più delle volte il diagnosta si appoggiava sul sospetto che la ripetizione frequente delle cosiddette "*crisi coliche*" in un paziente al di sopra dei 50 anni fosse dovuta ad un tumore maligno dell'intestino. La palpazione di una tumefazione colica poneva a sua volta la delicata diagnosi differenziale fra cancro, tumori infiammatori, cosiddette "*coliti parietali*" e tubercolosi colica: per la diagnosi di cancro deponevano la sua durezza, la sua irregolarità e il suo volume medio. Molto usata era la palpazione combinata retto-addominale a paziente supino con il bacino sopraelevato rispetto al torace. La rettosigmoidoscopia consentiva di ispezionare l'interno del retto-sigma fino a 30 cm dall'ano. Quénu era stato un propugnatore di questo metodo esplorativo e della possibilità di utilizzarlo per eseguire biopsie. Anche la "*radiografia dopo iniezione di bismuto ha permesso di riconoscere la sede e la forma dei tumori colici stenosanti.*" (P.Duval – 1906). Lo studio del rapporto solforico di Baumann nelle urine veniva fatto per riconoscere la putrefazione da ristagno di feci. Krokueiz sosteneva che la diazoreazione era sintomo sicuro di cancro dell'intestino. Nonostante tutto l'aiuto offerto da questi mezzi diagnostici, spesso i clinici del primo ventennio del Novecento erano costretti a riconoscere che "*davanti a queste difficoltà cliniche, davanti alla mancanza di sintomi propri del cancro in fase iniziale, è logico, in presenza di una sindrome colica netta e ripetuta, in un malato adulto, ricorrere alla laparotomia esplorativa. Soltanto quando manca un tumore netto e palpabile si può intervenire a tempo nel cancro del colon*". La cura, radicale o palliativa, consisteva nel primo caso in una resezione segmentaria del colon e del sistema linfatico tributario con successivo ripristino con una tecnica qualsiasi della continuità intestinale e, nel secondo caso, in un ano contro natura definitivo o nelle anastomosi - esclusioni intestinali.

Nel **1902** V.Mikulicz su 63 casi di resezione colica per cancro contò una mortalità operatoria immediata del 33.7%. L'anno seguente pubblicò 37 casi con 11 decessi (29,8%) Anche la casistica di Hochenegg contava nel 1902 otto morti su 30 resecati mentre B.Follard nel 1904 su 17 operati con intenti radicali non ebbe alcuna mortalità. Duval nel **1906** scriveva che "*i risultati a distanza sono dei più incoraggianti. La recidiva postoperatoria sui 63 casi che noi abbiamo riuniti si è presentata nel 40,5% dei casi e vi troviamo 13 guarigioni prolungate da più mesi a 14 anni (casistica di Krönlein), a 15 anni (casistica di Martini) ed il 16% di guarigioni oltre un anno*". I tipi di operazione radicale che si contendevano il favore dei chirurghi del primo decennio del Novecento erano due: 1°- l'operazione di Reyhard (1883), colectomia in tempo unico con anastomosi colica terminotermiale immediata. 2°- le operazioni in più tempi ideate da Bloch, da Mikulicz, da Wölfler. Il primo di questi chirurghi esteriorizzava il tumore e ne reseca il segmento intestinale interessato dal tumore solo dopo che si erano formate sufficienti e sicure aderenze visceroparietali, poi chiudeva l'ano a canne di fucile. Mikulicz praticava prima un ano praeter a monte della neoplasia e in un secondo tempo reseca il tumore e ano praeter

eseguendo subito la colorrafia per ricostruire la continuità intestinale. Wölfler praticava l'ano praeter, in un secondo tempo reseca il tumore e costruiva l'anastomosi, in un terzo tempo chiudeva l'ano a monte della resezione. L'operazione in tempo unico comportava una mortalità del 46% mentre le operazioni in più tempi si mantenevano su una mortalità media del 13%. Le difficoltà incontrate nel ricostruire la continuità intestinale dopo resezioni molto ampie furono risolte in vari modi: nel **1911** il chirurgo londinese Fenwick, che aveva resecato un tumore del sigma, non riuscendo ad avvicinare senza tensione i due monconi sezionò un'ansa di tenue lasciandola unita al suo meso e la interpose facendo la riunione a monte e a valle con due bottoni di Murphy e il paziente guarì. Nello stesso anno Faltin di Helsingfors, che aveva resecato per trombosi mesenterica il colon dall'inizio del trasverso fino alla parte distale del sigma, divise un'ansa del tenue dal suo meso mantenendole la circolazione sanguigna e la invaginò in basso nel retto mentre in alto la anastomizzò terminolateralmente sul trasverso e conservò il moncone del trasverso aperto e fissato alla ferita laparotomica; l'innesto rimase vitale e funzionò e l'ano di sicurezza poté essere chiuso in un secondo tempo. Del resto studi sperimentali degli italiani Bonomo e Rho nel 1896 avevano già dimostrato la possibilità di trapiantare segmenti di tenue tra due monconi di colon dopo resezione di questo.

Nel **1908** Duval continuava a difendere fin dal 1898 l'**ileosigmoidostomia** come la migliore anastomosi palliativa per curare i cancro inasportabili. La mortalità media riportata dalle operazioni palliative nei primi anni del secolo raggiungeva il 24,3% sec. De Bovi mentre la sopravvivenza media denunciata da Mikulicz era di otto mesi e mezzo.

Nel **1920**, in una sua monografia sulla Chirurgia dell'Intestino, a proposito delle operazioni chirurgiche demolitive per la cura del cancro del colon, **P.Tasca** metteva in luce due delicati aspetti di esse con queste parole: *"...mai come in queste operazioni di parziale demolizione si valuta l'imbarazzo che la conoscenza della deficiente vascolarizzazione del crasso induce nel chirurgo; il quale, dopo aver legato dei rami vasali di un certo calibro si trova a dover determinare l'ampiezza da darsi alla resezione: la facilità delle gangrene dei monconi dopo legatura dei rami delle due mesenteriche fa sì che non si sia mai sicuri delle misure entro le quali la resezione può ancora dare dei monconi vitali; condizioni volta a volta mutevoli possono influenzare la misura dei compensi di irrorazione sanguigna così da rendere fallace il più scrupoloso apprezzamento fatto sulla guida delle cognizioni anatomiche. Perciò è di regola presso i moderni chirurghi che hanno dato alla chirurgia del crasso un impulso notevole, di oltrepassare sempre nelle resezioni parziali quei limiti che le previsioni basate sulla fisiologia della circolazione sanguigna del crasso potrebbero suggerire"* e più avanti aggiungeva *"...intervenendo in stato di occlusione è indicato di provvedere alla rimozione dell'occlusione con un ano preternaturale (tiflostomia) senza fare altri atti operativi che per la loro aggressività sarebbero mal tollerati. Intervenendo fuori dallo stato di occlusione si può scegliere fra i metodi di operazione in più tempi e quelli in un tempo solo"*.

Infatti la resezione colica in tempo unico nel **periodo 1910-1930** era stata rimessa in voga da chirurghi europei e americani, sempre però escludendo i casi di occlusione intestinale. I seri inconvenienti legati alla deiscenza di suture anastomotiche eseguite alla fine della resezione colica avevano spinto molti capiscuola come Bayer, Mayo, Lerda, Körte e Tistze a rendere extraperitoneale l'anastomosi appena confezionata fissando al mesentere, vicino alla anastomosi, due lembi di peritoneo parietale precedentemente scollati e lasciando quindi aperta la ferita laparotomica in corrispondenza della sutura intestinale. *"In generale i drenaggi sono da proscrivere; si impiegheranno solo quando si abbiano forti timori sullo stato di asetticità postoperatoria del peritoneo"* (P.Tasca-1920).

A seconda della sede del tumore gli AA francesi, specialmente quelli della scuola di Lione, dividevano i cancro del colon in due sezioni: *"cancer du colon droit"* (cieco, colon ascendente, flessura colica destra) e *"cancer du colon gauche"* (colon trasverso, flessura

splenica, discendente e sigma). L'emicolectomia destra con conseguente anastomosi ileotrasversocolica era la soluzione dei cancri di destra, mentre, dopo aver eseguito una delle resezioni segmentarie coliche per i cancri di sinistra, la preferenza era data all'anastomosi cecocolica.

L'americano Mayo distingueva a seconda della sede del tumore l'estensione delle resezioni coliche in tre tipi: la resezione colica destra senza asportare la flessura epatica, la resezione del trasverso con le sue due flessure epatica e splenica e la resezione colica di sinistra comprendente colon sinistro e sigma.

Il tedesco **Körte** si basava sulla distribuzione arteriosa e distingueva la sede dei tumori e le relative resezioni in quattro gruppi: 1° gruppo (cieco, colon ascendente e flessura epatica) che richiedeva legatura della a.colica media e dell'a. ileocolica. 2°- gruppo di tutto il colon trasverso con legature di a.coliche sup. di destra e di sinistra (anastomosi di Riolo). 3°- gruppo dell'angolo splenico e colon discendente con legatura di a.colica inferiore e media di sinistra. 4°- gruppo del sigma con legatura delle sigmoidee all'origine dalla mesenterica inferiore.

Nei primi anni '50 lo studio dei fattori predisponenti l'insorgenza del cancro del colon e del retto interessò particolarmente i patologi e i clinici che riuscirono a focalizzare la loro attenzione su tre fattori che, in seguito, grazie all'approfondimento ottenuto con ulteriori ricerche condotte con nuove metodiche, si sarebbero dimostrati perfettamente centrati: la preesistenza di polipi (adenomi benigni che con il passare del tempo andavano incontro a trasformazione maligna), la colite ulcerosa datante da molto tempo in forma cronica, la predisposizione ereditaria e la familiarità. Furono **R.Coffey** e **S.Brinig** nel **1950** a valutare che circa il 75% dei carcinomi del colon aveva origine da polipi adenomatosi preesistenti. A loro volta **E.Kieffer** e collaboratori studiarono nel **1951** 672 pazienti affetti da colite ulcerosa cronica e osservarono che essa predisponesse al cancro i pazienti più giovani specie quando la malattia durava da 10 anni e più. Nello stesso anno una pubblicazione firmata da **A.Lyons** e **J.Garlock** riportò un'incidenza del cancro del 3,9% in 226 malati di colite ulcerosa datante da molti anni (oltre 12 anni). Secondo questi due autori era molto pericoloso non asportare un retto o un colon colpiti da colite ulcerosa cronica specie se associata a degenerazione polipoide. Negli anni '30 e '40 era infine già ben conosciuta l'altissima predisposizione ad ammalare di cancro dei portatori di poliposi rettocolica ereditaria ma, oltre a questa, erano altrettanto noti casi di manifesta familiarità che inducevano nel 1946 **J.Berk** ad affermare che *"è la predisposizione che viene ereditata ma per la comparsa di un carcinoma alla predisposizione ereditaria deve associarsi un altro fattore"*. Fu questo il vaticinio, che si rivelò esatto, di quel fattore che verrà in seguito definito *"genetico"*.

Lo stesso Berk scrisse nel **1940** che i tumori maligni del tubo digerente erano la causa del 46% di tutte le morti per neoplasie negli USA e l'11% era da attribuirsi a cancri del colon mentre il 5-6% riguardava quelli del retto. L'insieme di tutti i tumori maligni del grosso intestino provocava circa 27.000 morti all'anno negli USA. Due terzi di questi tumori interessavano il colon sinistro e il retto e un terzo il colon destro. Per il 95% i cancri erano dati da adenocarcinomi di varia tipologia macroscopica (nodulare, scirroso, colloide, papillifero), per il 2% da carcinoidi e per il 3% da linfomi e sarcomi. Un dato macroscopico fornito da Berk già nel 1946, ma evidentemente tratto anche da osservazioni anatomopatologiche precedenti, fu quello del volume medio della neoplasia che è massimo nelle forme nate nel cieco *"per diminuire poi progressivamente scendendo in direzione del retto"*.

Ancora negli anni '30 e '40 gli studi correlati di anatomia patologica e di clinica chirurgica portarono in primo piano il grado di malignità dei tumori del grosso intestino, quello che nei decenni finali del Novecento verrà definito *"grading"* assumendo importanti riflessi in

campo prognostico e di scelte terapeutiche. Il primo metodo di valutazione del grado di malignità fu quello proposto da **Dukes** e fondato sulla profondità di infiltrazione della parete intestinale e sulla presenza di metastasi; seguì il metodo di **Broder** basato sulle rispettive proporzioni quantitative di elementi cellulari più e meno differenziati, attribuendo il grado più alto di malignità alla massima quantità di cellule indifferenziate. F.Rankin e C.Johnson scrissero nel 1941 che il 66% dei cancro del colon destro e il 75% di quello sinistro erano dei tipi I e II (cioè quelli con minore malignità) della scala di Broder. Questi dati corrispondevano a quelli già pubblicati nel 1939 da A.Ochsner e M.DeBakey secondo i quali nei carcinomi del colon della loro casistica avevano trovato un 75% appartenente alle classi I e II di Broder.

F.Coller e coll. nel 1941 trovarono che nella loro casistica di cancro del grosso intestino il 60% presentava già metastasi linfatiche (62% dei cancro del colon destro e 60% di quelli del colon sinistro). La velocità di metastatizzazione fu osservata essere differente a seconda del tipo macroscopico di cancro (più lenta nel tipo colloide) o del tratto di colon-retto interessato (più precoce nei tumori del sigma e del retto).

Negli stessi **anni '30 e '40** era già ben conosciuto il fatto che il primo periodo di sviluppo del tumore era del tutto asintomatico e che la sintomatologia, quando faceva la sua comparsa, *“era la risultante delle complicazioni indotte dalla neoplasia”* (irritazione del viscere; ostruzione; ulcerazione e perdite ematiche occulte; infezione secondaria; reazione peritoneale; cachessia). Nella casistica di Rankin e coll. pubblicata nel 1941 il 30% dei tumori del colon destro aveva creato *“uno stato anemico e perdita di forza senza visibile perdita di sangue”*, sintomi questi molto tardivi nei cancro del colon sinistro. La massa palpabile era data presente in un terzo dei malati e, tra gli esami diagnostici, Shackelford già nel **1951** sottolineava l'importanza del clisma baritato eseguito con la tecnica del doppio contrasto liquido e gassoso, della rettosigmoidoscopia e della ricerca del sangue occulto nelle feci.

La preparazione del malato all'intervento di resezione colica veniva fatto già dagli ultimi anni '30 con numerosi clismi di pulizia e con l'aggiunta di enterovioformio per os allo scopo di ridurre al massimo possibile la flora intestinale. Dell'opportunità di questa preparazione la convinzione era unanime e aveva trovato riscontro nella riduzione delle sepsi postoperatorie locali e generalizzate.

I **limiti dell'utile operabilità** erano identificati dai chirurghi degli **anni '40 e '50** con la situazione in cui eventuali metastasi linfoghiandolari erano confinate al territorio regionale di drenaggio del segmento colico sede della neoplasia, quando non c'erano metastasi epatiche e/o polmonari o in altre sedi lontane e il tumore non si estendeva per contiguità ad organi adiacenti non asportabili. Dunque l'intervento chirurgico con intendimento radicale comportava già allora la resezione d'*emblée*, con il tratto di colon malato, del corrispettivo triangolo mesenterico fino alla origine dei vasi arteriosi colici dalle arterie mesenteriche. La raccomandazione fatta da Bickam-Callander-Shackelford era quella di praticare l'operazione in maniera *“estremamente meticolosa e metodica”*, adattandola al singolo paziente e alla situazione anatomopatologica valutata ad addome aperto evitando di irrigidirsi nell'assoluto rispetto di una tecnica standard e del tempo impiegato per portare a termine correttamente l'operazione. Per i tumori del colon destro e della flessura colica destra l'intervento di scelta era l'emicolectomia destra con anastomosi finale ileotrasversocolica immediata; quest'ultima diventava invece l'unico intervento palliativo in caso di tumore inestirpabile dello stesso settore. Per i tumori del colon trasverso nella sua parte di mezzo veniva consigliata la mobilitazione delle due flessure, la resezione completa del trasverso con legatura dell'arteria colica media alla sua origine dalla mesenterica e anastomosi colo-colica tra le due flessure. Per le neoplasie della flessura colica sinistra si eseguiva la emicolectomia destra allargata all'intera flessura sinistra seguita da ileocolostomia con il colon discendente. Per quelle del discendente e del sigma

la resezione interessava la metà distale del colon trasverso, la flessura splenica e un tratto di colon discendente fino a 6 cm sotto il tumore. In queste operazioni le arterie colica sinistra e sigmoidea venivano legate all'origine dalla mesenterica inferiore. Per le neoplasie del sigma – che erano le più frequenti - si eseguiva la cosiddetta “**resezione anteriore**”, termine che indicava l'asportazione del tratto di sigma sede del tumore e la metà distale del colon discendente solo se il tumore distava dallo sfondato peritoneale pelvico non meno di 12 cm e se ne asportavano 6 sotto il tumore. La resezione terminava con una colonsigmoidostomia terminotermiale previa mobilizzazione della flessura splenica. Quando invece la neoplasia aveva sede nella parte bassa del sigma, cioè a meno di 12 cm dalla riflessione peritoneale, il consiglio era quello di praticare l'**amputazione dell'ano-retto-sigma sec. Miles**, operazione ampiamente demolitrice che terminava obbligatoriamente con la confezione di un ano artificiale praeternaturale (colostomia) definitivo in fossa iliaca sinistra. I tumori inasportabili del colon sinistro e del sigma venivano trattati con la sigmoidostomia a monte del tumore oppure con la colostomia sul trasverso.

Nel 1932 A.Stout aveva scritto che i pazienti affetti da tumori colici non operati o trattati con interventi palliativi per inestirpabilità della neoplasia avevano una previsione di vita media di 6 mesi. Nel 1935 invece W.Gabriel e O. Lloyd-Davies affermarono che le colostomie prolungavano la sopravvivenza di 18 mesi e che lo stesso effetto si otteneva con le derivazioni interne colo-coliche mantenendo la funzione colon-retto-ale. Shackelford nel 1949 riteneva che l'indice di guarigione dei cancri del colon era il più alto di tutti i cancri del tubo digerente e che il 50% dei pazienti trattati in modo radicale aveva dimostrato di sopravvivere 5 anni e oltre.

Molto interessanti dal punto di vista storico sono i dati pubblicati nel **1953** da R.S. **Grinnell**, del Presbyterian Hospital di New York, e riguardanti 2341 pazienti di cui 1667 viventi da oltre 5 anni all'epoca del follow-up che rivelò i seguenti risultati: per i tumori del colon l'indice di operabilità era progressivamente salito dal 50% del periodo 1916-1920 al 92,1% del periodo 1945-1950; l'indice di mortalità operatoria era sceso dal 31,3% del primo periodo al 5,3% del secondo; per i tumori del retto l'operabilità era salita dal 65,7% all'83,3% e la mortalità era scesa dal 40,9% al 6,7%

Anche l'effetto delle **metastasi linfoghiandolari** sulla sopravvivenza risaltò in modo spiccato nell'analisi di Grinnell: la sopravvivenza a 5 anni degli operati con intenti di radicalità tra il 1936 e il 1945 fu del 67,9% nei casi con linfonodi indenni e solo del 36,7% in quelli con linfonodi invasivi. Lo stesso autore lamentò un peggioramento dei risultati dell'operazione radicale addominoperineale di Miles nell'ultimo periodo da lui analizzato (1941-1945) e imputò questi deludenti risultati ad un eccesso di tentativi di radicalità in neoplasie troppo estese; nello stesso tempo osservò una progressiva sostituzione della colostomia e delle anastomosi colon-coliche a scopo palliativo con le resezioni della neoplasia che apportavano maggiori benefici ai pazienti che non era possibile operare radicalmente “*anche se non ne prolungavano il periodo di sopravvivenza*”.

Altri autori angloamericani confermarono quanto pubblicato da Bickham e coll. e da Grinnell: nel 1941 B.Colcock affermò che gli operati viventi e in buone condizioni di salute a 5 anni di distanza dalla operazione radicale “*possono attendersi una guarigione definitiva*” e R.Gilchrist e V.David nel 1947 pubblicarono un 57% di sopravvivenze a 5 anni con una netta differenza tra i casi senza metastasi linfoghiandolari (78,5%) e quelli con metastasi (44,8%).

Quanto esposto finora sulla patologia e sulla cura del cancro del grosso intestino e, in particolare, del colon mette in evidenza il progressivo miglioramento della diagnostica, delle tecniche operatorie e dei risultati dall'inizio del secolo all'inizio degli anni '50.

E' ora il momento di esporre in modo più sintetico quanto riguarda la patologia e la clinica dei cancri del colon prima di affrontare la storia di quelli del retto e dell'ano.

I miglioramenti registrati nel **1961** (dati della American Cancer Society) nella diagnosi, nella anestesia e nella chirurgia dei cancro del grosso intestino rispetto alle statistiche di fine anni '40 furono determinanti nell'aumentare le percentuali di sopravvivenza a 5 anni dalla cura chirurgica come attestato dalla vasta ricerca condotta in California e nel Connecticut da M.Axell e coll nella monografia n°6 del National Cancer Institute pubblicata nel settembre del **1961**: dal 28 al 38% nei maschi e dal 33 al 44% nelle femmine. Nelle forme localizzate (gradi A e B di Dukes) il miglioramento della sopravvivenza fu rispettivamente del 61 e del 70 % nei due sessi. L'interpretazione data nel febbraio del **1970** da P.Rosi, dell'università di Chicago, fu che questo importante miglioramento delle forme limitate di cancro colico sarebbe stato dovuto alla esecuzione di resezioni coliche più ampie per i cancro del colon. Quanto al diagnostico, Rosi citava solo un *“accurato esame radiologico del colon mediante clisma opaco e un esame rettosigmoidoscopico per evidenziare la eventuale presenza di una malattia infiammatoria dell'intestino, di polipi, di carcinomi multipli sincroni del colon, tutte condizioni capaci di influenzare il programma della cura chirurgica”* (in *“Surg.Clin.North Am.”* del **1970**). Quattro mesi dopo N.Swinton e D.O'Keefe della Lahey Clinic di Boston consigliavano sulla stessa rivista di eseguire la proctosigmoidoscopia, ove possibile, prima dello studio radiologico del colon e preferibilmente dallo stesso chirurgo che avrebbe avuto l'incarico di operare il paziente, e di sottoporre al clisma opaco il malato dopo una accurata pulizia del grosso intestino. Quando il clisma opaco non dava un risultato soddisfacente suggerivano di associarvi l'insufflazione d'aria per ottenere le definizioni migliori del tumore grazie al contrasto; insistevano poi sulla particolare cura nell'esaminare le aree più nascoste e difficili da radiografare come la flessura splenica, la flessura epatica e il tratto di passaggio retto-sigma. Come estrema risorsa diagnostica nei casi in cui ripetuti clismi opachi non erano riusciti a evidenziare la sede di un tumore la cui esistenza era peraltro molto sospetta in base all'esame clinico e alla positività della ricerca del sangue occulto, i due AA proponevano l'angiografia pensando anche alla rara possibilità di emangiomi del cieco. Infine dichiaravano che raramente erano ricorsi all'artificio di incannulare gli ureteri allo scopo di evitarne le lesioni durante le manovre operatorie di isolamento del tumore mentre insistevano sull'importanza di una buona urografia in tutti i candidati ad una colectomia.

La pulizia preoperatoria del grosso intestino era ancora affidata **alla fine degli anni Sessanta** a 60 ml di olio di ricino 48 ore prima dell'intervento. I tentativi di diminuire drasticamente la flora intestinale con neomicina, sulfasuccidina, sulfatiodina erano stati accompagnati da uno squilibrio così importante della flora batterica intestinale che non erano mancati casi di superinfezione e in particolare della temibile enterocolite stafilococcica (H.Azar e coll. in *“Am.Surg.”* del 1968). Fu questo il motivo per il quale O.Wangensteen (**1968**) e J.Waugh (**1967**) avevano deciso di non usare antibiotici e di limitarsi ad una semplice pulizia meccanica del colon nelle ultime 48 ore prima dell'operazione. Goligher invece aggiungeva la neomicina ai diversi clismi di pulizia effettuati in quelle 48 ore del preoperatorio.

I fondamentali miglioramenti della tecnica operatoria che, sempre più diffusamente applicati nella seconda metà degli anni Sessanta, giovarono al maggior numero di successi duraturi dopo resezioni coliche per cancro avevano le loro radici nelle osservazioni anatomiche e chirurgiche pubblicate ancora da Payton Barnes nel 1953 e da Cole e Southwick nel 1959. Fu da queste fonti che R.**Turnbull** e la sua scuola trassero la spinta a diffondere **la pratica del “no touch”** sul tumore ad addome appena aperto e delle **legature primarie** dei vasi mesenterici tributari della sezione colica da asportare (*“Ann.Surg.”* **1967**). Rimanevano comunque intorno al 1970 alcune incertezze sull'estensione di colon da asportare. O.Wangensteen propugnò nel **1968** una colectomia subtotale indipendentemente dalla sede del tumore giustificando questa scelta radicale con i

numerosi casi in cui a forte distanza dal tumore erano stati riscontrati polipi adenomatosi di varia grandezza (38%) e con il 7% di carcinomi sincroni da lui stesso osservati. In pratica questa colectomia subtotale fu riservata dalla maggior parte dei chirurghi americani ed europei ad alcuni casi di poliposi e a rari casi di carcinomi sincroni preventivamente o intraoperatoriamente accertati.

I chirurghi invece che **negli anni '60** vollero attenersi strettamente alle conoscenze anatomiche della distribuzione linfatica dei vari settori del colon oltre ad eseguire l'emicolectomia sinistra con la sezione alta a livello della flessura splenica per i tumori del discendente e del sigma (operazione che terminava con una trasversorettostomia) e, per i tumori del colon ascendente, una emicolectomia destra molto ampia il cui taglio distale coincideva con la flessura splenica operazione che terminava con una ileodiscendentestomia), eseguivano una resezione del cieco e della metà distale dell'ascendente per i tumori del cieco e una resezione di tutto il trasverso con le due flessure e parte del discendente per i tumori della flessura splenica. Per quest'ultimo caso altri eseguivano addirittura una colectomia subtotale.

Un problema che assillò i chirurghi degli **anni '60** fu quello delle recidive a livello di anastomosi coliche da insemminazione di cellule neoplastiche durante la confezione dell'anastomosi a cielo aperto. Uno studio retrospettivo a 5 e più anni di distanza quantificò questo inconveniente in valori compresi tra il 15 e il 19,5%. L'impiego di lavaggi con due o tre litri di acqua sterile fece cadere questi valori al 2,9%. Goligher usava invece irrigare il colon operato con bicloruro di Hg 1:1500 e Cole con cloropactin al 1%. L.Rousselot e coll. attribuirono una forte riduzione di queste recidive anastomotiche e un aumento della sopravvivenza dei canceri del colon in stadio C di Dukes all'iniezione di 5-fluorouracile nel lume di un tratto di colon legato a monte e a valle del tumore prima di resecare e attendendo 30' prima di legare i vasi mesenterici tributari della sede del cancro (*"Am.J.Surg."* del **1968**).

In caso di occlusione da neoplasie del colon sinistro era regola generale praticare d'urgenza un ano di sicurezza sul colon trasverso rimandando la resezione di due o tre settimane. La pesante mortalità e l'alta morbilità delle resezioni d'emblée aveva scoraggiato anche i chirurghi più audaci. Per le occlusioni da tumori situati tra il cieco e la flessura splenica la soluzione adottata dalla maggior parte dei chirurghi anglosassoni era anzitutto l'applicazione di un sondino nasogastrointestinale tipo Miller-Abbott fino a riequilibrio delle costanti idroelettrolitiche. L'operazione veniva eseguita nel momento giudicato ottimale per una resezione colica segmentaria con relativa asportazione della parte corrispondente di mesocolon e linfonodi e anastomosi tra ileo e colon normale a valle della sede del tumore. La ciecostomia d'urgenza veniva effettuata solo nei pazienti a più alto rischio e molto defedati. Non si faceva cenno in letteratura di anastomosi ileocoliche bypassanti la sede dell'ostruzione eseguite in urgenza.

Gli anni Settanta furono dedicati intensamente ai problemi della diagnosi precoce, dell'educazione di validi proctocolonscopisti, di produzione di nuovi e più efficienti colonscopi, di ricerche sistematiche sulla popolazione di media età e sui soggetti a rischio con Hemoccult-test al guaiaco, di ricerche in campo eziologico, delle cure adjuvanti, degli antibiotici nella chirurgia del colon e di altri argomenti ancora. Ne passeremo in rassegna alcuni tra i più trattati in modo approfondito.

Anzitutto ricorderemo un dato epidemiologico fornito dall'American Cancer Society nel **1978**: questa associazione prevedeva che 101.000 americani sarebbero stati colpiti da cancro del colon-retto nel corso di quell'anno, una cifra inferiore solo a quella di coloro che si sarebbero ammalati di epitelomi maligni non melanomi. Dei 51.000 destinati a morire gli specialisti della materia ritenevano che due su tre avrebbero potuto salvarsi grazie ad una diagnosi precoce e a un pronto trattamento. Fattori altamente predisponenti e ben conosciuti erano il rischio del 50% di ammalare di cancro colonrettale nei figli e altri

famigliari di persone che erano state affette da poliposi familiare così come il rischio rappresentato dagli esiti di una colite ulcerosa sofferta dieci anni prima. Nel 1973 H.Markman e coll. sulla rivista *Cancer* lamentavano che il cancro del colon-retto era uno dei capitoli della patologia e della clinica meno studiati nelle università americane

Dell'eziologia in particolare si interessò negli anni '70 l'American Health Foundation puntando molto sui rapporti tra la dieta e l'insorgenza dei cancri del grosso intestino negli animali d'esperimento. Una scoperta pubblicata nel 1975 da J.Rhoades fu quella di diverse sostanze chimiche di sintesi responsabili dell'insorgenza di carcinomi colici dopo 10 mesi di latenza e facilmente riproducibili. Anche la cycasina, un prodotto naturale della *Cycas* dimostrò di produrre, con l'aiuto della flora intestinale, il cancro colico nei ratti. Nel 1973 il dr.Ernest Wynder, presidente dell'American Health Foundation sostenne, in un'intervista che fece molto rumore, che *“gli americani dovrebbero mangiare meno grassi animali a causa della loro possibile associazione con il cancro del colon e con il tasso ematico di colesterolo superiore alla norma”*

I programmi di insegnamento della tecnica di proctosigmoidoscopia erano già stati avviati nei primi anni '60 ma nel maggio del 1973 trovarono una nuova e forte spinta da parte del National Board che istituì una *National Task Force* con lo scopo di far migliorare il più rapidamente possibile le percentuali di sopravvivenza. Su raccomandazione di questa Task Force l'American Cancer Society approvò fondi per istituire presso molti ospedali le relative scuole di endoscopia. La stessa associazione con l'aiuto di altre organizzazioni sanitarie degli USA riuscirono a far approvare nel 1971 dal Congresso una legge che prese il nome di *National Cancer Act*. Alcuni mesi prima si era tenuto a Los Angeles il primo congresso nazionale sul cancro del colon e del retto. Il secondo congresso fu tenuto nel settembre del 1973 in Florida e il terzo nel 1977 a Houston nel Texas. Fu allora deciso che questi congressi avrebbero avuto dal 1978 in poi svolgimento annuale.

Per quanto riguarda l'asestamento dei metodi di resezione colica è sufficiente riportare qui i concetti esposti da M.Stearns del Memorial Sloan Kettering Cancer Center di New York dove copriva le funzioni di primario del servizio delle malattie rettali e coliche: *“L'operazione convenzionale corrisponde ad una resezione segmentaria con una piccola porzione di mesentere, un'operazione del tipo che un chirurgo potrebbe fare per una diverticolite isolata. Il metodo della operazione “no touch” corrisponde ad una emicolectomia sinistra con ampia resezione mesenterica all'origine dei vasi mesenterici inferiori. E' nostra convinzione che il lato più importante di questa operazione consiste nell'adeguatezza della asportazione del cancro”*.

La **chemioterapia adiuvante** fu studiata a fondo negli anni Settanta dal gruppo della Veteran Administration diretto da G.A.Higgins che rese pubblici i risultati di due trials di cura postoperatoria con 5-fluorouracile in 1181 pazienti. Altri studi randomizzati con la stessa sostanza furono tenuti del Central Oncology Group diretto da C.Grage (289 pazienti) e dal Nassan Hospital di New York. Le curve di sopravvivenza molto simili fra tutti questi studi randomizzati dimostrarono il raggiungimento di una più o meno maggiore sopravvivenza. In particolare le sopravvivenze a 5 anni degli operati trattati con 5-fluorouracile negli ospedali della Veterans Administration furono nelle resezioni “curative” del 58,2% contro il 48% dei pazienti non trattati e in quelle “palliative” (dichiarate dai chirurghi come tali) del 35,7% dopo 18 mesi contro il 16,7% dei non trattati con 5-FU.

Invece la chemioterapia endoluminale con 5-FU in 203 pazienti, che avevano avuto una resezione “curativa”, il beneficio rispetto ai non trattati con 5-FU ci fu ma al di sotto di un valore statistico. Nei risultati a distanza di 7 anni dall'intervento di altri trials condotti da Rousselot e da Grossi (1977) su 500 pazienti non fu osservata alcuna differenza fra quelli trattati con 5-FU endoluminale il giorno dell'operazione e quelli non trattati.

Nel febbraio del **1983** i trials della Veterans Administration erano ancora in atto ed erano diventati cinque e il Gastrointestinal Tumor Study Group aveva appena concluso un trial iniziato negli anni Settanta. In queste cure postoperatorie oltre al 5-FU era usato anche il metil-CCNU e il residuo estratto di metanolo e nel 1977 I.Taylor pubblicò i primi risultati ottenuti iniettando con infusione continua nella vena ombelicale 5-FU nell'immediato postoperatorio. Il numero delle metastasi epatiche, rispetto a quello dei controlli, era nettamente inferiore. G.A.Higgins concludeva che *"i dati che si stanno accumulando sono a favore della chemioterapia postoperatoria nei pazienti del gruppo ad alto rischio, in particolare in quelli con linfonodi positivi"*.

Un argomento che fu riesumato da H.Polk e J.Spratt dell'università di Louisville fu nei **primi anni Ottanta** quello delle recidive di cancro del colon già affrontato da altri AA fin dal 1959 (Wangensteen) e soprattutto negli anni Settanta (J.Foster in *Am.J.Surg* 1978; J.Minton e coll. in *Sug.Gyn.Obst.* 1978; E.Martin e coll. in *AmJ.Surg.* 1979). I fattori cruciali messi in luce da Polk e Spratt e da altri studi furono identificati in: 1°- natura del tumore primitivo, 2°- sede della recidiva, 3°- intervallo di tempo tra resezione e recidiva. L'unica arma per evitare di trovarsi di fronte a recidive intrattabili chirurgicamente e doversi obbligatoriamente rivolgere ad un programma palliativo, fu identificata nel follow-up ma fin dagli anni '50 questo fu indicato e attuato in modo del tutto empirico e personale: gli intervalli degli esami di controllo variavano dai due ai sei mesi e la qualità e la serie degli esami clinico-strumentali di controllo variava ampiamente da scuola a scuola. Polk e Spratt, la cui esperienza in questo campo durava dai primi anni Sessanta ed era stata accompagnata da sette pubblicazioni, erano arrivati al punto di definire almeno tre fatti fondamentali e sicuri: 1°- il 50% delle recidive locali o a distanza di un cancro del colon curato chirurgicamente con intenti radicali si verifica entro i primi 18 mesi dal primo intervento. 2°- certi aspetti della recidiva risultano tipici di uno specifico tipo di cancro e quindi queste caratteristiche furono incluse dagli AA nel programma di follow-up. 3°- alcuni sintomi, i rilievi obiettivi e certi esami risultano più utili se eseguiti ad una certa data rispetto ad altri. Ad es. risultò molto utile che per le anastomosi coliche l'esame con clisma di contrasto (aria e bario) fosse eseguito nel secondo o terzo mese del postoperatorio. Lo schema generale degli esami di controllo per le resezioni e anastomosi coliche al di sopra di 25 cm dall'ano prevedeva controlli ogni 2 mesi per il primo anno, ogni 4 mesi per il secondo anno, ogni sei mesi per il terzo anno e infine al 42° e 48° mese. Questi esami prevedevano il clisma opaco, l'esame del sangue occulto nelle feci e l'esame clinico della sede del tumore primitivo. Stranamente non venivano citate né le colonscopie di controllo né l'ecografia del fegato, sebbene all'epoca del lavoro pubblicato dai due AA sul *Surg.Clin.North Am.* questi due esami cominciavano ad essere praticati di routine in molti ospedali americani ed europei. L'esame radiologico del torace veniva eseguito ogni 6 mesi fin dal primo anno dopo l'intervento. Gli AA non ritenevano che il dosaggio dell'antigene carcinoembrionario fosse un test talmente attendibile da essere usato di routine nel programma di screening di recidive, contrariamente a quanto asserito da E.Martin e coll. nel 1979. Polk e Spratt sostenevano nel **1983** che, una volta diagnosticata una recidiva locale, la soluzione primaria doveva essere quella chirurgica. Riconoscevano alla radioterapia un potente effetto palliativo ma non curativo e non nutrivano alcuna speranza sulla chemioterapia del momento. Quando la recidiva aveva diversi foci in diverse parti del corpo la cura non poteva che essere palliativa tenendo presente che la durata di vita in dette condizioni era compresa tra 6 e 9 mesi. La condizione più favorevole per un nuovo intervento con intenti curativi era sec.Polk e Spratt la malattia metacrona, specie se l'intervallo dal primo intervento era cospicuo. La conclusione tratta da questi due AA era che *"la recidiva di un cancro colon-rettale rappresenta un problema molto complesso anche se si ottengono abbastanza successi definitivi nella cura di questi tumori. Il chirurgo deve tenere presente il significato prognostico delle caratteristiche patologiche della*

neoplasia primitiva, accertarsi se l'operazione originale era stata adeguata al caso, valutare l'importanza del tempo di intervallo e la molteplicità di recidive identificabili. Noi pensiamo che la riresezione con intenti curativi nei riguardi degli esiti di una resezione standard raramente avrà successo curativo. Tuttavia essa svolgerà il suo effetto palliativo e consentirà un allungamento della sopravvivenza."

L'endoscopia del colon-retto nel 1980 aveva già cominciato a fare passi da gigante in molti istituti di cura come ad es. presso la Mount Sinai School of Medicine di New York dove nel **1982** era da qualche anno attivissima nella diagnosi e nella cura dei polipi del colon l'Unità di Chirurgia Endoscopica diretta da Hiromo **Shinja**. Dobbiamo a questo A. uno splendido articolo della rivista "*Surg.Clin.North Am.*" dal titolo "*A Rationale for the Endoscopic Management of Colonic Polyps*". Apprendiamo da questo articolo che nel periodo settembre 1969-giugno 1981 erano stati rimossi per via endoscopica in quella unità del Mount Sinai Hospital 8753 polipi di cui 888 in displasia severa, 1000 con carcinoma in situ e 474 maligni. Il carcinoma in situ e il carcinoma invasivo non mancavano in nessuna delle tre qualità di polipi: tubulare, villotubulare e villosa. La massima presenza di carcinoma in situ e di carcinoma invasivo fu trovata nei polipi villosi come già segnalato nel 1979 da T.Coutsoftides e coll. (in *Dis.Colon Rectum*). Gli AA. confermavano un altro dato già noto e cioè che il potenziale di malignità cresce con la grandezza del polipo e nelle lesioni di 3 cm e più il carattere maligno è già presente nel 12% dei casi. E aggiungevano che, anche se in linea di massima i polipi con chiara malattia invasiva richiedevano la resezione colica, per gli adenomi peduncolati con degenerazione limitata focalmente alla testa del polipo la resezione endoscopica poteva bastare: "*...perfino quando il cancro invasivo è vicinissimo alla linea di sezione endoscopica ma non invade il peduncolo o non rivela invasione linfatica o vascolare ci si può limitare a un trattamento conservativo endoscopico perché la possibilità di metastasi locali o a distanza è rarissima*".

L'anno **1982** può essere ritenuto quello in cui le riviste di chirurgia generale e i primi periodici di endoscopia pubblicarono un numero particolarmente concentrato di lavori riguardanti l'endoscopia diagnostica e operativa del colon-retto. Fra gli AA che avevano trattato l'endoscopia rettocolica negli anni precedenti, oltre a quelli già citati, ricordiamo J.P.Christie e coll., V.Gilbertsen, W.Wolff, R.Taylor.

Nel **1984** si era fatta strada, grazie alla ormai vasta esperienza endoscopica, la convinzione che i polipi degenerati i cui gettoni adenocarcinomatosi avevano invaso la muscularis mucosae richiedevano la resezione colica e grande cautela veniva consigliata di fronte ad un reperto endoscopico di polipi voluminosi, sessili, villosi, vellutati e soffici, tutte caratteristiche che dovevano far pensare subito alla possibilità di una degenerazione maligna.

Per quanto riguardava la cura chirurgica, essa era considerata possibile nel 70% dei casi diagnosticati ed era ormai dato per sicuro che la resezione eseguita per un tumore che interessava solo la mucosa essa aveva il 90% di probabilità di far guarire il paziente in modo definitivo. Questo alto tasso di guarigioni scendeva però al 30% quando sullo specimen veniva riconosciuta la presenza di linfonodi metastatici. Inoltre erano segnalate come "promettenti" le cure adiuvanti con irradiazione postoperatoria, chemioterapia e immunoterapia (W.Birnbaum).

Nel **1985** R.C.**Haggitt** e coll. pubblicarono sulla rivista "*Gastroenterology*" un lavoro dal titolo "*Fattori prognostici nei cancri del colon e del retto messi in luce dagli adenomi: implicazioni delle polipectomie endoscopiche*". Si trattava di un accurato studio diagnostico-prognostico dei vari livelli di trasformazione maligna di un adenoma colico o rettale: il livello zero corrispondeva alla trasformazione neoplastica contenuta al di sopra della muscularis mucosae, nel livello 1 la barriera della muscularis mucosae era invasa ma la neoplasia era ancora limitata alla testa del polipo, il livello 2 corrispondeva all'invasione del collo del polipo, il livello 3 era dato dall'invasione in qualsiasi parte del gambo e il

livello 4 era quello dell'invasione della sottomucosa. Il confine tra gambo e testa del polipo divide l'epitelio normale dall'epitelio adenomatoso e questa linea era considerata il collo del polipo, esistente solo nei polipi peduncolati ma difficile da determinare con esattezza. Haggitt riportò 26 casi in cui l'invasione dei livelli 1 e 2 non ebbe alcuna conseguenza negativa mentre di 8 pazienti che ebbero conseguenze negative sette avevano presentato invasione di livello 4 e uno l'invasione vascolare di livello 3. Tutti gli studi successivi che fecero uso delle indicazioni prognostiche date da Haggitt confermarono che, anche se è possibile la metastatizzazione di polipi con peduncolo integro, essa era molto rara. B.Stein e J.Coller (1993), attestando la grande attendibilità della prognosi basata sui 4 livelli del tralignamento dei polipi peduncolati sec. Haggitt, scriveranno che *“quando il gambo è interessato e i reperti istologici dello specimen sono favorevoli, il rischio di limitarsi alla polipectomia endoscopica può considerarsi simile a quando il polipo presenta invasione ai livelli 1 e 2. Tutti i tumori invece di livello 4 dovrebbero richiedere la resezione colica data l'alta percentuale di conseguenze molto negative se il trattamento si limita all'asportazione di tutto il polipo”*. Nel caso dei polipi sessili il tralignamento arriva al livello 4 più rapidamente di quanto avviene nei peduncolati come fu confermato indirettamente da S.Nivatvongs e coll. che trovarono un 10% di incidenza di metastasi linfonodali nelle lesioni sessili rispetto al 6% di quelle peduncolate (*“Dis.Colon Rectum”* del 1991).

Nel **1989** l'esperienza degli endoscopisti nel campo dei polipi e delle formazioni pseudopolipoidi del colon era divenuta tale da consentire di collocare tra le lesioni benigne, accanto agli innocenti polipi iperplastici (detti da alcuni AA anche “metaplastici”) che non richiedevano di essere rimossi (N.Lane e coll. 1971), anche i rari amartomi che giustificavano una loro rimozione solo in caso di troppo facile sanguinamento, i polipi infiammatori e i carcinoidi che potevano essere degenerati quando erano larghi più di due centimetri. Tra le lesioni polipoidi sottomucose erano stati descritti lipomi (R.De Beer e coll.1975 e altri), leiomiomi ed emangiomi (K.Forde 1989), endometriomi.

Per i polipi neoplastici (adenomi e loro degenerazione mali moris) gli AA di fine anni Ottanta e inizio anni Novanta si soffermavano a considerare questioni specifiche riguardanti l'interrelazione tra endoscopista, chirurgo, radiologo, anatomopatologo: la necessità di localizzare esattamente la sede della lesione ai fini di una precisa scelta chirurgica in caso di lesione manifestamente maligna, localizzazione non sempre facile e che abbisognava dell'aiuto di una radioscopia oppure, se le condizioni di spessore dell'addome lo permettevano, la ricerca della punta dell'endoscopio con la palpazione addominale, l'opportunità di far avere lo specimen, fresco e non fissato, entro pochissimo tempo all'anatomopatologo e, ove questo non era possibile, di immergerlo nel liquido di fissazione previa applicazione di un ago alla base del peduncolo del polipo. Una terza questione riguardava il follow-up dell'asportazione apparentemente completa di lesioni sessili di oltre un centimetro: in questo caso K.Forde della Columbia University consigliava di ripetere la colonscopia dopo diverse settimane mentre, quando la lesione era inferiore ad un centimetro, il controllo endoscopico si spostava a dopo un anno. Per quanto riguardava i polipi peduncolati molti AA avevano segnalato un 30% circa di recidive (Goldschmiedt 1988, Jensen 1989, Rosch e coll. 1986) e l'orientamento era quello di legare le scadenze del follow-up ai fattori di rischio. Questo valeva soprattutto per quei casi etichettati come carcinomi “in situ”; per i polipi sicuramente adenomatosi la eventualità di recidive o, meglio, di crescita di polipi metacroni, era valutata possibile dopo un periodo di 3 o 5 anni.

Molto discussa era la resezione endoscopica a pezzetti di larghi adenomi sessili, tecnica che forniva all'anatomopatologo una quantità di materiale difficile o impossibile da ricomporre nella originale unità del tumore con le molteplici alterazioni provocate dalla caustica. I polipi villosi per la loro facile tendenza a recidivare rappresentavano pure un

terreno molto discusso sotto l'aspetto della resecabilità endoscopica completa seguita da follow-up senza ricorrere alla chirurgia. Non erano poi del tutto rari i casi di perforazione del colon e di emorragie di difficile controllo in corso di laboriose e lunghe asportazioni di polipi villosi estesi. Di fronte a questi pericoli e alla discussa sostituzione della escissione chirurgica con quella endoscopica nelle lesioni più importanti e di incerto risultato curativo Forde scriveva che *"...il rischio di complicazioni dipende dalla bravura e dal giudizio dell'endoscopista, dalla sede della lesione, dall'estensione del tratto di intestino interessato con riguardo alla lunghezza e alla circonferenza del lume intestinale. L'endoscopista che sospetta un processo maligno può desistere dai tentativi di asportarlo limitandosi a cercare di ottenere solo una quantità di tessuto sufficiente per consentire al patologo di fare una diagnosi sicura"*.

Sulla rivista *"Cancer"* del 1985 e su *"Gastroenterol.North Am."* del **1988** H.T.Lynch e coll. descrissero una sindrome di cancro coloretale ereditaria non poliposica, ben distinta quindi dalla Poliposi Familiare Ereditaria. A differenza di quest'ultima l'incidenza numerica nella stessa famiglia della malattia era minore, più saltuaria e si verificava in persone di media età e non in età giovane o giovanissima. Lynch e coll. divisero la sindrome in due tipi: nel tipo I° si contavano almeno tre parenti della stessa famiglia colpiti da cr coloretale e uno dei tre era parente di primo grado degli altri due, erano colpite almeno due successive generazioni nella stessa famiglia e la diagnosi per lo più era avvenuta prima dei 50 anni di età; il tipo II° si distingueva dal I° perché i soggetti di sesso femminile, in famiglie nelle quali erano stati riscontrati casi di cr coloretale familiare, si erano ammalati di carcinomi dell'ovaio o dell'endometrio. Nel 1991 un gruppo di lavoro internazionale (H.Vasen e coll. in *Dis.Colon.Rectum*) non riconobbe più le denominazioni di **Sindrome di Lynch** e di Cancro Familiare sostituendole con l'acronimo **HNPCC** (Cancro Colonrettale Ereditario Nonpoliposico). L'incidenza di questa malattia fu data tra il 2 e il 5% di tutti i carcinomi del tratto colonrettale della popolazione generale (J.Mecklin 1994; Lynch 1985; M.Ponz de Leon e coll. 1993). I polipi adenomatosi in questi malati erano presenti in quantità di 20 mediamente con sede preferita nel colon destro. La scoperta di questa sindrome generò un nuovo motivo di allarme e il consiglio di approfondire le ricerche nell'ambito di persone che in età inferiore ai 50 anni ammalano di cancro del colon destro presentando nel contempo un elevato numero di adenomi colici (G.Bertoni e coll. 1995). Mecklin nel 1993 e 1994 sostenne che il miglior tipo di cura per queste forme era la colectomia subtotala rinunciando, fin dalla diagnosi, all'emicolectomia e alla resezione segmentaria. Il follow-up di questi operati richiedeva un controllo endoscopico ad intervalli annuali e veniva anche consigliato di mantenere una sorveglianza molto attiva (colonscopia ogni 2-3 anni dopo l'età di 25-28 anni). H.Jarvinen dimostrò nel 1995 che questo tipo di follow-up poteva ridurre il rischio di cancro colonrettale del 62% (*Gastroenterology*).

Nel **1993** P.Vignati e P.Roberts, della Lahey Clinic di Burlington, nella valutazione preoperatoria dei carcinomi coloretali davano importanza ad un elevato tasso di antigene carcinoembrionario (CEA) come segnale di corta sopravvivenza indipendentemente dallo stadio del tumore, ritenevano non necessario procedere di routine ad una valutazione urologica approfondita in tutti i candidati ad una resezione colica o coloretale per cancro e lo stesso atteggiamento riduttivo tenevano nei riguardi di un uso sistematico della TAC e di approfondite indagini epatiche nonché dei metodi di citometria per studiare l'esistenza di diploidia e aneuploidia, il cui esatto ruolo prognostico non era ancora ben definito. Per quanto riguardava l'eventuale difficoltà intraoperatoria di reperire la esatta sede del tumore gli AA ricordavano l'utilità della colonscopia intraoperatoria e, per le lesioni di modeste dimensioni, l'iniezione preoperatoria di inchiostro di china. Anche la fluoroscopia poteva risolvere benissimo questi casi (A.Waizer e coll. 1989). L'ecografia con il trasduttore immerso in un palloncino di lattice riempito d'acqua veniva considerata da questi AA. un

ottimo metodo per accertarsi del grado d'invasione della parete del retto e dei linfonodi adiacenti; infatti dal 1986 al 1991 numerose erano diventate le voci bibliografiche che mettevano in rilievo l'altissimo grado di alta affidabilità dell'**Ecografia endorettale** per la diagnosi di stadio e di utile operabilità, anche per la diagnosi di forme che potevano essere risolte con chirurgia locale conservativa: i cinque strati della parete rettale dimostrarono di prestarsi molto bene per un accurato esame della loro integrità o meno. L'accuratezza dell'ecografia endorettale nel fornire dati sul grado di invasione della parete rettale in 13 casistiche che andavano da un minimo di 17 casi (Cohen e coll. 1991) ad un massimo di 117 (Glaser e coll. 1990) oscillava da un valore minimo del 67% (Rilkin e coll. 1989) a un massimo del 92% (Hildebrand e Feifel 1985).

Se questo era vero per il retto non lo era altrettanto per il colon della cui indagine Ecografica a scopo di stadiazione si interessò per primo R.Limberg solo nel 1990 (in *Dis.ColonRectum*) con l'applicazione dell'*ecografia idrocolica*: previa iniezione di Buscopan 20 mg per paralizzare la peristalsi colica si introduceva dapprima il trasduttore settoriale a 3,75 MHz seguito da quello a 7,5 MHz per ottenere una informazione più dettagliata degli strati della parete intestinale. Man mano che l'acqua distendeva il lume intestinale la sonda ecografica metteva in evidenza anche i linfonodi come strutture ipoecogene ovali o rotonde omogenee di qualsiasi dimensione all'interno del tessuto adiposo contenuto tra le pagine mesocoliche e la parete stessa del colon. Altri AA (M.Nielsen e coll. in *AJR* del 1993; C.Hernández-Socorro e coll. in *Surgery* del 1995) adottarono con successo questa tecnica che, nel caso di C.Hernández-Socorro, dimostrò una sensibilità del 97,5% e una specificità del 98%. Nella valutazione della profondità di invasione della parete colica, l'indagine risultò corretta al controllo chirurgico e anatomopatologico in 39 casi su 40. Per quanto riguardava la presenza o assenza di metastasi linfonodali la specificità fu del 100% (sensibilità pari al 50%).

Nei programmi di sorveglianza postoperatoria suggeriti da Vignati e Roberts nel 1993 i tre tipi di esami che avevano la più fitta e prolungata presenza erano: 1°- l'esame anamnestico-obiettivo con esami di laboratorio di routine. Risultò sufficiente a far diagnosi o a emettere sospetto diagnostico di recidiva nel 48% delle casistiche di Beart e O'Connell della Mayo Clinic (1983) e di Deveney e Way (1984). 2°- la ricerca del sangue occulto nelle feci. 3°- il CEA: E.Martin e coll. in 146 laparotomie second-look sulla base di innalzamento del CEA trovarono la recidiva in ben 139 casi (*Ann.Surg.* 1991). 4°- il primo clisma opaco di controllo o la prima colonscopia postoperatoria venivano effettuati dopo 3 mesi e in seguito dopo 24 mesi e poi ogni 2-3 anni. 5°- la radiografia del torace dopo 1 anno e in seguito una volta l'anno.

Nei **primi anni Novanta** cominciarono ad essere messe a fuoco le questioni legate ai diversi vecchi e nuovi tipi di exeresi linfatica nelle operazioni per cancro del colon e del retto: controversa rimaneva l'opportunità di legare in alto anziché in basso l'arteria mesenterica inferiore. Era una controversia che risaliva a date lontane (1908) quando Miles legava questa arteria risparmiando la pervietà dell'arteria colica sinistra nella cura dei cancri del retto-sigma mentre Moynihan la legava al di sopra dell'origine della colica sinistra

Rosi e coll. nel 1962 e Grinnell nel 1965 avevano trovato un aumento di sopravvivenza con la legatura alta a livello della arteria colica sinistra rispettivamente del 6,8% e del 5,7% in casistiche di 137 e di 179 operati mentre Pezim e Nicholls nel 1984 e Surtees e coll. nel 1990 rispettivamente su 1370 e 250 operati non avevano riscontrato alcun vantaggio nella sopravvivenza dalle legature alte. L'unica eccezione fu quella di un più 13,8% dei pazienti affetti da cancro del sigma di Rosi e coll. Il primo lavoro che riportò un aumento di sopravvivenza con linfadenectomie allargate (stazioni presacrali, otturatorie, iliache interne, periaortiche e pericavali oltre ad ovariectomia bilaterale) fu quello di M.Stearns e

M.Deddish (*"Dis.Colon Rectum"* del 1959) che in una casistica di 122 operati registrarono un aumento della sopravvivenza ai 5 anni dell'8% ma molti altri lavori apparsi nel periodo fra il 1964 e il 1986 riportarono percentuali di sopravvivenza a 5 anni aumentate in quantità molto modesta (da 2,3% al 10,4%). Anche Moriya e coll. nel 1989 con la loro "escissione en bloc dei vasi iliaci interni" registrarono un aumento di sopravvivenza del 6,4% che fu considerata priva di significato statistico (R.Staniunas e D.Schoetz in *Surg.Clin.North Am.* del 1993). Tutte le linfadenectomie allargate della pelvi e l'operazione di Moriya comportarono sequele pesanti a carico della funzione urinaria e sessuale.

Il problema dell'interessamento di visceri contigui era stato già affrontato da E.Sugarbaker nel 1946 con una serie di 132 operazioni radicali per cancro colonrettale in cui nel 32% dei pazienti il tumore era stato asportato en bloc con il viscere vicino infiltrato: si trattava soprattutto di ovaie e utero nelle donne e di vescica, intestino tenue e parete addominale in altri casi. L'A. che aveva registrato una sopravvivenza del 56% da uno a cinque anni, si dichiarava convinto fautore di una "chirurgia radicale aggressiva". Numerosi AA in seguito, ma soprattutto negli anni Ottanta, confermarono le conclusioni e il modo di trattamento di Sugarbaker. Una sorpresa di queste operazioni estese agli organi coinvolti dall'aggressività del tumore colico e/o rettale fu quella dello scarso o assente interessamento metastatico della rete linfonodale. Del resto molte casistiche di questo tipo di tumori invadenti altri visceri vicini davano un 40% di tumori allo stadio B di Dukes. Una disamina completa di questo argomento può essere letta nel lavoro di Staniunas e Schoetz già citato. Per quanto riguarda il complesso e discusso problema delle metastasi ovariche metacrone questi AA consigliavano che, finché uno studio randomizzato non avesse definito utilissima l'ovariectomia bilaterale, questa doveva essere comunque eseguita davanti ad ovaie di aspetto anormale senza riguardo per l'età della paziente e che nelle donne in età postmenopausale questa operazione doveva essere considerata una profilassi del carcinoma ovarico in tutti i casi in cui la resezione colica o coloretale aveva intenti curativi.

L'introduzione routinaria degli stapler circolari nella tecnica operatoria della resezione dei cancri del colon-retto risale a M.**Ravitch** e F.**Steiche** che nel **1979** pubblicarono su "*Ann.Surg.*" un lavoro dal titolo "*A stapling instrument for end-to-end inverting anastomoses in the gastrointestinal tract*". Negli anni successivi questo strumento, che riduceva assai la durata della fase ricostruttiva dell'exeresi colica o coloretale – oltre che in altri settori del tubo digerente – ebbe una diffusione rapida e continua in tutto il mondo chirurgico. Chi desidera seguirne gli ulteriori sviluppi tecnici e gli studi di comparazione con i metodi di sutura tradizionali e tra diversi tipi di stapler circolari può trovare ampie informazioni nei lavori di C.Cahill e coll. in "*Brit.J.Surg.*" del 1989, di M.Kawahara e coll. in "*Dis.Colon Rectum*" del 1992 e di J.Monson e coll. in "*Lancet*" dello stesso anno.

Nel **1995** R.J.Detry e coll., dell'Università di Bruxelles (ospedale di St Luc), pubblicarono su "*Surgery*" la loro esperienza con 1000 anastomosi coloretali consecutive con stapler circolari EEA nel periodo 1979-1992. Questi chirurghi osservarono nel corso dell'operazione 124 anastomosi che non erano ben riuscite ed eseguirono subito una colostomia di protezione a monte in 127 casi. La mortalità postoperatoria si aggirò sul 2,2%. Deiscenze anastomotiche si verificarono in 35 pazienti, delle quali l'11,4% nelle anastomosi a meno di 5 cm dall'orificio anale e nel 2,2% dopo anastomosi alte. Il totale delle deiscenze non superò l'1,6% delle 1000 anastomosi. Tranne tre casi lo stapler fu sempre introdotto per via transanale e la chiusura del moncone colico alto fu fatta con borsa di tabacco a mano o mediante stapler apposito. Per quanto riguarda la mortalità, questa fu più elevata nel gruppo di pazienti in cui si manifestò la sintomatologia di deiscenza dell'anastomosi, ma rimase al di sotto dell'1% per le deiscenze intraperitoneali. I rischi maggiori furono individuati nell'età avanzata e nella preesistenza di altre malattie

importanti. Anche W.Everett (*Brit.J.Surg.* del 1975) aveva segnalato che la deiscenza anastomotica era la maggior causa di mortalità dopo che J.Goligher e coll. nel 1970 avevano pubblicato un lavoro che aveva per titolo “*Deiscenza anastomotica dopo resezione anteriore di retto e sigma*” in cui avevano puntualizzato la decisiva importanza dell’accuratezza di esecuzione di una anastomosi di quel tipo. Detry e coll. a loro volta, facendo osservare che è assolutamente necessario che siano osservati i presupposti di una sufficiente irrorazione dei margini di sezione e la mancanza di tensione a carico della sutura, ipotizzavano che il rischio di deiscenza era maggiore nelle anastomosi eseguite con lo stapler perché il diametro di ogni stapler era inferiore di quello di una sutura fatta a mano. Infatti M.Vezeridis e coll. trovarono che la frequenza di complicazioni era maggiore quando il diametro della cartuccia usata era di 31 mm. (“*Dis.Colon Rectum*” 1982). Un’altra conseguenza non rara delle anastomosi con stapler circolari furono le stenosi, piuttosto frequenti nei primi anni ’80 come testimoniato da D.Cade e coll. (1981), H.Gordon e coll (1984) e K.Venkatesh e coll., i quali nel 1993 proposero una tecnica di triangolazione con stapler per costruire anastomosi sufficientemente ampie onde evitare stenosi.

Le Anastomosi Intestinali con BAR (*Biofragmentable Anastomosis Ring*) furono introdotte nei **primi anni ’80** nella pratica clinica: si tratta di anelli di calibro diverso costruiti con materiale che, inserito a pressione nel tessuto della parete intestinale, va incontro a lenta degradazione e rottura in frammenti di varie dimensioni e poi espulso con le feci, una riedizione in chiave moderna del vecchio Bottone metallico di Murphy, costituito, come quello, da un anello maschio e da un anello femmina che univano ad incastro le terminazioni orale e aborale di due sezioni intestinali. La prima casistica di applicazione di BAR fu quella di T.G.Hardy pubblicata nel 1987 (26 casi e 3,8% di complicanze), la casistica maggiore fu quella di **Engemann** pubblicata nel 1995 (500 casi e 3,6% di complicanze.). Se le complicazioni di questa tecnica anastomotica erano le stesse di quelle delle altre anastomosi i vantaggi fatti rilevare dai numerosi AA che si interessarono a questo argomento erano i seguenti: 1°- minore traumatismo dei tessuti e minore coinvolgimento delle cellule della flogosi 2°- applicabilità anche in presenza di tessuto flogistico 3°- soglia di deiscenza molto più alta di tutte le altre tecniche. La pratica operatoria fece apprendere alcuni accorgimenti: 1°- quando esiste differenza di calibro tra i due monconi intestinali è opportuno scegliere il BAR in base al diametro del moncone più piccolo. 2° per mancanza di BAR di diametri opportuni era assolutamente sconsigliato l’impiego nelle anastomosi esofagee cervicali e meno tassativamente nelle anastomosi rettali molto basse. 3°- in prossimità della valvola ileocecale il BAR era sconsigliato per la possibilità che funzionasse da corpo estraneo creando occlusione. Il confronto delle complicanze dopo BAR, dopo sutura meccanica e dopo sutura manuale in due grandi casistiche dette i risultati seguenti: Bodwick (anno 1991) = 12,1% (395 BAR), 163% (104 dopo sutura meccanica), 9,1% (283 dopo sutura manuale) e Corman (anno 1989) =18,5% (222 BAR), 18,5 (54 meccanica), 16,7% (162 suture manuali).

L’operazione di Hartmann non fu mai abbandonata del tutto nel corso degli **anni Novanta** e mantenne sempre una valida indicazione in urgenza davanti ad episodi di perforazione e di ischemia di un tratto del colon o di un ascesso del sigma di origine diverticolare. Questa operazione che consiste nella chiusura della parte più o meno alta del retto, nell’exeresi del tratto di colon malato e nella confezione di un ano praeternaturale a monte, descritta da **Hartmann** nel lontano **1921**, fu oggetto di un ampio studio di revisione statistica da parte di M.Guivarch e coll. del servizio di chirurgia dell’apparato digerente di Suresnes. Il lavoro di questi AA., apparso sul “*Journal de Chirurgie*” del **1995**, si basava su una casistica di 249 interventi di Hartmann eseguiti nel periodo 1969-1994, divisi in tre periodi: dal 1969 al 1978, dal 1979 al 1990, dal 1991 al 1994. L’età media degli operati era di 68 anni. Le cause che dettero il via alla laparotomia d’urgenza furono sigmoiditi acute (42,9%),

carcinomi colonrettali (35,7%) e coliti ischemiche (14%). La mortalità operatoria complessiva raggiunse il 10,8% e fu massima per le forme ischemiche (20%) minima per le sigmoiditi (6,5%). La morbidità legata all'operazione diminuì dal 22,4% iniziale all'1,72% del terzo e ultimo periodo. Il tasso complessivo di ristabilimento della continuità del grosso intestino passò mediamente dal 36% del primo periodo al 71% del terzo periodo e fu massimo per le sigmoiditi, minimo invece per i tumori. La mortalità degli interventi di ristabilimento secondario fu del 2,5% dopo il 1981.

La Chirurgia di Resezione Intestinale per via Laparoscopica fu introdotta negli USA nel **1988** e trovò subito una vasta adesione da parte dei chirurghi addominalisti americani. L'American Society of Colon and Rectal Surgeons sponsorizzò negli anni Novanta una analisi prospettica delle Colectomie eseguite per via laparoscopica nel periodo compreso fra Maggio 1991 e Ottobre 1994 da 114 chirurghi membri dell'associazione. Il dottor Charles L.Bennett del Department of Veterans Affairs di Chicago diresse l'operazione e pubblicò con i suoi collaboratori i risultati preliminari di 1194 colectomie per via laparoscopica su "Arch.Surg." di gennaio 1997. Il 91,2% degli interventi eseguiti furono resezioni di colon e/o retto, la restante percentuale riguardava resezioni del tenue o polipectomie. La malattia prevalente era il cancro intestinale (42,2%). I segmenti di grosso intestino più invasi in senso decrescente furono il colon destro (33,8%), il sigma (27%), il retto (14,5%), il colon sinistro (9%), il trasverso (2,4%). Le conversioni in chirurgia laparotomica tradizionale furono 272 (22,8%) e prevalentemente si trattò di cancri del retto. Le valutazioni furono fatte dividendo i chirurghi in due gruppi: quello con un numero di operazioni pari o superiore a 40 e quello con un numero di resezioni inferiori a 40. Il primo gruppo registrò un numero di complicanze postoperatorie nettamente inferiore a quello del secondo gruppo (10% contro 19%). Un'analisi di regressione multivariata dimostrò che per i chirurghi del primo gruppo le probabilità di incontrare complicanze intraoperatorie era inferiore rispetto ai chirurghi del secondo gruppo. Bennett e coll. concludevano che *"esiste una curva d'apprendimento per questa chirurgia laparoscopica del grosso intestino con riguardo alle evenienze peroperatorie e ai risultati postoperatori. Come per altri campi della chirurgia laparoscopica i chirurghi che hanno al loro attivo un numero maggiore di interventi di colectomia laparoscopica hanno anche minor numero di complicanze intra- e postoperatorie"*.

Una complicanza molto temibile - e per fortuna rara - del cancro del grosso intestino è la **perforazione**, evento che, secondo il parere maturato negli anni Ottanta (N.M.Koruth e coll. su *Brit.J.Surg.*) ma già preconizzato da I.L.Madden e coll nel 1961 (in *"Surg.Gynecol.Obst."*) richiede un pronto e adeguato trattamento radicale d'urgenza per via laparotomica. L'indirizzo imboccato da Madden con la cura chirurgica contemporanea della peritonite da perforazione e del cancro intestinale era rivoluzionaria rispetto all'atteggiamento generale dei chirurghi nel corso di tutta la prima metà del Novecento. Infatti il francese J.Hepp nel **1947** scriveva che *"in presenza di un ascesso pericolic da perforazione ci si limiterà anzitutto ad applicare un largo drenaggio della raccolta e solo più tardi si farà, se il caso lo consente, una ileotrasverstomia ove la neoplasia perforata risiedesse sul colon destro o sul cieco con esclusione, uni- o bilaterale aperta, alla parete addominale dell'ansa fistolizzata e una exeresi sarà talvolta realizzabile in un terzo tempo"*. Per quanta riguardava i tumori del colon sinistro e del sigma scriveva: *"la peritonite da perforazione del tumore è eccezionale. Quando un cancro del sigma si perfora lo fa più sovente nel lume di un viscere vicino che gli è adeso e ne risulta una fistola interna il cui esempio più frequente è la fistola sigmoidovesicale"*.

Nel **1994** su *"Surg.Clin.North America vol.74"* A.B.Nathens e O.D.Rotstein nel trattare l'argomento delle opzioni terapeutiche nei vari tipi di peritoniti, per quelle da perforazione

del grosso intestino citavano la resezione colica del tratto sede della perforazione immediatamente seguita, a seconda della sede della perforazione, da una colostomia terminale o da una fistola mucosa o da una operazione di Hartmann; oppure una resezione con anastomosi primaria usando il “*coloshield*” o una colostomia a monte dell’anastomosi. Questi AA citavano trials clinici molto attendibili (D.L.Dunn e coll. in *Ann.Surg.*1984 – J.A.Majeski e coll. 1975 e altri) che avevano dimostrato l’assenza di risultati positivi dovuti al lavaggio intraoperatorio del peritoneo con soluzione fisiologica addizionata di antibiotici e alla toilette radicale delle aderenze sec. Hudspeth (1975). Nel 1999 Gullino e coll. dell’ospedale di Savigliano (Cuneo) hanno dato alle stampe (“*Min.Chir.*” vol.54) un testo che illustra la loro esperienza legata a 46 casi osservati e curati tra il 1974 e il 1995. In questa casistica le perforazioni avevano comportato un 39% di peritoniti fecaloidi e un 13% di peritoniti francamente stercoracee. Il trattamento è stato impostato sulla immediata sutura della perforazione e lavaggio del cavo peritoneale con soluzione all’1,2% di povidone-iodine (PVP = Betadine) cercando di non superare nel corso di tutto l’intervento la dose massima di 2ml della soluzione madre di PVP (praticamente una media di 13 litri di PVP soluzione fino a detersione completa macroscopicamente accertata). Terminata la fase della toilette del cavo peritoneale gli AA hanno eseguito subito la colectomia sinistra in 15 pazienti, una resezione sec.Hartmann in 10 p, l’ano preternaturale in altri 10 e la colectomia destra in 11. Ovviamente la mortalità fu influenzata dalla qualità dell’inquinamento peritoneale, dal tempo intercorso fra inizio della sintomatologia peritonitica e arrivo al tavolo operatorio, dall’età del malato e dalla gravità dello stadio pTNM entro valori che oscillarono dal 33 al 39%. Gli AA. concludevano che “*il trattamento della perforazione e della peritonite ha priorità su quello del tumore*” intendendo però di far seguire immediatamente e radicalmente questa seconda fase dopo aver completato la prima. Nella cura battericida pre-per-postoperatoria gli AA hanno applicato un concetto già espresso nel 1996 da D.H.Wittman e coll. i quali raccomandavano di usare non più di due antibiotici sinergici ad ampio spettro per un tempo più breve possibile.

Una questione fortemente dibattuta fin dagli ultimi anni Settanta ma che assunse importanza di primo piano nei **primi anni Novanta** fu quella della terapia del cancro coloretale recidivo e metastatico

I dati forniti da molti ricercatori tra i quali J.Foster e coll. (collana sui tumori solidi del fegato dell’edizione Saunders del 1977), G.Fantioni e J.De Cosse (*Surg.Gynecol.Obst.*del 1990), P.Sugarbaker e coll. (*Surgery* del 1987) avevano dimostrato che l’80% degli operati di cr coloretale, che sarebbero andati comunque incontro a recidiva, si riammalava entro i primi 24 mesi dalla prima operazione e che solo il 5% si era riammalato dopo 5 anni.

La determinazione del CEA, l’ecografia epatica, la TAC addominale, pelvica, toracica e, se indicata, anche del cervello e delle ossa, la rettocolonscopia oltre ai test di funzionalità epatica costituivano per parere comune di tutti i curanti la base per affrontare il problema terapeutico. Le esperienze di Martin e coll. (1985) e di altri avevano dimostrato che il valore medio di CEA nei pazienti suscettibili di riresezione per recidiva locale si aggirava sui 10,2 ng/ml e ne era stato tratto il consiglio di determinare il tasso di CEA ogni 4-6 settimane nel corso dei primi due anni del postoperatorio.

Poiché la causa principale delle recidive fu riconosciuta essere la mancata osservazione intraoperatoria dell’esistenza di tessuto neoplastico nel corso della prima resezione, si pensò di ricorrere all’impiego di anticorpi radiomarcanti che agiscono contro gli antigeni associati alle neoplasie. Per il carcinoma del colon-retto furono impiegati gli anticorpi monoclonali B72.3 e i loro coniugati CYT-103. Questa metodica contribuì effettivamente a scoprire neoplasie occulte nel 12-26% di pazienti sottoposti a resezione primaria o secondaria di cancro coloretale (B.Sickle-Santaniello e coll. in *Dis.Colon Rectum* 1987;

C.Nieroda e coll. in *Dis.Colon Rectum* del 1989; R.Doerr e coll. in *Ann.Surg.* del 1991), tuttavia altre esperienze misero in luce che questa tecnica aveva molti limiti: nella serie di Nieroda, ad es., gli anticorpi radiomarcanti non si legarono alla neoplasia nel 23% dei pazienti e il tempo di attesa troppo lungo (22 giorni) tra l'iniezione degli anticorpi B72.3 e l'operazione chirurgica precludeva un loro pratico impiego su vasta scala.

Il tempo medio di sopravvivenza dopo nuova resezione per recidiva locale rettale o colica in assenza di metastasi fu nella ricerca di F.Michelassi e coll. (*Surgery* del 1990) rispettivamente di 44 e di 85 mesi. In presenza di metastasi la sopravvivenza scendeva rispettivamente a 25 e a 38 mesi. R.Schiessel e coll. (*Brit.J.Surg.* del 1986) su 109 riresezioni curative o palliative per recidive locali o regionali ottennero una sopravvivenza a tre anni rispettivamente del 30% e del 7,5%.

La metastatizzazione epatica di cancro del colon e del retto appariva sufficientemente studiata sotto i suoi diversi aspetti nel 1993 quando H.Asburn e K.Hughes della Lahey Clinic li descrissero nel *Surg.Clin.North Am.* fornendo anzitutto i dati di base che erano i seguenti: il cancro coloretale metastatizza al fegato in circa il 35% dei pazienti; metà di questi (dal 10 al 20%) ha le metastasi già presenti al momento della prima operazione. Dagli esami necroscopici era risultato che dal 60 al 70% dei pazienti che muoiono hanno il fegato interessato dalla neoplasia. (C.Pestana e coll. in *Am.J.Surg.* del 1964; J.Ridge e coll. in *Surg.Gynecol.Obst.* del 1985).

Negli anni Novanta l'unica possibilità di cura radicale per questi malati era la resezione epatica. Gli sviluppi della tecnica operatoria in questo campo avvenuti negli anni Settanta e Ottanta avevano fatto scendere la mortalità operatoria complessiva al 5%. Asburn e Hughes concludevano che “*questi risultati permettono di affermare che la resezione epatica per metastasi è una tecnica operatoria sicura se eseguita da chirurghi esperti*”. Le sopravvivenze a 5 e a 10 anni dopo resezione epatica per metastasi di carcinoma coloretale erano comprese tra il 20 e il 40% e rispettivamente tra il 18 e il 20%, il che dimostra che il trattamento chirurgico non aveva avuto efficacia radicale nel 60-80% dei malati di questo tipo.

K.Hughes e altri e lo stesso Registry of Hepatic Metastasis in forma anonima pubblicarono negli anni 1986, 1988, 1990 un esame retrospettivo condotto su 862 pazienti sottoposti a resezioni epatiche per metastasi di cr coloretale: i fattori che dimostrarono di non aver avuto alcuna influenza sulle medie di sopravvivenza furono la distribuzione intraepatica delle metastasi, le dimensioni tumorali, il sesso, l'età anziana; fattori ricchi di significato prognostico risultarono invece l'intervallo libero da malattia, il numero delle metastasi epatiche, lo stadio del tumore primitivo, l'interessamento neoplastico dei margini di resezione intestinale, l'interessamento dei linfonodi e le trasfusioni di sangue. Ad analoghe conclusioni giunse anche lo studio prospettico del gruppo GITSG pubblicate da G.Steele e coll. su “*J.Clin.Oncol.*” nel 1991.

Per le metastasi epatiche non resecabili non esistevano cure giustificate da risultati validi. Anche la chemioterapia locale e regionale aveva fornito qualche speranza e segnali di una buona risposta da parte del tumore ma tutto si era fermato lì e nei primi anni Novanta si teneva anche conto di una alta morbilità e mortalità dovute a questi trattamenti: M.Palmer e coll. nel 1989 avevano intitolato un loro lavoro “*Non c'è alcuna opzione terapeutica per le metastasi di carcinoma coloretale*” (in *Dis.Colon Rectum*). In Europa F.Mühlbacher e coll. avevano pubblicato nel 1987 un lavoro sul trapianto di fegato nelle metastasi epatiche non resecabili (in *Transplant Proc.*)

Le resezioni epatiche erano basate sulla conoscenza dell'anatomia vascolare del fegato e si dividevano in operazioni maggiori, che erano la lobectomia destra (segmenti V°,VI°,VII°,VIII°), la lobectomia sinistra (segmenti II°,III°,IV°), la segmentectomia laterale sinistra (segmenti II° e III°) e la trisegmentectomia destra (IV°,V°,VI°,VII°, e VIII°) e in operazioni minori che potevano essere resezioni a cuneo di qualsiasi porzione di

fegato valutata al di sotto e al di fuori della ripartizione e dei confini dei segmenti. Nonostante la definizione di “resezioni epatiche minori” esse dimostrarono di poter comportare maggiori perdite emorragiche di una resezione segmentaria. Fece testo per la tecnica operatoria negli anni Novanta quello di K.Hughes e P.Sugarbaker edito da Lippincott a Philadelphia nel 1987. Tra i molti strumenti nuovi creati per questo tipo di chirurgia quello che si impose negli anni Novanta fu il dissektore ad ultrasuoni che dava una valida emostasi dei piccoli vasi e consentiva di isolare i vasi maggiori senza lederli; l'unico inconveniente era quello dato dal molto tempo che questo strumento richiedeva, inconveniente che venne superato associando nel medesimo strumento un elettrobisturi di adeguata potenza (Hughes, 1991).

Il follow-up di queste resezioni epatiche per metastasi di cr colorettale – che avevano dimostrato di consentire una sopravvivenza ai 5 anni non superiore al 30-40% - era ancora più rigido di quello per la resezione primaria di un cancro del colon – retto: la determinazione del CEA doveva essere fatta ogni 2 mesi per almeno 2 anni per poi continuare ogni 6 mesi sine die.; la radiografia del torace doveva essere fatta ogni 6 mesi e la colonscopia ogni anno per tre anni.

Nel 1997 R.**Jamison** e coll. della Mayo Clinic condussero uno studio retrospettivo su 280 pazienti sottoposti a **resezione epatica per metastasi** di cancro del colon e/o del retto durante il periodo 1960-1987: la sopravvivenza media dei 280 operati fu di 2,7 anni, i sopravvissuti a 5 anni di distanza furono il 27% e quelli a 10 anni il 20% (*Arch.Surg.*). La mortalità media dei 280 pazienti fu del 69%. Quasi tutti i sopravvissuti a 5 anni senza segni di recidiva in atto sopravvissero fino al controllo a 10 anni, fatta esclusione per quelli che morirono per cause estranee alla patologia metastatica epatica. Gli AA conclusero che, nonostante la mortalità complessiva delle resezioni epatiche per metastasi da cr colorettale fosse molto elevata, il confronto della sopravvivenza tra i pazienti che erano stati sottoposti ad una resezione epatica con intenti curativi e quella dei pazienti che per qualsivoglia ragione non erano stati operati era schiacciante. Tutti gli studi precedenti sulla storia naturale di questi malati in fase metastatica al fegato non trattati avevano infatti dimostrato che la sopravvivenza media era inferiore ai 12 mesi (J.Wagner e coll. 1984; J. Scheele e coll. 1990). Lo studio retrospettivo di Jamison e coll. dimostrò invece che, finché la chemioterapia non sarà riuscita ad equiparare i risultati della resezione epatica, questa rimaneva l'unica risorsa capace di ottenere una lunga sopravvivenza e, in pratica, la guarigione.

La ripetizione di resezioni epatiche fu affrontata con bassa morbidità e con una mortalità operativa compresa tra lo 0 e l'11% (A.Dagradi e coll. in *Ann.Surg.* del 1987; K.Griffith e coll. in *Surgery* del 1990; C.Huguet e coll. in *Surg.Gynec.Obst* del 1990; J.Lange e coll. nella stessa rivista del 1989). La sopravvivenza in questi pazienti operati due volte al fegato fu modesta: tra i 13 e i 22 mesi e i tempi più lunghi si ebbero nel 38% di pazienti selezionati

Le metastasi polmonari furono stimate intorno al 10% di tutti i resecati al colon o al retto per cancro e solo il 10% di questi malati risultarono affetti da una metastasi polmonare solitaria. Anche qui, come per le metastasi epatiche, l'unica speranza di sopravvivenza era la resezione del tratto di polmone malato. Negli anni Novanta ogni metastasi polmonare solitaria, qualsiasi fosse la sua sede, doveva essere asportata. S.Brister e coll. nel 1988 e K.Hughes nel 1990 studiarono otto fattori prognostici delle metastasi polmonari ma le loro opinioni su questo argomento non coincisero. Brister e coll. - dopo aver esaminato 12 casistiche per complessivi 335 pazienti operati di resezioni polmonari per metastasi di cr colorettale - avevano concluso che *“idealmente la metastasi polmonare dovrebbe essere solitaria, il cancro primitivo del colon o del retto dovrebbe essere localmente del tutto sparito, non dovrebbero essere in atto altre metastasi e le condizioni del paziente*

dovrebbero essere tali da consentire una toracotomia e la resezione polmonare". La sopravvivenza di questi malati era stata del 70% dopo 24 mesi e del 30% dopo 5 anni.

Per quanto si riferiva alle metastasi cerebrali con disturbi neurologici secondari, che quasi sempre si accompagnavano a diffusione del tumore anche in altre sedi, R.Moser e M.Johnson concludevano che se l'aspettativa di vita superava pochi mesi, la loro asportazione era giustificata perché forniva una sicura palliazione senza aumentare la mortalità (*Oncology* del 1989).

La Röntgenterapia adjuvante fu soggetta a studi non randomizzati nel periodo **1981-1987** (N.Ghossein e coll. in *Dis.Colon Rectum* 1981; R.Loeffler in *Int.J.Radiol.Oncol.* 1984; C.Wong e coll. in *Radiother.Oncol.*1984; idem e coll. in *Int.J.Radiat.Oncol.*1985; C.Willett e coll. in *Ann.Surg.*1987) e la röntgenterapia associata a chemioterapia fu studiata da altri AA negli stessi anni. Queste ricerche dimostrarono che la radioterapia da sola o associata alla chemio aveva ridotto il numero delle recidive locali del tumore colico. In questi studi gli AA avevano studiato la fattibilità e l'efficacia dell'irradiazione diretta solo sul sito del tumore primitivo e dei linfonodi immediatamente adiacenti oppure estesa anche ad altri campi talora comprendenti il fegato e tutta la cavità addominopelvica. Nel pianificare i portali d'irradiazione dopo la resezione colica era stata fatta molta attenzione ad assicurare la tolleranza di organi più sensibili come il tenue, il fegato e i reni. Fino al 1993 non erano stati pubblicati studi randomizzati su questa materia (B.Cunnings, dipartimento di radioterapia oncologica dell'Università di Toronto).

La Laserterapia endoscopica palliativa in persone affette da complicanze di un carcinoma del colon inoperabile (ostruzione, emorragia) fu usata negli anni Ottanta con discreti risultati nella cura del fatto acuto ma senza alcun effetto sulla sopravvivenza. Nel 1986 P.Kiefhaber e coll. pubblicarono sulla rivista "*Endoscopy*" 54 casi di correzione di sintomatologia occlusiva da ostruzione neoplastica del colon senza mortalità ma con due casi di perforazione. Tutti i pazienti furono messi in condizione di poter affrontare in buone condizioni l'intervento di resezione intestinale. Nello stesso anno E.Mathus-Vliegen e coll. pubblicarono i risultati di una ricerca multicentrica europea che furono i seguenti: 181 casi di cancro del colon-retto furono trattati con NdYAG per via endoscopica (60 per ostruzione, 81 per emorragia e 40 per ambedue queste complicanze insieme): La sintomatologia scomparve del tutto nell'89% dei malati; le complicanze furono del 9,4% (5 perforazioni, 6 tra stenosi ed emorragie). La mortalità fu dell'1,1%. La sopravvivenza media fu di 6 mesi nonostante l'ottimo grado di palliazione ottenuto.

In una serie francese dello stesso tipo di trattamento si ebbe parimenti un 85% di buona palliazione e in 10 pazienti, il cui tumore aveva una produzione esofitica non superiore ai 3 cm., la guarigione ottenuta con il laser si mantenne tale anche a distanza di 18 mesi. Comunque John G.Hunter, professore associato di chirurgia all'Università di Salt Lake City, scriveva al riguardo che *"il laser NdYAG deve essere usato con molta cautela sul grosso intestino endoperitoneale per l'alto rischio di perforazione che può superare percentualmente il rischio di una resezione a cielo aperto della maggior parte dei cancri del colon"*

Per questi motivi Hunter riservava la laserterapia endoscopica per gli adenomi villosi del retto solo in pazienti ad alto rischio operatorio e a basso rischio di degenerazione adenocarcinomatosa. In una grande serie olandese di polipi villosi la recidiva raggiunse il 60% dei casi trattati e la degenerazione mali moris si verificò nel 20% dei pazienti trattati (Mathus-Vliegen 1986). J.Brunetand, di Lilla, accumulò una notevole esperienza con la terapia fotodinamica dei polipi villosi del retto e del sigma e la sua casistica poteva essere considerata quella con i migliori risultati: su 264 pazienti trattati e 160 di essi seguiti per una media di 28,4 mesi le complicazioni (piccole emorragie tardive e qualche stenosi circonferenziale) rappresentarono solo il 2,2%, non ci fu alcuna mortalità, le recidive raggiunsero il 13% e il 5,7% andò incontro a carcinoma invasivo nella stessa sede

(“*Gastroenterology*” del 1989). La maggior diffusione della terapia ma soprattutto della cura palliativa con NdYAG laser per i tumori maligni del colon e per i polipi villosi, avvenne negli anni Ottanta, subendo poi una netta limitazione nell’ultimo decennio del Novecento.

La chemioterapia per i cancro del colon retto negli **anni Novanta** si divideva in chemioterapia palliativa e chemioterapia adiuvante. La palliativa veniva applicata in pazienti in cui la malattia metastatizzata al fegato e/o ai polmoni non poteva essere trattata chirurgicamente. Da essa erano comunque esclusi i pazienti che pur trovandosi affetti da una malattia neoplastica così avanzata erano ancora asintomatici. Quando la diffusione metastatica diventava sintomatica si ricorreva al 5-fluorouracile (5-FU) oppure a questa sostanza associata al Leucovorin. I pazienti che rispondevano bene a questa terapia ma poi recidivavano venivano di solito sottoposti ad un secondo programma chemio come la combinazione di 5-FU, mitomicina, alfa interferone oppure alla floxiridina (FUDR). Più raramente, quando le metastasi erano confinate solo al fegato, si preferiva infondere l’antiblastico attraverso l’arteria epatica; in tutti gli altri casi si usava la via endovenosa. Le statistiche raccolte fino a tutto il 1993 confermavano un vecchio dato, l’assoluta inefficacia di questa terapia ai fini della sopravvivenza (N.Levitan in *Surg.Clin.North Am.* 1993)

La chemioterapia adiuvante per i cancro del colon si distingueva in parte da quella usata per i cancro del retto. I trials conclusi prima della metà degli anni Novanta furono suddivisi in negativi e positivi. Dei negativi, cioè di quelli che non mostrarono alcun miglioramento dei dati di sopravvivenza e nessuna differenza rispetto ai gruppi di controllo per quanta riguardava la percentuale di recidive, vanno citati il Gastrointestinal Study Group (durata 5,5 anni – 621 pazienti)), il Cross Cancer Institute Group e il Southwest Oncology Group (durata 7 anni - 317 pazienti). Gli antiblastici usati furono combinazioni di 5-FU, semustina, BCG.

Quelli che dettero risultati positivi furono i trials NSADP (1166 pazienti – semustina+vincristina e 5-FU per 80 settimane vs. nessun trattamento – sopravvivenza oltre i 5 anni 67% vs 59%), Intergroup (1296 pazienti – levamisole + 5-FU per 1 anno vs nessun trattamento – prolungamento di sopravvivenza nei pazienti in stadio Dukes C), trial del North Central Cancer Treatment Group o NCCTG (401 pazienti – levamisole + 5-FU per 1 anno vs. levamisole soltanto vs nessun trattamento - identico risultato dello studio Intergroup), trials NSABP (1158 pazienti – infusione in vena portale per 7 giorni vs. nessun trattamento – prolungamento della sopravvivenza nell’81% dei p. trattati vs. 73% dei non trattati)..

Per il cancro del retto i trials positivi furono condotti dagli stessi gruppi sopraindicati. Un aumento della sopravvivenza fu registrato a distanza dall’operazione di 80 mesi e 98 mesi (GITSG – 227 pazienti)), di 5 anni (NSABP – 555 pazienti) e di oltre 7 anni (NCCTG – 204 pazienti trattati rispettivamente con combinazioni di semustina+5-FU, di semustina + vincristina+5-FU e di semustina+5-FU+radioterapia)..

A metà degli anni ’90 negli USA il National Cancer Institute continuava dal 1989 a organizzare per la terapia adiuvante congressi periodici a breve distanza di tempo per aggiornare i risultati dei vari trials ancora in corso e predisporre altri riguardanti i pazienti operati di cancro del colon e/o del retto in stadio Dukes C.

Nel **1997** K.J.Oldhafer e coll., della clinica di chirurgia addominale e dei trapianti di Hannover, pubblicarono sulla rivista “*Surgery*” i primi risultati ottenuti in 12 pazienti affetti da metastasi epatiche diffuse (previamente trattati senza successo con chemioterapia per via sistemica) sottoposti a perfusione isolata arteriosa ipertermica con macchina cuore-polmoni impiegando in sei di loro alte dosi di mitomicina mentre negli altri sei fu infusa una combinazione di TNF e melfalan. Le biopsie eseguite nei primi giorni del periodo postoperatorio evidenziarono una necrosi tumorale massiva in 8 pazienti su 12. Una difficoltà di questo metodo fu quella dell’alta variabilità di origine dell’arteria epatica: solo

in quattro pazienti fu possibile incannulare l'a. epatica attraverso la gastroduodenale. Per isolare il campo di perfusione fu necessario far precedere un controllo totale del sistema cavale intraepatico, retroepatico e sovraepatico così da non rintracciare tracce di chemioterapici e in particolare di TNF nella circolazione sistemica durante la perfusione. L'ipertermia fu portata fra 40°C e 41°C, il tempo di perfusione fu limitato a 60' seguito da lavaggio con soluzione fisiologica sia per via arteriosa (1000 ml) che per via venosa (500 ml). Faceva parte del programma anche la chiusura provvisoria dell'addome e l'esecuzione di un "second-look" il giorno successivo. Non ci fu alcuna mortalità operatoria né insufficienza epatica acuta.

Nel 1999 F.Lupo e coll. dell'Università di Palermo ("Min.Chir.") presero in esame la chemioterapia intraarteriosa epatica delle metastasi epatiche utilizzata in 7 studi randomizzati con infusione di FUDR e apparsi in letteratura dal 1979 (T.Grage in "Surgery") al 1994 (T.Allen-Mersh in "Lancet") per un totale di 762 casi. Malgrado alte percentuali di risultati obiettivi non fu mai ottenuto un proporzionale aumento dei tassi di sopravvivenza rispetto al trattamento sistemico. Viceversa furono rilevati un 9,3% di ulcere gastroduodenali e un 10,6% di colangite sclerosante, dislocazioni, rotture, decubito del catetere intra-arteria epatica (5,3%), ostruzioni del catetere o dell'arteria epatica (5%). Questi inconvenienti attribuiti all'azione tossica del FUDR obbligarono alla metà degli anni Novanta a cercare di sostituirlo con la mitomicina che dimostrò di comportare minor numero di complicanze.

La **Poliposi ereditaria del grosso intestino** è malattia che viene trasmessa come carattere dominante e che va incontro a degenerazione adenocarcinomatosa in età giovane postadolescenziale e comunque prima o al massimo poco dopo i 30 anni d'età.

La poliposi del grosso intestino degenerata in cancro era nota agli anatomopatologi già dalla fine del XIX secolo ma il primo che osservò nella pratica clinica un legame di tipo ereditario espresso in forma dominante ed egualmente manifestantesi nei due sessi della poliposi fu nel 1925 J.P.**Lockhart-Mummery** che la descrisse in un articolo intitolato "Cancer and hereditary" sulla rivista inglese *Lancet*. Nel 1927 E.A.Cocayne su "Cancer Revue" sostenne che il carcinoma del colon era molto frequente in famiglie con poliposi coloretale e che la trasformazione mali moris era precoce. L'espressione genetica fu in seguito calcolata pari all'80% e anche più. Una percentuale di pazienti affetti da poliposi coloretale e da cancro – al massimo pari al 20% - non presentò nella prima metà del Novecento una storia familiare tipica di questa malattia e i genetisti inglesi J.Fraser-Roberts nel 1959 ("Introduzione alla genetica in medicina" - Oxford University Press) e A.Veale nel 1965 ("Intestinal polyposis genetics" - in Laboratory Memoirs - edizione Cambridge University Press) furono dell'opinione che questi casi fossero il risultato di una mutazione genetica. Le informazioni fornite dal St.Mark's Hospital Polyposis Registry di Londra furono sufficienti a C.Morson e I.Dawson per ipotizzare con fondatezza che circa uno su cinque casi era il risultato di questa mutazione.

Nelle prime fasi della malattia, in buona parte del tutto asintomatiche, fu notata spesso un'anamnesi positiva per episodi di diarrea, di perdite di sangue misto a muco ma nulla più. Per molto tempo la poliposi del grosso intestino fu considerata un problema più internistico che chirurgico finché nel 1950 E.**Gardner** e F.**Stephens** pubblicarono su "Am.J.Hum.Genet." e l'anno successivo il solo E.Gardner sulla stessa rivista – la scoperta dell'associazione tra poliposi coloretale familiare e le numerose cisti sebacee nei membri della stessa famiglia. Nel 1953 lo stesso Gardner e R.Richards pubblicarono nuovi casi affetti questa volta da poliposi ereditaria, lesioni multiple cutanee e sottocutanee e osteomi e fibromi multipli. Le cisti potevano essere di tipo sebaceo puro o cisti pilonidali o ancora cisti epidermoidali. Queste ultime furono oggetto di studio da parte di B.Leppard nel 1974. Queste cisti epidermoidali e gli osteomi che prediligono la mandibola e le ossa craniche

furono considerati dagli anni Sessanta in poi stigmati caratteristiche della “**Sindrome di Gardner**”. Questa diventò in quegli anni il sinonimo, molto spesso usato nel mondo medico anglosassone, per designare la poliposi coloretale. Nel 1975 i giapponesi J.Utsunomiya e coll. scoprirono e descrissero sul *Brit.J.Surg.* gli osteomi occulti della mandibola nel 94% dei portatori di poliposi colica familiare.: si tratta di **microosteomi** che divengono visibili alla particolare incidenza dei raggi X nelle radiografie panoramiche della mandibola.

Altre associazioni morbose extracoliche con la poliposi familiare, meno frequenti di quelle appena citate ma non per questo prive di significato diagnostico e prognostico, sono risultate essere i tumori desmoidi della parete addominale, del mesentere del tenue (W.Smith, 1959; C.Hoffman e B.Brooke 1970), i tumori del SNC (J.Turcot e coll. 1959; D.Jagelman 1983), gli adenomi ipofisari di vario tipo e i polipi gastroduodenali. Fin qui si tratta di associazioni con malattie spesso istologicamente benigne o di potenziale malignità. La lista delle associazioni con malattie maligne è più lunga. Ci limiteremo a ricordare in ordine decrescente di frequenza il carcinoma periampollare (H.Bussey, 1975; T.Jones e F.Nance, 1977), i carcinomi dei dotti biliari e della tiroide, i carcinoidi dell'ileo, e altri ancora.

Tutto questo ha condotto ad inserire nel processo diagnostico l'esame endoscopico del tratto gastroduodenale al primo posto dopo la rettocolonscopia e a non dimenticare di esaminare radiologicamente la mandibola e le ossa craniche. La TAC cranica è indispensabile oltre che per escludere la presenza di tumori encefalici anche per studiare esattamente la sella turca data l'alta frequenza osservata dell'associazione poliposi familiare - adenomi ipofisari.

L'apparente assenza di polipi della mucosa rettale in molti portatori di poliposi colica arrivati alla rettocolonscopia consentì nella prima metà del Novecento di cadere nell'errore di asportare il colon macroscopicamente malato (colectomie segmentarie o colectomie subtotali) e di confezionare anastomosi ileorettali. A.De Blasi e M.Rubino nel **1964** scrivevano che *“la terapia consiste nell'asportazione di tutto il colon seguita da anastomosi dell'ileo con l'ultimo tratto del retto e successivamente da elettrocoagulazione di eventuali polipi rimasti nel retto, oppure nell'asportazione del colon e del retto, con ileostomia addominale permanente”* e aggiungevano che *“se i polipi sono limitati al colon pelvico si può eseguire la emicolectomia sinistra con o senza asportazione del retto”*.

Il **1971** può essere considerato l'anno in cui fu dimostrato ampiamente l'errore di questi programmi terapeutici. Furono infatti C.Moertel e coll. della Mayo Clinic che, sulla rivista *“Cancer”*, presentarono una serie di 143 casi di poliposi familiare con un rischio sempre crescente di carcinoma del retto fino alla frequenza del 59% al 23° anno di follow-up dopo resezioni coliche totali con ileorettoanastomosi. L'età media dei pazienti al momento della colectomia totale era di 36 anni. Anche il lavoro di M.Bess e coll. del 1980 dal titolo *“Cancro del retto dopo colectomia per poliposi”* (*“Arch.Surg.”*) riportò cifre percentuali simili a quelle della Mayo Clinic: il 32% di 143 operati di colectomia totale per poliposi rivisti a distanza di 20 anni si era ammalato di cancro del retto. E' vero che altre casistiche davano una visione meno pessimistica del valore curativo della colectomia con ileorettostomia: ad es. W.Schaupp e P.Volpe su 36 pazienti rivisti a diverse distanze di tempo da 10 a 20 anni trovarono un solo caso di cr del retto pari al 3,8% (*“Am.J.Surg.”* del 1972), H.Bussey in una revisione del 1975 su 89 pazienti operati presso il St.Mark's Hospital di Londra e seguiti per periodi diversi da 10 a 20 anni denunciò soltanto un 2,2% di carcinomi secondari del retto (monografia edita dalla John Hopkins University Press).

Il trattamento più radicale, che mette al riparo dalla possibilità di uno sviluppo tumorale nel retto, fu iniziato già nel lontano **1947** da M.Ravitch e D.Sabiston (*“Surg.Gynecol.Obst.”*) che proposero la colectomia totale con rimozione della mucosa rettale fino alla linea dentata. Indubbiamente la asportazione di tutta la mucosa del retto per

conservare la funzione sfinterica anale era un obiettivo di difficile realizzo e le statistiche di questo tipo di operazione furono relativamente di minore consistenza numerica; esse portarono le firme di J.Devine e R.Webb (*"Surg.Ginecol.Obst."* del 1951), di L.Martin e coll. (*"Ann.Surg."* del 1977) e di D.Johnston e coll. (*"Brit.J.Surg."* del 1981 – 22 casi). Nel **1980 A.Parks** e coll. proposero una nuova soluzione: asportazione di tutto il colon e del retto fino alla linea dentata e sostituzione funzionale con un serbatoio creato con un tratto di tenue a triplice ansa attirato in sede anale con il sistema *pull-through* ("*ileal reservoir*" – in *"Brit.J.Surg."*). Nello stesso anno J.Utsonomiya e coll. proposero la stessa soluzione ma con un *ileal-reservoir* costruito a J. Quest'ultimo A. impiegava 6 ore per portare a termine in unica seduta un intervento di questo tipo. Quasi tutti i chirurghi adottarono poi questa soluzione ma eseguendola in due tempi chiudendo il primo tempo - quello demolitivo – con un'ileostomia temporanea che durava alcuni mesi prima dell'esecuzione dell'*ileal reservoir*. Il periodo di adattamento a questa nuova condizione da parte degli operati fu calcolato dai 6 mesi ad un anno. Il giudizio finale su queste nuove e delicate operazioni era ancora sospeso nel 1983 (D.Jagelman specialista di chirurgia coloproctologica della Cleveland Clinic Foundation). Ancora negli anni Ottanta si continuò a praticare da parte di molte scuole di chirurgia intestinale le colectomie totali con anastomosi ileorettali specialmente nei casi in cui alla rettoscopia la mucosa rettale appariva sufficientemente sana per affidarsi ad uno stretto follow-up endoscopico con pronte asportazioni e folgorazioni di tutti i polipi che sarebbero venuti alla luce. La sorveglianza comunque fu allargata al tratto alto del tubo digerente per i motivi già esposti più sopra.

Un impegnativo problema sollevato da ogni nuovo caso di poliposi ereditaria fu quello del trattamento della famiglia del malato. Si rendeva necessario ricostruire un albero genealogico di due o tre generazioni e di rendere edotti tutti i componenti dei rischi comportati dalla poliposi colica ereditaria. Alcune scuole di chirurgia affrontarono questo problema istituendo un Registro della Poliposi Familiare. Fino a tutto il 1982 il registro della Cleveland Clinic Foundation aveva identificato 95 generazioni con 1796 casi di poliposi ma medici e altri operatori sanitari addetti all'opera di screening e gli stessi medici di famiglia non erano ancora definitivamente orientati sulla scelta dell'indagine prima da eseguire dovendo scegliere tra la proctosigmoidoscopia o colonscopia e l'esame radiologico con il clisma opaco a doppio contrasto. Negli ultimi 23 anni era stata data la preferenza all'esame endoscopico basandosi sul fatto che tutti i pazienti affetti da poliposi familiare presentavano certi tipi di polipi rettali che possono essere un adenoma singolo in stadio non troppo avanzato. La regola che questo personale sanitario seguiva era quella di raccomandare l'esecuzione della prima rettoscopia all'età di dieci anni

Già prima degli anni '50 erano state individuate alcune forme croniche della mucosa rettale e dell'epitelio del canale anale definite "*tumori precancerosi dell'ano-retto*": una di queste è la **Malattia di Bowen** che può interessare la cute delle persone di razza bianca di oltre 50 anni di età in molte sedi (volto, genitali, ano-retto, arti) sotto forma di papule scure destinate ad ulcerarsi lentamente; l'evoluzione è verso l'epitelioma squamoso atipico o verso l'epitelioma vero di Bowen. L'asportazione locale ha sempre ottenuto la guarigione anche se A.P.Stout nel 1939 descrisse metastasi di queste neoplasie. Anche la **leucoplachia della cute e dell'ano** fu considerata fin dal 1929 (F.J.Taussig) una condizione precancerosa nel 50% dei casi. La leucoplachia dell'ano è sempre un'estensione di una leucoplachia vulvare che, per primo, R.Telinde dimostrò nel 1946 essere trattabile solo con l'asportazione chirurgica non avendo avuto successo il trattamento con estrogeni. Infine tutti i **polipi del retto** erano considerati forme precancerose già prima delle ricerche cliniche effettuate su questa materia da C.Gianturco e G.A.Miller della "Carle Clinic" (1953) e da N.W.Swinton e W.A.Douane (1952) che concordarono sulla natura precancerosa dei polipi adenomatosi e di quelli papillomatosi e

sull'assoluta necessità di asportarli completamente data la fallacità dell'esame istologico quando viene eseguito solo su frammenti biotici. L'importanza fondamentale della rettosigmoidoscopia (esame condotto fino a 15 cm dall'ano) fu sottolineata dagli AA citati come completamento indispensabile dell'esplorazione digitale dell'ano-retto in tutti i pazienti adulti sintomatici.

Nel 1923 J.P. Pennington esaminò 7313 casi di tumori maligni del tratto anorettale rapportandoli all'età dei soggetti esaminati e trovò la massima incidenza nella V decade di vita (28,98%) e nella VI decade (25,15%). Tra le cause predisponenti Bickham e coll. individuavano alla fine degli anni '40 solo i polipi adenomatosi degenerati e sostenevano l'assoluta necessità di asportare **tutti** i polipi riscontrati a carico della mucosa del tratto rettosigmoideo.

I **cancri del canale anale** comprendono: 1°- i carcinoidi in numero complessivo di 29 casi pubblicati nella letteratura mondiale e raccolti da R.Foreman fino al 1958; 2°- i basaliomi che a livello anale si presentano con le caratteristiche dell'*ulcus rodens* e sono rarissimi e facilmente trattabili con l'asportazione locale; 3°- gli epitelomi o cancri a cellule squamose che sono le neoplasie più frequenti e maligne. W.B.**Gabriel** fu ritenuto il maggior conoscitore e specialista di questi tumori e divenne famoso il suo trattato intitolato "*Principi e pratica di chirurgia del retto*" pubblicato nel **1948**. Presso il St.Mark's Hospital di Londra Gabriel ebbe modo di curare 1700 casi di cancri dell'ano e del retto tra il 1922 e il 1940 e constatò una uguale frequenza di cancro anale nei due sessi ma una netta differenza quanto a sede (preferibilmente sul margine anale nei maschi e dentro al canale nelle femmine) e a grado di malignità (i gradi più alti di malignità erano tipici delle donne e viceversa). Delle metastasi linfoghiandolari inguinali, in passato ritenute frequenti, si interessò nella sua casistica di 49 cancri anali R.S.Grinnell che concluse per una metastatizzazione più lenta e meno frequente rispetto a quella dei carcinomi del retto. Fu importante però il riscontro di metastasi linfatiche di cancri dell'ano in sede alta nella pelvi. R.H.Sweet denunciò in 77 pazienti il 23% di metastasi di cancro dell'ano nei linfonodi inguinali.

L'estensione locale del tumore allo sfintere anale e ai tessuti perianali fu frequente nella casistica di Grinnell mentre l'invasione di altri organi (vagina, prostata, collo uterino, vescica, sacro) risultò rara. Nella prima metà del secolo questo tipo di tumore fu trattato con la terapia radiante, con l'asportazione chirurgica e, nei casi non suscettibili di terapia radicale, con metodi palliativi.

La terapia radiante fu praticata sia con infissione di aghi di radium sia con i raggi röntgen. I dati forniti a tale riguardo da Gabriel dimostrarono tutta l'importanza della valutazione istologica preliminare del grado di malignità perché, nella sua vasta esperienza, le forme a bassa malignità risposero rapidamente e in via definitiva alla infissione del radium mentre nessun risultato fu ottenuto quando la malignità era di grado elevato. Gabriel in queste forme "radiumresistenti" procedeva subito a cura chirurgica se la forma appariva ancora operabile. L'asportazione veniva effettuata preferenzialmente con il bisturi elettrico. La comune röntgenterapia a voltaggi massimi ottenibili con i tubi catodici della prima metà del secolo non fornì buoni risultati.

Anche Sweet e Grinnell confermarono a loro volta indipendentemente l'uno dall'altro la scarsa efficacia e i danni secondari dell'irradiazione röntgen anale.

Oltre alla exeresi locale con il bisturi elettrico gli AA già citati usarono anche, a seconda dei casi, l'estirpazione dell'anorecto per via perineale o l'amputazione del retto sec. Miles per via addomino-perineale.

La **storia dell'amputazione del retto per via perineale** reca due date molto lontane: l'amputazione di Lisfranc eseguita per la prima volta nel 1826 e quella di Volkmann del 1877. Ma non vanno sottaciute altre date storiche che contrassegnano altre tre vie di

aggressione: la **via sacrale** ideata e praticata per la prima volta dal tedesco Kraske nel 1885 e che conoscerà rinnovato interesse e modifiche in vari periodi del XX secolo (evitando assolutamente la confezione dell'ano sacrale), ma sempre da parte di un ristretto numero di chirurghi, la **via vaginale** proposta e attuata dal francese Desguins ma che ebbe scarsissima applicazione pratica, e la **via addominoperineale**. Prima di Miles diversi AA batterono la via combinata addominoperineale: per primo Czerny nel 1883, poi i francesi Chalot nel 1896 e Quenu nel 1895, seguiti dai tedeschi Trendelenburg, Sonnenburg, Rotter, Kümmel, Sudeck; infine la **via combinata addomino-sacrale** che fu pubblicata da Quenu e Hartmann nel 1896 sul *Bulletin et Mémoires de la Société de Chirurgie*. La mortalità operatoria media delle amputazioni del retto pubblicate da Kraske, Hochenegg, Quénu negli anni a cavallo dei due secoli, Ottocento e Novecento, era del 15%. Le guarigioni oscillavano da un minimo del 9% di Krönlein ad un massimo del 28,5% di Mikulicz. Molti di questi AA pubblicarono guarigioni definitive riscontrate a distanza di 8, 10, 12, 13 anni (P.Duval 1906).

Tuttavia quella che si impose nel XX secolo fu **l'amputazione del retto** con svuotamento linfatico della pelvi per via addominoperineale proposta dal chirurgo inglese **Miles**, anche se ci furono alcuni che si attardarono nel continuare con la resezione del retto per via perineale e per via sacrale. Cattell e Williams nel **1943** e R.Buxton nel **1953** concordarono sulla scelta-base della resezione alla Miles accompagnata da dissezione bilaterale dei linfonodi inguinali.

I **procedimenti palliativi** in uso prima degli anni '50 furono la colostomia semplice e la neurectomia presacrale di Gabriel con intento esclusivamente antidolorifico: queste cure avevano dato qualche sollievo ai pazienti nei quali il tumore aveva invaso la prostata e/o altri organi pelvici. Furono usati anche la iniezione intradurale di 0,5-1 ml di alcool assoluto penetrando con l'ago nel 2° spazio intervertebrale della regione lombare e, infine, la cordotomia, metodo che fu impiegato soltanto da chirurghi esperti in neurochirurgia.

I risultati a 5 anni e più di distanza dalla terapia chirurgica e radiante o mista di sette casistiche raccolte e pubblicate da **Grinnell** nel **1954** su un totale di 729 casi dimostrarono che il carcinoma anale non aveva una prognosi così infausta come tramandato fino alla metà del secolo. Infatti la sopravvivenza a 5 anni dalla cura oscillò da un minimo del 16,8% (Sweet – Palmer Memorial and Massachusetts General Hospital – 1947) ad un massimo del 52,6% (Paterson – Holt Radium Institute di Manchester, England – 1950).

Nel **1963** e nel **1965** John Sawyers, della Vanderbilt University Medical School di Nashville (Tennessee), aggiornò più volte i dati epidemiologici e clinici dei malati di cancro del canale anale da lui curati trovando i primi non dissimili da quelli già pubblicati da Grinnell nel '54 e, per quanto riguardava i secondi, una sopravvivenza dopo 3 anni del 52% dopo amputazione alla Miles in 29 operati e del 66% nei tre casi trattati con sola escissione locale. La novità apportata da Sawyers fu il riscontro istologico di metastasi linfatiche mesenteriche alte oltre che perirettali e inguinali e di metastasi per via ematica al fegato e ai polmoni. L'A. si pronunciò contro la terapia radiante che giustificò solo come palliativa ma riportò un 15% di sopravvivenza dopo radiumterapia pubblicata da J.Roux-Berger e coll. nel 1948 e un 13% riferito da M.Stearns di New York nel 1958.

Nel **1978** Stuart Quan pubblicò le casistiche e le percentuali di sopravvivenza a 5 anni dei 299 malati osservati e curati presso il Memorial Sloan Kettering Center di New York dal 1944 al 1970 dividendo i risultati in tre periodi (1944-1963; 1964-1970; 1971-78). L'A. riscontrò un peggioramento negli ultimi due periodi (dal 53% di sopravvissuti del primo periodo al 33% degli ultimi due periodi) e lo spiegò con una situazione più avanzata della malattia nei pazienti presentatisi alla prima osservazione dopo il 1964. L'orientamento terapeutico era stato identico a quello già sostenuto e propagandato da Sawyers (v.sopra). L'unica novità era contenuta nella seguente affermazione: "...il referto istologico può parlare di tumore transizionale, cloagenico, basaloide o mucoepidermoide ma il chirurgo

deve considerare tutti questi nomi come semplici varianti del carcinoma squamoso del canale anale” e regolarsi di conseguenza preferendo exeresi limitate solo per i piccoli tumori situati sotto la linea dentata. Per tutti gli altri la regola era di eseguire un’amputazione anorettale sec. Miles.

Questa dunque la situazione della cura del cancro del canale anale e dei suoi risultati fino alla **soglia degli anni ’80**. Nel corso dell’ottavo decennio gli affinamenti apportati alle cure radianti e alla chemioterapia (che già aveva mosso i primi passi tra fine anni ’60 e inizio anni ’70) portarono ad un’importante revisione dei programmi di trattamento fino allora decisamente orientati in senso chirurgico con operazioni molto mutilanti. Alfieri del rinnovato interesse per la **terapia radiante** furono **J.Papillon** con la sua radioterapia interstiziale ad alto dosaggio in breve tempo che su 217 pazienti aveva dato il 68% di sopravvivenza a 3 anni con il 92% di funzionalità anorettale conservata e **N.Nigro** che, tra 1974 e 1987, usò in 104 pazienti la cura combinata di radioterapia e chemioterapia (mitomicina C + 5 fluorouracile) ottenendo il 93% di regressione e l’83% di sopravvivenza a 5 anni. Molti centri oncologici seguirono con entusiasmo le orme di Nigro ottenendo quasi tutti il 90% di risultati soddisfacenti. Le pubblicazioni di questi centri fecero la loro comparsa in letteratura oncologica nel **periodo 1984-1987**. L’amputazione del retto alla Miles era ormai riservato alla fine degli anni ’80 ai casi plurirecidivi o di malattia residua (P.Gordon, dicembre 1987). Questo schema terapeutico che conservò la **escissione locale** come metodo di scelta **per il cancro anale epidermoide** quando è inferiore a 2 cm di diametro e non interessa la linea dentata, andò vieppiù rafforzandosi dopo il 1990 e fino all’anno 2000, con l’apporto di sempre nuovi risultati che stavano a favore della cura mista radiante e chemioterapica. I nuovi studi istologici di L.Leichmann e coll. (1990), P.Gordon e coll. (1992), C.Fenger (1991), M.Greenall (1985) e di altri posero basi più sicure per le opzioni curative legate a diagnosi esatte sulla natura degli elementi cellulari della zona di transizione anale da cui derivano gli **11 istotipi diversi di tumori maligni del canale anale** di cui quello qui trattato, pur essendo di gran lunga il più frequente, corrisponde soltanto a tre di tutte queste undici forme (cr a cellule squamose, cr basaloide e cr mucoepidermoide) come fu ben chiarito da G.Oliver e S. Labow nel dicembre del 1994.

Nel mese di maggio **1999** sulla rivista “*Min.Chir.*” **A.Briccoli** e collaboratori delle Università di Bologna e di Modena analizzarono le possibilità terapeutiche degli anni ’90 basandosi sui risultati ottenuti con la exeresi radicale in 127 pazienti su 137 diagnosticati negli ultimi 25 anni. Il 52% dei tumori apparteneva al canale anale e il 48% al margine anale ripartiti istologicamente in adenocarcinoma (43%), carcinoma basocellulare (29%) carcinoma squamocellulare o malpighiano (23%) e cloacogenico (5%). 101 pazienti furono trattati con l’amputazione addominoperineale e linfectomia delle due “ascelle linfatiche”, gli altri ebbero resezioni locali o colostomie definitive. La sopravvivenza postexeretica dopo 5 anni fu del 34,2%, a 10 anni, del 26,3% a 20 anni e del 7,8% a 25 anni. Gli AA, riconoscendo che le tre caratteristiche dei tumori dell’ano sono la frequente diffusione pelvica, la contemporanea potenzialità metastatica per via cavale e portale e la notevole aggressività locale, ricordavano che negli ultimi 15 anni “*in ogni Scuola Chirurgica la condotta terapeutica si era caratterizzata per una ricorrente alternanza fra aggressività ed astensionismo di principio demandando talora alla radioterapia il raggiungimento di obiettivi altrimenti non perseguibili; attualmente i protocolli radiochemioterapici hanno affidato alla chirurgia un ruolo più composito rivolto soprattutto all’escissione locale primaria o secondaria dei residui neoplastici o delle varietà in regressione parziale*”. Dall’analisi dei risultati ottenuti con la chirurgia demolitiva Briccoli e coll. traevano la conclusione che “*i risultati a distanza non sono influenzati dalla pratica della linfectomia anche allargata*” e che “*la chirurgia demolitiva può trovare indicazione solo nei casi più estesamente infiltranti*” “anche perché “*la chirurgia offre risultati a distanza pressoché*

analoghi a quelli ottenibili con la cura del cancro del retto dello stesso grado di accrescimento”.

Adenocarcinoma del Retto.- Le sue caratteristiche istomorfologiche ed evolutive non sono dissimili da quelle dell'adenocarcinoma del tubo digerente in generale. Importanti furono però gli studi eseguiti nella prima metà del Novecento per valutare le modalità e le vie di diffusione del cancro del retto.

Il primo a fornire una visione circostanziata e ben documentata dello sviluppo fu W.E.Miles nel 1931. Questo chirurgo dimostrò, grazie alla sua grande esperienza, che il carcinoma del retto impiega da 18 a 24 mesi per estendersi circolarmente fino a formare un anello vegetante completo a carico della mucosa rettale verso il lume, che l'invasione delle strutture anatomiche intorno al retto avviene solo quando è interessata dal tumore oltre metà della circonferenza del viscere e che, perché questo avvenga, occorre che trascorra circa un anno, infine che le metastasi si verificano un po' in ritardo rispetto ad altre sedi dell'adenocarcinoma primitivo. L'impianto o trapianto del tumore sulla mucosa del retto a valle del tumore primitivo fu dimostrata nel 1953 da E. Auer e coll. La diffusione verso l'alto e verso il basso per contiguità fu oggetto di studio da parte di R. Glover e coll. nel 1946 e di W.Gabriel nel 1948; quest'ultimo sostenne che il tumore non avrebbe dato metastasi finché non avesse oltrepassato tutto lo spessore della parete del retto. Sia C.Dukes nel 1933 che R.Grinnell misero in rilievo lo stretto rapporto quantitativo tra la percentuale di metastasi per via venosa e grado di malignità (*grading*) del tumore. La diffusione per via linfatica, studiata da F. Rankin e A.Graham nel corso degli anni '40, dimostrò la distribuzione metastatica dal retto ai linfonodi perirettali, da questi ai retto-sigmoidei e da questi ai mesenterici. L'interessamento dei linfonodi inguinali sarebbe il segnale di forme molto basse e avanzate (1 - 4,6%). I quattro stadi della diffusione sec. Dukes corrispondono strettamente al *grading* del singolo tumore escludendo lo stadio IV (ultimo) in cui c'è già l'invasione metastatica di organi lontani dal retto (fegato, polmone, cervello).

A parte il tenesmo rettale, sintomo caratteristico dei tumori più sviluppati dentro il lume del retto, il quadro clinico non differisce affatto da quello dei tumori maligni del colon e questo era già noto fin dal secolo XIX. Nel caso del cancro del retto le manualità diagnostiche contemplavano l'esplorazione rettale, la rettoscopia e la biopsia già nella prima metà del Novecento.

Il bagaglio terapeutico, in parte ereditato dall'ultima parte dell'Ottocento, si fondava **fino al 1930** sulla amputazione del retto, chiuso preventivamente alle sue due estremità come consigliato dal francese Quénu e previa confezione di ano iliaco praeternaturale a sinistra. Le vie di accesso seguite per amputare il retto erano le seguenti: 1°- **per via perineale**, metodo inaugurato da Lisfranc ancora nel 1826 e in seguito affinato da Denonvilliers, Rizzoli (1869), Kocher, Dieffenbach; 2°- **per via vaginale**, metodo praticato molto raramente e solo per tumori dell'ampolla con la volontà di preservare se possibile lo sfintere anale; 3°- **per via sacrale** sec. Kraske (1885-1900) e in seguito con le modifiche apportate da Lewy (1899), Morestin (1894), Rotter. (1903); 4°- **per via mista addominoperineale** ideato e applicato per la prima volta nel **1883** da **Czerny** e poi da **Giordano** nel **1896** che aggiunse la legatura sistematica preventiva delle due arterie iliache interne o ipogastriche. Questa via addominoperineale aveva già consentito a molti chirurghi la mobilitazione preventiva del sigma, del colon sinistro e del trasverso in un programma di conservazione della funzione sfinterica che, una volta asportato il retto, avveniva mediante anastomosi circolare della sezione sigmoidea con quella del canale anale oppure mediante la invaginazione se il tempo perineale era sostituito da un tempo sacrale. Trendelenburg per primo e, dopo di lui, Sonnenburg e, a Berlino, Rotter usarono **l'invaginazione per via transanale** del retto già devitalizzato e isolato dall'alto per via

addominale e segnarono di aver ottenuto in questo modo buoni risultati. Fiskejonas di Boston pubblicò nel **1914** un **metodo addominale-sacrale** in due tempi: a distanza di una settimana il secondo tempo, quello sacrale, aveva lo scopo di assicurarsi, prima di abbassare tutto il colon sano mobilizzato nel primo tempo, che esso fosse perfettamente vitale.

I dati riguardanti la mortalità e le recidive tumorali di questa chirurgia che potremmo definire “eroica” e di avanguardia dati i tempi in cui veniva eseguita in sale operatorie provviste di una illuminazione limitata e precaria, senza possibilità di trasfondere sangue nel corso dell’intervento e con strumentazione limitata e poco adatta per affrontare le difficoltà tecniche offerte dalla profondità del campo operatorio, non erano certamente entusiasmanti, anche se per tutta la prima metà del Novecento fu ammessa la giustificata resezione parziale del retto conservando lo sfintere anale quando il cancro era di piccole dimensioni e di basso *grading*, e per effettuarla si continuò ad usare la vecchia via d’accesso perineale sec. Lisfranc. Shackelford comunque avvertiva alla fine degli anni ’40 che in quel modo l’esplorazione delle eventuali metastasi a distanza rimaneva preclusa, che l’asportazione delle vie linfatiche perirettali e pelviche era approssimativa e insufficiente, che era impossibile decidere quali arterie sacrificare e quali preservare e che nelle lesioni basse diventava molto probabile l’obbligatoria confezione di un ano artificiale perineale, soluzione molto meno soddisfacente dell’ano iliaco.

Il grande passo avanti fu dato dalla proposta della amputazione completa del retto e del canale anale con il suo apparato sfinterico fatta ancora nel **1931** dal chirurgo inglese **Miles** ma da lui stesso proposta fin dal 1908 sulla rivista “*Lancet*”. L’intervento, condotto in unica seduta per via combinata addominale e perineale comportava la confezione di un ano iliaco. L’alto prestigio di F.H.Lahey, il caposcuola di Boston, consacrò definitivamente la validità e la razionalità dell’operazione di Miles con la pubblicazione del 1952 che portava il titolo “*Svantaggi delle operazioni per cancro del retto che conservano lo sfintere anale*”. Due anni prima anche Rankin e Graham avevano scritto in proposito: “...non è possibile praticare un’asportazione veramente radicale del retto per cancro salvando la muscolatura sfinterica”. Negli anni che seguirono l’operazione di Miles fu accusata di non essere sufficientemente radicale per quanto riguardava la linfadenectomia e nel **1951** D.State propose un allargamento della resezione intestinale a tutto il colon sinistro compresa la flessura splenica confezionando l’ano praeternaturale definitivo sulla metà sinistra del colon trasverso. La linfadenectomia di State arrivava ad asportare i linfonodi aortici e della cava inferiore fino all’altezza della terza porzione duodenale. Nel 1952 I.Sauer e H.Bacon proposero di allargare la resezione del retto fino alla fascia pelvica allo scopo di evitare le recidive endopelviche dopo l’operazione di Miles. Nel 1950 O.Lloyd-Davies propose la contemporanea esecuzione del tempo addominale e di quello perineale da parte di due équipes (mortalità=7,2%).

Già due anni dopo la pubblicazione di Miles, nel **1935**, F.Lahey, trovando troppo pesante e impegnativo per i malati l’intervento addominoperineale eseguito in tempo unico, aveva proposto ed attuato l’operazione in due tempi distanziati di due – tre settimane. Nel primo tempo veniva deciso il limite alto della futura resezione del sigma-retto e si confezionava l’ano iliaco definitivo abbandonando fuori dal circuito fecale il segmento anorettale defunzionalizzato. Nel secondo tempo si effettuava l’amputazione vera e propria del retto. Tuttavia già alla fine degli anni ’40 questo intervento in 2 tempi era stato abbandonato. A metà di quegli anni H.Hartmann propose ed eseguì in 34 pazienti un’operazione demolitiva per cancro del retto alto (situato cioè al di sopra della valvola di Houston, ossia sopra la riflessione del peritoneo sulla faccia anteriore del retto) che lasciava nella piccola pelvi, abbandonato e defunzionalizzato, retto medio e retto inferiore: tutta l’operazione veniva effettuata per via addominale. L’operazione di Hartmann, particolarmente indicata nei soggetti più anziani e in quelli defedati, non fu mai abbandonata del tutto fino alla fine

del XX secolo. Tuttavia, anche se la Hartmann fu forse la prima e più importante alternativa alla Miles, altri interventi in più tempi con la confezione di ani praeternaturali provvisori furono quelli ideati in due tempi da T.Jones nel 1947 e in tre tempi da parte di F.W.Rankin nel 1948.

Molta risonanza ebbe **dopo il 1945 la resezione anteriore** che **Bacon** eseguì in quell'anno salvando l'apparato sfinterico con l'asportazione del cilindro di mucosa anorettale così da poter tirare all'esterno lo *specimen* rettale previamente isolato dall'alto nel tempo addominale attraverso l'anello sfinterico dilatato. La anastomosi veniva fatta tra trancia colica e cute anale con suture a punti staccati. Il vantaggio era dato dalla rinuncia ad un ano praeternaturale ma era controbilanciato dallo svantaggio delle perdita di buona parte della continenza anale. Tuttavia l'operazione di Bacon stimolò altri chirurghi a cercare di risolvere con un'unica operazione il duplice problema rappresentato dalla conservazione sia dell'apparato sfinterico funzionante che della sensibilità del canale anale. Il primo fu **Black** nel **1952** ad eseguire l'operazione di Bacon conservando però la mucosa del canale anale fino a tutta la linea dentata: la continenza anale fu perfettamente conservata in 27 pazienti dei primi 33 operati in questo modo. Sempre nel 1952 **Welch-Rheinlander** inaugurò la **resezione anteriore con due équipes**, una per l'intervento dall'alto e l'altra per il completamento per via perineale impiegando per la prima volta la **sutura meccanica** con agraphes metalliche di von Petzer per chiudere con duplice sutura a perfetta tenuta le due trancie di sezione; l'équipe perineale praticava l'eversione del moncone anorettale distale e attraverso la sezione trasversale della sua parete anteriore penetrava nello scavo pelvico con una lunga pinza alla quale l'operatore affidava dall'alto la trancia chiusa del colon che veniva estratto dalla équipe perineale e suturato al moncone distale a punti staccati. I primi 10 pazienti riacquistarono tutti la continenza entro un massimo di 6 settimane. Questa e altre operazioni consimili furono chiamate "*abdomino-rectal pull-through resections*" e trovarono consensi anche in Europa continentale come da parte del francese **Toupet** che inventò uno strumento apposito per l'estrazione del colon, e dei tedeschi Schloffer, Gregow e Kümmel.

L'affermarsi della resezione anteriore, laddove la sede del tumore e la sua estensione la rendeva possibile, rappresentò una grande conquista. Conquista giustificata sul piano etico dalle parole lasciateci da J.McGregor e H.Bacon nel 1962: "*...la mancata esecuzione di una colostomia quando indicata può mettere in forse la guarigione del paziente e ciò rappresenta uno sfortunato errore nella decisione chirurgica ma egualmente tragico è il sacrificio del meccanismo sfinterico dell'ano e di ogni parvenza di normalità quando non viene aumentata la chance di sopravvivere*" ma conquista resa possibile dagli studi e dalle sperimentazioni cliniche eseguite nel **periodo 1947-1954** sul dibattuto tema della quantità di parete rettale sotto il tumore che si doveva assolutamente asportare per assicurare il massimo di radicalità terapeutica e sui mezzi per conservare la continenza sfinterica. Nel 1948 e nel 1951 E.A.Gaston pubblicò alcuni studi chimografici sulla contrazione anorettale in previsione di poter conservare l'apparato sfinterico nelle exeresi rettali per cancro. Queste ricerche fecero concludere che "*il retto ha una parte essenziale nel meccanismo sfinterico poiché per conservare la continenza deve rimanere intatto l'arco riflesso di cui fanno parte le fibre afferenti che partono dalla parete rettale*". Nel 1951 l'inglese J.Goligher confermò le conclusioni di Gaston dopo aver ripetuto le stesse ricerche in 171 pazienti da lui operati presso il St Marks Hospital di Londra. Fu così concluso che per non danneggiare le vie nervose afferenti dell'arco riflesso della continenza rettoanale era opportuno lasciare in sede 7 cm di retto distale. Ma poco dopo, pur nelle differenze di risultati tra i singoli ricercatori, si arrivò nel corso degli anni '50 a stabilire che con buona sicurezza si poteva lasciare in sede una parte distale sana di retto dopo averne asportati da 3 a 5 cm sotto la neoplasia (J.Connel 1949; R.Gilchristie e coll 1947; J.Dumphy e coll. 1951; J.Goligher e coll 1951; R.Grinnell 1954). Del resto già lo stesso Gilchristie nel 1938,

Coller e coll nel 1940 e Glover nel 1946 avevano constatato che i cancro del grosso intestino si sviluppano sempre in direzione orale e mai in direzione aborale.

In realtà l'operazione di Bacon sopraricordata deve la sua importanza storica al fatto che fu la prima di una serie ininterrotta di applicazioni sul tavolo operatorio dei concetti anatomofisiologici ed etici affermatasi nei primi anni '50. Ciò non contrasta con il fatto, di altrettanto valore storico, che la stessa strada, dal punto di vista strettamente tecnico, sia stata esplorata già molto tempo prima. Infatti la resezione anteriore fu attuata per la prima volta nel 1844 dal chirurgo francese J.Reybard che la descrisse nel Bollettino dell'Académie de Medecine di Parigi sotto il titolo: "*Memoria di un tumore canceroso del retto: ablazione del tumore e dell'intestino; anastomosi diretta e immediata delle due trancie di questo organo e guarigione*". Dopo questa pubblicazione diversi chirurghi europei tentarono di ripeterla ma con mortalità e morbidità proibitive. Mikulicz nel 1903 ridusse la mortalità dal 30-50% al 12% con la tecnica dell'esteriorizzazione del segmento devitalizzato comprendente il tumore e pubblicandone i risultati nel 1903. Tuttavia furono i metodi di anastomosi intestinali ideati da Parker e Kerr e pubblicati nel 1908 sul Bollettino del John Hopkins Hospital di New York a spingere D.Balfour nel 1920 ad eseguire resezioni coliche sopra un lungo tubo di gomma estraibile dall'ano. Negli anni '30 C.Dixon, rinfrancato dai buoni risultati ottenuti con l'operazione di Hartmann, accertatosi che in virtù di questi risultati e delle ricerche di H.Westhues (1934) la parte di retto sottostante il tumore era sana e altrettanto sane erano le sue vie linfatiche, cominciò a sostituire l'operazione di Hartmann con la resezione anteriore. Naturalmente gli stratagemmi ideati e applicati da diverse scuole chirurgiche per confezionare in sicurezza di tenuta l'anastomosi colonrettale furono molte e ne accenneremo più avanti, ma un punto fermo nel corso degli anni '50 e '60 fu il limite entro il quale si considerava giustificata l'esecuzione di una resezione anteriore e cioè quando il tumore aveva sede sopra l'inserzione dell'elevatore dell'ano cioè sopra gli ultimi 5 cm. di retto. Dibattuta rimase però in quel periodo la indicazione per le lesioni neoplastiche del retto medio (da 5 a 10 cm dalla rima anale): molti rimasero fedeli alla Miles, altri sostennero l'indicazione alla resezione anteriore.

Nel **1965** gli autori americani D.J.Vandertoll e O.H. Beahrs della Mayo Graduate School of Medicine di Rochester (Minnesota) pubblicarono i risultati di 1766 resezioni anteriori praticate in casi definiti "*favorevoli*" perché il 75% degli operati aveva lesioni di grading A e B cioè senza metastasi linfatiche e solo il 25% aveva linfonodi interessati dal tumore. Si trattava di pazienti che nella stragrande maggioranza apparteneva alla quinta o sesta decade di vita. La sopravvivenza globale a 5 anni di distanza fu del 56%, la mortalità operatoria del 4,2% la morbidità (prevalentemente da fistole fecali) pari al 24%. Gli AA. denunciavano che "*i dati elevati di mortalità e morbidità erano dovuti direttamente alle deiscenze totali o parziali delle anastomosi*" che, a quell'epoca, erano tutte fatte a mano con vari metodi e diversi materiali di sutura.

Nel **1988** Victor W.**Fazio** della Cleveland Clinic Foundation faceva il punto sulle tecniche di anastomosi coloretali basse e coloanali i cui tre requisiti erano ormai fissati da tempo nella perfetta vitalità dei due monconi da anastomizzare, nella buona adattabilità dei loro calibri e nella prevenzione di inquinamento fecale della pelvi. Le tecniche anastomotiche ancora in uso alla fine degli anni '80 erano:

1°- anastomosi con suture a mano dall'alto, particolarmente difficili quanto più basso e corto era il moncone anoretale; venivano usati fili di sutura di materiale sintetico a lento riassorbimento ed eccezionalmente fili metallici (Khubchandani); lo strato di sutura posteriore veniva eseguito per primo e a tutto spessore mentre quello anteriore era sieromuscolare a punti staccati. Per facilitare la esecuzione dell'anastomosi la trancia del moncone distale veniva tenuta sollevata e ben aperta da quattro lunghi fili di tenuta. L'anastomosi era quasi sempre termino-terminale, qualche volta lateroterminale.

2°- operazioni *pull-through* con eversione del moncone distale sec. il vecchio modello Maunsell-Weir (*Lancet* 1892) corretto sec. Turnbull-Cuthbertson (1961) o Cutait-Fagiolini (1961) con resezione e anastomosi colonrettale a 7 giorni di distanza dall'esteriorizzazione del tratto intestinale devitalizzato.

3°- anastomosi transanale di Parks (1972) nella versione modificata dallo stesso Parks nel 1982

4°- resezioni addomino-sacrali sec. Manson (1976) laddove l'accesso sacrale doveva servire per avere una buona visione del campo dove eseguire l'anastomosi.

5°- anastomosi meccaniche con gli stapler introdotti nella pratica clinica negli USA alla fine degli anni '60 ma definitivamente applicati alla chirurgia demolitiva del retto solo nell'anno **1980** (Knight e Griffen; V.Fazio). Oltre ai contributi dati anche in seguito da questi AA devono essere citati per la loro importanza i lavori di M.Ravitch (1984), P.Gordon e C.Vasilevsky (1984), Z.Cohen e coll.(1983)

Una ulteriore tecnica di *pull-through* con eversione della mucosa del canale anale fu descritta nel 1988 da Guido Canestrini e Stefano Toccaceli della II Clinica Chirurgica dell'Università di Roma. L'originalità di questa tecnica di anastomosi colonanale consisteva nella rimozione totale del retto fino alla linea dentata del canale anale e di tutta la sua parete muscolare preservando l'anello sfinterico e l'importante muscolo puborettale. I 20 pazienti operati da questi AA erano affetti da cancro del retto situato tra 5 e 8 cm dal margine anale. A 57 mesi di distanza 17 operati erano ancora vivi, perfettamente continenti e senza segni di recidiva tumorale.

Nel **1995** le indicazioni e modalità terapeutiche per il cancro del retto considerate valide da due capiscuola francesi, J.Rambaud e Y.Bouhnik, contemplavano ancora l'amputazione del retto sec. Miles quando il tumore aveva sede a meno di 2 cm dal limite inferiore della resezione e la resezione anteriore con conservazione sfinterica per i tumori posti a 2 cm sopra la linea dentata. In questo secondo caso l'anastomosi poteva essere indifferentemente coloretale o coloanale. Naturalmente della tecnica di exeresi dei tumori del retto faceva parte integrante l'asportazione di tutto il mesoretto e, nei casi in cui l'esondazione del tumore aveva interessato la parete posteriore della vagina o la prostata la contemporanea asportazione di queste strutture interessate dalla malattia.

Nel **1997** K.Leung e coll. della Università Cinese di Hong Kong pubblicarono su "*Arch.Chir.*" un confronto da loro effettuato nel corso dei 5 anni precedenti tra la chirurgia tradizionale del cancro del sigma-retto e quella laparoscopicamente assistita e a questo scopo utilizzarono due gruppi di 50 pazienti l'uno, evitando di inserire nello studio casi in stadio molto avanzato o pazienti che avevano già subito interventi che avevano lasciato in loco aderenze. In effetti la **laparoscopia** nella chirurgia del cancro del sigma-retto era già stata iniziata nel **1992** con i britannici J.Monson e coll. ("*Lancet*") e con gli americani E.Philips e coll. ("*Ann.Surg.*") ed era continuata con pubblicazioni fatte da diversi AA negli anni seguenti, sempre con giudizi lusinghieri e promesse di ulteriori futuri successi. Tuttavia già nel 1992 (editoriale "*Colons and keyholes*" di *Lancet*) e nel 1993 con O'Rourke e coll. ("*Brit.J.Surg.*") si erano alzati dubbi e voci contrarie nei riguardi dell'impiego della laparoscopia in queste operazioni.

Leung e i suoi collaboratori si erano dunque proposti di far luce in questo campo. I loro risultati dimostrarono che non vi furono differenze significative di clearance oncologica e di sopravvivenza fra i due gruppi, tranne che per i tempi operatori nettamente più lunghi nel gruppo trattato con la laparoscopia, compensati peraltro dalla forte riduzione della durata di ospedalizzazione e del dolore postoperatorio. Gli AA esprimevano il parere che, con nuovi stapler articolati e con l'impiego del bisturi "*harmonic*" la tecnica di resezione del sigma-retto con la laparoscopia poteva essere estesa anche ai tumori del basso retto.

Nel **1998** al 55° Congresso della Central Medical Association ad Ann Arbor F.Lopez-Kostner e coll. comunicarono un loro studio comparativo dei risultati di operazioni per

tumori del sigma, dell'alto retto (da 10 a 15 cm dall'orifizio anale) e del medio e basso retto in riferimento all'exeresi totale del mesoretto. Furono presi in esame, tra il 1980 e il 1990, 1994 pazienti della Cleveland Clinic Foundation, dei quali 891 affetti da cancro del sigma, 229 da cancro dell'alto retto e 437 del medio e basso retto. Le misurazioni furono fatte tutte con il rettoscopio rigido. La comparazione dei risultati fu eseguita ricorrendo all'analisi dei rischi proporzionali di Kaplan-Meier e di Cox. Il mesoretto distale rispetto al tumore fu asportato completamente quando il tumore aveva sede entro i 10 cm dall'orifizio anale, mentre fu sezionato perpendicolarmente alla stessa altezza del tumore del retto alto. I risultati dello studio dimostrarono che il rischio di recidiva locale da sola, di recidiva locale associata a metastasi lontane, di morte per tumore fu, nel rapporto fra medio e basso retto da un lato e alto retto dall'altro, rispettivamente di 3,5 RR (*Risk Ratio*), di 2,7 RR e di 1,9 RR. I collaboratori di Lopez-Kostner che avevano espresso dubbi sulla innocuità della mancata asportazione completa del mesoretto nei tumori dell'alto retto si convinsero che questi erano passibili del medesimo trattamento chirurgico applicato ai tumori del sigma, evitando così di allungare il tempo operatorio e di aumentare i rischi di morbidità legati all'asportazione completa del mesoretto.

La radioterapia preoperatoria e la combinazione di radioterapia e chemioterapia nel preoperatorio erano consigliate per i tumori fissi alle pareti pelviche e per i gradi B e C di Dukes. Radioterapia di contatto, laserchirurgia (fotodistruzione), exeresi con la tecnica del paracadute venivano consigliate solo per tumori rettali di piccole dimensioni accessibili per via transanale in soggetti anziani e defedati.

Emorroidi

Una distinzione usata nella prima metà del secolo XX fu quella tra emorroidi interne situate sopra la linea dentata ed emorroidi esterne al di sotto di detta linea anche se nella maggior parte di quei casi che ricorrevano alla cura chirurgica trattavasi (e continua naturalmente a trattarsi) di forme miste, allo stesso tempo interne ed esterne. Ben nota era fin dall'inizio del secolo l'associazione delle emorroidi a stipsi cronica, diarrea cronica, cirrosi epatica, carcinoma del retto, gravidanza, tumori della pelvi, sforzi fisici protratti e di natura sportiva nonché prolungata stazione eretta. In alcune di queste associazioni morbose le emorroidi avevano (ed hanno) chiaro significato sintomatologico e quindi veniva loro assegnato l'attributo di "secondarie". Erano ben note le possibilità di insorgenza subdola di un grave stato di anemia da piccole perdite croniche di sangue durante e dopo la defecazione, le caratteristiche cliniche e il decorso naturale delle trombosi emorroidarie, i pericoli conseguenti a certi gravi errori di trattamento come la riduzione forzata di emorroidi multiple trombizzate e l'emorroidectomia nei cirrotici o in corso di gravidanza. Le indicazioni alla cura chirurgica con intenti radicali erano identificate nella importanza e persistenza dei disturbi soggettivi da "*emorragie fastidiose, procidenze, trombosi recidivanti, infezione, ulcerazioni e prurito anale*" (Callander).

Gli interventi palliativi praticati nella prima metà del XX secolo erano l'incisione ed evacuazione del coagulo entro le prime 24 ore dall'instaurarsi del processo trombotico, l'escissione locale del nodulo trombizzato, la legatura semplice senza escissione dei noduli peduncolati. Solo il primo di questi tre atti chirurgici si conservò come tale fino alla fine del Novecento.

L'*emorroidectomia*, di cui è stato descritto un numero elevatissimo di tecniche si proponeva (e tuttora si propone) la estirpazione delle emorroidi onde prevenirne la recidiva. Nei **primi anni '50** veniva ancora lamentato da celebri maestri di chirurgia il fatto che l'emorroidectomia fosse spesso eseguita senza l'osservanza meticolosa di tutte le norme di tecnica operatoria e di cura postoperatoria che l'intervento richiedeva. I quattro principii suggeriti erano: 1°- rimuovere tutti i noduli emorroidari presenti 2°- evitare assolutamente manovre che potevano portare alla perdita della continenza anale 3°-

prevenire le stenosi del canale anale da cicatrice anulare dovuta a incisioni e suture parallele al margine anale 4°- evitare l'eversione della mucosa, causa potenziale del cosiddetto "ano umido".

Le anestesi più usate furono, secondo i periodi e le mode del momento, quella locale per infiltrazione, la rachianestesia lombare bassa o l'anestesia sacrale, l'anestesia generale con barbiturici ad azione breve e, in seguito, ultrabreve, la narcosi per inalazione con uso di anestetici vari, l'anestesia epidurale.

Segue ora una succinta memoria storica di alcune tecniche di emorroidectomia proposte e più largamente impiegate a partire **dal primo decennio del Novecento fino agli anni '70** e, da parte di alcuni chirurghi, anche oltre.

1°- Legatura, escissione e sutura sec. Harvey B.**Stone**, insigne proctologo del John Hopkins Hospital di New York: venivano asportati non più di 4 noduli emorroidari stirati all'esterno con pinze, incidendo radialmente la mucosa sopra ad ogni nodulo tranne che all'apice interno dove si applicava una legatura per trasfissione tenendo lunghi i fili per suturare poi i due bordi mucosi di ogni nodulo dopo averlo asportato. Il tampone anale con tubo 18 F. avvolto di garza vaselinata veniva rimosso dopo 24 h. Questo fu un metodo molto praticato in diverse scuole chirurgiche e ospedali. Piccole varianti furono apportate da R.Turell nel periodo 1949-1952.

2°- Escissione e sutura su pinza sec. H.**Bacon**: fu il risultato di una elaborazione di altri metodi descritti in tempi precedenti da Mitchell, Earle e Buie-Smith. L'escissione, effettuata anche qui in senso radiale, comportava l'asportazione di un piccolo lembo di cute, una dissezione sottomucosa per via smussa fino a mettere in luce le fibre circolari dello sfintere esterno che veniva retratto con un piccolo divaricatore per risalire con la dissezione fino all'apice del nodulo emorroidario. La legatura per trasfissione dell'apice avveniva sopra il morso di una pinza emostatica e la resezione con il bisturi correva raso il morso della pinza al di sotto del quale veniva suturata in "continua" la mucosa usando anche qui il filo di tenuta della legatura alta del nodulo. Alla fine i due fili venivano annodati tra loro al momento di togliere la pinza.

3°- Escissione locale con legatura semplice sec. **Salomon**: la trazione esercitata sul nodulo verso l'esterno permetteva di individuarne l'apice e di legarlo per trasfissione; si incideva poi la mucosa, si staccava il nodulo dalla struttura muscolare dell'ano e lo si asportava.

4° - Metodo di **Ball**, che fu considerato molto adatto per le emorroidi interne. Consisteva nella legatura per trasfissione del sottocutaneo dopo distacco del nodulo dal basso verso l'alto con dissezione sottomucosa, la legatura precedente trapassava a questo punto il peduncolo e veniva annodata dopo asportazione del nodulo così che alla fine il lembo cutaneo andava a coprire il peduncolo stesso.

5°- Metodo di E.T.**Milligan** - C.**Morgan** e L.E. **Naunton Jones** noto in tutta Europa come "*operazione di Milligan-Morgan*" e pubblicato in Inghilterra nel **1937**: consisteva nell'asportazione dei tre noduli emorroidari principali corrispondenti alle tre ultime diramazioni dell'arteria emorroidaria inferiore, esattamente alle ore 3, 7 e 11 del quadrante dell'orologio corrispondente all'orifizio anale visto con il paziente in posizione supina. Le incisioni e la dissezione erano analoghe a quelle del metodo di Bacon. Le superfici cruenti residue non venivano coperte.

6°- Metodo della **cauterizzazione con il termocauterio**: escissione dei noduli schiacciati da forti pinze ad anello previa mobilitazione di ogni nodo emorroidario con incisione curvilinea mucocutanea. Nessuna sutura. Fu abbandonato per le frequenti emorragie postoperatorie. Il metodo fu ripreso e migliorato **nel corso degli anni '50** con legatura per trasfissione alla base del nodo emorroidario e sua sezione con termocauterio al di sotto della pinza traente (scuola di Ceccarelli).

7° - Metodo dell'amputazione circolare della mucosa anorettale sec. **Whitehead (1882)**: mediante dissezione sottomucosa circolare veniva asportato un cilindro di mucosa lungo

non più di 3,8 cm. Era un'operazione impegnativa perché richiedeva l'esatta valutazione del tratto di mucosa da asportare e perché occorreva una continua attenzione all'emostasi e all'esatta individuazione della linea pettinea dove dovevano cadere sia l'incisione sia le suture alla fine dello scollamento del cilindro mucoso. Le importanti e fastidiose sequele (stenosi, ano umido, incontinenza anale protratta oltre i 6 mesi), generalmente dovute all'esecuzione dell'intervento da parte di mani inesperte, aveva già fatto abbandonare questa operazione da parte di molti chirurghi degli anni '30 e '40 del Novecento

8° - Amputazione e plastica sec. **Buie**, tecnica ideata per le forme prolassate. Veniva amputata sulle due emicirconferenze del canale anale gran parte della mucosa che rivestiva le emorroidi e le parti cruentate che residuavano all'ablazione emorroidaria venivano coperte da suture che fissavano i margini della mucosa residua alle fibre sfinteriche lasciando alla fine due ferite cutanee aperte di forme triangolare utili per lo scolo di sangue, siero ed eventuale essudato.

In linea generale le **complicanze** lamentate **verso la metà del secolo** più o meno al seguito di ognuno degli interventi fin qui citati erano: le emorragie postoperatorie che avevano causato anche qualche decesso e che venivano trattate d'urgenza con l'applicazione di un tampone vaselinato e, nel caso questo non bastasse, con una revisione chirurgica della regione operata in anestesia generale onde ottenere una emostasi precisa e definitiva sotto vista, l'infezione che in qualche caso aveva dato luogo a raccolte purulente e a febbre settica, la ritenzione urinaria specialmente nel sesso maschile, la stenosi anale, l'incontinenza anale, l'ano umido, le ragadi anali.

La **cura sclerosante delle emorroidi** sec. **Kilbourne (1934)** iniettando il liquido sclerosante nella sottomucosa del nodulo emorroidario fu ben nota e ampiamente usata anche ambulatoriamente perché indolore, poco costosa e perché consentiva la continuazione della quotidiana attività del paziente. Le sostanze sclerosanti usate nella prima metà del Novecento erano fenolo oleoso, urea cloridrato, chinino cloridrato, alcool benzilico, sodio psylliato, e altre. L'iniezione veniva effettuata a non meno di 1 cm a monte della linea pettinea, doveva limitarsi a rigonfiare modestamente la mucosa e non doveva assolutamente causare dolore, la cui eventuale insorgenza avvertiva il chirurgo che il punto da lui scelto per l'iniezione era troppo basso, troppo vicino alla linea pettinea. Il trattamento veniva fatto nella stessa seduta su più noduli e le sedute - di solito non più di tre o quattro - venivano fatte a distanza di 4-7 giorni. Bickham negli anni '20 e '30 e Callander negli anni '30 e '40 consideravano che la cura sclerosante doveva essere riservata solo alle emorroidi interne in persone nelle quali per particolari motivi non era possibile praticare la cura chirurgica. La necrosi della mucosa poteva provocare emorragie, infezioni, ascessi e fistole. Furono descritti anche rari casi di morte per ascesso epatico e per infarto del polmone, evidentemente dovuti a erronea introduzione del liquido sclerosante nell'interno del nodulo.

L'elettroterapia delle emorroidi con corrente bipolare a basso voltaggio, alto amperaggio e alta frequenza e **l'elettroterapia per essiccazione** con corrente unipolare ad alta frequenza furono tentate nella prima metà del Novecento ma non riuscirono ad imporsi come metodi di routine, anche per il costo elevato degli apparecchi.

Nel **1956 A.G.Parks**, proctologo del St.Marks Hospital di Londra, volle rivedere la tecnica di emorroidectomia pubblicata dal famoso chirurgo parigino **Jean-Louis Petit** nel **1774** perché gli era sembrata particolarmente razionale nel principio di risparmiare la maggior parte della mucosa che ricopre la metà inferiore del canale anale. Parks, di fronte ai cattivi risultati a distanza dei tanti metodi che sacrificavano ampie porzioni di mucosa anale e in considerazione del fatto che *“un'emorroide è di solito una struttura triangolare con l'apice a livello della giunzione tra mucosa anale e cute e con la base nella parte più alta del canale anale”* (contrariamente a quanto disegnato negli atlanti anatomici e a quanto ritenuto dai più), decise di perfezionare la tecnica di Petit. A questo scopo, con canale

anale tenuto aperto da un retrattore a doppia valva, praticava una dissezione dell'emorroide dallo sfintere e dalla mucosa che infiltrava con soluzione fisiologica addizionata di adrenalina e a questo punto eseguiva una incisione sulla mucosa a Y rovesciato il cui gambo lungo si prolungava verso l'alto e completava la dissezione del plesso emorroidario dalla mucosa e dallo sfintere. Legava quindi per trasfissione il plesso e asportava il nodulo emorroidario. Seguiva la sutura del lembo mucoso risparmiato. Non lasciava *in situ* nessun tubo rettale e applicava solo una garza leggera sull'ano. Ne risultò un'operazione elegante e delicata che richiedeva molta attenzione e altrettanta precisione in ogni passaggio ma i risultati furono veramente buoni.

Nel 1965 lo stesso A., dopo aver letto che J.Watts l'anno prima aveva riscontrato con il metodo Parks una percentuale di recidive superiore a quella dovuta ad altre tecniche, ammise che la sua modifica del metodo di Petit presentava difficoltà tecniche superiori a quelle di molti altri metodi ma che queste non sarebbero state la causa delle recidive. Non sembra comunque che l'operazione di Parks, pure positivamente valutata da tutti sul piano della razionalità, sia riuscita a soppiantare il vastissimo uso della emorroidectomia sec. Milligan-Morgan, soprattutto nei paesi anglosassoni.

Fra il 1959 e il 1971 J.A.Ferguson mise a punto il suo metodo detto "emorroidectomia chiusa" che ancora alla fine del 1994 un suo allievo dell'Università del Michigan, Patrick Mazier, definiva "*accettato e praticato in tutto il mondo*". L'operazione di Ferguson veniva effettuata attraverso anoscopio fenestrato in anestesia locale seguendo i medesimi tempi dell'operazione di Parks dalla quale si differenziava per la sutura radiale continua con catgut cromico sottile dei lembi scolpiti di mucosa anale dopo l'asportazione dei tre singoli nodi emorroidari principali (h.3, 7 e 11 del quadrante anale in posizione supina e rispettivamente h. 1,5,9 della posizione genupettorale).

Nel 1978 presso la Medical School dell'Università del Minnesota J.Buls e S.Goldberg controllarono 500 operati con la tecnica di Ferguson e trovarono che il 32,4% era guarito per prima intenzione mentre il 67,6% aveva impiegato ben 4 settimane per guarire perché le suture di catgut cromico avevano ceduto per lo più troppo presto. Tra le complicanze segnarono uno 0,8% di emorragia postoperatoria risolta con reintervento, un 4% di emorragie secondarie quasi tutte curate senza reintervenire, un 10% di ritenzione urinaria e un 2,2% di prurito anale.

Nel 1988 Indru Khubchandani pubblicherà una sua variante dell'operazione di Ferguson per ridurre la tensione locale e il dolore (v.avanti).

Gli altri metodi terapeutici in uso negli **anni Ottanta** del Novecento furono la **scleroterapia** con morruato di sodio o chinino e urea con buoni risultati nel 60-80% dei casi, la **fotocoagulazione con i raggi infrarossi** con tempi di applicazione compresi tra 0,5 e 3 secondi, la **legatura con anello elastico** che fu maggiormente impiegata per le emorroidi sintomatiche. Tutti questi metodi erano usati anche in associazione alle emorroidectomie sec. Milligan-Morgan o sec. Ferguson o tecniche derivate. La **crioterapia** godette un periodo fugace di favori e di notorietà e tenne la moda tra gli interventi ambulatoriali per alcuni anni nel corso degli ultimi anni Sessanta e negli anni Settanta ma le fastidiose sequele (ano umido, perdite saniose e puzzolenti, cicatrizzazione molto lenta e difficile) la fecero cadere nel dimenticatoio.

Nel 1981 il chirurgo tedesco U.Schiller si rifaceva alla classificazione delle emorroidi pubblicata dal grande proctologo inglese Miles ancora nel 1919, che distingueva la malattia emorroidaria in tre stadi dei quali il primo corrispondeva all'ingrossamento del corpo cavernoso del retto visibile solo con l'anosopia e non diagnosticabile con la semplice esplorazione digitale del retto; la sintomatologia del I stadio era definita come limitata a piccole e saltuarie perdite di sangue o a prurito anale. Nel II stadio i noduli emorroidari fuoriuscivano con la defecazione e si autoriducevano a defecazione finita; nel

III stadio la reintroduzione delle emorroidi poteva avvenire solo manualmente e anche tosse e trasporto di pesi le faceva fuoriuscire; in questo stadio il paziente sporcava facilmente la biancheria intima anche emettendo solo gas e avvertiva sgradevoli sensazioni a livello anale. Del resto questa classificazione si era già imposta in tutta Europa e nel mondo intero già nel corso degli anni Cinquanta. La **stipsi** e la **vita sedentaria** furono confermate come le **cause maggiori** dalle ricerche epidemiologiche di D.Burkitt (1975) e di H.Dott (1964) che dimostrarono come in Africa le emorroidi fossero una patologia pressoché sconosciuta mentre in Europa e nel Nord America colpiva negli stessi anni il 50% circa di tutta la popolazione adulta. Dagli anni '50 in poi la diagnostica strumentale di routine contemplò sempre anoscopia e rettoscopia, lasciando alla colonscopia e alla radiologia il compito di completare le indagini in caso di sospetto di lesioni più alte a carico del colon..

Solo le emorroidi prolassate e trombizzate furono sempre ritenute una netta indicazione ad una cura immediata. Per tutte le altre forme la decisione se e come curarle era *“orientata in base alle condizioni individuali del paziente”*. Oltre alle controindicazioni già note fin dai primi decenni del XX secolo si aggiunse nel 1966 da parte di Parks e coll. l'esistenza nel paziente di un m. di Crohn.

A parte il consiglio di diminuire anzitutto l'ipertono dell'apparato sfinterico anale (quasi sempre presente nei pazienti affetti da malattia emorroidaria) mediante divulsione digitale o con dilatatori progressivi o mediante sfinterotomia, molti AA degli anni '70 elencavano tra gli **interventi conservativi ambulatoriali** - senza bisogno di analgesia o con l'ausilio di una narcosi ultrabreve - il vecchio trattamento sclerosante proposto nel 1934 da C.Kilbourne e riproposto nel 1963 da J.Barron, la legatura dei noduli emorroidari con laccio elastico proposta dallo stesso Barron nel 1963, che tuttavia a distanza di tempo aveva sec. Steinberg (1975) solo un 44% di risultati soddisfacenti, la crioterapia con protossido d'azoto o azoto liquido (J.Goligher, 1976; S.Savin, 1975) con risultati definiti soddisfacenti da questi AA. nel 95% dei casi e recidive contenute tra il 2% e il 26%, la divulsione anale sec. Lord proposta per la prima volta nel 1972, metodo da praticare in narcosi di breve durata ma controindicato in casi di muscolatura pelvica ipotonica, la sfinterotomia laterale semiaperta o a cielo coperto sulle ore 3 del quadrante anale in posizione supina, che è anche il classico metodo di cura delle ragadi anali croniche e che si eseguiva in anestesia locale, e infine l'emorroidectomia sottomucosa di Parks sopracitata

Nel **1988** i chirurghi inglesi A.R.Dennison e coll. pubblicarono un aggiornamento della situazione e dei risultati del trattamento non chirurgico delle emorroidi. Dopo aver puntualizzato che la cura sclerosante aveva perduto nel Regno Unito molto terreno a causa delle sue complicanze e della inefficacia nei riguardi delle emorroidi di III grado e che tuttavia questa cura era ancora ampiamente usata per le emorroidi di I e II grado, riferirono che la letteratura degli anni 1965 (D.Steinberg e coll.) e 1974 (A.Panda e coll.) aveva rivelato che la legatura elastica delle emorroidi sec. Barron aveva fornito risultati migliori rispetto alla dilatazione anale sec. Lord e anche rispetto alla emorroidectomia e alla crioterapia. Quest'ultima non era molto impiegata in Inghilterra per il costo dell'apparecchiatura necessaria, per il lungo tempo di assistenza sanitaria necessaria rispetto ad altri metodi e per le perdite saniose dovute alla lenta demarcazione della necrosi ed eliminazione dei tessuti necrosati. Tra le novità esposte da Dennison e coll. c'erano la fotocoagulazione ad infrarossi diffusasi fortemente nei primi anni '80, metodo considerato indicatissimo per la cura ambulatoriale che N.S.Ambrose e coll. trovarono migliore della legatura elastica e di tanti altri metodi convenzionali. Anche il confronto fatto da Dennison con la diatermia bipolare risultò a favore della fotocoagulazione, il cui unico vero inconveniente riguardava il chirurgo che lo usava spesso nelle sue ore di lavoro riportando cefalea e disturbi visivi.

Negli anni Ottanta tornarono di moda anche le cure con la corrente galvanica e con quella bipolare. Dennison usò la bipolare (BiCAP) in migliaia di pazienti comparabili per numero a quelli trattati con la fotocoagulazione; le sonde impiegate erano una derivazione di quelle da 6 mm impiegate per i carcinomi inoperabili del retto e dell'esofago. La sonda e il generatore di corrente galvanica per le applicazioni a basso voltaggio in un sistema unipolare erano ovviamente diversi da quelli della bipolare. La lunga durata di applicazione della sonda su ogni nodulo (10 minuti primi) obbligava a spezzettare la cura in tre o più sedute. L'operatore iniziava il trattamento appoggiando la punta della sonda sulla base del nodulo – come con la bipolare – somministrava una corrente galvanica di 2 milliampères, quindi penetrava per mezzo mm nell'emorroide e alzava progressivamente l'ampérage fino ad un massimo di 16 milliampères tenendo ferma la sonda in situ per 10'.

Nel 1988 non erano ancora stati fatti confronti random con gli altri tipi di trattamento.

Sempre nel **1988** Indru **Khubchanani** dell'Hahnemann University Hospital di Philadelphia descrisse la modifica del metodo di Ferguson consistente in una sfinterotomia laterale da lui applicata a partire dal 1972 su 2274 pazienti, di cui ben 1001 non necessitarono nell'immediato postoperatorio di alcun analgesico all'infuori dell'acetaminofen. L'incisione breve ed ellittica cominciava sul bordo cutaneo e saliva sulla mucosa anale fino a circondare il nodulo emorroidario completamente giungendo in alto appena sopra la linea dentata. Non venivano applicate pinze né trazioni sul nodulo. Con le forbici l'emorroide veniva staccata dalla muscolatura sottostante avendo previamente facilitato questa manovra con infiltrazione di anestetico addizionato di adrenalina 1:200.000 e di 300 unità di ialuronidasi. Con il tagliente veniva sezionato il legamento sospensore tra sfintere interno e mucosa. Gli ultimi atti erano la legatura semplice del nodulo e la sua asportazione, la sezione parziale dello sfintere interno e la sutura della ferita mucocutanea. Questa operazione è stata descritta qui dettagliatamente ad uso eventuale di un lettore già edotto in tecniche operatorie, per la particolare finezza e delicatezza delle manovre che la avvicinavano alla classica tecnica di Milligan e Morgan di cui condivideva la scelta fondamentale dei noduli cosiddetti principali (v.sopra).

Nel 1994 Michael D.Ripstein, gastroenterologo della Harvard Medical School di Boston, nel Trattato di Medicina Interna di J.H.Stein, dopo aver sottolineato l'importanza della cura medica nel combattere le condizioni favorevoli, citava le cure chirurgiche sopracitate ricordando però che *“la frequenza delle recidive dopo intervento chirurgico è molto alta”*.

Nel **1996** per i francesi Jean-Claude **Rimbaud** e Yoram **Bouhnik** i trattamenti ambulatoriali delle emorroidi *“mirano non a distruggere i tessuti emorroidari, ma a fissarli nel canale anale creando una anopessi”*. Infatti tra il 1990 e il 2000 la cura delle emorroidi interne emorragiche o prolapsate con disturbi funzionali frequenti e fastidiosi venivano prevalentemente curate con trattamento ambulatoriale a base di sclerosi o di fotocoagulazione agli infrarossi e solo un minor numero di proctologi sottoponeva queste forme alla legatura elastica che pure, con lo sfacelo da necrosi dei noduli emorroidari, otteneva come gli altri due metodi una efficace anopessi. Per le emorroidi molto voluminose di stadio III o IV difficilmente riducibili e scarsamente contenibili, per quelle responsabili di emorragie abbondanti e anemizanti, per le trombosi circolari prolapsate e infine per gli insuccessi dei trattamenti di anopessi ambulatoriali il tipo di operazione più frequentemente eseguita in regime di ricovero era in Francia - ma più generalmente in tutta Europa - quello di Milligan e Morgan mentre in America del Nord le preferenze andavano all'operazione di Ferguson.

C - Prolasso Rettale

La nomenclatura di questa patologia rettale ha subito variazioni con il passare del tempo creando anche confusione concettuale per quanto si riferisce alle diverse cause e

caratteristiche anatomopatologiche del prolasso. Così nella prima metà del XX secolo si usavano quattro distinte denominazioni cui corrispondevano altrettante varietà anatomopatologiche reali o ritenute tali: 1°- *prolasso della mucosa rettale* inteso come semplice scivolamento della mucosa rettale con o senza protrusione all'esterno dell'ano; 2°- *procidenza del retto* intesa come discesa parziale o completa dell'intera parete del retto al di fuori dell'ano, rimanendo in sede invece la parete del canale anale; 3°- *il ritirarsi del retto* (dall'inglese *intussusception*) inteso come invaginazione di un tratto alto del retto nella sua parte più bassa, con o senza fuoriuscita dall'ano; 4°- *prolasso emorroidario* cioè sporgenza all'esterno dei noduli emorroidari. **Shackelford** lamentava **negli anni '40** che *“nella pratica corrente il termine prolasso viene riferito a tutte e quattro queste forme”* senza tener conto delle cause diverse che le producono.

Nel corso della **seconda metà del secolo** – dopo l'ovvia restituzione del prolasso emorroidario al capitolo delle emorroidi – i chirurghi generali e i proctologi, usando indifferentemente il vocabolo “*prolasso*” e quello di “*procidenza*” puntarono il loro interesse più sulle cause che sulla terminologia distinguendo ai fini pratici i prolassi che richiedevano una cura chirurgica da quelli che erano trattabili in modo conservativo. Se nel **1988** Marvin L.Corman poteva scrivere che *“il prolasso rettale o procidenza è un'entità clinica rara”* per la cura chirurgica, della quale *“erano state descritte più di 50 tecniche operatorie diverse”*, Shackelford agli inizi degli anni '50 aveva invece descritto solo 7 tecniche per curare il prolasso parziale della mucosa del retto e 6 gruppi di operazioni diverse per la procidenza o prolasso dell'intera parete del retto e per la intussuscezione.

Molta importanza era stata data fin dalla fine dell'Ottocento ai *prolassi rettali della prima infanzia*, peraltro facilmente riconoscibili per le loro pliche raggiate a differenza delle pliche circolari del prolasso completo vero e proprio, tipico dell'adulto. Nei bambini la causa fu identificata nella curvatura sacrale non ancora completamente sviluppata e nella scarsa fissità dei tessuti perirettali. La frequenza massima fu registrata tra il primo e il quinto anno di vita. Effettivamente nella prima metà del Novecento il prolasso mucoso del retto dei piccoli bambini non era affatto raro e probabilmente era causato da frequenti disturbi intestinali (diarree) dovuti a errori dietetici e a dissenterie batteriche. Il trattamento conservativo (riduzione manuale dopo ogni defecazione e cura dei disturbi intestinali; applicazione di un cuscinetto di garza o di cotone sulle natiche che veniva cambiato dopo ogni defecazione (non esistevano ancora gli assorbenti!) otteneva un'altissima percentuale di successi. Solo in rarissimi casi si rendeva necessario il trattamento chirurgico che veniva di solito eseguito con il **cerchiaggio perianale sottocutaneo** con filo metallico **sec. Thiersch**.

Il prolasso mucoso dell'adulto veniva trattato con varie modalità che ci si limita a citare: cura sclerosante identica a quella impiegata per le emorroidi, cauterizzazione lineare longitudinale raggiata della mucosa prolassata e della sua sottomucosa (metodo di van Buren, 1881), escissione ellittica di due porzioni opposte del cilindro mucoso seguita da sutura immediata (metodo di Duret), escissione ellittica ma seguita da sutura trasversa con effetto allargante e accorciante nello stesso tempo (metodo di Bacon, 1949 e anni precedenti), escissione di tutta la mucosa prolassata seguita da sutura con la mucosa del canale anale (metodo di Rehn-Delorme), la stessa con la modifica di David, infine restringimento dell'orifizio anale con filo metallico o striscia di aponeurosi nel sottocute **sec. Thiersch**.

Il prolasso vero e proprio o procidenza del retto fu particolarmente studiato nel **1912** da A.V.**Moschowitz**, il quale, tra le possibili cause di questa forma, diede la colpa alla sede troppo bassa dello sfondato pelvico del Douglas. I quattro stadi di prolasso rettale da lui descritti (incipiente, parziale, incompleto e completo) erano determinati dalla forza della pressione endoaddominale. Fino agli anni '50 la teoria di Moschowitz fu universalmente accettata anche se con qualche contrasto su certi dettagli. Le deduzioni di ordine pratico

tratte da questa teoria furono: 1°- bisogna obliterare la profondità dello sfondato del Douglas; 2°- bisogna accorciare il sigma che in questi casi è sempre molto lungo; 3°- bisogna riparare con suture *ad hoc* eventuali difetti degli elevatori dell'ano; 4° la mucosa rettale eversa e prolassata deve essere asportata; 5°- ogni debolezza o diastasi dell'apparato sfinterico anale va rinforzata con apposite suture. Per ottenere tutto questo c'era un'unica soluzione: l'intervento addominoperineale in unica seduta eseguito da una sola équipe o da due équipes in contemporanea. Lo eseguirono **prima del 1920** Neil **Swinton** presso la Lahey Clinic di Boston e **Bickam** e **Watkins** presso il Perry Points Veterans Hospital considerando questa operazione quella di elezione per il prolasso del retto e la eseguirono sia in due tempi che in tempo unico. Le modifiche furono molte (C.W.Mayo 1938; J.Pemberton e L.Stalker 1939; St.Stone a Baltimora, 1941; A.Graham 1942; H.Skinner e R. Duncan 1943; T.G.Orr 1947 e 1949; J. Dumphy 1948; H.E.Bacon e coll. 1950; S.Stabins 1951; E.Brintnall 1952). Tutti questi chirurghi all'epoca della pubblicazione dei loro risultati non avevano ancora superato il numero massimo di sei operati, per la verità con esiti generalmente soddisfacenti, con poche recidive e mortalità zero. Ad essi vanno aggiunti altri chirurghi che, allontanandosi dai principi dettati da Moschowitz applicarono sui loro pazienti altre tecniche operatorie da loro stessi ideate: il fissaggio del retto prolassato al muscolo psoas (E.G.Martin 1932), l'accorciamento del legamento laterale del retto (Lynch), la rettosigmoidectomia per via perineale (W.E.Miles, 1933).

Negli anni Cinquanta trovavano ancora applicazione interventi ereditati dai chirurghi di fine Ottocento come la resezione dell'intestino prolassato per via perineale sec. Mikulicz in caso di prolasso irriducibile e soprattutto in presenza di necrosi del retto prolassato. Dei quattro operati in questo modo da H.E.Bacon due morirono per peritonite, un 50% di mortalità che fece abbandonare completamente questa operazione anche per le sue notevoli difficoltà tecniche. Il metodo detto di "escissione perineale" di Cunningham assomigliava a quello di Mikulicz e fu usato con le stesse indicazioni. La letteratura non riferisce i risultati a distanza.

Questa rassegna si chiude citando la rettosigmoidectomia di Babcock e Bacon (1949), intervento condotto tutto per via perineale in anestesia lombare su sette pazienti. Gli AA lamentarono due decessi dovuti a incarceramento e necrosi di anse ileali nel laccio elastico che era stato applicato al segmento prolassato per farlo andare in gangrena e staccarsi per necrosi. Questi furono gli unici due decessi nei 42 operati in seguito per prolasso da **Bacon** con varie tecniche di cui solo otto per via perineale. In questa casistica di Bacon, che fu considerata la più importante per numero di pazienti trattati della prima metà del XX secolo, le recidive furono 4 su 42. Chi legge queste pagine tenga presente che nei primi anni '50 Bacon era universalmente considerato nel mondo anglosassone il chirurgo più esperto nel trattamento del prolasso rettale.

Nel **1965** George **Walker** e Norman **Nigro**, rispettivamente insegnante di chirurgia generale e proctologo della Wyne State School of Medicine di Detroit, in una revisione critica dei metodi di cura del prolasso rettale scrivevano che *"pur essendo disponibili diversi metodi di cura, tutti hanno un certo grado di insufficienza e la stabilità dei risultati iniziali non è più altrettanto soddisfacente a forte distanza di tempo"* e aggiungevano che c'era bisogno di conoscere meglio e più esattamente il meccanismo patogenetico. A questo proposito osservavano che *"particolarmente incompleta è la comprensione di una specifica qualità del retto e dei suoi normali rapporti con il m.elevatore dell'ano"*. Questi AA nell'elencare le quattro opzioni di tecnica operatoria disponibili allora premettevano che *"poiché la maggior parte dei pazienti affetti da prolasso rettale sono anziani, ogni trattamento chirurgico deve essere rapportato alle condizioni fisiche del singolo paziente"*. Per Walker e Nigro la scelta di volta in volta doveva essere fatta tra: 1°- cura conservativa magari con l'aiuto della termocauterizzazione "lineare" della mucosa prolassata (v.sopra); 2°- il cerchiaggio di Thiersch; 3°- intervento per via perineale di

escissione circolare dell'intestino prolassato seguita da elevazione del cul di sacco del Douglas e sutura dell'elevatore dell'ano davanti al retto (operazione ideata da J.Dunphy nel 1948 e perfezionata da W.Altemeier e coll nel 1964); 4°- fissazione del retto per via laparotomica alla fascia presacrale con una benderella di Teflon (metodo ideato e pubblicizzato da C.Ripstein nel 1965).

Le scelte proposte da Walker e Nigro erano queste: a) per i bambini nessuna cura chirurgica, al massimo un cerchiaggio sottocutaneo; b) nei giovani e negli adulti di media età l'operazione di Ripstein, c) negli anziani, a seconda delle condizioni generali e del trofismo muscolare degli elevatori l'intervento di Dunphy-Altemeier; d) negli anziani – soprattutto donne – che non possono affrontare e superare un'operazione alla Ripstein né quella alla Dunphy, cerchiaggio di Thiersch.

Successivamente – nel **1978** – lo stesso Nigro pubblicò i risultati – definiti ottimi anche a forte distanza di tempo (10 anni e più) – di un'operazione per correggere il prolasso e la debolezza pelvica che ne sta alla base, da lui stesso ideata e pubblicata nel 1970 a conclusione di lunghi studi condotti sul pavimento pelvico dei pazienti portatori di prolasso rettale. **L'operazione di Nigro** – da lui stesso definita tecnicamente impegnativa molto più della rettopessi di Ripstein e non adatta in donne giovani - consiste nell'applicazione per via addominale di una “fionda” di Teflon fissata alla parete posteriore dell'ampolla rettale più in basso possibile da un lato e al pube dall'altro. Chi scrive queste righe non è riuscito a reperire letteratura su questo interessante tipo di intervento nel corso degli ultimi due decenni del Novecento.

Nel dicembre del **1988** Marvin L.**Corman**, della Samsun Medical Clinic di Santa Barbara di California, nella sua interessante rivista sintetica sulla terapia dei prolassi del retto, dopo aver ricordato la confusione che poteva provare un giovane chirurgo nel dover scegliere una delle moltissime tecniche operatorie pubblicate nella letteratura specializzata del Novecento, consigliava di attenersi ad una delle quattro tecniche standard che la pratica aveva dimostrato essere foriere di validi risultati con il minimo rischio per il malato. Ovviamente l'A. si riferiva a quattro tipi di cura chirurgica ormai consacrati da tempo dal loro vastissimo impiego e dai buoni risultati conseguiti. L'elenco degli interventi raccomandati e commentati da Corman era il seguente: 1°- *cerchiaggio anale sec. Thiersch*: dopo l'abbandono del filo d'argento per i fastidi che dava, erano stati usati molti materiali che andavano dai fili di nylon, mersilene, dacron, marlex, teflon, gomma siliconata ai lembi di fascia lata e ai fili di dacron impregnati di silastic. Alla misurazione del diametro anale fatta in origine con quello dell'articolazione interfalangea prossimale del dito indice dell'operatore introdotto nel retto fu sostituito un dilatatore di Hegar n°16 o 18 F. Negli anni '70 e '80 l'operazione di Thiersch veniva anche eseguita con le varianti di M.Lomas e H.Coperman (cerchiaggio con rete di polipropilene-1972), di M.Notaras (nastro di mersilene – 1973), di S.Labow e coll. (nastro elastico suturato su raddoppio con stapler lineare), di T.Hunt e coll. (anello di silastic di 4 mm di spessore, chiuso da clip di plastica – 1985). La casistica recente più grande fu quella di Hunt basata su 43 operati di 80 anni d'età con risultati soddisfacenti nel 71% degli operati. Negli anni '70 l'esecuzione di questo intervento era riservata ai pazienti di qualsiasi grado di prolasso rettale che non potevano affrontare la laparotomia.

2°- *resezione anteriore alta* comprendente spesso la metà inferiore del sigma e la metà alta del retto con anastomosi finale termino-terminale tra retto e sigma residui, facilitata negli ultimi anni '80 dalla sutura meccanica con stapler circolare EEA. Nel 1972 O.H.Beahrs pubblicò la casistica della Mayo Clinic consistente in 28 resezioni anteriori su 118 casi di prolasso rettale: ci furono 1 caso di morte dovuta a deiscenza dell'anastomosi e 1 caso di recidiva del prolasso. Nel 1985 R.T.S.Schlinkert e coll. della stessa clinica pubblicarono 113 casi operati di resezione anteriore con il 9% di recidive e un 29% di complicazioni. Alcune scuole chirurgiche americane adottarono la rettopessi alla concavità del sacro come

tempo finale della resezione anteriore. Tra i primi Goldberg riferì su 125 casi di prolasso rettale così trattati senza recidive. Nel 1985 altri chirurghi della stessa scuola, J.Watts e D.Ruthenberger, trovarono solo 2 casi di recidiva in 102 operati nell'arco di 30 anni che poterono controllare su un totale di 138, M.Corman, nel ricordare di aver osservato 1 caso di recidiva su 24 pazienti da lui operati di resezione anteriore fino al 1987, segnalava il grave pericolo di incorrere in **emorragie infrenabili da lacerazione della vena basivertebrale** quando si applicano le suture di fissazione del retto residuo alla concavità del sacro. Chi scrive ha fatto purtroppo una volta questa triste esperienza nel corso di una amputazione del retto sec. Miles.

3°- *sospensione o rettopessi sec. Ripstein* con fettuccia di teflon suturata alla muscolare dell'intestino e al periostio del promontorio sacrale d'ambo i lati. Anche in questa operazione per evitare le pericolose emorragie sacrali J.Nicosia e N.Bass introdussero nel 1987 l'uso di un potente stapler per aponeurosi. I successi dell'operazione di Ripstein valutati su 1111 operati da 129 chirurghi americani corrisposero ad oltre il 97%, le recidive furono segnalate nel 2,3% di questa enorme casistica raccolta ad opera della Società americana dei chirurghi del colon e del retto (Gordon e Hoexter, 1978).

4°- *Rettopessi*: fu considerato il metodo più semplice da eseguire per via addominale. Consisteva nel mobilizzare il retto al di sotto dell'elevatore dell'ano e nel fissare il mesoretto e la tonaca muscolare del retto alla fascia presacrale o addirittura all'osso. Le recidive oscillarono tra il 3,6% su 140 pazienti (J.Loygue 1971) e il 4,7% su 257 (stesso Autore 1984).

Negli **anni Novanta** il prolasso rettale venne riunito, sotto il punto di vista patogenetico, al rettocele, alla sindrome del perineo discendente e all'ulcera solitaria del retto, ad un unico punto comune di partenza: la debolezza della muscolatura perineale e la deficienza dei mezzi di sostegno e fissazione del retto. Oltre all'esame clinico (spinta in posizione accovacciata!) e agli esami endoscopici furono introdotti nuovi metodi d'indagine come la defecografia, la manometria anorettale, l'elettromiografia dello sfintere esterno e la velocità di conduzione del n. pudendo. Le operazioni meno impegnative, usate per i prolassi mucosi degli anziani, erano il cerchiaggio alla Thiersch e la mucosectomia per via perineale sec. Delorme o, più di rado, per via alta e, per i prolassi rettali totali più importanti, la rettopessi con o senza resezione anteriore del retto sec. Ripstein. In questo caso gli interventi di rettopessi degli ultimi anni del Novecento venivano preferibilmente eseguiti per via laparoscopica.

Fistole anorettali

Alla fine degli anni Quaranta del Novecento l'esperienza chirurgica accumulata nel corso del secolo precedente e nei primi due decenni del XX secolo aveva già accertato in modo completo e definitivo l'eziopatogenesi delle fistole ano-rettali identificata – per quelle non di natura specifica - nella conseguenza di ascessi anorettali mal curati nella loro fase acuta. Anche la classificazione dei vari tipi di fistole aveva raggiunto già uno stadio definitivo: fistole cieche interne ed esterne e fistole complete, queste ultime così chiamate per il loro duplice sbocco interno ed esterno. Le complete venivano poi distinte in semplici e complesse (o complicate o ramificate), e, rispetto all'anello sfinterico, in sottomucose, intrasfinteriche ed extrasfinteriche. Nella prima metà del Novecento fu anche accettata e applicata alla prassi chirurgica quotidiana la **regola di Goodsall** (detta anche regola di Salmon) secondo la quale agli sbocchi fistolosi esterni situati posteriormente ad una linea trasversale ideale tracciata attraverso il centro dell'ano corrispondeva quasi sempre uno sbocco primario interno nella metà posteriore della linea pettinea anorettale e viceversa per quelle anteriori. Per la diagnosi veniva raccomandata l'iniezione di blu di metilene nel tragitto fistoloso subito dopo aver introdotto il dito esploratore nel canale anale alla ricerca

dello sbocco interno sondato dall'esterno con specillo di argento, mentre non si dava molto affidamento alla diagnosi anoscopica.

Il trattamento incruento con liquidi sclerosanti dimostrò di essere mal tollerato dai pazienti e poco efficace. Il trattamento con la **legatura elastica** invece fu applicato con successo da **Bacon** in quei tragitti fistolosi che per essere messi a giorno avrebbero richiesto la sezione a tutto spessore dell'intero anello sfinterico e nelle fistole rettovulvari e rettovaginali. Altri AA hanno raccomandato la legatura elastica associata alla fistolotomia facendo precedere questa all'altra trattando solo uno dei due sbocchi e applicando poi la legatura elastica per l'altro sbocco quando la sua apertura immediata poteva compromettere la funzione sfinterica. La legatura elastica veniva fatta con una fettuccia di elastico che veniva passata nel tragitto fistoloso fuori per fuori e legata all'esterno sottoponendola poi ad aumenti progressivi di compressione del ponte muscolo-fibroso-mucoso-cutaneo a intervalli di 5-7 giorni finché l'aumento della costrizione finiva per segare lentamente il tessuto interposto e, una volta venuto a giorno tutto il tragitto, la legatura elastica cadeva spontaneamente. Al posto della fettuccia di elastico furono anche usati molto i cordoncini di seta ritorta o di lino. Fin qui trattasi di metodi in uso fino alla fine del secolo XX. L'incisione della cute in anestesia locale riduceva il dolore da compressione e abbreviava la durata del trattamento. Nel 1934 E.Katskee sostituì il laccio elastico o di seta con un filo di acciaio mettendone i due capi in tensione e applicandovi in sedute successive alcune scariche di corrente bipolare ottenendo la dieresi dei tessuti interposti in minor tempo rispetto a quello impiegato con la sezione da laccio elastico.

Un trattamento impiegato nei primi decenni del secolo XX fu il raschiamento della fistola addossando poi sull'orificio dello sbocco interno un lembo di mucosa scollato più in alto trasformando in tal modo la fistola completa in fistola cieca esterna (metodo di Elting). La delicata complessità di questa tecnica non trovò fortuna nel mondo chirurgico ed essa fu abbandonata ancor prima degli anni '50.

I due metodi chirurgici più eseguiti furono la **fistolotomia diretta** (semplice apertura del tragitto ed escissione o cauterizzazione del suo letto) e la **fistolectomia** (asportazione dell'intero tragitto con tutta la sua parete). In realtà queste due tecniche furono applicate molto spesso contemporaneamente a seconda delle caratteristiche anatomopatologiche del tragitto e delle sue diramazioni. Nel 1950 J.P.Nesselrod consigliava di limitarsi alla fistolotomia sezionando *“soltanto quelle fibre sfinteriche che corrono superficialmente sopra la fistola lasciando in situ le fibre sfinteriche più profonde aderenti al tessuto cicatriziale della fistola mantenendo così molto vicini i margini di sezione delle fibre sfinteriche superficiali”*. Nel 1948 C.N.Morgan scriveva che *“finché resta integra una parte dell'anello sfinterico anorettale è assicurata una buona continenza delle feci”*. Bickham e Callander, pur sottolineando che nelle fistolotomie il maggior pericolo da evitare era rappresentato dall'incontinenza anale, ammettevano che nelle fistole extrasfinteriche era giocoforza sezionare a tutto spessore lo sfintere facendo però attenzione a non sezionarlo mai obliquamente e a non asportarne nessun tratto. Anche la sezione non doveva avvenire a livelli diversi bensì seguendo un unico livello. Le frequenti fistole “a ferro di cavallo” anteriori e posteriori venivano trattate con la medesima tecnica e con le stesse cautele usate per tutte le fistole complesse appena descritte.

Le fistole anorettali perineali e scrotali erano frequenti nei primi tre decenni del secolo, cioè prima dell'entrata in farmacopea dei sulfamidici. La loro prognosi era molto meno favorevole delle anorettali pure e la loro cura richiedeva spesso un programma chirurgico da eseguire in più tempi. Fondamentalmente, come primo passo diagnostico, bisognava accertare se vi fosse una comunicazione con le vie genitourinarie e questo si otteneva con l'iniezione di acqua ossigenata e di blu di metilene. Una volta esclusa la presenza di questa comunicazione, si introduceva un catetere in vescica per identificare ed evitare eventuali lesioni dell'uretra e si praticava la fistolotomia sulla guida di uno specillo mettendo a

giorno tutte le ramificazioni dove veniva lasciata garza vaselinata facendo guarire queste ferite per granulazione spontanea. Nel caso di molteplici sbocchi esterni la fistolotomia veniva eseguita solo per il tragitto principale mentre le ramificazioni extrasfinteriche venivano aperte e drenate dall'esterno evitando di interrompere altre porzioni dello sfintere. La guarigione dello sbocco interno anorettale comportava automaticamente anche quella dei tragitti extrasfinterici drenati dall'esterno.

Le complicanze più rare delle fistolotomie erano le emorragie e l'infezione. Meno rara purtroppo era l'incontinenza sfinterica dovuta ad incisioni oblique o multiple dello sfintere esterno oppure ad un tamponamento del retto protratto oltre le 36 ore. La rimozione del tampone entro le prime 24 ore preveniva l'incontinenza. Tuttavia per quella dovuta ad errori di tecnica operatoria la riparazione di solito era solo quella chirurgica consistente nel riaccostamento dei monconi sfinterici, operazione che però non veniva attuata prima che fosse accertata la persistenza del grave inconveniente una volta cicatrizzate tutte le zone cruentate. Anche la complicanza del prolasso rettale di solito associata all'incontinenza sfinterica aveva la medesima eziologia di questa. Frequente – ma passeggera – era anche la ritenzione urinaria che si risolveva di solito da sola una volta rimosso il tampone anale.

Un'altra complicazione molto rara di una fistola anale di vecchia data era la degenerazione carcinomatosa: F.Rundle e I.Hales nel 1953 descrissero un'osservazione personale e raccolsero da tutta la letteratura precedente della prima metà del secolo altri 16 casi. Questi AA notarono che si trattava quasi sempre di adenocarcinomi con maggior sviluppo verso il basso e all'esterno. I carcinomi a cellule squamose mostrarono maggior tendenza a metastatizzare rispetto agli adenocarcinomi mucoidi. In 13 dei 17 casi le fistole duravano da un minimo di 10 a un massimo di 55 anni; tutti i 17 pazienti erano stati operati ma solo quattro erano vivi e in buone condizioni a distanza di un minimo di 16 mesi e di un massimo di 13 anni dall'operazione.

Le fistole anali tubercolari – malattia esclusa dalle possibilità di cura chirurgica – erano state valutate intorno al 2-5% di tutte le fistole anorettali all'inizio degli anni '50.

Nel **1969** Hubert **Waggenegger**, proctologo della Colorado Medical School di Denver, partendo dal principio che le fistole anali sono per la loro maggior parte la conseguenza di un ascesso perianale a suo tempo inciso e drenato nella sua fase più acuta e che il tramite fistoloso segue lo stesso iter a sua volta fatto dalla raccolta purulenta, concluse che era illogico rimandare ad un secondo tempo chirurgico la cura della fistola ove il suo tramite fosse riconoscibile al momento dell'incisione dell'ascesso. In base all'esperienza fatta su 67 pazienti trattati con la **fistolotomia immediata**, avendo ottenuto il 94% di guarigioni definitive senza recidive, Waggenegger pose le seguenti indicazioni alla fistolotomia d'emblée: 1°- l'ascesso sottocutaneo perianale secondario a *fistula in ano*; 2°- identificazione dell'orifizio fistoloso interno; 3°- percorso fistoloso non troppo penetrante nell'anello sfinterico; 4°- ascesso vicino al canale anale. Questo tipo di trattamento immediato che in qualche caso comportò anche il sacrificio dei $\frac{3}{4}$ più superficiali dell'anello sfinterico (è importante evitare assolutamente la sezione completa di tutto l'anello comprese le sue fibre più profonde!) fu possibile per l'A. nel 73% di tutti gli ascessi perianali e anorettali.

Nel **1978** Patrick **Hanley**, della University Medical School di New Orleans, pubblicò una classificazione completa degli ascessi anorettali e relative fistole riunendoli in 5 gruppi: 1°- intermuscolari bassi 2°- intermuscolari alti 3°- idem con interessamento degli spazi sopra- e intra-elevatori 4°- sottocutanei 5°- sottomucosi. L'esperienza di Hanley presso la Ochsner Clinic si basava su 840 ascessi e 1526 fistole anorettali. La tecnica di fistolotomia e quella di apertura ed evacuazione dei vari tipi di ascesso non differiva in nulla da quella consacrata dalla lunga pratica di tante scuole chirurgiche dei decenni precedenti; l'unica novità consisteva in un **metodo personale per le fistole a ferro di cavallo**, tecnica più conservativa di quella estremamente radicale proposta ancora nel 1910 da John Arderne

(“aprire tutti i tramiti fistolosi a partire da tutti gli orifizi secondari fino a identificare e aprire quello primitivo in una cripta di Morgagni”). A partire dal 1963 Hanley cominciò ad aprire anzitutto il tramite originario principale iniziando proprio dall’orifizio primitivo nella tasca di Morgagni e proseguendo quindi nel mettere a giorno tutti i tramiti secondari la cui apertura però non comportava la sezione di tutte le fibre posteriori dell’anello sfinterico. Attraverso un’incisione fistolotomica posteriore mediana Hanley passava al curettage dei vari tramiti tra spazio postanale e fosse ischioirettali d’ambo i lati. I drenaggi venivano rimossi dopo 24 ore e la guarigione richiedeva da 5 a 12 settimane.

Alla **fine degli anni Ottanta** Stuart T.**Ross**, della State University di New York, nel trattare le fistole anali in un simposio dedicato alle tecniche di chirurgia colica e rettale, sottolineava la grande importanza dell’esatta conoscenza anatomica per tutti i chirurghi che si trovano ad affrontare la diagnosi e la cura di questa patologia anale. Pur non presentando novità di ordine tecnico né di conoscenze anatomopatologiche rispetto a quanto già fatto conoscere dall’enorme produzione letteraria di Bacon nel periodo 1944 – 1956, Ross, proctologo di lunga esperienza e noto negli USA non meno di Bacon, preferì soffermarsi su una sorta di **decalogo** riguardante gli indizi che si potevano trarre dall’osservazione dell’orifizio esterno della fistola per non incorrere in errori di trattamento e per affrontare un iter terapeutico corretto: 1°- un orifizio esterno largo e di forma irregolare depone per la natura tubercolare della fistola; 2°- quando l’orifizio esterno si trova a 1-2 cm dalla punta del coccige è molto probabile che si tratti di una fistola retrorettale; 3°- quando dista meno di 1 cm dall’ano la fistola è molto probabilmente sottomucosa cieca esterna; 4°- la presenza di un ciuffo di tessuto granulomatoso sull’orifizio esterno indica di solito un tramite fistoloso a decorso profondo; 5°- davanti a due o più orifici esterni bisogna pensare sempre alla possibilità di un m. di Crohn prima di intervenire chirurgicamente; 6°-due orifici simmetrici a destra e a sinistra dell’ano suggeriscono una fistola a ferro di cavallo; 7°- la regola di Goodsall non conosce molte eccezioni (vedi sopra). Alla fine Ross sottolineava che *“questi sono solo indizi e non leggi immutabili”*.

Per quanto riguarda la sezione dell’anello sfinterico per mettere a giorno un tragitto fistoloso, Ross assicurava che la sezione della porzione sottocutanea dello sfintere esterno volontario poteva essere fatta impunemente tranne che anteriormente nella donna, che in caso di anello sfinterico molto robusto, la sua sezione a tutto spessore sulla linea mediana posteriore non comportava incontinenza purché fosse salvato 1 cm di fibre del m.puborettale e, infine, che era sempre consigliabile avvicinare con suture allentate i margini di una sezione sfinterica nel momento in cui tendevano a ritirarsi troppo. L’impiego del setone era considerato da Ross molto utile nella tecnica operatoria in due tempi che lui suggeriva per quelle fistole a lungo tramite dove la sezione d’emblée di tutto lo sfintere comportava il timore di provocare incontinenza: nel primo tempo veniva sezionata solo una parte del muscolo e l’operazione terminava con l’applicazione del setone lasciato lasco e rimandando il completamento della sezione muscolare al secondo tempo, quando cioè la prima sezione muscolare era guarita.

Nel **1996** nel manuale francese di gastro-enterologia di Jean-Claude **Rimbaud** e Yoram **Bouhnik** veniva citata la sostituzione del vecchio metodo di iniezione intrafistolosa di blu di metilene e/o di acqua ossigenata con l’iniezione di sola aria cercando di aiutarsi con l’eco-endoscopia o, ancora meglio, con la RMN, per individuare la sede dell’orifizio fistoloso interno. Nelle rare fistole soprasfinteriche definite difficili veniva consigliata la cura con la trazione elastica *lenta e ben dosata* oppure impiegando la cura chirurgica in due tempi: nel primo tempo dissezione fino al muscolo che non veniva intaccato e si applicava il setone; nel secondo tempo – a distanza di due mesi – si sezionava completamente o parzialmente il muscolo (in questo secondo caso si applicava una trazione elastica lenta sul muscolo residuo). Gli AA segnalavano tra le complicanze

l'emorragia che poteva intervenire tra 5° e 15° giorno del postoperatorio. Le recidive erano riportate al di sotto del 2% e la funzione sfinterica veniva data come *sempre conservata*.

CHIRURGIA di FEGATO, VIE BILIARI, MILZA, PANCREAS

Patologia e clinica chirurgica delle malattie di FEGATO

Già nelle sue prime decadi il secolo XX ha apportato al bagaglio diagnostico delle malattie del fegato la pratica dell'**esame bioptico** che veniva effettuata con l'ago di Silverman o con quello di Franseen, ambedue dotati di una parte tagliente foggata a doppia lama nel primo caso e a punta pluridentata nel secondo. L'ago di Silverman veniva introdotto per pochi centimetri nel parenchima epatico mentre quello di Franseen – preferito da Robert Clay del Johns Hopkins Hospital di New York - veniva spinto in profondità. Verso la metà del secolo le esigenze diagnostiche fecero orientare per la biopsia epatica a cielo aperto, effettuata generalmente sul bordo epatico del lobo destro. Nel **1937 J.C.Ruddock** introdusse per la prima volta l'uso a scopi diagnostici di un "*peritoneoscopio*". Lo stesso Ruddock valutò l'esattezza diagnostica ottenuta con questo strumento che fu pari all'85% dei casi esaminati. R.T.Shackelford **nei primi anni '50** raccolse per il trattato di chirurgia addominale di Lewis ben 7000 applicazioni del peritoneoscopio con una mortalità dello 0,001%.

A cominciare dagli **anni Sessanta** si fece strada l'impiego dei nuovi laparoscopi a fibre ottiche alimentati da luce fredda con la possibilità di eseguire biopsie. Una notevole esperienza in questo campo fu accumulata presso l'Ospedale Civile di Padova da **Dagnini** che fu tra i primi in Italia a sfruttare ampiamente le possibilità diagnostiche di questo strumento.

Il trattamento delle **Ferite del fegato** subì nel corso del Novecento un'evoluzione dovuta al miglioramento dei mezzi diagnostici strumentali e della tecnica operatoria sviluppatasi in questo campo a partire dalla metà del secolo. Fino a tale data le indicazioni terapeutiche erano di intervenire immediatamente in tutte le ferite aperte e in quei casi di importanti ferite chiuse da traumi violenti accompagnate da segni evidenti di emorragia interna. In realtà la maggior parte delle contusioni epatiche non veniva sottoposta a laparotomia esplorativa data la frequente osservazione di piccole ferite del fegato o di rotture sottocapsulari che guarivano senza complicazioni.

Nel **1947 L.T.Wright** e coll. raccolsero dalla letteratura 125 casi di rottura del fegato a decorso fatale dopo un trattamento conservativo e, per altro verso, denunciarono una mortalità del 45% in altre 143 ferite di fegato sottoposte a cura chirurgica. Questa veniva eseguita, ove possibile, con la sutura da materassaio eseguita con grandi e grossi aghi tondi a mano e filo riassorbibile. Un utile accorgimento molto sfruttato fu quello di inserire sulle superfici cruentate e sanguinanti del fegato, tra i fili di sutura, lembi di omento o di aponevrosi, oppure zaffi di garza per tamponare le emorragie più ribelli ai tentativi di emostasi. Gli zaffi, molto lunghi (in gergo tecnico erano detti "*lunghette*") venivano lasciati fuoriuscire dalla ferita laparotomica e poi rimossi lentamente nel giro di 7-10 giorni. Solo **nei primi anni '50** si rese disponibile la cellulosa ossidata riassorbibile (Glycel, Oxygel) che esercitava una valida azione emostatica e il cui uso continuò in seguito fino alla fine del Novecento e oltre.

L'alta mortalità dei **Traumi del fegato** nella prima metà del Novecento fu in buona parte dovuta alle sequele del trattamento che abbiamo appena descritto: sepsi, emorragie secondarie e fistole biliari. Fu la vasta esperienza fatta dai chirurghi inglesi e americani nei vari teatri di operazioni della II Guerra Mondiale che rivoluzionò i principi del trattamento fondati questa volta sul controllo preciso delle fonti emorragiche, nella rimozione del

tessuto epatico devitalizzato e nell'ampio drenaggio dell'ipocondrio. Ne furono sostenitori G.Madden e coll. nel **periodo 1942-1955**, R.S. Sparkman e M. Fogelman nel 1953, W.Mikesky e coll. nel 1956 e molti altri. Nel **1968** Arthur **Donovan** e coll., del Medical Center della Southern California University, pubblicarono una rassegna monografica dedicata ai traumi del fegato impostando la trattazione a partire dalle più recenti nozioni sull'anatomia del fegato dovute agli studi di Healy nel 1954 e di Goldsmith e Woodburne nel 1957. Erano nozioni essenziali per facilitare l'orientamento spaziale del chirurgo davanti a certe gravi lesioni del lobo destro che richiedevano la asportazione di porzioni anche notevoli del viscere. I tempi della cura chirurgica dettati da Donovan erano: 1°- laparotomia e prima valutazione delle ferite che, per essere completa, richiedeva la sezione dei legamenti che fissano il viscere al diaframma e alla parete posteriore dell'addome; 2°- controllo dell'emorragia con la classica **manovra di Pringle** sui vasi dell'ilo epatico dove la compressione iniziale delle due dita era sostituita da una pinza dai morsi rivestiti di caucciù rimuovendo però la compressione dell'ilo epatico ogni 15' per la durata di 20 secondi. Quando la compressione dei vasi ilari non faceva cessare l'emorragia e da sopra e da dietro il fegato l'emorragia continuava in notevole quantità, questo era il sicuro segnale di una lacerazione delle vene sopraepatiche e/ o della cava inferiore. Per queste gravissime lesioni, che in precedenza erano mortali nella totalità dei casi, dopo le tecniche escogitate dagli AA sopracitati (shunt interno della cava inferiore sec. Schrock; metodo di Donovan e isolamento sopradiaframmatico della cava inferiore sec. Heany), qualche paziente era riuscito a sopravvivere; 3°- valutazione definitiva della ferita epatica, specie se si trattava di ferita ilare profonda che comportava legatura di vasi sanguigni e di dotti biliari di varia importanza e, a volte, di tale importanza da richiedere la resezione di ampie porzioni di parenchima epatico. Dove era possibile Donovan consigliava di preservare il flusso arterioso e portale, o almeno uno dei due; 4°- ricostruzione con suture e applicazione di *patch* sulle pareti lacerate della vena porta, dell'arteria epatica e dei dotti epatici.; 5°- rimozione del tessuto epatico devitalizzato tenendo presente che le fratture stellate multiple di per sé di solito non richiedevano resezioni; 6°- chiusura delle ferite epatiche con filo di catgut; 7°- drenaggio.

La mortalità complessiva da traumi penetranti in 140 pazienti (da taglio e da proiettile) e da traumi chiusi in 29 pazienti nella casistica di Donovan e coll. fu dell'8%. La massima mortalità fu quella data dai traumi chiusi: 13,5%. La resezione epatica si era resa necessaria in 13 pazienti su 169. La casistica riguardava il **periodo 1961-1968**.

Nel 1989 una messa a punto della chirurgia dei traumi del fegato fu pubblicata da David **Feliciano**, insegnante di clinica chirurgica presso il Baylor College of Medicine e nel General Hospital di Houston (Texas). In questo lavoro compariva una tavola sinottica delle cinque classificazioni apparse nella letteratura americana e inglese **tra 1978 e 1985** ad opera di Clagett e Olsen (1978), Flint e Polk (1979), Pachter e coll. (1983), Moore (1984) e Committee in Injury Scale (1985). I gradi di lesione in ordine crescente erano 5 nelle classificazioni di quattro autori e solo 4 in quella di Flint e Polk. Nel complesso le differenze erano poco rilevanti. Le novità riportate da Feliciano rispetto alla trattazione di Donovan di ventuno anni prima consistevano nel fatto che la valutazione del danno epatico era fatta sulla base dei referti TAC, dell'ecografia, e, nei casi dubbi, anche del liquido di lavaggio peritoneale. Nel caso di ematomi intraepatici, di piccole lacerazioni parenchimali, in assenza di versamento ematico in peritoneo o in presenza di versamenti inferiori a 250 ml e assenza di lesioni di altri visceri, tutti criteri questi ottenuti da esami TAC eventualmente ripetuti, e di una situazione emodinamica stabile, ci si affidava ad un'attesa armata, cioè a un trattamento conservativo. Quando invece gli esami diagnostici e l'osservazione clinica indirizzavano ad una laparotomia d'urgenza il malato veniva preparato per possibili campi operatori allargati a toracotomie e a sternotomia e la laparotomia veniva praticata sulla linea mediana dall'appendice xifoide al pube. Le altre

novità riportate da Feliciano erano le seguenti: 1°- entrata in uso clinico nel periodo 1984-87 della **colla di fibrina** (fibrinogeno umano non autologo altamente concentrato e fattori coagulanti con aggiunta di aprotinina) impiegata per primo da H.B.**Kram**, del King-Drew Medical Center di Los Angeles, con ottimi risultati sui parenchimi sanguinanti; 2°- abbandono delle grandi epatoraffie con passaggi orizzontali profondi del filo di sutura di catgut cromico, rivelatisi causa di necrosi di tessuto epatico a sua volta causa della “febbre epatica” tipica di questi operati. L’A. giustificava l’impiego di queste suture “*extensive*” solo per pazienti con lesioni multiple, ipotensione e coagulopatia; 3°- nelle emorragie forti e persistenti che provenivano da ferite epatiche profonde erano indicati la frantumazione digitale per aprirsi strada e luce in profondità nonché l’impiego dei divaricatori di Deaver fino a rendere possibile l’emostasi finale dei vasi sanguinanti con le modalità che apparivano più appropriate (applicazione di clips, legature, suture di vasi con fili 5-zeri o 6-zeri di polipropilene). Alla fine la ferita epatotomica veniva lasciata aperta o zaffata con omento come suggerito da Stone e Lamb nel 1975; 4°- la resezione di segmenti o di lobi fu usata per completare il piano di sezione dato dal trauma e ciò avveniva seguendo ove possibile l’anatomia della ghiandola. Negli USA **tra 1983 e 1987** questa tecnica fu impiegata nel 2-4% di tutte le casistiche di traumi del fegato; 5°- fu dimostrata la possibilità di legare elettivamente un ramo dell’arteria epatica come già fatto per la prima volta nel 1972 da E.Mays, senza provocare necrosi del territorio dipendente grazie all’alto grado di saturazione di ossigeno del sangue della vena porta; 6°- riesumazione dell’avvolgimento compressivo del fegato con larghi rotoli di garza ma non dentro alle lacerazioni del parenchima epatico; 7°- per le gravissime lesioni delle vene sovraepatiche e della vena cava inferiore retroepatica, di cui Feliciano aveva fatto esperienza in 46 feriti nell’arco degli ultimi 11 anni, egli descrisse le tre tecniche fondamentali atte a ridurre la perdita ematica dei vasi venosi interessati durante l’opera di riparazione: **a)** isolamento vascolare del fegato; **b)** shunt con palloncino transatriale o transfemorale oppure impiego di un tubo endotracheale; **c)** shunt transatriale o transcavale con tubi toracici 36 F sui quali veniva praticato un foro a livello dell’atrio destro.

I risultati denunciati dall’A. con l’applicazione di queste tecniche di shunt consentirono di contenere la mortalità complessiva entro il 10%.

Negli anni Novanta fecero la loro comparsa i primi **bisturi ad ultrasuoni** che dimostrarono un’alta capacità di coagulare e sezionare coagulando il parenchima epatico e questa fu l’ultima novità di rilievo che venne ad arricchire lo strumentario utile per la cura dei traumi del fegato.

Fegato Policistico

Malattia ereditaria rara si accompagna spesso ad un rene policistico (18% dei casi). Era stata oggetto di diverse ipotesi patogenetiche nella prima metà del Novecento come quella della mancata fusione o saldatura di piccoli condotti biliari con il resto della rete biliare o quella della natura tumorale definita “adenocistomi multipli”. Nei primi anni Sessanta aveva trovato consenso la teoria che considerava il fegato policistico espressione di un tentativo di unificazione di alterazioni di sviluppo simili che avvengono in organi diversi e lontani fra loro. A questa sindrome fu dato il nome di “disencefalia splancnocistica” (Grüber, Giordano).. Furono descritti aumenti di volume del fegato da comportare pesi massimi di 5-6 Kg.

Nel Trattato di Patologia Chirurgica redatto da Patel per i tipi della casa editrice Masson nel **1947** Alain Mouchet catalogava il rene policistico nel paragrafo dedicato agli adenomi cistici e più precisamente tra le “cisti multiple” e distingueva il fegato policistico diffuso a tutta la ghiandola definito “*al di là delle possibilità chirurgiche*” e la sua forma circoscritta passibile di resezione. Citava tra le soluzioni chirurgiche la marsupializzazione davanti all’impossibilità di resecare; la resezione diventava realizzabile nelle cisti anteriori e facilmente accessibili; per quelle superiori, centrali e posteriori non restava che l’apertura e

lo svuotamento delle cisti di maggiori dimensioni. Lenormant e Calvet avevano pubblicato in Francia, prima del 1947, 20 resezioni con due decessi postoperatori e 18 guarigioni.

A. Severi e P. Nocentini **nel 1963** scrivevano che questa malattia congenita “*non è passibile di trattamento chirurgico che invece sotto forma di resezione è riservato a quelle forme circoscritte che, in forma di una massa di cisti di varia dimensione, occupano segmenti limitati del fegato*”. Clinicamente il fegato assumeva interesse chirurgico quando una epatomegalia massiva provocava dolori addominali insopportabili, sazietà dopo ingestione di modica quantità di cibo, dispnea, sensazione di distensione addominale.

Le poche casistiche chirurgiche sono avare di dati a causa del basso numero di pazienti operati. Nel **1968** T.Y. Lin e coll. pubblicarono su *Ann.Surg.* una tecnica di finestratura seguita da drenaggio peritoneale del contenuto delle cisti di maggiori dimensioni. K. Van Epercum e coll. nel **1994** usando questo metodo videro scomparire le cisti e la sintomatologia. M. Morino e coll. della clinica chirurgica dell'università di Torino usarono l'aspirazione percutanea delle cisti maggiori e la scleroterapia con alcool (*Ann.Surg.* del **1989**) mentre S. Saini e coll. sei anni prima avevano scritto che lo svuotamento con agopuntura percutanea semplice non faceva guarire la malattia (*AJR* del 1983). C. Soravia e coll. della clinica chirurgica dell'università di Ginevra, pubblicarono su “*Surgery*” del **1995** dieci casi trattati con resezioni plurisegmentarie: constatarono un solo decesso e due pazienti che andarono incontro nel postoperatorio a polmonite in un caso e a pancreatite nell'altro. Nell'ultima parte della serie gli AA associarono anche la colecistectomia. Dopo un follow-up di 5,7 anni il 66% di queste nove donne di media e avanzata età era asintomatico.

Tumori del Fegato.

Nel 1846 il chirurgo inglese John MacPherson asportò un pezzo di fegato eviscerato da trauma penetrante e, nel pubblicare questo caso sulla *London Medical Gazette*, scrisse che la prima resezione di tessuto epatico su uomo vivo era già stata pubblicata da Blanchard nel suo *Anatomica Practica Rationales*. La prima resezione epatica parziale programmata fu eseguita a Berlino nel **1880** da Langenbeck clinico chirurgo di quella università: si trattava del lobo sinistro sede di un tumore benigno. Nel **1892** W. Keen, pubblicando un caso di resezione dell'epatocolodoco per tumore diede anche conto di venti resezioni epatiche da lui raccolte in letteratura. Due anni prima (**1890**) L. Tiffany eseguì la prima resezione epatica del Nord America. La prima idea di eseguire resezioni epatiche “controllate” fu introdotta nel **1927** da A. McIndoe e V. Counseller con un lavoro dal titolo “*La bilateralità del fegato*”. Essi furono i primi a dimostrare che il legamento falciforme non corrispondeva affatto alla linea di divisione tra lobo destro e lobo sinistro, una verità anatomica che sarebbe stata presa in seria considerazione solo venti anni più tardi.

Nell'aggiornamento del Trattato di Chirurgia dell'Apparato Digerente eseguita da Shackelford nel **1954** sui vecchi testi di Bickam e Callander le epatectomie parziali per tumori del fegato venivano date come operazioni che venivano fatte “*con frequenza sempre maggiore*”. In realtà, a parte le notizie dettagliate di tecniche di emostasi e di sutura del parenchima epatico, vi erano descritte solo le resezioni a cuneo del bordo anteriore del fegato per asportare tumori superficiali e di non grandi dimensioni oltre alla tecnica della lobectomia sinistra già impiegata con successo nel **1947** da K. Pickrell e R. Clay in tre casi di tumore localizzato appunto sul lobo sinistro. Shackelford scriveva che “*la maggior parte dei tumori del fegato è data da carcinomi secondari inoperabili a meno che non si tratti di noduli isolati*”.

Nel 1951 O. Wangenstein reseccò tutto il tessuto epatico posto a destra del legamento falciforme. Nel **1952** i francesi J.L. Lortat-Jacob e H. Robert e, nel **1953**, l'americano J. Quattlebaum asportarono la maggior parte del lobo destro per neoplasie primitive del fegato applicando criteri anatomici. Dopo che nel **1950** J. Healy aveva descritto i **segmenti**

del fegato sottolineando la loro importanza ai fini delle exeresi, furono N.Goldsmith e coll. nel **1957** e T.Starzl nel **1975** ad eseguire e proporre rispettivamente la asportazione del segmento mediale del lobo sinistro e la trisegmentectomia.

Nel **1958** G.T.Pack e T.R.Miller pubblicarono la loro casistica di asportazioni di tumori epatici primitivi e metastatici e nel **1961** questi stessi AA pubblicarono l'asportazione, seguita da successo, del lobo epatico medio per carcinoma epatico primitivo.

Nel **1967** Charles Moertel e Richard Reitemeier, della Mayo Clinic di Rochester, pubblicarono i risultati della chemioterapia nelle forme incurabili di tutti i tumori maligni del tubo digerente ivi compresi i tumori primitivi e secondari del fegato, a proposito dei quali sostenevano che gli antiblastici che avevano rivelato una certa utilità erano il 5-fluorouracile, il 5-fluoro-2-deossiuridina (FUDR) e la mitomicina C. Questi tre farmaci avevano ottenuto una regressione di breve durata – e a prezzo di media e alta tossicità – rispettivamente nel 17%, 21% e 15,4% dei pazienti. Molti altri chemioterapici non avevano mostrato alcuna attività.

Nei **primi anni '70** si risvegliò negli USA un vivo interesse dei chirurghi addominalisti per le resezioni epatiche anatomicamente regolate nella asportazione di neoplasie, cisti, parti di fegato rovinata da traumi o da processi infiammatori e, oltre a pubblicazioni sull'anatomia aggiornata del fegato, la letteratura chirurgica americana puntò decisamente sui dettagli e consigli di tecnica operatoria. Nell'anno **1973** questo tema fu svolto brillantemente da Blake **Cady**, della Lahey Clinic Foundation di Boston, e da Harry **Goldsmith** del Jefferson Medical College di Philadelphia: il primo descrisse un approccio semplificato che prevedeva sostanzialmente due accessi fondamentali ad una eventuale resezione programmata, quello della fessura interlobare e quello della fessura intersegmentaria sinistra, ambedue adatti a soddisfare qualsiasi richiesta di exeresi. Goldsmith aggiunse all'impostazione anatomica di Cady il suggerimento di utilizzare la frammentazione digitale del tessuto epatico già divulgata nel **1958** dal chirurgo cinese di Formosa T.Y.Lin. La preoccupazione principale dei due chirurghi americani fu comunque quella di porre in primo piano la grande delicatezza e la pericolosità presentate in queste resezioni dalle manovre di isolamento, legatura e sezione delle vene epatiche che sboccano nel lume della cava inferiore. In particolare poi Cady si esprimeva contro ogni tentativo chirurgico di asportare metastasi di cancri del tubo digerente anche se apparentemente solitarie e segnalava la pericolosità delle resezioni di neoplasie su terreno cirrotico.

Nel **1977** Martin Adson e R. Beart, della Mayo Medical School, nel ripetere e confermare le soluzioni tecniche già in atto da tempo, preferirono presentare il tema della tecnica di resezione epatica nelle tre varietà più usate allora a seconda della sede della neoplasia o di qualsiasi altra lesione da asportare: 1°- resezioni sublobari (a cuneo, della fossa della cistifellea per carcinoma della stessa, emiepatectomie); 2°- resezioni lobari e resezioni trisegmentarie (lobectomia epatica destra, trisegmentectomia, lobectomia epatica sinistra); 3°- asportazione di neoplasie situate molto vicino alla vena cava inferiore che richiedevano il preventivo **isolamento circolatorio del fegato** sec. la tecnica ideata da **Heany e Jacobson**.

Il problema della **rigenerazione del tessuto epatico** dopo resezione trovò spiegazione a cominciare dall'articolo di **Starzl** e coll. del **1973**, nel quale il meccanismo rigenerativo era individuato in molti fattori convogliati al fegato residuo dal sangue portale (ormoni di origine pancreatica, intestinale e surrenalica). Un notevole apporto a questo riguardo fu quello degli studi sperimentali di Leffert pubblicati nel 1974.

Nel **1989** James **Foster**, clinico chirurgo della Connecticut School of Medicine, forte di una notevole esperienza in resezioni epatiche, pubblicò in un simposio del *Surg. Clin. North Am.* sulla chirurgia del fegato, tutti i dettagli di tecnica operatoria che riguardavano i vari tipi di resezione più eseguiti e cioè per il lobo destro e mediano della ghiandola la lobectomia destra e la trisegmentectomia destra, per il lobo sinistro la lobectomia sinistra

allargata, la lobectomia sinistra e la segmentectomia laterale sinistra. L'abbondante e completa iconografia illustrava in modo sintetico ma esauriente e chiarissimo i tempi fondamentali di questi tipi di resezione epatica, compresa quella a cuneo in sedi diverse e l'impiego del **dissettore per aspirazione** che veniva adoperato per via ottusa fino a individuare i vasi e i dotti biliari meritevoli di legatura individuale. Il testo di Foster fu però ancora più importante sul tema della valutazione clinica e quindi delle indicazioni: l'autore suggeriva un'astensione preliminare seguita da controlli periodici nel caso di cisti semplici, emangiomi cavernosi, iperplasia focale nodulare, adenomi epatici in pazienti asintomatici nei quali l'esistenza di queste forme benigne era stata accertata casualmente nel corso di una ecografia addominale. Egli escludeva da qualsiasi programma resettivo gli ascessi epatici, le cisti da echinococco (che trattava con iniezione endocistica di soluzione di nitrato di Ag), le metastasi diffuse a tutto il parenchima epatico e il cancro dei cirrotici. In quest'ultimo caso adduceva quattro motivi che, a suo parere, giustificavano l'astensione da programmi resettivi: funzione epatica "borderline" facilissima a scompensarsi, scarsa o assente capacità rigenerativa del tessuto epatico residuo, possibili origini multifocali del carcinoma e ridotta prospettiva di sopravvivenza. Il giudizio di resecabilità sec. Foster *"può essere positivo per pazienti non cirrotici in cui si prevede di poter rimuovere il tumore senza compromettere la circolazione sanguigna e biliare di un fegato residuo e sufficiente a consentire una vita normale"*.

Nel **1990** M.T.**Ruffin** descrisse una nuova forma istologica di cancro primitivo del fegato, l'**epatoma fibrolamellare**, che colpiva prevalentemente uomini e donne al di sotto dei 40 anni di età, non cirrotici, e per il 70% aveva sede nel lobo sinistro. Il caratteristico quadro istologico presentava cellule maligne eosinofile disseminate tra le lamine di collagene e, come marker tumorale, veniva segnalata l'aumentata capacità del siero di legare la vitamina B12 insatura. Se la diagnosi era precoce, l'operabilità si era rivelata superiore al 50%.

Nel **1992** R.S.Simonetti e coll. dimostrarono che nel 28% dei soggetti affetti da carcinoma primitivo del fegato era stata riscontrata un'alta presenza di anticorpi anti-virus dell'epatite C (forme cronicizzate), mentre questa positività anticorpale cresceva al 50% in Florida e addirittura al 75% nella popolazione della città spagnola di Barcellona e in Giappone. Tra le varie forme di epatite, solo quella sostenuta dall'HCV risultò predisporre all'insorgenza di un carcinoma del fegato.

Nel **1995** Sanjiv Chopra, professore associato della Harvard Medical School, scriveva che, pur essendo la resezione epatica l'unica terapia definitiva possibile, essa era *"realizzabile solo nei pazienti con un unico nodulo neoplastico localizzato in un lobo accessibile e solo nei soggetti con "small carcinoma" specialmente di gruppo A nella classificazione di Child-Pugh, in assenza di metastasi"*. Il tasso di sopravvivenza a 5 anni dalla resezione era sec. Chopra contenuto tra il 10% e il 30%, mentre qualche risultato abbastanza soddisfacente era stato segnalato **tra 1990 e 1995** con terapie alternative alla chirurgia come la cura radiante locoregionale, l'alcoolizzazione percutanea del tumore e la chemioembolizzazione endarteriosa transcatetere. La cura del carcinoma epatocellulare non resecabile fu infatti affidata negli anni Ottanta e Novanta all'**embolizzazione intrarteriosa**, alla lipiodolizzazione (H.Nakamura e coll in *Japan.J.Cancer Chemother.* del 1992; T.Kanematsu e coll su 200 pazienti in *Hepatology* del 1989), all'iniezione percutanea di etanolo sotto guida ecografica in pazienti negli stadi Child B e C (M.Koda e coll. in *Hepatogastroenterol.* del 1994), alla coagulazione dei noduli metastatici con le microonde (R.Hamazoe e coll. in *Cancer* del 1994) e all'infusione endoarteriosa di interleukina-2 dopo epatectomia (Yamamoto e coll. in *Surg. Today* del 1993). Tutte queste cure adiuvanti la resezione palliativa del carcinoma epatocellulare avevano dimostrato di ottenere un prolungamento della sopravvivenza a differenza dei casi non trattati con cure adiuvanti.

La **laparoscopia** per asportare tumori del fegato fu inaugurata nel **1992** da M.Gagner e coll in modo parziale (“*Surg.End.*”) e fu seguita nel **1994** dall’esperienza di E.Croce e coll. (*End.Surg.*”) che usarono il laser ad argon.

Nel **1996** fu accettato dalla redazione di “*Surgery*” un lavoro di H.**Kaneko** e coll. del II° dipartimento chirurgico della facoltà di medicina dell’università di Tokio riguardante tecnica e risultati di epatectomie eseguite per via laparoscopica. Trattavasi dei primi 11 pazienti sottoposti ad epatectomie parziali e a segmentectomia laterale sinistra con l’ausilio di strumenti di recentissima fabbricazione: un coagulatore tissutale a microonde (2450 MHz) in combinazione con un aspiratore chirurgico ad ultrasuoni come strumenti di sezione del tessuto epatico in assenza di pneumoperitoneo. Questo obbligò ad usare il **metodo di sospensione della parete anteriore dell’addome** utilizzando l’apparecchio di sospensione Mizuho applicato in due punti del sottocutaneo. Il primo lavoro riguardante l’applicazione di questo apparecchio sospensore per la colecistectomia laparoscopica in assenza di pneumoperitoneo fu quello pubblicato nel 1993 da G. Nagai e coll. sulla rivista “*Surgery*”. I rami vasali e i dotti biliari vennero clippati e sezionati mentre i vasi maggiori furono legati per trasfissione. Per sezionare la vena epatica sinistra nella esecuzione della segmentectomia laterale sinistra fu usato uno stapler lineare endoscopico. La porzione di fegato resecato venne rimossa in un sacchetto per specimen. Il **coagulatore ad argon** serviva per assicurare l’emostasi sulla superficie di sezione. Le indicazioni furono quelle del carcinoma epatocellulare primitivo, le metastasi, l’emangioma epatico, la malattia di Wilson e l’emocromatosi. Tre pazienti furono sottoposti a segmentectomia laterale sinistra e otto ad epatectomia parziale. Mentre dieci operazioni ebbero un decorso intraoperatoria senza incidenti, in un caso fu necessario passare al trattamento in addome aperto a causa di un sanguinamento eccessivo. Rispetto alle epatectomie convenzionali, quelle laparoscopiche presentarono notevoli differenze di perdita ematica complessiva e in due casi su undici fu registrato un tempo di esecuzione leggermente più lungo. Non furono osservate complicanze postoperatorie. Da queste esperienze gli AA trassero la conclusione che i casi più favorevoli per una chirurgia laparoscopica di resezione di tumori epatici sono le neoplasie solide inferiori ai 5 cm di diametro e la loro sede nei segmenti 5, 6 , nel segmento più basso 4, nel segmento di Quinaud oppure in un segmento laterale. Viceversa diventano quasi inaccessibili al trattamento laparoscopico i tumori con sede nei segmenti superiori.

Nel **1997** K.Yamamoto e coll. della II clinica chirurgica dell’università di Fukuoka (Giappone), una équipe specializzata nella cura dei tumori del fegato, pubblicarono in *Arch.Surg.* un interessante lavoro riguardante il carcinoma epatocellulare avanzato applicando un indice che valutava la quantità residua di metastasi intraepatiche dopo l’asportazione chirurgica di tutte quelle che era stato possibile asportare. Questo indice fu da loro chiamato “*Remnant Tumor Index*” (RTI) ed era ottenuto moltiplicando il massimo diametro del più grande nodulo rimasto in sede per il numero dei noduli non asportati. La resezione riduttiva palliativa era stata eseguita in 25 pazienti e l’applicazione del RTI e i controlli ad un anno e a tre anni di distanza dall’operazione dimostrarono che questo tipo di chirurgia palliativa per forme avanzate di carcinoma epatocellulare è giustificata solo quando l’RTI è inferiore a 5 e quando non esistono metastasi extraepatiche.

Sempre nel **1997** D.Nadig e coll. della School of Medicine di St.Louis pubblicarono in *Arch.Surg.* i risultati della cura chirurgica di neoplasie primitive e metastatiche del fegato (158 lobectomie o resezioni epatiche estese) eseguite con uniformità di tecnica operatoria in ospedali del Dipartimento dei Veterans Affairs degli USA tra il 1 Ottobre 1987 e il 30 Settembre 1992. La sopravvivenza a 5 anni per le resezioni di carcinomi epatocellulari fu del 20%, per colangiocarcinomi dell’8%, per metastasi di carcinoma colonrettale del 26% sia dopo resezioni sincrone con l’asportazione del tumore primitivo che dopo quelle metacrone. Il tempo di sopravvivenza media più lungo fu quello dopo resezione di

metastasi di carcinoma renale (55 mesi) e quello più breve dopo resezione di metastasi di cancro del pancreas (1 mese). Lo studio confermò i dati di mortalità chirurgica e di validità del tipo e delle indicazioni di cura chirurgica fornite dalla letteratura degli ultimi anni (J.Scheele e coll. in *Surgery* 1991; J.Cunningham e coll in *Arch.Surg.*1994; J.Vauthey e coll in *Am.J.Surg.* del 1995).

Un artificio di tecnica ideato per eseguire una resezione epatica con minime perdite di sangue fu applicato prima sperimentalmente e poi sull'uomo per la prima volta da J.Heaney nel 1966 e fu detto "**Liver resection in total vascular exclusion**" (TVE). Si trattava di controllare la vena cava inferiore sovraepatica e intraepatica e l'aorta sopraceliaca; la mortalità apparve subito eccessiva (30%) ma nel 1983 C.Huguet e coll. (in "*Chirurgie*") riprese questo tema avendo accumulato una personale esperienza in 41 pazienti e vi ritornò sopra nel 1989 e nel 1992 con altri due lavori chiedendosi nell'ultimo di essi "*qual'è il limite dell'ischemia epatica durante la resezione?*". Comunque le casistiche di Huguet e di H.Bismuth e coll. (1989) portarono risultati nettamente migliori rispetto ai primi apparsi in letteratura e il miglioramento fu dovuto alla rinuncia al clampaggio dell'aorta sopraceliaca. Nel 1998 apparve sulla rivista "*Surgery*" un lavoro retrospettivo di P.Evans e coll. della Cleveland Clinic Foundation riguardante una casistica di 61 TVE eseguite nell'11% dei casi per tumori benigni e nel 70% per tumori maligni. Il 72% di questi interventi corrispondeva a resezioni molto importanti o a lobectomie estese. Ci fu un solo caso di morte perioperatoria e la morbidità fu del 36%. Le conclusioni tratte dagli AA furono che la TVE è una tecnica emodinamicamente sicura anche in pazienti di oltre 70 anni di età, che la perdita di sangue intraoperatoria è minima e che il tempo di clampaggio ottimale è inferiore ai 45'. Alterazioni importanti della funzione epatica furono osservate quando il clampaggio superava un'ora specialmente se il parenchima epatico residuo era sofferente in partenza oppure di ridotte dimensioni.

S.T.Fan, del Dipartimento chirurgico dell'università di Hong Kong, pubblicò nel 1996 sul *Brit.J.Surg.* il suo punto di vista sulle resezioni epatiche per carcinoma. Dopo aver citato gli utili miglioramenti di tecnica operatoria avvenuti negli anni Ottanta e primi anni Novanta (impiego del dissettore ad ultrasuoni, esposizione eccellente con doppia laparotomia sottocostale ed eventuale estensione toracica o con incisione a J per le resezioni dei segmenti 7 e 8, dissezione preliminare dell'ilo epatico ma senza affrettarsi a dividere il dotto epatico di destra da quello di sinistra dentro la placca ilare perché ciò può danneggiare l'irrorazione arteriosa del dotto biliare, controllo della vena epatica destra arrivandoci per via anteriore quando si tratta di un grosso tumore del lobo destro perché la mobilitazione forzata del fegato finisce per disseminare cellule cancerose o fa lacerare la vena epatica destra o la cava inferiore, e altri accorgimenti dettati dalla sua vasta esperienza), concludeva che il chirurgo che è padrone della tecnica d'approccio anteriore con dissettore ad ultrasuoni crea la possibilità di ottenere un innesto di lobo destro da un parente vivo per trapiantarlo in un ricevente adulto. Per quanto riguarda i notevoli miglioramenti dell'ultima decade Fan ricordava che "*nonostante i numerosi miglioramenti di tecnica dell'epatectomia solo una vigilante attenzione ai dettagli tecnici insieme ad un trattamento perioperatorio minuzioso conduce al successo. Non c'è virtualmente posto per errori nell'impegnativo campo di questa chirurgia*".

Molto interessante fu lo studio prospettico dei fattori prognostici riguardanti le varie forme di terapia del carcinoma epatocellulare pubblicato da B.Sangro e coll., dell'università di Pamplona, su "*Surgery*" nel 1998. Nel corso del decennio 1985-1995 furono registrate 42 variabili in 178 pazienti trattati con trapianto (22), epatectomia parziale (11), embolizzazione arteriosa con antitumorali (52) chemioterapia sistemica o regionale (51), altre terapie (5). Trentasette malati non ebbero alcuna terapia. A 5 anni di distanza dalla cura i migliori risultati furono quelli dati dai trapianti (74% di sopravvivenze) e dalle epatectomie (58%) mentre la chemioembolizzazione ottenne solo il 13% di sopravvivenze.

La cirrosi, la presenza di sindrome sistemica, l'interessamento neoplastico bilobare, la malattia in stadio C di Child e il tipo di trattamento risultarono essere altrettanti fattori prognostici indipendenti. La presenza di malattia sistemica fu intesa dagli AA come effetto di uno stadio molto evoluto della neoplasia o come il riflesso di un fenomeno biologico intrinseco dovuto ad una crescita neoplastica molto rapida. In base ai risultati di cui sopra Sangro e coll. si dichiararono convinti che il trapianto dovrebbe essere considerato la soluzione di prima scelta per i pazienti cirrotici con meno di tre tumori di diametro inferiore a 5 cm.

L'**Epatoblastoma** è il tumore primitivo del fegato più comune nella prima e seconda infanzia e la sua storia naturale è stata per diversi decenni dominata da una pesantissima mortalità. Nei trattati di patologia chirurgica occidentali non era nemmeno citato trattandosi di una malattia pediatrica tipica dei paesi orientali e in occidente pressoché sconosciuta. Nel 1963 A.Severi e P.Nocentini - nel grande Trattato Italiano di Patologia Chirurgica di G.Ceccarelli - in chiusura del paragrafo dedicato ai tumori maligni del fegato si limitavano a scrivere che *“infine bisogna ricordare una particolare forma di tumore maligno, assai frequente nei bambini, nel quale la componente epiteliale si accompagna a tessuti eterotopici così da assumere i caratteri di un tumore misto”*. La prognosi era sempre dipesa dalla sua operabilità e più della metà dei casi era riportata in letteratura come inoperabile; la media di sopravvivenza dopo resezione si arrestava al 25% . Questo fino alla fine degli anni Settanta (P.Exelby e coll. in *Am. Acad. Ped. Surg. Section Survey* **1974** pubblicata in *J.Ped.Surg.*1975). Prima del 1985 T.Seo e coll. - specialisti di chirurgia pediatrica della Nagoya University School of Medicine (Giappone) - si erano affidati alla chemioterapia con vincristina e ciclofosfamide da sola o come adiuvante nelle operazioni di resezione epatica ma i risultati erano stati deludenti e fu solo nel **1985** che decisero di passare alla combinazione formata da cisplatino e adriamicina (*“Surgery”* del 1997). I risultati migliorarono immediatamente. In 15 bambini curati nei dieci anni compresi **fra il 1985 e il 1995** la resecabilità divenne del 100% (in precedenza era del 50%) e la mortalità fu soltanto del 6,7%. Le complicanze postoperatorie e le perdite di sangue furono molto ridotte rispetto all'esperienza del periodo precedente. Gli AA concludevano che la chemioterapia preoperatoria con **cisplatino e adriamicina** riduce notevolmente la massa tumorale così da consentire epatectomie meno estese e con minori complicazioni. Nel **1995** su *J.Ped.Surg.* era apparso anche un lavoro del German Cooperative Pediatric Liver Tumor Study dove gli AA (J.Ortega e coll.) sostenevano che nei casi di epatoblastoma infantile molto avanzato era essenziale la resezione completa prima che si sviluppasse una resistenza ai chemioterapici cisplatino e adriamicina che questo gruppo di studio impiegava da prima del 1991. Anche M.Reynolds e coll. (*J.Ped.Surg.* 1992) avevano osservato che questa chemioterapia convertiva gli epatoblastomi inoperabili ad una utile operabilità.

Ascessi del Fegato

I due tipi più comuni di ascessi epatici sono sempre stati quelli da piogeni e gli amebici. Gli ascessi di natura tubercolare e actinomicotica sono sempre stati considerati una rarità.

Tra gli **ascessi da piogeni** quelli più spesso riscontrati nel corso della prima metà del Novecento furono quelli sostenuti dall'*Escherichia coli*, dallo streptococco, dallo stafilococco e dal bacillo di Friedländer. Le vie di propagazione al fegato che furono considerate essere le più frequenti erano la vena porta e i dotti biliari infetti; molto più raro invece era considerato l'arrivo delle cariche microbiche dall'arteria epatica nel corso delle sepsi generalizzate, da infezione di un ematoma intraepatico e per contiguità da un empiema colecistico, da una colangite purulenta o da una ulcera peptica penetrante nel parenchima epatico.

Il primo studio epidemiologico del Novecento fu quello pubblicato nel **1938** da A.**Ochsner** e coll., i quali in 575 ascessi epatici raccolti dall'esame delle letterature apparsa fino allora trovarono 197 ascessi pari al 34,2% dovuti a pileflebite secondaria ad appendicite acuta suppurativa. Gli stessi AA, prendendo in esame 68.198 casi di appendicite acuta, riscontrarono la complicità dell'ascesso epatico da piogeni in 247 pazienti, cioè nello 0,36%. Le altre origini di un ascesso epatico da piogeni figuravano per il 6-14% da propagazione diretta da suppurazione di organi adiacenti e per il 13% dalla via ematogena arteriosa in corso di setticemie o di piemie saltuarie ripetitive da focolai cronici di osteomielite.

La prognosi era, prima dell'era antibiotica, particolarmente severa quando i focolai suppurativi epatici erano multipli, fenomeno in verità più legato alle colangiti ascendenti. Nella casistica di Ochsner e coll. la mortalità aveva raggiunto in questi malati il 95% per l'evidente impossibilità di praticare una cura efficace di tipo chirurgico che allora era la cura di elezione in caso di ascesso epatico unico (incisione e drenaggio). Anche in quest'ultimo caso però gli indici di mortalità erano tutt'altro che trascurabili: il drenaggio transpleurico (seguito ovviamente da empiema pleurico) comportava il 66% di mortalità e quello transperitoneale il 72%; quando si cominciò a praticare il drenaggio per via extrapleurica la mortalità scese subito al 33%.

Uno dei temi più difficili e discussi della prima metà del Novecento fu quello della diagnosi e il problema dei mezzi per ottenerla. Ancora **nei primi anni '50** Richard **Shackelford**, della Johns Hopkins School of Medicine di New York, scriveva che secondo la sua esperienza *“si può generalmente sospettare la presenza di un ascesso intraepatico, ma mai esserne certi, e la sua esatta localizzazione può essere problematica”*. Infatti gli unici mezzi a disposizione erano allora la puntura esplorativa da tutti considerata molto pericolosa per il rischio di infettare le cavità sierose attraversate dall'ago e che comunque veniva eseguita solo in sala operatoria su paziente già preparato per la laparotomia lasciando l'ago infisso, una volta trovato il pus, come guida per orientare la via di drenaggio definitivo. L'altro mezzo diagnostico era la laparotomia esplorativa d'emblée. Quando questa permetteva di riconoscere i segni obiettivi della presenza di un ascesso intraepatico (tumefazione tesa e fluttuante oppure esito positivo della puntura esplorativa ad addome aperto) ci si limitava a zaffare con garza jodoformica la superficie epatica interessata dallo ascesso facendo poi fuoriuscire parte dello zaffo da una controincisione e si chiudeva la ferita laparotomica procrastinando l'apertura, lo svuotamento, il lavaggio della cavità residua e il suo drenaggio a quattro giorni dopo. Questo era il metodo dell'epatotomia in due tempi che aveva lo scopo di evitare una pericolosa contaminazione del peritoneo. Tuttavia molti chirurghi già allora, una volta individuata la sede della raccolta purulenta, preferivano drenarla subito previo svuotamento con un trequarti-aspiratore e cercando di battere una strada di accesso extrasierosa anteriore o posteriore a seconda della sede dell'ascesso. Quando il chirurgo si trovava obbligato a passare attraverso il peritoneo libero in tempo unico e in assenza di aderenze precostituite fra superficie epatica e parete addominale, i metodi usati erano tre: 1°- sutura dei bordi dell'epatotomia al peritoneo parietale dopo evacuazione completa del pus; 2°- sutura primaria della glissoniana al peritoneo parietale e successiva incisione e svuotamento del pus; 3°- quando si vedeva la possibilità di evacuare l'essudato purulento per via extrasierosa si chiudeva la ferita laparotomica senza toccare minimamente il fegato e poi si svuotava l'ascesso per via extrasierosa. L'epatotomia transtoracica veniva adottata raramente e solo per ascessi subfrenici identificati previamente dall'esame radiografico del torace che aveva visualizzato raccolte a sede alta e laterale; in questi casi con una modesta resezione costale e scollando la pleura parietale dalla gabbia toracica e dal diaframma si praticava la puntura esplorativa seguita da svuotamento. La via transpleurica veniva battuta solo quando esistevano fitte aderenze tra i due foglietti della pleura. Un altro metodo

consisteva, quando lo spazio pleurico era libero, nell'agire in due tempi provocando dapprima una sinechia pleurica e rimandando a un secondo tempo l'incisione dell'ascesso e il suo drenaggio.

Per gli ascessi subfrenici localizzati anteriormente fu usata con successo la via anteriore extrapleurica descritta da Clairmont e, per le localizzazioni posteriori, la via posteriore extrapleurica descritta da Nather e Ochsner.

Gli **ascessi amebici** colpiscono appena il 5% dei soggetti affetti da amebiasi perché la maggior parte delle amebe che raggiungono il fegato dalla via portale vengono poi eliminate con la bile. Quando però questi parassiti si indovano nel tessuto epatico possono formare uno o più ascessi. R.**Maingot**, che studiò negli **anni '40** l'ascesso amebico del fegato, trovò che esso è unico nel 70% dei casi e che gli ascessi multipli sono appunto solo il 30% di queste infezioni. L'ascesso unico risiede per l'85% dei casi nel lobo destro. Questi ascessi che risultano sterili in circa l'80% dei casi, possono complicarsi per sovrinfezione da piogeni.

Gli ascessi amebici furono studiati dai medici militari e di marina delle colonie inglesi e francesi in Asia e in Africa (Egitto, Indie, Indocina, Algeria, ecc). Per molto tempo questi ascessi furono osservati solo nei paesi tropicali tanto che la medicina ufficiale francese li chiamava "*abcès tropicaux du foie*"; ma negli anni Trenta e Quaranta cominciarono a verificarsi con sempre maggior frequenza anche in Francia e negli Stati Uniti.

Su 2490 casi raccolti dalla **letteratura precedente il 1943** da **Ochsner e de Bakey**, il 15,8% aveva cagionato complicazioni pleuropolmonari. Il quadro clinico iniziale dell'ascesso amebico coincideva con i sintomi dell'epatite amebica acuta (dolore, febbre ed epatomegalia dolorosa) ma su questo non ci soffermeremo. Ricorderemo solo che dopo questa fase iniziale la malattia procedeva con il periodo di stato o della trasformazione purulenta caratterizzato da dolore epatico vivo, insopportabile e da rapido decadimento delle condizioni generali. Una volta accertata la diagnosi con la prova della deviazione del complemento (C.Craig, 1933) e con la puntura esplorativa, il trattamento iniziale era medico **nei primi decenni del secolo** con emetina cloridrato iniettata per via sottocutanea; in seguito fu usata la cloroquina alla quale negli anni '50 venne aggiunta l'aureomicina. La puntura esplorativa dell'ascesso e il suo drenaggio venivano effettuati dopo trascorsi i primi tre giorni di cura medica.

Negli **anni '30 e '40** vi furono discussioni sul modo di drenare gli ascessi amebici. Ochsner e De Bakey trovarono che su 4035 casi il drenaggio aperto fu seguito dal 47,2% di mortalità mentre questa percentuale si riduceva al 6,9% nei drenaggi chiusi con terapia medica associata.

Il clinico chirurgo dell'Università del Maryland, Hull, forte di una vasta esperienza di questa patologia fatta in India nel corso della II Guerra Mondiale, sosteneva che la mortalità da ascesso amebico del fegato era sempre dovuta all'infezione secondaria della cavità ascessuale. Il metodo di cura messo a punto da **Hull** consisteva nell'infiggere nell'ascesso già localizzato dalla puntura esplorativa il tre quarti provvisto al suo interno di una cannula metallica, nello sfilare il tre quarti si lasciava in sito la cannula dalla quale si svuotava il pus, quindi attraverso la cannula rigida si infilava un catetere di gomma calibro 14 F provvisto di apice fenestrato. Il successivo collegamento del catetere ad un tubo a T a sua volta collegato da un lato ad un sistema ad acqua e dall'altro a un flacone contenente soluzione salina sterile completava l'operazione. I lavaggi giornalieri della cavità ascessuale residua con iniezione finale di 100.000 unità di penicillina formavano lo schema di cura topica finale. Una volta la settimana Hull controllava lo stato di riempimento della cavità residua mediante esame radiografico con mezzo di contrasto. Hull affermò che in questo modo aveva osservato una netta riduzione della durata della malattia e non aveva lamentato nessun decesso.

Nel 1960 J.Sherman e S.Robbins pubblicarono sulla rivista “Am. J. Med.” un articolo intitolato “*Changing trends in the casuistics of hepatic abscesses*” nel quale facevano notare che, contrariamente a quanto avvenuto in passato, non erano più le pileflebiti da appendiciti suppurate o gangrenose a causare gli ascessi da piogeni nel fegato bensì la malattia litiasica delle vie biliari. Il quadro clinico, le difficoltà diagnostiche, l’assoluta necessità di evitare inquinamenti del cavo peritoneale e di quello pleurico e, infine, il metodo del drenaggio in due tempi propugnato da Ochsner (vedi sopra) erano nel 1960 gli stessi di venti anni prima, con l’unica importante differenza consistente nella disponibilità di penicilina, streptomina e di altri potenti antibiotici (tetracicline e oleandomicina) ai quali era in buona sostanza dovuta la netta riduzione della mortalità.

Nel 1977 Michael DeBakey e George Jordan, del Baylor College of Medicine di Houston, scrivevano che “...l’*ascesso piogenico del fegato è una malattia relativamente rara ed è sempre stato così, anche se in passato fu visto spesso come complicanza di appendicite con pileflebite; oggi invece anche in presenza di un’appendicite perforata l’ascesso del fegato è una rarità*”. Tanto è vero che ben il 50% degli ascessi venivano definiti negli anni ’70 “criptogenetici” essendone sconosciuta la causa. Agenti morbosi, distribuzione delle lesioni, tempi diagnostici (entro pochi giorni o anche dopo due settimane), quadro clinico, reperto anatomopatologico non mostravano alcuna differenza rispetto a quanto descritto da Ochsner e coll. negli anni ’30. Le novità importanti furono i segni diagnostici indiretti dati dalla radiografia e radioscopia del torace (emidiaframma sollevato e ipomobile, livello idroaereo, piccolo versamento pleurico), dalla scintigrafia epatica (“area fredda” nel contesto epatico) e soprattutto dall’ecografia con la sua facile distinzione fra zone solide e liquide. Dunque in questo periodo DeBakey e Jordan segnalavano un notevole miglioramento delle possibilità diagnostiche. Quanto alla terapia la soluzione universalmente adottata allora era per l’ascesso unico l’apertura e il drenaggio sotto protezione antibiotica ripetutamente controllata con esami batteriologici e colture. Negli ultimi 10 anni questi AA avevano lamentato un solo decesso in un caso la cui diagnosi fu fatta solo sul tavolo autoptico. In genere il recupero dei pazienti fu strettamente collegato alla rapidità della diagnosi e dell’inizio della terapia antibiotica.

Nel caso degli **ascessi amebici** DeBakey e Jordan che, per la posizione geografica di Houston, avevano fatto notevole esperienza con malattie tipiche degli immigrati messicani, notarono che il trattamento era molto cambiato nel corso degli ultimi anni. Essi davano la preferenza all’aspirazione con ago, anche ripetuta se necessario, riservando il drenaggio aperto transperitoneale ai casi con sovrinfezione da piogeni e naturalmente agli ascessi che si erano rotti spandendo il loro contenuto in peritoneo o nel cavo pleurico. Per quanto riguardava invece i farmaci antiamebici DeBakey e Jordan citavano il fatto che c’era stata nel 1965 la pubblicazione di un lavoro di S.J.Powell sul confronto dei risultati della cura con diidroemetina, idrocloruro di emetina e cloroquina e nel 1969 di un altro lavoro dello stesso autore sulla terapia con solo metronidazolo (Flagyl) a basso dosaggio. Nel 1975 H.Cohen e T.Reynolds avevano pubblicato il confronto della terapia con Flagyl con quella a base di cloroquina: a differenza di quest’ultima il Flagyl aveva dato effetti collaterali minimi e meno del 5% di mancata risposta terapeutica.

Nel 1989 Charles Frey e coll. della California University denunciarono una prevalenza negli USA di ascessi piogenici su quelli amebici e una più alta mortalità nei primi. Tuttavia nel loro insieme i due tipi di ascessi epatici non superavano negli USA i 10 casi su 100.000 spedalizzazioni. La mortalità data dai piogenici pubblicata nel 1978 da B.Satiani e quella pubblicata nel 1980 da W.Verenden e coll. si aggirava ancora sull’80% ma l’avvento dei nuovi mezzi diagnostici (vedi sopra), consentendo un maggior numero di diagnosi precoci, aveva ridotto gli indici di mortalità dell’11-20% (B.Miedema e P.Dineen 1984; G. Bertel e coll. 1986; E.Gyorffy e coll. 1987). L’incidenza di forme criptogenetiche era scesa dal 50% del 1977 al 15% del 1984. La tabella pubblicata da Frey e coll. nel 1989 attribuiva il

30-35% degli ascessi piogenici alla litiasi delle vie biliari, valori di poco inferiori al 30% a insembramento di batteri piogeni tramite la vena porta (da diverticoliti, morbo di Crohn, colite ulcerosa, peritonite da perforazione intestinale) con esclusione dell'appendicite acuta, e un 15% a testa a propagazione per contiguità (empiema della cistifellea, ascesso subfrenico), ad origine ematogena (setticemie) e, come già detto, a cause ignote. L'ecografia nel **1989** aveva conquistato il primo posto tra gli esami diagnostici e, fra questi, dominava anche la precoce puntura esplorativa con esami batteriologici estemporanei. Nel campo terapeutico la fine degli anni '80 vedeva ormai stabilito il dominio del metronidazolo (Flagyl) negli ascessi amebici e del drenaggio percutaneo sotto TAC o ecografia inserendo a dimora un catetere a coda di porco numero 8 o 11 French, catetere che non veniva rimosso prima di aver ottenuto il completo collasso stabile delle pareti dell'ascesso. La durata media di permanenza in situ del catetere collegato ad un sistema, sterile e chiuso, di raccolta oscillava fra gli 11 e i 19 giorni con un range compreso fra 5 e 40 giorni. Frey e coll. collocavano questo tipo di cura ancora nella "età infantile" perché tre anni prima (1986) B. Attar e coll. che avevano fatto una revisione internazionale di tutti i casi trattati in questo modo, avevano raccolto solo 135 casi in tutto. Nel 10-30% dei pazienti trattati con il drenaggio percutaneo sotto visione ecografica o TAC fu necessario ritornare in un secondo tempo alla cura chirurgica classica ad addome aperto. Il trattamento chirurgico preferito da Frey e coll. e dalla maggior parte dei chirurghi del suo periodo (fine anni '80) era ancora quello laparotomico con ricerca preliminare della eventuale sorgente dell'infezione epatica (appendicite, diverticolite, morbo di Crohn, ecc.) seguita da ricerca visiva e manuale della sede dell'ascesso per individuare il punto migliore per drenarlo e, nel caso di ascesso profondo all'interno del lobo destro, da una ricerca con ago sottile da rachicentesi. Una volta trovata la raccolta seguivano l'apertura della superficie epatica con elettrobisturi o termocauterio, la frantumazione digitale del tessuto epatico, l'allargamento digitale dell'apertura dell'ascesso e la rottura di eventuali sepiamenti. Lo svuotamento e il drenaggio con catetere a triplo lume di Davol o con un Penrose da far fuoriuscire in ascellare media sotto la XII costa erano gli ultimi tempi dell'operazione. Per gli ascessi multipli da colangite purulenta la cura indicata da Frey era quella del drenaggio del coledoco con tubo a T associandovi la cura antibiotica per via generale e locale. Per le infezioni micro e macroepatiche da funghi la cura era affidata all'Amfotericina B.

Nel 1995 Sanjiv Chopra, dopo aver sottolineato la fondamentale utilità diagnostica della scintigrafia, dell'ecografia e dell'angiografia selettiva, affermava che *"attualmente la terapia degli ascessi epatici da piogeni è cambiata rispetto al passato, quando il drenaggio chirurgico sotto copertura antibiotica rappresentava la terapia d'elezione. Anche se oltre il 60% dei pazienti viene trattato con successo con l'antibiototerapia sembra prudente istituire qualche forma di drenaggio quando le condizioni lo permettono. Il drenaggio percutaneo con catetere collocato sotto guida ecografica o TAC è oggi preferito alla cura chirurgica per la sua efficacia e bassa morbilità"*. Chopra confermava poi dati e valutazioni già fatte in passato da altri AA e facenti ormai parte stabile del quadro clinico e della prognosi a seconda dell'età del singolo paziente e della gravità dell'infezione primitiva che aveva dato origine all'ascesso.

Cisti Idatidea del Fegato

La prima trattazione moderna di carattere chirurgico delle cisti idatidee del fegato è del **1906** e porta la firma del chirurgo francese F.**Devé** (*Compt.Rend.Soc.biol.* 9 Janvier 1906) . In quel periodo i metodi utilizzati erano la puntura seguita da iniezioni parassiticide, la marsupializzazione e l'incisione seguita da sutura senza drenaggio. La puntura a sua volta veniva fatta con il metodo Debove (svuotamento più completo possibile seguito da iniezione di liquido di van Swieten che veniva estratto dopo 10', puntura con il metodo di

Hanot che a differenza del metodo precedente lasciava nella cisti da 15 a 40 gr. di liquido di van Swieten, puntura con il metodo di Baccelli che svuotava solo 10 gr. di liquido cistico sostituendoli con altrettanti di sublimato corrosivo all'1-5%). Molti AA consideravano questi metodi pericolosi (intossicazione iperacuta idatica talvolta mortale, colerragia endocistica, innesto echinococcico nel tragitto dell'agopuntura).

La marsupializzazione ideata da Récamier, fu eseguita per la prima volta nel **1830** da Begin e ripresa da Volkmann nel **1877**. Questi chirurghi facevano l'operazione in due tempi; furono Lindemann e Landau ad eseguirla per primi in tempo unico. Queste marsupializzazioni venivano obbligatoriamente eseguite attraverso la strada più breve e più vicina alla cisti: via addominale anteriore con l'aggiunta, se necessario, di resezione del margine cartilagineo inferiore del torace (Lannelongue e Canniot); via toracica transpleurica e transdiaframmatica (Israel) o parapleurica-transdiaframmatica (Straud e Tartavez); via lombare (Rochard e Schwartz).

L'incisione della cisti seguita da sutura senza drenaggio fu ideata da Thornton **Bond** ma fu nota come **operazione di Bobrow** ed era nel **periodo 1905-1910** l'operazione più eseguita dai chirurghi europei. I risultati sperimentali di **Devé** indussero però a provare il suo metodo che, dopo svuotamento e formolizzazione della cisti, prevedeva l'asportazione della membrana fertile, delle vescicole figlie e di tutti i frammenti idatidei, la sutura dei margini della sacca residua e la loro fissazione alla parete addominale in modo che l'incisione della cisti rimanesse a contatto con la ferita laparotomica. A questo fece riferimento nella sua esauriente trattazione il chirurgo australiano H.R.**Dew** nel **1928** (*Hydatid disease – Austral.Med.Publ.Co.* 1928). Sec. questo A l'incisione utilizzata per aggredire la cisti attraverso la via più breve veniva scelta in base alla localizzazione della cisti, ottenuta ove possibile con gli esami radiologici e clinici. Anche se si era costretti ad accedere alla superficie posteriore del fegato passando per via sottoperiosteale parallelamente e al di sopra dell'undicesima o dodicesima costa di destra, il sacco pleurico veniva accuratamente scollato e spostato verso l'alto evitando assolutamente di aprirlo. La localizzazione intraoperatoria della cisti veniva fatta con agopunture, spesso multiple, e inclinando l'ago in varie direzioni, previo isolamento della sede di infissione dell'ago con una doppia serie di pezze laparotomiche. La puntura evacuativa era fatta con un grosso ago montato su una siringa priva di stantuffo e dalla quale il liquido veniva fatto colare in una bacinella. Fu anche usato un raccordo a due vie che permetteva alternativamente di aspirare e iniettare liquido disinfettante senza rimuovere l'ago. Dew usava formalina all'1,5%, lasciava la soluzione di formalina dentro la cisti per 4 minuti. Durante questo periodo venivano applicate due suture di ancoraggio al connettivo fibroso che circondava la cisti facendole tenere in trazione dall'assistente. Tolto l'ago lo strato connettivo veniva inciso e si evacuava il contenuto della cisti con l'aspiratore. Con lo stesso aspiratore o anche eventualmente con un cucchiaino tagliente l'operatore asportava l'intera membrana lamellare e lo strato germinativo della cisti madre e delle cisti figlie. A questo punto, una volta controllate eventuali perdite ematiche o biliari, il cavo residuo di natura fibrosa che circondava la cisti veniva ripulito con garze asciutte e infine disinfettato con formalina. Il trattamento della cavità residua variava a seconda delle condizioni locali. Nelle cisti semplici non infette e con avventizia regolare senza perdite biliari Dew negli **anni '40** obliterava la cavità con punti staccati di sutura dopo aver lavato il cavo con soluzione fisiologica addizionata di penicillina. Dato il pericolo che una cavità così trattata andasse incontro a raccolte ematiche e/o biliari, Dew non applicava questo metodo nelle seguenti condizioni: quando per eccessive dimensioni della cisti non era possibile, quando c'era una abbondante presenza di bile, quando la cisti era infetta, pluriloculata o calcificata. In tutti questi casi i fili di sutura dell'avventizia della cisti venivano legati alla ferita laparotomica marsupializzando la sacca con inserimento di zaffi di garza e di un tubo di drenaggio.

Dew era contrario alla marsupializzazione sistematica sostenuta da altri AA perché, sec. lui, essa presentava lo svantaggio di un periodo di convalescenza molto lungo e, per tale motivo, preferiva l'applicazione di un semplice drenaggio tubulare fenestrato e fissato con punti di sutura al connettivo fibroso dell'avventizia della cisti e fatto fuoriuscire all'esterno così da assicurare il drenaggio più facile, eventualmente attraverso una incisione a parte. Barnett **nel 1913** consigliava di drenare tutte le **cisti calcaree** operate mentre Dew preferiva chiuderle senza drenaggi ma le operava solo se erano causa di un quadro clinico grave, altrimenti preferiva non trattarle chirurgicamente. I dati pubblicati da Dew davano un 20% di mortalità nelle **cisti complicate** (suppurazione, rottura in cavo pleurico, in peritoneo, nell'albero biliare, nel tubo digerente, ascessi subfrenici, forti perdite biliari) e valori trascurabili di mortalità nelle cisti non complicate. Il test di fissazione del complemento era considerato negli anni '30 il metodo più attendibile per controllare nel postoperatorio e a distanza di tempo la radicalità o l'insufficienza della cura chirurgica (possibilità di recidive).

Nel **1947** Alain **Mouchet** scriveva nel trattato di patologia chirurgica di J.Patel che i principi ai quali doveva ispirarsi la cura delle cisti idatidee erano : 1°- attraversare il minimo parenchima epatico possibile per raggiungere la cisti; 2°- prendere la strada più diretta dopo aver localizzato esattamente la cisti; 3°- non cercare di estirparla perché non esiste un piano di clivaggio con il fegato.

I due metodi da lui descritti erano l'estirpazione con elettrobisturi giustificata solo quando si trattava di una cisti pedunculata e si poteva tagliare senza particolari rischi una sottile fetta di tessuto epatico oppure in presenza di una cisti exteriorizzata sul bordo anteriore del fegato dove era facile resecare un cuneo di tessuto epatico periferico. Mouchet giudicava l'estirpazione *"in effetti impossibile o almeno difficilissima"* e tutti i tentativi, secondo lui, finivano sempre per ledere il parenchima epatico provocando emorragie pericolose e coleragie. Come si vede l'esperienza della scuola francese cui afferivano i numerosi malati di echinococchi epatica e polmonare dalle colonie francesi del Nord Africa era diametralmente opposta a quella ben più vecchia di Dew. Il secondo metodo, quello molto più usato, era la cistotomia con marsupializzazione (che era anche il metodo più antico) oppure la cistotomia con riduzione della sacca residua senza drenaggio e chiudendo la cisti dopo svuotamento. Ma quest'ultimo metodo per Mouchet *"espone al pericolo di ematomi nella sacca residua che possono infettarsi e sembra dunque sia meglio fissare la sacca alla parete per poterla eventualmente pungere di nuovo o marsupializzare come suggerito da Llobet-Varsi"*. Mouchet riportava una mortalità media tra il 30 e il 40% nelle forme complicate e, al di fuori delle recidive, scriveva che l'avvenire degli operati sembrava essere incerto perché nella maggior parte dei casi persisteva un deficit epatico che poteva continuare dopo l'operazione.

L'**echinococchi alveolare del fegato** descritta per la prima volta **nel 1852** da **Bühl** fu ritenuta fino al 1912 una forma speciale di echinococchi del fegato dotata di una natura diversa da quella della forma cistica (Posselt). Dévé, che era dello stesso parere, dopo il 1912 affermò invece che si trattava sempre della medesima tenia della forma idatidea che in particolari condizioni climatiche, fisiologiche e patologiche si esprimeva con la forma alveolare. **Fino agli anni '50** la forma alveolare era stata trovata soltanto in Tirolo, nella Baviera meridionale, nel Württemberg e nel nord della Svizzera per quanto riguarda l'Europa, ma era stata segnalata anche in Australia, Argentina e Uruguay. L'aspetto anatomopatologico era quello di una tumefazione simil-neoplastica dura fibroso-colloide che infiltrava il parenchima epatico il quale non offriva alcuna reazione difensiva sul tipo di quella opposta alla cisti idatidea. L'esame alla lente di ingrandimento rivelava un aspetto spugnoso dato da innumerevoli piccolissime cavità a contenuto jalino. L'esame microscopico dimostrò trattarsi di un conglomerato di cisti microscopiche che contenevano il parassita. Linfatici e vasi venosi potevano essere invasi come in un qualsiasi tumore

maligno. L'evoluzione si compendia in un duplice processo di espansione alla periferia e di necrosi al centro. I sintomi erano l'epatomegalia con forma mantenuta e aumento di consistenza, la splenomegalia e l'ittero cronico. Fu descritta però anche una forma anitterica con ascite e edema degli arti inferiori. L'evoluzione clinica era sempre lenta e fatale. Nel primo ventennio del Novecento **Gosset** scriveva che *“la sola operazione logica è l'epatectomia parziale, quando lo pseudoneoplasma non è troppo esteso. Questo intervento fu eseguito già in un certo numero di casi (Brunner, Bruns, Krause). Bruns, la cui osservazione è molto illustrativa, ottenne la guarigione del suo malato”*. Nel 1947 era noto un unico caso in letteratura operato di epatectomia parziale e sopravvissuto per due anni. La situazione era sempre quella di un intervento chirurgico troppo tardivo; l'unico intervento palliativo efficace si dimostrò il drenaggio delle raccolte purulente al centro della massa alveolare infiltrante.

Nel 1963 Harry W. Southwick, clinico chirurgo dell'Università dell'Illinois, confermò l'indispensabilità diagnostica della intradermoreazione di Casoni e del test di fissazione del complemento sec. Weinberg, e scriveva che *“a meno che siano inaccessibili, le cisti d'echinococco vanno rimosse”* facendo la massima attenzione a non romperle perché erano stati descritti casi di sensibilizzazione seguiti da grave reazione anafilattica in reinterventi per recidiva della malattia. Per questo motivo l'eventuale rottura – oltre a tutte le complicanze ad essa legate – doveva essere segnalata prima di un reintervento e quest'ultimo doveva essere condotto sotto copertura cortisonica. Il trattamento chirurgico delle cisti idatidee del fegato era quello di estirpazione già dettato da Dew con l'unica differenza che l'iniezione di formalina al 4% veniva talvolta sostituita da iniezione endocistica di tintura di jodio.

Nel 1989 Jeffrey **Doty** e Ronald **Tompkins**, dell'UCLA Medical Center di Los Angeles, facevano la distinzione prognostica fra le cisti da *Echinococcus multilocularis* responsabile del 5% di tutte le cisti idatidee provviste di forte aggressività nei riguardi del fegato e comportante molto maggiori difficoltà terapeutiche e quelle da *Echinococcus granulosus* la cui terapia chirurgica *“è sicura ed efficace”*. Questi AA ponevano in rilievo il vago dolore addominale accompagnato da epatomegalia apprezzabile all'esame clinico quali primi segni tipici della malattia perché positivi in oltre l'80% dei casi e ritenevano determinanti ai fini diagnostici e terapeutici la TAC e l'ecografia. Dopo aver ricordato gli scarsi successi ottenuti con la cura medica a base di antielmintici come mebendazolo e albendazolo pubblicati nel 1984 da W. Kammerer e coll. e, nello stesso anno, da H. Most in America, Doty e Tompkins affermavano che l'unica terapia sicura era quella chirurgica la cui esecuzione non differiva affatto da quella ormai classica in uso da molti decenni con l'unica variante che consisteva nella sostituzione della formalina con la soluzione salina ipertonica al 30%.

Nel 1995 Sanjiv **Chopra**, della Harvard Medical School, scriveva che *“in passato la chirurgia rappresentava la terapia di scelta con una mortalità inferiore al 5%; ora invece le piccole cisti vengono enucleate mentre quelle di dimensioni maggiori vengono estratte attraverso un dispositivo conico criogenico; l'enucleazione è seguita da instillazione di nitrato d'argento e di soluzione ipertonica nello spazio residuo esocistico. Recentemente è stata proposta l'aspirazione seguita da irrigazione con alcool etilico al 95% per via percutanea sotto guida ecografica. I risultati iniziali sono stati incoraggianti...trattasi dunque della cura ideale nei pazienti che rifiutano o nei quali è controindicata la cura chirurgica”*.

Trapianti di Fegato

Nel 1989 Roger L. Jenkins e Ralph B. Fairchild della Harvard Medical School scrivevano che *“il trapianto di fegato sta rapidamente diventando il metodo terapeutico più efficace per un numero crescente di malattie epatiche acute e croniche”* anche se questo tema era

ancora sottoposto a continue revisioni e alla comunicazione di sempre nuove esperienze man mano che aumentava il numero dei centri di trapianti.

Storicamente il trapianto di fegato è nato dalle ricerche biologiche e chirurgiche sperimentali condotte sui cani da Thomas **Starzl** e da Francis **Moore** nel corso degli **ultimi anni '50 e primi anni '60**. E' storicamente importante la pubblicazione del **1960** di Starzl e collaboratori dal titolo "*Problemi di ricostruzione dell'omotrapianto nei cani con particolare riguardo al ruolo postoperatorio del flusso venoso epatico*". Una volta perfezionata la tecnica operatoria del trapianto ortotopico nei cani, **Starzl** eseguì il primo trapianto di fegato nell'uomo **nel 1963**. I risultati ottenuti nelle prime serie di pazienti non furono incoraggianti a causa dell'altissima mortalità intra- e postoperatoria e solo nel 1967 un bambino operato per una neoplasia maligna del fegato sopravvisse al trapianto per 400 giorni.

A Cambridge l'équipe di R.Y.**Calne** effettuò a sua volta il suo primo trapianto di fegato nel **1968** e continuò con ferma determinazione su questa strada fino ad aver eseguito 93 trapianti all'inizio degli anni Ottanta.

In Europa i primi trapianti di fegato furono effettuati nel corso degli anni Settanta, dapprima in modo sporadico, con le stesse tecniche operatorie usate dalle due scuole americane di Starzl a Pittsburgh e di Calne a Cambridge ottenendo risultati sovrapponibili a quelli.

La protezione contro il rigetto fu affidata dalle due équipes americane all'Azathioprina e ai corticosteroidi con risultati che furono considerati insoddisfacenti fino al **1979**, allorché decisero ambedue di sostituire l'Azathioprina con la **Ciclosporina A**. Questa decisione incise radicalmente sui risultati a distanza. Infatti Starzl poté su 67 operati del periodo 1980-1982 una sopravvivenza a 30 mesi pari al 57% mentre nel 1980 la sopravvivenza dei suoi 330 operati prima di allora non aveva superato il 28% e pure Calne poté contare su un analogo miglioramento della sopravvivenza.

La tecnica operatoria che si impose universalmente fu quella di Starzl che contemplava, una volta eseguita l'epatectomia del ricevente, come primo atto di rivascularizzazione del fegato da trapiantare, l'esecuzione della anastomosi dell'arteria epatica del ricevente con quella del trapianto, seguita dal declampaggio di vena porta, vena cava inferiore sopra- e sotto epatica. Ultimo atto ricostruttivo era quello delle vie biliari, cosa che poteva essere effettuata con modalità diverse anche se il metodo più usato è stata la epaticodigiunostomia sec. Starzl.

Negli **anni Ottanta** il trapianto di fegato ebbe un *boom* dovuto a molti motivi, primo fra tutti l'introduzione della Ciclosporina (Cs A) che era diventato il principale immunosoppressore (R.Y.Calne e coll. 1979; T.E.Starzl e coll. 1980-81). Nelle due maggiori casistiche, quella di Pittsburgh e quella di Cambridge, il rigetto iperacuto e acuto si verificò con una percentuale nettamente inferiore a quella dei trapianti di rene perché venne appurato che le cellule epatiche hanno un numero minore di antigeni di superficie e sono meno sensibili all'azione dei linfociti allogenici rispetto alle cellule renali. Alla fine degli anni Ottanta i **ritrapianti** eseguiti per mancata funzionalità o necrosi del trapianto avevano dato complessivamente un 60% di sopravvivenza a 12 mesi per i bambini e un 45% per gli adulti (Jenkins in *Surg,Clin.North Am.*1989).

R. Cortesini – che effettuò a Roma con successo il primo trapianto di fegato della chirurgia italiana – nel 1983 dichiarò, in considerazione del 70% di sopravvivenza a distanza di 1 anno nelle casistiche americane, che negli anni Ottanta del Novecento l'intervento chirurgico dei trapianti del fegato poteva essere ritenuto codificato in via definitiva.

Il radicale miglioramento delle percentuali di sopravvivenza, oltre che alla Ciclosporina A, fu dovuto anche a diversi altri fattori tra i quali la migliore qualità degli organi espianati, la standardizzazione della tecnica operatoria con l'adozione delle suture

microchirurgiche, i miglioramenti apportati ai criteri di selezione dei pazienti, dell'anestesia, dell'assistenza infermieristica e – a cominciare dagli ultimi anni Ottanta – alla conservazione del fegato prelevato con la perfusione ipotermica della vena porta e dell'arteria epatica dell'espianto con una soluzione fredda seguita da conservazione in una soluzione salina alla temperatura di 4°C. Fu quest'ultimo accorgimento che prolungò la vitalità del fegato espantato da 8 a 24 ore. L'adozione delle suture microchirurgiche per le anastomosi vascolari e biliari eliminò il pericolo di morte precoce nel postoperatorio per necrosi da trombosi vascolare e per ostruzione dello scarico biliare a causa dello *sludging* della bile la cui prevenzione fu ottenuta con la perfusione continua dell'albero biliare intra- ed extraepatico durante il periodo di conservazione dell'espianto.

Negli anni Ottanta e Novanta furono anche effettuati trapianti di due metà di fegato in due riceventi. Nel mese di Dicembre 1993 la lista di attesa per i trapianti di fegato tenuta dall'United Network for Organ Sharing (UNOS) era di 3000 candidati. La mancanza di un numero adeguato di donatori fu responsabile della morte del 24,3% dei candidati a trapianto dell'anno 1990 come fu calcolato da J.W.Alexander e W.K.Vaughn nella loro pubblicazione del 1991 sui cosiddetti “**donatori marginali**”. Furono i donatori marginali a spingere alcuni chirurghi specializzati in trapiantistica alla decisione – di fronte alla sproporzione tra numero dei potenziali donatori e quello dei candidati al trapianto – ad allargare il *pool* dei donatori liberalizzando i criteri di scelta dei donatori stessi. Così W.J.Wall e coll. pubblicarono nel **1990** la loro esperienza con il ricorso a donatori anziani analogamente a quanto aveva fatto già l'anno precedente J.W.Alexander.

Un problema molto discusso e ancora non risolto alla fine del Novecento fu invece quello dei donatori con anticorpi positivi per l'epatite che non presentavano segni clinici e istologici di epatite in atto; in alcuni di questi casi ci furono chirurghi che accettarono l'organo donato per il trapianto.

A metà anni '90 la sopravvivenza media dei trapianti di fegato ad un anno toccava il 75%, quella a 5 anni il 70% circa. I due fattori che dimostrarono di esercitare il maggior influsso sulle percentuali di sopravvivenza furono anzitutto la natura della malattia epatica che aveva richiesto il trapianto e, secondo fattore, ma non meno importante del primo, le condizioni generali del paziente: mentre le malattie colestatiche croniche dell'adulto e le malattie epatiche metaboliche del bambino davano una sopravvivenza di oltre il 90% ad un anno (A.Friend e coll. su 400 trapianti – 1983) le percentuali più basse di sopravvivenza erano quelle dei trapianti effettuati su malati di epatite cronica B e di cancro del fegato.

Nel 1989 Roger L. **Jenkins** dell'équipe di trapianti di fegato di Boston scrisse che nella graduatoria delle indicazioni al trapianto dopo il primo posto, riservato alla cirrosi biliare primitiva, e dopo il secondo posto, assegnato all'epatite cronica attiva, veniva la colangite sclerosante seguita dalla necrosi epatica fulminante o subfulminante.

Alla fine del Novecento, tenuto conto della sopravvivenza a lungo termine che si aggirava sull'80%, Michael F.Sorrell e Jeremich P.Donovan dell'Università del Nebraska, affermarono che “*come criterio generale, tutti i pazienti con epatopatia in stadio finale e con prognosi quoad vitam di un anno o meno sono potenziali candidati al trapianto di fegato*”. Alle indicazioni di trapianto negli adulti sopracitate questi AA aggiungevano l'epatite fulminante, la sindrome di Budd-Chiari, la cirrosi biliare primitiva e quella postnecrotica e concludevano che: “... *i clinici oggi sono obbligati a considerare il trapianto di fegato come una possibilità terapeutica in tutti i casi di epatopatia evolutiva non trattabile con altra cura medica*).

Nei primi 5 anni del XXI secolo si acuì ulteriormente in tutto il mondo l'aumento del numero dei candidati al trapianto e il 6,78% di essi morì nell'attesa, il cui tempo medio aveva raggiunto i 550 giorni. Questa situazione era stata avvertita fin dagli anni Ottanta del secolo precedente come un fenomeno particolarmente doloroso nel caso dei **bambini più piccoli** per i quali – soprattutto negli USA - venne fatto ogni sforzo onde ridurre al

massimo il tempo d'attesa. Fu in questo ordine di cose che nel 1984 H. **Bismuth** e D. **Hounin** inaugurarono (e nel 1988 C.E. Broelsch e coll. e nel 1990 J.B. Otte e coll. perfezionarono) la tecnica del cosiddetto *reduced-size liver transplant* (RSLT: trapianto di fegato di dimensioni ridotte), modifica che ebbe rapida diffusione in tutto il mondo ma anzitutto negli USA (scuola di Chicago) e in Giappone (N. Nagasue e coll. 1991; K. Tanaka e coll. 1993)

In 23 paesi dai registri dei trapianti di fegato furono presi in esame per il periodo 1988-2003 migliaia di trapianti. In Italia i centri autorizzati per questo tipo di trapianti erano diventati 22 nel corso dei primi 10 anni del XX secolo e solo nell'anno 2001 i prelievi da donatore vivente erano stati 32 mentre nel 1999 i prelievi da donatore "a cuore battente" erano stati nel mondo 685 e nell'anno 2000 settecentoventotto. Il massimo numero di questo tipo di trapianto fu raggiunto nell'anno 2004 e dopo di allora continuò a calare fino al 2010.

CHIRURGIA delle VIE BILIARI

Le malattie delle vie biliari che hanno interessato direttamente l'attività dei chirurghi fin dal secolo XIX sono state la calcolosi e le sue conseguenze intrattabili con le cure mediche, i tumori, le malformazioni congenite, le infezioni che non rispondevano alle cure internistiche.

In ordine decrescente i diversi settori e livelli dell'albero biliare sono stati quantitativamente oggetto di cura chirurgica in questa scala: 1°- cistifellea 2°- epatocolodoco 3°- sfintere di Oddi 4°- canali biliari intraepatici. Il secolo XX ha fornito un apporto immenso di tecniche operatorie nuove e di letteratura e la trattazione che seguirà verrà svolta nel modo più completo possibile anche se con le limitazioni dovute all'esigenza di osservare l'ordine cronologico.

Chirurgia della Cistifellea

Le indicazioni alla cura chirurgica si identificarono con le colecistiti acute e croniche, con i tumori benigni e maligni e le operazioni fondamentali furono la colecistectomia (asportazione della cistifellea nelle sue diverse modalità), la colecistostomia (drenaggio del suo contenuto all'esterno attraverso un'apertura praticata sul suo fondo), la colecistoenterostomia (drenaggio del contenuto colecistico nell'intestino con varie modalità anastomotiche), la colecistogastrostomia (drenaggio nel lume gastrico). La colecistotomia (operazione di Meredith) consistente nell'aprire il fondo della cistifellea, estrarne i calcoli e suturare la parete colecistica, intervento esposto ad alta percentuale di recidive della litiasi, non trovò più esecutori già nei primi anni del secolo.

La **colecistectomia** diventò negli USA, e particolarmente nel New England, il trattamento di prima scelta già negli **anni '10 e '20** del XX secolo per i pazienti affetti da coliche biliari recidivanti da litiasi biliare della fellea accompagnate da subittero o da ittero franco oppure da febbre di tipo suppurativo. In Europa questa operazione di tipo radicale stentò ad affermarsi al posto delle cure mediche: persino celebri chirurghi come il francese Chauffard e l'inglese Moynihan continuarono a curare le persone affette da litiasi biliare con una dieta speciale priva di cibi ricchi di colesterolo (uova, cibi fritti, paté de foie gras, rognoni, carni di maiale, caviale, burro, formaggi forti, ecc.) basandosi sull'osservazione clinica che nella maggior parte di questi malati esisteva una colesterolemia più elevata della norma. Lo stesso Kehr era restio ad intervenire quando la colica epatica era cessata e il paziente era ritornato asintomatico. Frank H. **Lahey**, primario chirurgo del New England Deaconess Hospital di Boston, scriveva invece nel **1926** che "*dopo aver attentamente esaminato tutta la letteratura sull'argomento del colesterolo e dopo aver controllato il sangue di alcuni pazienti nel laboratorio del nostro ospedale pensiamo che la*

determinazione della colesterolemia con il metodo colorimetrico dà risultati troppo variabili e il suo rapporto con la presenza della litiasi biliare è così incerto da non consentire di dare valore diagnostico a questo esame di laboratorio”. L’orientamento terapeutico di Lahey era chiarissimo come risulta dalle seguenti affermazioni: *“difficilmente qualcuno in questo paese solleverebbe il problema della cura medica della colelitiasi anche se attualmente alcuni discutono sul metodo di cura della colecistite con l’introduzione di solfato di Mg in duodeno suggerito da Meltzer e Lyons per far rilassare lo sfintere di Oddi. Il trattamento delle malattie biliari con i farmaci è a nostro parere privo di ogni valore. L’unica cura medica possibile è il riposo e l’attesa di una risoluzione spontanea dei fatti infiammatori o il transito dei calcoli ostruenti, ma, siccome nessun tipo di calcolo biliare è innocuo, nemmeno quelli di colesterina, noi riteniamo che la cura della colelitiasi è solo e interamente chirurgica”*. Lahey poi ricordava che molti degli insuccessi della chirurgia delle vie biliari erano dovuti all’aver “dimenticato” nel lume dell’epatocolodoco dei calcoli e affermava che nessuna colecistectomia era completa senza una larga esposizione dell’epatocolodoco e *“senza incisione ed esplorazione di queste strutture se dilatate e sospette di albergare calcoli o infezione”*. Lahey raccomandava anche di esplorare la parte retroduodenale del coledoco mobilizzando ampiamente la seconda porzione del duodeno. Per quanto riguarda la mortalità operatoria sottolineava il pericolo rappresentato dai casi di insufficienza epatica per ittero cronico e alterazione della capacità di coagulazione del sangue e a tale proposito suggeriva di far fare sempre le prove del tempo di coagulazione, di somministrare calcio finché questo tempo non fosse accorciato al massimo e di far assumere ai pazienti molti carboidrati onde aumentare la riserva di glicogeno epatico. Scriveva anche che *“molta mortalità nei pazienti itterici è simile a quella degli operati di prostatectomia perché dovuta a tempi operatori e di anestesia eterea troppo lunghi essendo l’etere un anestetico mal sopportato da un fegato malato”* specie in casi con *“scarsa funzionalità epatica, assenza di riserve di glucosio e una nefrite tossica associata quale risultato dell’ittero”*. In queste ultime parole c’era l’eco della triste esperienza fatta in quei tempi da tanti chirurghi con la nefasta sindrome epato-renale. Così **Frank Lahey (1880-1953)** che, dopo aver servito nella I guerra Mondiale come direttore e chirurgo capo dell’ospedale n°30 della U.S.Army Expeditionary Force sul fronte francese, e dopo aver insegnato chirurgia a Tufts e ad Harvard, dedicò tutto sé stesso allo studio della patologia chirurgica, alla direzione della clinica da lui stesso fondata nel 1924 a Boston e ad un’intensa attività letteraria di chirurgia dando alle stampe, oltre a numerosi articoli di tecnica operatoria, le due edizioni della *Surgical Practice of the Lahey Clinic* (edizioni del 1941 e del 1951). I suoi numerosi allievi e altri medici e chirurghi degli USA gli dedicarono, in occasione del suo 60° compleanno, il volume di studi intitolato *Frank Howard Lahey Birthday Volume* (1940).

Le due tecniche operatorie impiegate fin dai primi tempi per portare a termine una colecistectomia furono quella detta antigrada o diretta in cui la dissezione della cistifellea iniziava dal suo fondo e proseguiva in direzione del dotto cistico e questa era la tecnica indicata quando il colletto colecistico, il dotto e l’arteria cistici oltre all’epatocolodoco erano mascherati da un magma aderenziale che impediva il riconoscimento di queste singole strutture; l’altra tecnica era la colecistectomia detta retrograda adottata dalla maggior parte dei chirurghi già **nel corso degli anni ’40** quando le formazioni anatomiche sopracitate erano sufficientemente riconoscibili dall’operatore o non presentavano difficoltà insormontabili al loro isolamento in prima battuta. In ambedue i casi arteria e dotto cistici venivano accuratamente isolati e legati separatamente evitando assolutamente di pinzettare l’epatocolodoco e di coinvolgerlo in legature, errori questi che furono causa di complicazioni gravissime (fistole biliari, ittero da ritenzione biliare per interruzione della normale via di deflusso) che obbligavano a difficili reinterventi davanti a situazioni di soluzione estremamente delicata e impegnativa. Richard **Shackelford** ricordava infatti che

“il maggior pericolo degli interventi sulla colecisti e sui dotti biliari è rappresentato dalle lesioni accidentali del dotto epatico e del coledoco e tali incidenti avvengono generalmente perché una di queste due strutture viene erroneamente scambiata per il dotto cistico” e quindi *“prima di pinzettare il dotto cistico è necessario identificare con assoluta sicurezza il dotto epatico, il dotto cistico e il coledoco, accertandone i rispettivi rapporti”*. A questo riguardo un miglioramento tecnico fu dato negli anni '50 dalla dissezione eseguita con un delicato impiego del disseettore a L. Chi scrive, dopo una lunga esperienza nella chirurgia delle vie biliari, conferma la verità di questa regola che ha sempre osservato ma ricorda anche che **negli anni '50 e nei primi anni '60** i suoi maestri di chirurgia non si fidavano di dare via libera ai loro aiuti e assistenti in questa chirurgia da loro sempre tenuta gelosamente riservata a sé stessi per prudenza e a tutela dei malati. Del resto in quegli anni in Italia la chirurgia delle vie biliari negli ospedali periferici veniva praticata meno e si limitava a qualche colecistectomia; essa rimaneva dominio dei grandi ospedali nei capoluoghi di provincia e delle cliniche universitarie. Del resto **Alain Mouchet**, noto chirurgo parigino, ammetteva nel **1947** che *“la colecistectomia può sembrare l'operazione ideale ma la “colecistostomia” semplice, rapida, poco traumatizzante e quasi sempre fattibile anche quando la cistifellea è molto friabile, ha riguadagnato in questi ultimi tempi nuovo favore”*. E, a proposito degli incidenti operatori sulle vie biliari e delle loro amare conseguenze, si può citare quanto occorre all'ex primo ministro inglese Anthony Eden che dovette essere rioperato più volte senza successo fino ad essere obbligato a ricorrere per la correzione definitiva all'abilità dei chirurghi d'oltre oceano.

Del resto non deve far meraviglia che in quegli anni nei trattati di patologia chirurgica si dedicasse un capitolo a parte per le stenosi cicatriziali del coledoco e un altro capitolo a parte per le fistole biliari, ambedue complicanze tra le più gravi di errori tecnici commessi in corso di una colecistectomia. Ridiamo voce ancora una volta a Mouchet che, a proposito della terapia chirurgica di queste complicanze, scriveva: *“...le riparazioni dell'epatocoledoco (dilatazione, sezione, autoplastica, resezione della stenosi cicatriziale) sono solo eccezionalmente realizzabili. Nell'immensa maggioranza di questi casi si interviene tardivamente in un blocco di peritonite sottoepatica dove le vie biliari sono sepolte in una ganga di tessuto fibroso cicatriziale. Il segmento inferiore della via principale è ristretto e quasi privo di lume e ogni tentativo di farlo riabitare dal flusso biliare appare impossibile. La riparazione può riuscire solo se il reintervento è molto precoce. Di solito ci si deve accontentare di una operazione derivativa e la scelta è tra una epatico- o coledocoduodenostomia e l'impianto del tragitto fistoloso nel tubo digerente”*.

La mortalità della colecistectomia negli **anni '40** era bassa (1-2%) ma erano ancora frequenti le complicazioni (emorragie postoperatorie, spandimenti biliari in cavo peritoneale, fistole biliari, lesioni del coledoco, ittero da ritenzione). Mouchet citava anche un 20% di sequele dolorose sotto forma di coliche epatiche (probabilmente da calcoli dimenticati nel coledoco) e disturbi dispeptici caratterizzati da vomito e cefalee. A quell'epoca questi disturbi venivano attribuiti alla pancreatite cronica e allo spasmo dello sfintere di Oddi, a loro volta dovuti all'ipertensione biliare rivelata dalla frequente dilatazione dell'epatocoledoco nei soggetti colecistectomizzati. Fu persino coniata una definizione che dava fastidio ai chirurghi interventisti mentre fioriva spesso nella bocca dei colleghi internisti: il *“domani doloroso del colecistectomizzato”*. Negli stessi anni '40 lo studio delle affezioni dovute a litiasi biliare si avvaleva già della **colecistografia** introdotta da **Graham** negli **anni '30** (iniezione endovenosa di una sostanza tetrajodata). I quadri radiologici ottenuti con questo mezzo di contrasto potevano dare l'immagine di una colecisti contenente bile intensamente e uniformemente opacizzata e in questo caso la prova dell'ingestione d'un rosso d'uovo per far contrarre il viscere forniva un giudizio indiretto ma molto sicuro di normalità o meno delle pareti della fellea. Altre volte la

presenza di calcoli radiotrasparenti di colesterina li metteva in grande evidenza in mezzo alla bile opacizzata dal mezzo di contrasto. Ma potevano anche aversi quadri di scarsa opacizzazione e di scarsa o nulla contrazione delle pareti colecistiche, segni indiretti di una malattia infiammatoria in atto, oppure il responso della “colecisti esclusa” quando l’esame con mezzo di contrasto non evidenziava nulla, segno questo inequivocabile di malattia che aveva “escluso” la colecisti dal normale circolo della bile. Una novità, rispetto a quanto scritto da Lahey nel 1927, fu la introduzione negli anni '40 della preparazione a interventi sulle vie biliari con la somministrazione di vitamina K e di “piccole” trasfusioni di sangue oltre a urotropina, sulfamidici e vaccini e applicazioni di ghiaccio locali per le colecistiti calcolose in fase acuta con febbre alta e difesa addominale all’ipocondrio destro.

Negli **anni '50 e '60** la letteratura chirurgica riguardante la colecistite cominciò a trattare separatamente i quadri clinici e il relativo trattamento della colecistite acuta e di quella cronica. Nel **1963** si riconosceva già dalla maggior parte dei patologi che, salvo poche eccezioni, la **Colecistite Acuta** era causata dall'ostruzione del dotto cistico o da edema infiammatorio o da calcolo, che – come dimostrato da Andrews - non sempre l’empiema colecistico era determinato da azione batterica e che il cosiddetto pus poteva essere sterile trattandosi di materiale non francamente purulento bensì pseudopurulento. Si riteneva dunque che l’infiammazione era sempre di origine e natura chimica e poteva diventare infettiva in un secondo tempo per contaminazione e virulentazione batterica di origine ematica. Quando l’infiammazione non recedeva spontaneamente era possibile che evolvesse fino alla necrosi della parete colecistica e quindi alla sua perforazione.

Ad aiutare la diagnosi clinica, del resto facile nella stragrande maggioranza dei casi, era già disponibile dagli anni '50 l’esame di contrasto dell’albero biliare con **Biligrafin** o **Cholegrafin endovena** che rivelava la mancata opacizzazione della fellea e contemporaneamente ragguagliava sulle condizioni dell’epatocolodoco (ingrandimento da stasi biliare, immagini di calcoli coledocici). Due scuole di chirurghi si fronteggiarono nel **periodo 1950-1980** per quanto riguardava il trattamento della colecistite acuta nei suoi tempi e modi: per l’immediato intervento (“*a caldo*”) di colecistectomia si pronunciarono fino dal 1955-1957 A.Ochsner, C.Cavanagh e G. Johnson, per un trattamento conservativo di “attesa armata” si schierarono invece, tra gli altri, negli anni 1954-1955 H.Doubilet e S. Meagher. Una ulteriore distinzione fu proposta da A.M.Boyden che consigliava, in quegli stessi anni, una colecistectomia d’emblée se la malattia veniva diagnosticata nel corso delle prime 48 ore dall’esordio dei sintomi, altrimenti sosteneva che era meglio attendere – sempre pronti a intervenire davanti ad un peggioramento della situazione – fino a completo raffreddamento della flogosi.

Se il reperto colecistico ad addome aperto era tale da impedire l’asportazione della vescichetta biliare senza mettere in pericolo la vita del paziente, tutti i chirurghi di quell’epoca (anni '50 e '60) praticavano la colecistostomia riservandosi di eseguire la cura definitiva (colecistectomia) in tempi migliori. Il confronto tra le due correnti di terapia chirurgica sia in America che in Europa rivelò nei **primi anni '60** valori percentuali simili di mortalità come risultò da una ricerca pubblicata da W.Becker e da lui condotta a partire dal 1957 su 1060 casi di colecistite acuta trattati nei due modi sopraricordati.

Idrope, empiema, fibrosi delle pareti, calcificazioni, aderenze tenaci con i visceri circostanti sono altrettanti aspetti anatomopatologici della **Colecistite Cronica**. Nausea, dispepsia, dolore sottocostale destro o epigastrico, ripetizione di coliche biliari di breve durata e scarsa intensità, quadri patologici della colangiografia, segno di Murphy costantemente positivo in ipocondrio destro erano e sono tuttora i segni di valore diagnostico e diagnostico-differenziale che venivano rilevati nel quadro clinico di questa affezione. Quando la diagnosi era corretta la colecistectomia otteneva nei primi anni '60 l’80-90% di ottimi risultati (Cole e Ravdin **1963**). Comunque una ricerca sulla mortalità operatoria fatta nel 1960 da Glenn e Guida riportava l’1,1% di mortalità in 4635 operati per

colecistite calcolosa cronica di età inferiore ai 65 anni e il 6,2% in 60 pazienti di oltre 65 anni di età. Le cause dei cattivi risultati allora indicate erano le stesse già note da molto tempo

Un argomento che negli anni '40 era stato portato a favore della cosiddetta **“colecistectomia preventiva”** nei portatori di litiasi biliare asintomatica reperita casualmente in corso di altre indagini (radiografia in bianco dell'addome che rivelava presenza di calcoli calcificati delle colecisti) riguardò anzitutto la **possibile evoluzione neoplastica** di queste litiasi colecistiche asintomatiche e, specialmente, dei casi di **“colecisti a porcellana”**, immagine radiologica di una cistifellea la cui parete è tutta calcificata. Nel 1946 A.L.Bockus si dichiarò contrario alla colecistectomia preventiva che invece nel 1953 fu vigorosamente sostenuta da G.G.Finney e da B.Thomas. Questo argomento verrà ripreso più volte nei decenni seguenti trovando altri sostenitori della colecistectomia preventiva. L'ultima presa di posizione sarà **nel 1995** quella di Michael **Apstein** e Martin **Carey** della Harvard Medical School i quali affermarono che, essendo l'incidenza dell'associazione litiasi biliare-cancro della cistifellea molto bassa **“la colecistectomia profilattica non è indicata nel prevenire tale neoplasia nei pazienti asintomatici se si escludono i calcoli che superano i 3 cm. di diametro, i quali rivestono un ruolo oncogeno da 4 a 7 volte superiore rispetto ai calcoli di minori dimensioni”**.

Gli **anni '90** furono quelli che videro in tutto il mondo l'avvento della **“colecistectomia laparoscopica”**. Anche se la laparoscopia, nata sperimentalmente nel 1901 per merito di Georg Kelling, fu adottata per la prima volta in clinica da H.Jacobaeus nel 1911 e in seguito da W.E.Stone negli USA, che, usando un nasofaringoscopio, lo chiamò nel 1924 **“peritoneoscopia”**, l'interesse dei clinici per questo mezzo di diagnostica invasiva non fu mai vivace fino agli anni '60 e '70 del Novecento. Fino a questo periodo l'esperienza pratica e gli studi riguardanti la laparoscopia furono del tutto sporadici. Otto Steiner nel 1924, O.Nadeau e O.Kampmeier nel 1925, Rendle Short chirurgo di Bristol nello stesso anno (**“celioscopia”**), l'epatologo tedesco Kalk nel 1929 (introduzione del sistema di lenti di 135°), John Ruddock americano nel 1937 (**“peritoneoscopia”** su 500 pazienti in 4 anni), E.T.Anderson nello stesso anno (legatura delle tube attraverso laparoscopia), primo impiego dell'ago di Veress per il pneumoperitoneo nel 1938, Kurt Semm (sistema di insufflazione automatica controllata) nel 1960: questi furono gli uomini e le loro esperienze e invenzioni che prepararono la strada alla laparoscopia operativa degli anni '90. Della laparoscopia, prima dei chirurghi addominalisti, approfittarono gli epatologi e i ginecologi. I chirurghi cominciarono a interessarsi delle possibilità diagnostiche e curative della laparoscopia solo negli **anni '80** quando queste divennero possibili grazie allo sviluppo tecnologico della **“computer-chip television camera”** che consentì l'esecuzione della **videolaparoscopia**. Lo sviluppo di un armamentario specifico adatto per eseguire operazioni chirurgiche complesse in videolaparoscopia diede come primo e importante risultato la realizzazione della **colecistectomia videolaparoscopica**. Fu eseguita per la prima volta nel mese di **settembre del 1985** a Döblingen in Germania da E.**Mühe** che la pubblicò nel 1986 sul **“Langenbecks Archiv für klinische Chirurgie”**. Nel **1987** il ginecologo francese **Mouret** eseguì la seconda colecistectomia laparoscopica storica. Indipendentemente fra loro i chirurghi francesi F.Dubois e collaboratori nel **1990** pubblicarono i loro primi 36 interventi in laparoscopia nella rivista **“Annals of Surgery”** mentre nello stesso anno i connazionali Perissat e collaboratori diedero conto delle loro 700 colecistectomie laparoscopiche sulla rivista **“World Journal of Surgery”**. Sia Dubois che Perissat avevano iniziato la loro esperienza laparoscopica sulla cistifellea nel 1988.

Tra il 1990 e il 1995 la colecistectomia laparoscopica fu universalmente adottata come operazione routinaria, cosa che venne attestata anche da uno studio di Karl Zucker e coll. dell'Università del Nuovo Messico. Però, anche se nei primi tempi la colecistectomia laparoscopica sostituì rapidamente molte colecistectomie tradizionali di elezione per

colecistiti croniche, la percentuale di quelle praticate d'urgenza per forme acute o iperacute fu solo del 4% su ben 12.397 operazioni raccolte in una ricerca fatta da T.Scott e coll. nell'anno 1992. Le casistiche di A.Flowers e coll. (1991), di Unger e coll. (1991) e di Jacobs e coll. (1991) denunciarono la conversione delle operazioni laparoscopiche in colecistectomie laparotomiche in valori contenuti fra il 7% e il 33%, le complicanze delle colecistectomie laparoscopiche fra l'1% e il 13% e la durata media del periodo di ospedalizzazione compreso tra 2 e 4 giorni.

Nel 1994 Daniel **Deziel**, del Rush Medical College, in un articolo che riguardava le complicazioni della colecistectomia laparotomica e di quella laparoscopica pubblicò una grande quantità di dati desunti da molte tra le più importanti casistiche americane, europee e giapponesi del periodo compreso tra gli anni 1978 e 1990 per la colecistectomia laparotomica e del periodo 1991-1993 per quella laparoscopica. Si trattò di oltre 9000 colecistectomie ad addome aperto con mortalità compresa tra zero % e 1,9%, morbidità da zero percento a un massimo del 14,6% e lesioni accidentali dell'epatocolodoco tra lo zero percento e lo 0,4%. Questi valori nelle oltre 20.000 colecistectomie per via laparoscopica divennero rispettivamente zero percento e 0,20% per quanto riguarda la mortalità, 1,6%-12,0% di morbidità, 0,1%-0,6% di lesioni del coledoco. In più nelle casistiche delle colecistectomie laparoscopiche furono segnalati valori compresi fra zero percento e 0,8% di perdite biliari, lesioni intestinali ed emorragie, complicanze queste mai segnalate nelle casistiche delle colecistectomie eseguite per via laparotomica.

Nel 1995 sul "*Journal de Chirurgie*" G.Champault, del servizio di chirurgia generale e digestiva dell'ospedale parigino Jean-Verdier, nel ricordare che la colecistectomia per via laparoscopica fu il primo intervento laparoscopico sull'apparato digerente realizzato in Francia da P.Mouret e definito terapia di riferimento dalla Conferenza di Consenso Europeo di Strasburgo nel dicembre del 1991, riferiva che nel 1995 erano state eseguite circa 80.000 colecistectomie per via laparoscopica in Francia e circa 900.000 negli USA e che la tecnica era stata ormai ben codificata dal francese Testas su oltre 2200 operazioni (anno 1990 in "*Chirurgie*") e dall'inglese Negebauer (anno 1991 in "*Brit.J.Surg.*"). Anche se nei primi anni della sua diffusione, questa operazione fu appesantita da un numero di complicanze più alto di quelle conseguenti alla colecistectomia tradizionale, negli ultimi anni si era assistito ad una forte riduzione di esse fino a scendere al di sotto di quelle della colecistectomia a cielo aperto. Infatti l'incidenza delle complicanze biliari si era attestata già nel 1991 (J.Gigot su *Digest.Surg.*; J.Hunter su *Am.J.Surg.*) tra lo 0,3 e lo 0,4%.

La morbidità risultò compresa tra 0,9 e 4% contro quella della chirurgia convenzionale del 6-21%. La mortalità in tutte le casistiche francesi maggiori si avvicinava allo zero (zero per Dubois 1991, zero per Cuilleret e Meyer su 1000 casi nel 1995) 0,05% per Suc (1992) e 0,11 per Delaitre (1992) e Collet (1993). La conversione in laparotomia si rese necessaria nel 2-7% e risultò correlata all'esperienza laparoscopica dell'operatore. La maggiore casistica reperibile in letteratura nel 1995 fu quella di Bruhat/Dubois del 1992 che arrivò a 24.300 interventi con una mortalità dello 0,09%.

Nel 1995 anche Apstein e Carey scrissero che la colecistectomia laparoscopica aveva ormai stabilmente rimpiazzato quella laparotomica nell'85% delle operazioni di elezione pur non essendo ancora disponibili a quella data studi randomizzati di confronto tra le due tecniche. I vantaggi per gli operati consistevano in cicatrici addominali molto ridotte, degenza ospedaliera accorciata a 1-2 giorni rispetto ai precedenti 4-7 giorni e il precoce ritorno alle normali attività (7 giorni contro 40 o 60). Gli svantaggi e pericoli erano identificati in uno 0,8% di lesioni dell'epatocolodoco sempre delicate e di difficile riparazione.

Va inserito qui uno studio sugli **incidenti gravi da infissione di trocar** nella parete addominale per eseguire interventi endoaddominali in laparoscopia. I francesi G.Champault e F.Cazacu dell'Hopital Jean-Verdier di Bondy nel 1995 pubblicarono sul

“*Journal de Chirurgie*” un’inchiesta alla quale parteciparono 135 équipes europee di chirurgia laparoscopica in prevalenza francesi ma anche italiane (Torino e Napoli), inglesi, greche, spagnole, belghe, portoghesi, tunisine e algerine. Furono messe insieme 103.852 operazioni laparoscopiche con utilizzo di circa 300.000 trocar. La mortalità fu dello 0,07 per mille quasi esclusivamente dovuta a lesioni vascolari la cui incidenza era stata dello 0,4 per mille. Furono registrate lesioni di tutti i visceri addominali e di tutti i vasi maggiori. Nelle lesioni vascolari (47 casi) e in quelle dell’apparato digerente (63 casi) fu talvolta determinante l’inesperienza dell’operatore. Il procedimento più sicuro per evitare questi gravi incidenti è certamente quello del controllo visuale del pneumoperitoneo (“laparoscopia aperta” di Hasson proposta nel 1978) che l’8% delle équipes interrogate affermò di aver sempre usato prima dell’avvento dei trocar “*mousses*” o di sicurezza. Tutti gli studi randomizzati che posero a raffronto l’inserzione del primo trocar alla cieca e la “laparoscopia aperta” di Hasson coincisero nell’affermare l’assoluta innocuità della laparotomia aperta. Gli AA confermarono che la migliore prevenzione era appunto la “laparoscopia aperta”.

Nel 1995 sulla rivista “*Surgery*” J.J.Escarce e coll., della School of Medicine dell’Università di Pennsylvania, raccolsero i dati di 21.131 colecistectomie per via laparotomica eseguite negli ospedali della Pennsylvania tra il 1986 e il 1989 in pazienti di oltre 65 anni di età suddividendole in tre gruppi: colecistectomia semplice, colecistectomia e colangiografia intraoperatoria, colecistectomia ed esplorazione coledocica. L’obiettivo era quello di offrire materiale per un futuro confronto a pari distanza di tempo dall’operazione con una schiera altrettanto folta di soggetti della terza età operati di colecistectomia per via laparoscopica. La mortalità postoperatoria a 30 giorni dall’operazione fu complessivamente del 2,1% e dopo tre mesi del 3,6% ma nel terzo gruppo (colecistectomia ed esplorazione del coledoco) essa fu rispettivamente del 47% e del 29%. La litiasi coledocica “dimenticata” o recidiva, la stenosi coledocica e i reinterventi sulla via biliare principale furono nei tre gruppi rispettivamente del 2,8%, dello 0,4% e dell’1,0% ma il terzo gruppo influì pesantemente nel provocare le sequele appena citate. Le valutazioni dell’eccesso di mortalità nel terzo gruppo avrebbero dovuto costituire, sec. gli AA., un benchmark per valutare i risultati di strategie alternative al trattamento chirurgico della litiasi dell’epatocoledoco in corso di colecistectomia laparoscopica. Per quanto riguarda la litiasi coledocica non sospettata e il ruolo della colangiografia intraoperatoria questo studio mise in evidenza due risultati: 1°- dopo colecistectomia semplice la percentuale di calcoli recidivi o ricorrenti nelle persone di oltre 65 anni di età è stata dell’1,5%, a tre anni e mezzo dall’intervento, un valore nettamente più elevato di quelli riportati nella letteratura (da 0,2 a 0,7%). Questo dimostrava che nelle persone anziane, contrariamente a quanto finora pensato, la recidiva di litiasi biliare è più frequente che nelle altre età della vita, 2°- la percentuale di calcoli coledocici a 3 anni e mezzo dalla colecistectomia e dalla colangiografia intraoperatoria risultò più bassa (0,8%) rispetto a quella della letteratura (1,5%) e questo dimostrava che le persone anziane sottoposte a colangiografia durante l’intervento di colecistectomia per via laparotomica erano meno esposte al rischio di litiasi biliare recidiva.

La **colecistostomia**, cioè l’abboccamento alla cute del fondo delle colecisti assicurato da strati di sutura e da drenaggio tubulare con catetere di gomma tipo Petzer 20 French, realizzava in pochi minuti di operazione di minima portata in anestesia locale una fistola biliare esterna temporanea. Era – ed è tuttora - un intervento deciso per risolvere una situazione di emergenza in pazienti altamente defedati che non avrebbero potuto sopportare l’esecuzione di una colecistectomia. Le patologie che la indicavano in anni lontani erano l’empiema e l’idropo della fellea, la perforazione del fondo della colecisti, la decompressione di un ittero da stasi o di una colangite ascendente. Rappresentava comunque un’operazione di necessità ma non risolutiva delle cause che avevano prodotto

la malattia ed era quindi, nella maggior parte di questi malati, solo il primo tempo di un programma curativo più complesso e radicale. Le vecchie sonde di Petzer di gomma rigida furono sostituite nel corso degli anni '60 e '70 in tutte le operazioni di drenaggio esterno di visceri cavi dai cateteri morbidi di lattice con palloncino gonfiabile. Il drenaggio esterno della vescichetta biliare veniva in alcuni casi sostituito dal drenaggio interno connettendo il lume colecistico con quello di un tratto del tubo gastrointestinale mediante anastomosi di tipo latero-laterale. A completamento di questo paragrafo va ricordato che l'affinamento delle tecniche anestesilogiche e di quelle di ripristino di una sufficiente funzionalità dei principali organi e apparati nonché l'avvento delle terapie antibiotiche per fleboclisi (terramicina, oleandomicina, tetracicline, ecc.) finirono per ridurre sempre più dopo il 1970 il numero delle colecistostomie praticate d'urgenza, ciò che coincise con il nuovo orientamento della maggior parte dei chirurghi in favore della colecistectomia d'urgenza in tutti casi di colecistite acuta.

La **colecistogastrostomia** – molto praticata fino agli anni '50 e prmissimi anni '60 - fu abbandonata del tutto a causa della fastidiosa gastrite biliare che ne conseguiva e venne sostituita efficacemente con la **colecistoduodenostomia** e/o con la **colecistodigiunostomia**. Le indicazioni di questi drenaggi interni erano date dalla ostruzione irrisolvibile del coledoco terminale il più delle volte dovuta a cancro inestirpabile della testa del pancreas.

Negli anni '40 si era notato un certo interesse dei chirurghi per la **colesterolosi della cistifellea** consistente nel deposito sulla mucosa della colecisti di *“minuscole salienze gialle che ricordano la superficie di una fragola da cui la corrente denominazione di “colecisti a fragola”* secondo la descrizione fatta da Shakelford. La definizione **“colecisti a fragola”** viene fatta risalire al chirurgo Mac Carty nel 1910 e, da altri, al chirurgo inglese Moynihan nel 1909. Nel 1943 K.Lewis e C.Peterson riscontrarono presenza di calcoli biliari nel 37,5% dei casi di colecisti a fragola da loro asportate; questi AA osservarono che nell'80% dei casi si trattava di donne e che oltre il 50% dei casi era affetto da notevole obesità. Avendo notato che la colesterolosi si accompagnava, anche se alitiasica, ai medesimi disturbi di una colecistite acuta o cronica e che spesso precorreva la formazione di calcoli di colesterina, vi furono chirurghi che consigliarono la colecistectomia. Si trattava del resto di casi venuti all'osservazione clinica e laparotomica dopo una diagnosi di supposta colecistite litiasica essendo la forma non diagnosticabile con la colecistografia che, peraltro, con la mancata o troppo tenue opacizzazione della fellea autorizzava a diagnosticare quanto meno una insufficienza funzionale della vescichetta biliare.

In Francia si continuò a discutere **negli anni '40** se la colecisti a fragola doveva o meno essere inquadrata tra le colecistiti alitiasiche: il caposcuola parigino Gosset e i suoi collaboratori sostenevano che si trattava di uno stadio iniziale della litiasi asettica mentre Lecène e Moulonguet affermavano che si trattava di una infezione della cistifellea e che gli accumuli di colesterina sulla mucosa erano la conseguenza della flogosi. Altri ancora, come Mouchet, dichiaravano che *“questa condizione di lipoidosi della vescichetta biliare è l'espressione locale nel sistema reticoloendoteliale di un disturbo del metabolismo del colesterolo”*.

In verità i risultati clinici della colecistectomia per colecisti a fragola non furono sempre brillanti come fu denunciato dagli stessi Lewis e Peterson nel 1943 e da W.A.Mackey in due riprese, nel 1937 e nel 1941. L'argomento della colecisti a fragola perse di importanza nel corso degli anni '50, tanto che W.Cole e J.Ravdin scrissero in proposito nel **1963** che *“non c'è evidente motivo per ritenere che questa patologia abbia un significato clinico, fatta eccezione per i calcoli che spesso le si accompagnano”*.

La diagnosi strumentale delle colecistiti trovò un valido apporto dall'entrata in uso clinico nel periodo 1979-1984 dell'ecografia e della colescintigrafia che finirono per rimpiazzare il ruolo svolto fino allora dalla colecistografia e dalla colangiografia con Biligrafin, anche se i reperti forniti dai vecchi esami radiologici non avevano ancora perso del tutto la loro utilità. Faye C. **Laing** dell'università di California scriveva nel **1984** che la colecistografia era ancora usata negli USA solo quando non era disponibile un ecografo e quando il referto di un esame ecografico era sospettato di essere falsamente negativo. Anche la colangiografia endovenosa, nata nel 1953, con la sua alta percentuale di falsa negatività nei riguardi delle colecistiti croniche e della colelitiasi in genere (17-45%) era stata in gran parte abbandonata.

I criteri utili per far **diagnosi ecografica** di colecistite cronica erano sec. Laing il riconoscimento della presenza di calcoli e l'impossibilità di visualizzare la fellea anche dopo digiuno prolungato. Per la diagnosi ecografica di colecistite acuta erano il dolore vivo risvegliato dalla pressione della sonda ecografica sull'immagine della cistifellea, l'ispessimento della sua parete, la presenza di calcoli di forma rotonda e con diametro >5 cm, eventuali raccolte liquide intorno al viscere (in oltre il 10% dei casi). Molti AA (E.Dillon e coll 1980; T.Philbrick e coll. 1981; N.Worthen e coll. 1981; H.Juttner e coll. 1982; P.Ralls e coll. 1982; W.Schuman e coll. 1982) trovarono che il 50% dei pazienti nei quali era stata posta diagnosi clinica di colecistite acuta, era risultato del tutto negativo all'esame ecografico, e molti altri AA confermarono che al riscontro ecografico negativo corrispondevano valori superiori al 95% di assoluta assenza di patologia colecistica (P.Cooperberg e coll. 1979 e 1980; P. Krook e coll. 1980; D.Melintosh e coll. 1980; F.Laing 1981; V.Raptopoulos e coll. 1981). I limiti dell'esame ecografico bene identificati da Laing erano la capacità di lettura dell'esaminatore e l'impossibilità di scoprire l'esistenza di calcoli dentro il dotto cistico.

La **colescintigrafia** con il radionuclide **Tc99**, introdotta nel **1976** da M.D.**Loberg**, dava immagini che furono definite "eccellenti" sia della cistifellea che dell'intero albero biliare intra- ed extraepatico, senza effetti collaterali sul paziente ed era utilizzabile anche in presenza di un lieve ittero. Il reperto per la durata di un'ora di distanza dall'assunzione del radionuclide, di una mancata visualizzazione del cistico e della cistifellea di fronte ad un coledoco ben visualizzato, fu quello definito utile per una diagnosi di colecistite acuta e negli anni 1981-1982 ciò venne confermato da autorevoli chirurghi americani come M.Ghedman e coll. e S.Kadir e coll. e l'inglese M.D.Ram. Il fatto poi che la colescintigrafia nel paziente itterico riusciva a visualizzare l'albero biliare fino a livelli di 30 mg/dl consentiva di fare la diagnosi differenziale tra ittero ostruttivo e ittero non ostruttivo. Gli svantaggi della colescintigrafia con IDA erano dati dalla limitata risoluzione dei dettagli anatomici e l'impossibilità di definire la causa e l'esatta sede di un'ostruzione. Perciò, già **nel 1984**, la colescintigrafia venne definita un esame diagnostico insufficiente a rivelare la presenza di litiasi biliare; a differenza poi dall'ecografia, la scintigrafia esponeva il paziente a radiazioni ed era meno versatile nel dare informazioni sui visceri vicini al fegato. Laing dichiarò che *"questi due esami non devono essere considerati competitivi fra loro bensì complementari"*. Gli anni che seguirono tolsero rapidamente spazio alla colescintigrafia e l'ecografia, potenziata tecnicamente con il continuo miglioramento degli apparecchi emittenti fasci di ultrasuoni e delle loro sonde, rimase, insieme ai nuovi metodi di indagine radiologica, la regina della diagnostica strumentale delle vie biliari, soprattutto per ciò che riguarda le forme infiammatorie della litiasi biliare. Non abbiamo fatto finora alcun cenno a cure mediche della litiasi della cistifellea – dissoluzione chimica dei calcoli di colesterina con solventi a contatto (MTBE), con acido ursodesossicolico e litotripsia extracorporea con onde d'urto (ESWL) – di cui si parla nel capitolo di Patologia Medica – nel paragrafo della malattia litiasica delle vie biliari al quale si rinvia il lettore.

Il **Cancro della Cistifellea** dimostrò di essere una malattia caratterizzata da cattiva prognosi anche dopo trattamento chirurgico intenzionalmente radicale. Le forme anatomopatologiche macroscopiche descritte ancora nei primi decenni del Novecento erano tre: colloide, scirroso ed encefaloide. Quelle istologiche erano anche tre: epiteloma cilindrico tipico, epiteloma cilindrico atipico e sarcoma, quest'ultimo rarissimo. Indipendentemente dal carattere istologico e macroscopico del tumore, l'invasione del fegato per contiguità e le metastasi linfatiche furono sempre descritte come precoci. Nel **1908** A.Gosset scriveva: *"...i sintomi del cancro della vescichetta biliare sono all'inizio oscurissimi. Spesso è la litiasi coesistente che obbliga ad intervenire. In seguito il tumore e le sue complicazioni (ittero da compressione delle vie biliari principali, ascite da compressione della vena porta) rendono la diagnosi più facile; ma allora l'intervento è in generale troppo tardivo per essere efficace"* e più avanti aggiungeva: *"...quando il tumore ha invaso il fegato, l'intervento dovrà comprendere anche una resezione parziale del tessuto epatico. I risultati immediati di queste operazioni non sono cattivi, ma le lunghe sopravvivenze sono rare"*. Nel **1940** C.R.Lam valutò che ben 6500 decessi annui nella popolazione degli USA erano dovuti a questa gravissima malattia. La casistica numericamente più importante della letteratura medica, quella ventennale del Johns Hopkins Hospital di New York, raccolta e pubblicata da Finney e Toms nel **1953** dava una frequenza del 2,1% su 4223 colecistectomie. La sopravvivenza dopo l'intervento di colecistectomia più o meno allargata ad epatoresezione e linfadenectomia fu di un solo paziente su 40 citati da H.Bockus e di uno su venticinque riportati da Finney e Toms. Anche l'indice di operabilità ad addome aperto era negli anni '40 solo del 27%. Anche Finsterer denunciò nelle prime due decadi del secolo un solo caso sopravvissuto ad una resezione allargata del lobo destro del fegato insieme alla colecistectomia. E' ben vero che nel **1963** Cole e Ravdin, riportando un 13% di sopravvivenza a 7 anni dall'intervento nella casistica di B.Thorbjarnarson e F.Glenn pubblicata nel 1959, annotavano che questa era *"un'esperienza inusuale"* e che *"l'invasione del letto epatico è così frequente che molti chirurghi oggi raccomandano la lobectomia epatica destra se il lobo sinistro è sano e se la forma appare operabile"*. Tuttavia una già completa revisione su questo argomento era già stata pubblicata nel **1960** sulla rivista *"Surgery"* da G.O.Strauch e conteneva conclusioni che non si discostavano da quelle degli AA che lo avevano preceduto.

Nel **1973** Martin Adson, della Mayo Clinic di Rochester, pubblicò la revisione di tutti i casi di carcinomi della colecisti osservati presso la clinica nel periodo 1960-1972: su 112 casi l'operabilità teorica fu solo del 14% e l'operazione più spesso eseguita fu la colecistectomia semplice mentre la resezione epatica a cuneo e la linfadenectomia furono eseguite assieme alla colecistectomia solo in 4 casi su 16 e tre di questi quattro operati morirono entro un arco di 15 mesi dall'operazione

Nella 12° edizione del Manuale di Patologia Chirurgica di Charles Illingworth (**1982**) si legge che *"la percentuale di pazienti affetti da calcolosi nei quali ci si può aspettare la comparsa di un carcinoma non è stata determinata con precisione, ma, sulla base dei risultati pubblicati, dovrebbe essere inferiore all'1%. Non esistono quindi prove convincenti in favore della colecistectomia solo allo scopo di prevenire il cancro (in assenza di altre considerazioni)"*. J.M.Piehl e R.W.Crichlow già nel 1978, avendo revisionato ben 16 casistiche operatorie riguardanti la cura chirurgica del cancro della colecisti, trovarono che solo il 16% di questi pazienti era stato trattato con veri intenti di radicalità mentre nel 72% dei casi ci si era limitati ad eseguire interventi palliativi o semplici biopsie. Negli ultimi anni '80 invece la percentuale di interventi eseguiti con programmi di radicalità era salita al 34%. Nonostante questo le più importanti casistiche del mondo chirurgico occidentale pubblicate **tra il 1976 e il 1989** davano una sopravvivenza media a 5 anni dall'intervento ritenuto "curativo" pari al 4,1% e quella a solo un anno dall'operazione all'11,8%. Lo studio fatto nel 1980 da L.Bergdahl sul

rapporto tra percentuale di sopravvivenza e grado di infiltrazione neoplastica della parete della fellea dimostrò che tutti i pazienti nei quali la parete colecistica era infiltrata a tutto spessore erano morti entro 2,5 anni e che i casi in cui il cancro era limitato alla sola mucosa erano sopravvissuti 5 anni per il 64% e 10 anni per il 45%. **Nel 1989** il chirurgo giapponese **S.Nakamura** e i suoi collaboratori pubblicarono la loro esperienza caratterizzata da un trattamento molto aggressivo: nei pazienti in stadio I eseguirono la colecistectomia e la resezione della parte inferiore di IV e V segmento epatico più linfadenectomia e nei pazienti in stadio V una serie di operazioni molto demolitive sia a carico del fegato che degli organi vicini interessati dal tumore. Su 13 pazienti in stadio V Nakamura e coll. poterono contare 2 sopravvissuti, uno a 7 anni e l'altro a 8 anni di distanza. L'esperienza dell'équipe di Nakamura rimase comunque un fatto isolato nella letteratura specifica del cancro della cistifellea.

Nel **1990** R.Scott Jones del'Health Service Center dell'Università della Virginia, nel sottolineare il grande valore diagnostico dell'ecografia nel mettere in luce neoplasie della cistifellea del tutto asintomatiche, riportava il riscontro di 40 casi su 40.000 pazienti, il 75% dei quali era stato diagnosticato solo con l'ecografia e pubblicati nel 1987 da M.Soiva e coll. sulla rivista "*Acta Radiologica*".

I tentativi di chemioterapia con Adriamicina (doxorubicina), BCNU e Tegafur condotti da S.W.Hall e coll. negli anni '70 e pubblicati nel 1979 diedero una certa risposta positiva nel 43% dei malati così curati che tuttavia morirono tutti entro 11 mesi.

La terapia radiante postoperatoria fu efficace nell'attutire e far scomparire il dolore e nel ridurre l'ittero senza però incidere sulla sopravvivenza (J.B.Bosset e coll. 1989; J.Field e B.Emami 1987; G.Copelson e coll. 1977).

Il **cancro delle vie biliari intra e extraepatiche** che rappresenta lo 0,8% di tutti i tumori maligni e che in Italia colpisce ogni anno 9500 persone (0,8% uomini e 1,6% donne) è una malattia le cui possibilità di cura chirurgica radicale erano minime prima di alcuni successi ottenuti con il trapianto di fegato eseguito in tempo utile. Era rimasto alla fine del Novecento un problema insoluto di prevenzione e di diagnosi precoce. Infatti i risultati della cura chirurgica tradizionale erano stati, negli ultimi decenni del secolo, oltremodo deludenti: le recidive di neoplasie dell'epatocolodoco asportate con la duodenocefalopancreatectomia allargata erano state riscontrate anche a 8 anni di distanza dall'intervento.

Come già avvenuto per il cancro del seno anche per quello delle vie biliari si sospettava che la causa fosse dovuta a mutazioni genetiche. Questa ipotesi, che si era già avverata per il cancro del seno con la scoperta dei geni mutati Bra-1 e Bra-2, ha trovato riscontro anche per i tumori maligni delle vie biliari. Ricerche condotte in tandem da 120 studiosi dell'Università di Verona (gruppo diretto da Aldo Scarpa) e della Johns Hopkins University di Baltimora hanno portato alla identificazione dei geni mutati responsabili del cancro delle vie biliari. La notizia è stata pubblicata sulla rivista "*Nature Genetics*" il 3 Novembre 2013. Il lavoro dei due gruppi di studio sta ora procedendo alla messa a punto di un metodo di "diagnosi molecolare".

La **Colangite Sclerosante Primitiva** (PSC) è una sindrome itterica da colestasi caratterizzata da infiammazione cronica fibrosante dell'albero biliare intraepatico. E' malattia fortunatamente rara ma dal decorso molto variabile anche se generalmente progressivo con una media di sopravvivenza dal momento della diagnosi di 10-12 anni (E.Lebovics e coll. in "*Arch.Int.Med.*" 1987; W.Taub e coll in "*Gastroenterology*" 1988; R.Wiesner e coll. in "*Hepatology*" 1989; J.Farrant e coll. in "*Gastroenterology*" 1991). Il decorso è asintomatico in una prima fase di durata non valutabile e nella fase sintomatica può manifestare un quadro clinico di ipertensione portale e può complicarsi con l'insorgenza di un colangiocarcinoma di pessima prognosi. La frequenza della

manifestazione neoplastica varia molto da un minimo del 6% (Wiesner della Mayo Clinic) al 20% (Forges).

Verso gli anni Novanta si risvegliò un certo interesse per il **trapianto**, unica soluzione radicale per questa malattia dal decorso fatale (A.Langnas e coll. in “*Am.J.Gastroent.*” 1990; G.Hartman e coll. in “*Transplant Int.*” 1991; J.Marsch e coll. In “*Ann.Surg.*” 1988). Una delle esperienze cliniche più importanti e precoci fu quella del Centro Trapianti di Fegato dell’ospedale Paul Brousse dell’Università di Parigi XI a Villejuif dove O.Farges e coll. fra gennaio 1976 e maggio 1992 diagnosticarono 51 casi di colangite sclerosante primitiva (PSC) in base ai dati clinici, biochimici, radiologici e istologici. Nel periodo **1976-1985** questi malati furono trattati con la chirurgia dell’ipertensione portale e con somministrazione di steroidi, ma **dal 1985 in poi** fu preso sistematicamente in considerazione il trapianto nelle seguenti condizioni: quando l’ittero durava da molto tempo, quando i pazienti andavano soggetti a ripetuti episodi acuti di colangite anche sotto trattamento medico oppure quando si era sviluppata cirrosi epatica con ipertensione portale (varici esofagee) e/o insufficienza epatica (tempo di protrombina inferiore al 50%). Il trapianto ortotopico andò a rimpiazzare una resezione di fegato molto ampia che comprendeva anche la testa del pancreas e tutto il coledoco. L’immunoprofilassi veniva fatta impiegando ciclosporina, basse dosi di steroidi e azatioprina: 23 pazienti non furono trapiantati contro 28 che ricevettero un nuovo fegato classificato sec. gruppo sanguigno. La sopravvivenza fu messa a confronto con quella attesa dai modelli prognostici e i risultati dimostrarono che il trapianto migliora nettamente la prognosi dei pazienti affetti da PSC. I dati dell’Hôpital Paul Brousse di Villejuif non concordavano con quelli della Mayo Clinic (R.Wiesner e coll. in “*Hepatology*” 1992) dove il raffronto tra sopravvivenza dopo trapianto e quella prevista dai modelli matematici mostrava tempi prolungati dopo cura solo medica o chirurgia dell’albero biliare non sostitutiva. Discordanza ci fu anche nelle percentuali di tumori maligni epatobiliari tra la casistica francese e quelle della Mayo Clinic e del King’s College anche se in queste ultime non tutti i casi venuti a morte erano stati sottoposti ad autopsia a differenza di quanto si faceva a Parigi. Farges e coll. concludevano che l’alta incidenza di neoplasie maligne epatobiliari nei malati di PSC, la loro imprevedibilità, i cattivi risultati dei trapianti in presenza di colangiocarcinomi insorti in terreno di PSC e la relativa assenza di questi tumori in pazienti affetti da PSC asintomatica erano tutti elementi a favore di un trapianto di fegato precoce nei pazienti in cui la PSC era diventata sintomatica da poco tempo. Alla fine gli AA scrivevano: *“sulla base del paragone storico all’interno dello stesso centro di diagnosi e cura e di modelli prognostici dimostrati validi, noi abbiamo dimostrato che il trapianto cambia radicalmente la prognosi di questa malattia”*

Il **decennio 1974-1984** rinnovò a fondo il campo diagnostico-terapeutico delle malattie delle vie biliari con l’introduzione nella pratica routinaria della **Radiologia Interventiva del sistema biliare e del pancreas** ad opera dei radiologi giapponesi K.Okuda, K.Tanikawa e T.Emura che nel 1974 diedero alle stampe un libro intitolato “*Colangiografia Percutanea Transepatica non chirurgica*”. Le tecniche percutanee transepatiche tramite ago Chiba furono la Colangiografia Percutanea Transepatica (PTC), il Drenaggio Biliare Percutaneo Transepatico (PTBD), l’applicazione transepatica di endoprotesi autoespansibili per l’epatocoledoco nelle ostruzioni neoplastiche inestirpabili, la dilatazione progressiva delle stenosi benigne della via biliare principale, la manipolazione dei calcoli per via transepatica con asportazione e/o dissoluzione dei medesimi, le biopsie percutanee transepatiche per aspirazione. Trattasi dunque di procedimenti diagnostici e curativi di tipo invasivo e quindi comportanti la possibilità di complicazioni legate al procedimento usato (emorragie, infezioni biliari, fistole biliari residue). Va detto tuttavia che le maggiori complicanze denunciate dopo PTC furono soprattutto una caratteristica dei primi tempi ,

quando al posto dell'ago Chiba venivano usati aghi di maggior calibro: perdite biliari ed emorragie intraperitoneali nell'ordine dell'11,5-5,5% con mortalità contenuta nello 0,14% e 0,37% (W.F.Harbin e coll. **1980** su 3597 PTC). La sepsi con febbre settica ed emocultura positiva e ipotensione si ebbe nell'1,8% di tutte le PTC revisionate da Harbin.

Il drenaggio percutaneo transepatico (PTBD) in alcuni ospedali fu usato di routine in tutti i casi nei quali la PTC aveva rivelato un'ostruzione delle vie biliari indipendentemente dalla sua eziologia, dando per scontato che la causa preponderante di ostruzione del coledoco era ed è tuttora il carcinoma della testa del pancreas come confermato dagli studi di Berk (1982) e di Berquist (1981), malattia che nel 90% dei casi risulta inestirpabile alla laparotomia esplorativa. La decisione di trasformare una PTC in una PTBD di tipo permanente in casi di questa natura veniva facilitata dai reperti della TAC e dell'ecografia addominale alta (massa pancreatica, neoplasia in porta hepatis, linfonodi ingrossati, metastasi epatiche diffuse).

Nel 1984 Steven **Teplick** e coll. del dipartimento chirurgico e radiologico dell'università di Philadelphia, escludevano dal drenaggio transepatico tutti quei casi di neoplasia pancreatica, coledocica e di Klatzki che agli esami diagnostici preliminari apparivano suscettibili di cura chirurgica o almeno meritevoli di una laparotomia esplorativa.

Un campo dove la PTBD risultò utile fu, secondo Teplick, quello delle stenosi dell'epatocolodoco secondarie ad intervento chirurgico sulle vie biliari. Le operazioni chirurgiche riparative, di per sé molto difficili e impegnative, non erano mai riuscite a ottenere più del 60% di successi. W.Molnar e A.Stockum nel 1978, J.Oleaga e E.Ring negli anni 1978 e 1981, Teplick nel 1982 pubblicarono i successi da loro ottenuti con la PTBD e con le dilatazioni: nel 70-75% delle ostruzioni fu possibile far passare un catetere fino in duodeno, il miglioramento clinico si verificò nell'88-95% dei pazienti e la sopravvivenza media dei malati affetti da neoplasia inestirpabile rimase inferiore ad 1 anno come dopo trattamento chirurgico. Scomparsa definitiva del prurito da ittero e normalizzazione stabile della bilirubinemia furono riscontrate in tutti i soggetti con ittero ostruttivo curati solo con la PTBD. Anche per questa tecnica transepatica le complicanze furono rappresentate – come per gli interventi chirurgici disostruenti – da rari casi di peritonite biliare, emorragia e shock settico. P.Mueller e coll. denunciarono nel **1982** un 8% di queste complicazioni su 200 casi trattati. Molte piccole e medie complicanze si erano verificate dopo le dimissioni dall'ospedale (irritazione cutanea, infezioni, spostamenti del drenaggio, ostruzione da coaguli, ecc.) e furono tutte curate ambulatoriamente.

L'inserzione di *endoprotesi* di vario tipo era riservata ai casi di tumori ostruenti in fase molto avanzata e avveniva in tre tempi: PTDB – dilatazione progressiva fino a 14 French – inserzione della protesi. Fra un tempo e il successivo venivano fatti passare alcuni giorni o anche alcune settimane. Il tipo di protesi usato da Teplick aveva una doppia testina allargata comprimibile, altri chirurghi impiegavano protesi metalliche autoespansibili. I risultati clinici di questi impianti venivano definiti nel **1984** “soddisfacenti” nella maggior parte dei casi ma furono anche descritte dislocazioni, ostruzioni e infezione della protesi. La perdita del tramite transepatico dopo inserzione della protesi obbligava, in presenza di una di tali complicanze, ad eseguire un nuovo tentativo di PTBD o all'intervento chirurgico per via laparotomica.

Chirurgia dell'Epatocolodoco e dello Sfintere di Oddi

Questa chirurgia nacque nell'ultimo decennio dell'Ottocento ed ebbe un suo primo importante sviluppo nel **primo ventennio del XX secolo**. Le indicazioni chirurgiche erano quelle della litiasi dell'epatocolodoco, delle stenosi della via biliare principale e dei tumori

dell'epatocolodoco. In caso di litiasi l'operazione di elezione era considerata il drenaggio dell'epatocolodoco che veniva praticato dopo aver eseguito una laparotomia a baionetta sec. **Kehr** o un'incisione addominale alla **Mayo Robson**; l'incisione della parete coledocica veniva fatta sulla parte più saliente del calcolo; una volta estratto il calcolo o i calcoli si esplorava l'interno della via biliare verso il fegato e verso il duodeno con pinze apposite e l'operazione terminava con la colecistectomia e il drenaggio tubulare a T della via principale. Quando il chirurgo incontrava difficoltà nell'individuare la esatta posizione del coledoco ricorreva alla manovra di liberazione della seconda porzione duodenale sec. **Kocher** oppure apriva la parete anteriore del duodeno trasversalmente (Kocher) o longitudinalmente (Mac Burney), sondava la papilla ed estraeva il calcolo coledocico dall'alto in via retrograda incidendo o meno l'ampolla di Vater (littectomia coledocica per via duodenale, **operazione di Collins**). Nelle mani di Kehr il drenaggio coledocico (durata media 15 giorni) comportava una mortalità del 4,2%: questa mortalità si abbassava notevolmente nei casi non infetti. Per le stenosi del coledoco di natura non neoplastica furono eseguite operazioni di resezione del tratto stenotico con sutura capo a capo dei due monconi (Kehr, Körte, Doyen, Mayo), di plastica allargante trasformando l'incisione longitudinale della stenosi in sutura trasversale (Kehr, Petersen, Moynihan) di plastiche allarganti con lembi gastrici o della cistifellea (Kehr), di coledocoduodenostomia in corrispondenza della stenosi coledocica (Terrier, Mathieu), di impianto del moncone coledocico prossimale sullo stomaco (Tuffier, Quénu), di coledocodigiunostomia. **Fino al 1908** era stata tentata 5 volte la resezione del confluente dei due epatici nell'epatocolodoco per cancro (un malato di Kehr sopravvisse due anni e mezzo), tre volte per un cancro primitivo del coledoco (mortalità 100%).

La **coledocotomia** o epatocolodocotomia sopraduodenale è l'incisione della porzione libera o sopraduodenale del dotto biliare principale eseguita per accertare la presenza e la natura di lesioni del dotto e per trattarle nel modo più conveniente. Questa fu nel **1955** la definizione che si legge nel Trattato di Chirurgia dell'Apparato Digerente di Bickham-Callander-Shackelford. Nel **1951** B.P. **Colcock** scrisse: "...da quando abbiamo ampliato le indicazioni all'esplorazione del coledoco è stato trovato un numero più elevato di calcoli nella via principale" e aggiungeva che da qualche tempo aveva praticato questa esplorazione nel 45,7% delle colecistectomie per litiasi trovando calcoli nel 16,8% dei casi. Concludeva che "...basandoci sulla nostra esperienza di oltre 1500 esplorazioni del coledoco siamo convinti che nelle mani di un chirurgo esperto di chirurgia biliare la coledocostomia non aumenti la mortalità e nemmeno innalzi sensibilmente l'indice della morbidità operatoria". L'esplorazione strumentale con cucchiari e curette del coledoco aperto veniva fatta nei due sensi, a monte e a valle; la estrazione dei calcoli più o meno incuneati avveniva tramite appositi strumenti (pinze curve fenestrate o cucchiari di varie misure dapprima e con cateteri a palloncino in seguito), la pulizia veniva effettuata con lavaggi con soluzione fisiologica e, come ultimo tempo, si saggiava con cateteri ureterali di calibro crescente la pervietà dello sfintere di Oddi che, se spastico o rigido perché sclerotico, veniva delicatamente dilatato fino ad applicare in posizione transfinterica un tubo di gomma a T a branca trasversa lunga tipo Cattell. Questa variante del vecchio tubo di Kehr che aveva la branca trasversale corta, era stata proposta da Cattell, famoso chirurgo della Lahey Clinic di Boston, nell'anno **1951**. In Italia persisteva negli anni '50 un atteggiamento di rispetto reverenziale e di timore nei riguardi delle coledocotomie e del loro drenaggio all'esterno con tubo a T di Kehr; l'uso del drenaggio a T di Cattell fu propagandato da C.A. Carlon e dalla sua scuola nel **1959**. Questo drenaggio veniva asportato 15-20 giorni dopo l'operazione.

L.**Edwards** e J.**Herrington** nel **1953** furono i primi a praticare la cosiddetta "**coledocotomia ideale**" consistente nel suturare a punti staccati la breccia coledocotomica ad esplorazione strumentale conclusa e limitandosi a drenare la loggia sottoepatica al

forame di Winslow. Facendo il confronto con i pazienti nei quali questi AA avevano lasciato drenato il coledoco con un tubo di Kehr trovarono che questo aveva prolungato il tempo di ospedalizzazione rispetto ai casi trattati con la coledocotomia ideale ed era seguito da una maggior morbilità postoperatoria. Anche Shackelford era della stessa opinione. La coledocotomia ideale, riservata naturalmente ai casi con bile coledocica chiara e fluida a fine intervento e con sfintere di Oddi normalmente funzionante e pervio, diventò **nel periodo 1960-1980** un'operazione molto praticata con risultati ottimi nella totalità dei casi (G.Tasca anni '70).

Nel corso degli anni '60 ebbero notevole risonanza e incontrarono un vasto favore nella chirurgia delle vie biliari due tecniche diagnostiche intraoperatorie: la colangiografia e la manometria delle vie biliari. Furono ambedue usate per saggiare l'opportunità o meno di esplorare chirurgicamente l'epatocoledoco una volta asportata la cistifellea e dopo aver incannulato il moncone del dotto cistico.

La Colangiografia Intraoperatoria allo scopo di conoscere dettagliatamente la configurazione anatomica delle vie biliari, l'esistenza di eventuali calcoli e di altre possibili lesioni ostruttive della via principale, il passaggio del mezzo di contrasto in duodeno e/o nel Wirsung, eseguita attraverso il moncone del cistico prima di interessare chirurgicamente il coledoco oppure attraverso un tubo a T già collocato nella via principale a fine intervento per controllare la pervietà finale della via principale, fu una pratica introdotta e proposta per la prima volta ancora nel **1937** da P.L.**Mirizzi**. Tuttavia negli anni che seguirono furono ben pochi i chirurghi che prima del 1960 si mostrarono interessati al problema dei cosiddetti "calcoli silenti" e di quelli "dimenticati" in coledoco durante una colecistectomia. Il tema della colangiografia intraoperatoria rimase vivo e discusso tra coloro che a questo problema cercavano di dare una soluzione definitiva. Tra costoro vanno ricordati in ordine cronologico O.Clagett nel 1945, M.Comfort e coll. nel 1948, M.Lieber nel 1952 e F.Glenn nello stesso anno, H.Doubilet e coll. nel 1954, D.Ferris e coll. nel 1956 e nel 1959.

Il radiologo della Lahey Clinic, Robert E.**Wise**, scriveva nel **1964** che *"il nostro crescente lavoro negli interventi di riparazione del coledoco fu molto facilitato dalla colangiografia intraoperatoria, specialmente impiegando il procedimento di sviluppo Polaroid rapido di 10 o 35 secondi ...oggi con una frequenza in continuo aumento studiamo con la colangiografia preoperatoria i pazienti che hanno problemi a carico dell'epatocoledoco, facendola seguire dalla colangiografia al tavolo operatorio e da una ultima colangiografia prima di asportare il tubo a T"*. In Europa la pratica della colangiografia intraoperatoria da effettuarsi di routine alla fine di una colecistectomia si era molto diffusa negli **anni '60 e '70** soprattutto in quei reparti chirurgici universitari e ospedalieri dove la chirurgia delle vie biliari era una delle colonne portanti della chirurgia addominale e questo ebbe un riflesso pratico-commerciale anche nella costruzione di apparecchi radiologici speciali appesi al soffitto delle sale operatorie per facilitare e accelerare al massimo l'esecuzione delle radiografie ad addome aperto (ad es. il modello "Arcoskop" della Siemens).

Alla Colangiografia Transepatica, introdotta nel **1952** da R.**Carter** e G.**Saypo**, Wise riconosceva una indicazione precisa nella diagnosi differenziale tra l'ittero ostruttivo extraepatico e l'ittero epatocellulare e in tutti i casi di stenosi e litiasi dei dotti biliari. Dopo aver premesso che l'esperienza personale non gli permetteva ancora di trarre un giudizio sui rischi e sulla morbilità di questa indagine radiologica, egli affermava che dall'esame della letteratura l'entità dei rischi appariva modesta pur che fosse garantita l'immediata disponibilità di un intervento di natura chirurgica.

Nel **1967** Deward **Ferris** e William **Sterling**, della Mayo Clinic, che già prima del 1956 eseguivano la colangiografia intraoperatoria di routine in tutti gli interventi sulle vie biliari spendendo per essa non più di 10 minuti e ripetendola in caso di coledocotomia, estrazione

di calcoli e applicazione di tubi a T, a tempo coledocico concluso, prima di richiudere la ferita laparotomica, su 185 colangiografie eseguite prima del 1956, avevano trovato sette casi di calcolosi coledocica non sospettata e citavano Glenn che, usando la stessa metodica fin dal 1952, aveva trovato calcoli insospettiti nel 3-4% dei casi radiografati. Ferris e Sterling tuttavia aggiungevano che *“nonostante tutti i nostri sforzi si verificherà sempre un certo numero di colangiografie falsamente negative”* e a tal proposito ricordavano che il chirurgo tedesco H.**Wildegans** aveva proposto e attuato per maggior sicurezza diagnostica **l'endoscopia del coledoco** già nel 1953. Il fatto di aver *“dimenticato”* in coledoco alcuni calcoli nonostante la colangiografia intra- e postoperatoria era – ed è tuttora – un'esperienza frustrante per ogni chirurgo. In questi casi Ferris e Sterling ottennero successo instillando nel tubo a T una certa quantità di anestetico sulle orme di R.**Best** che nel 1965 pubblicò il metodo del *“flush biliare dei tre giorni”* consistente nella somministrazione per os di un farmaco coleretico associando un miorilassante per via generale e tenendo contemporaneamente clampato il tubo a T : solo in questo modo aveva ottenuto l'evacuazione in duodeno del 40% dei calcoli ritenuti nelle vie biliari. Aggiungendo poi cloroformio riscaldato attraverso il tubo a T era riuscito a far eliminare anche la quota di calcoli residua.

La colangiografia intraoperatoria continuò ad essere impiegata di routine da molti chirurghi specializzati nella cura delle malattie delle vie biliari **per tutti gli anni '70 e primi anni '80** anche se **nell'anno 1970** i giapponesi K.**Takagi** e coll., K.**Ogoshi** e coll., L.**Oi** e coll. avevano pubblicato i primi risultati diagnostici ottenuti con la **Colangiografia Retrograda Endoscopica (ERCP)** resa possibile dall'incannulazione retrograda della papilla di Vater per via endoscopica grazie all'entrata in uso dei due duodenoscopi a visione laterale e testina pieghevole a 180° e provvisti di movimento Albarran delle case Olympus (J.F.B.) e Machida (FDS). In Inghilterra l'ERCP prese subito piede grazie a P.B.Cotton e alla sua scuola che nel **1972** pubblicarono tre lavori: era l'anno in cui anche il giapponese T.Kasugai pubblicava la sua esperienza che ammontava ormai a 353 esami. In Europa continentale e negli USA l'ERCP si affermò e si diffuse più lentamente e **solo dal 1975 in poi**, per affermarsi poi come prima indagine endoscopica con applicazione radiologica retrograda nelle vie biliari e nel Wirsung **nel corso degli anni '80**. Nel 1974 Peter Loeb e coll. del dipartimento di medicina e radiologia dell'Università di California prevedero che *“con l'impiego della ERCP le indicazioni per una colangiografia transepatica e per quella transgiugulare avrebbero subito una riduzione”*. Furono facili profeti, soprattutto per quanto riguardava la transgiugulare, metodo introdotto da W.Hanafee e M.Weiner nel 1967 presso il dipartimento di radiologia dell'UCLA Center di Los Angeles, che incontrò fin dall'inizio scarso interesse e fino al 1973 rimase confinato alla casistica del centro UCLA con 125 esami in tutto e con due complicanze.

Negli anni '80 e '90 l'ERCP divenne l'esame di prima scelta per lo studio del coledoco, del Wirsung e dell'ampolla, pur non eliminando dalla scena delle indagini radiologiche la colangiografia intraoperatoria eseguita anche nel corso di interventi laparoscopici sulle vie biliari e nemmeno la colangiografia transepatica, limitata peraltro a poche indicazioni di assoluta necessità.

Alla **fine degli anni Ottanta** aveva fatto la sua comparsa un nuovo metodo di indagine per la litiasi dell'epatocoleddoco, **l'ecografia endoscopica** (K.**Yasuda** e coll. in *Scand.J.Gastroenterol.* **1986**; P.**Amouyala** e coll. in *Lancet* **1989**), metodo diagnostico che aveva fornito tra il 1992 (L.Palazzo e coll. in *Gastroenterology*) e il 1996 (F.Prat e coll. in *Lancet*) una sicura fattibilità e una sensibilità vicine al 100%.. L'insieme delle altre metodiche di indagine sul coledoco sopracitate raggiungevano invece una gamma di percentuali di sensibilità comprese tra il 18% e il 77% (S.Mitchell e coll. e Amouyala e coll. a metà degli anni '90). Nel **1998** Th.**Montariol** e coll., dell'Associazione francese per la ricerca chirurgica, pubblicarono su *“Surgery”* i risultati di uno studio multicentrico

prospettico controllato e portato a termine tra ottobre 1993 e ottobre 1995 su complessivi 240 pazienti affetti da colelitiasi sintomatica, studio che si prefiggeva di confrontare le caratteristiche della diagnosi preoperatoria di litiasi coledocica con l'ecografia endoscopica versus la colangiografia intraoperatoria. La fattibilità dell'indagine ecografica per via endoscopica risultò pari al 99% rispetto al 90% della colangiografia intraoperatoria laparoscopica e al 93% rispetto al 97% di una colangiografia per via laparotomica; fu registrata una concordanza dei dati positivi e negativi delle due indagini nel 95% dei casi ma la percentuale di discordanze risultò a favore della colangiografia. Sensibilità e specificità furono significativamente maggiori per la colangiografia: 1 e 0,98 versus 0,85 e 0,93 rispettivamente. Anche la capacità di previsione positiva e quella negativa furono significativamente più elevate dopo colangiografia rispetto all'ecografia endoscopica. Gli AA concludevano che *“la colangiografia intraoperatoria rimane un efficiente metodo diagnostico perché fornisce minor numero di dati discordanti e migliori informazioni. L'ecografia endoscopica può invece essere preferita alla colangiografia retrograda tramite ERCP quando si sospetta la presenza di calcoli residui ma non è necessario eseguirla di routine prima di praticare una colecistectomia”*.

La **Manometria e Flussimetria intraoperatoria del coledoco e dello sfintere di Oddi** proposte dal caposcuola francese **P.Mallet-Guy** consentivano di trarre un giudizio attendibile sulle caratteristiche di deflusso biliare a livello della papilla di Vater ed erano utili per diagnosticare l'esistenza di una sfinteropatia nel corso di una colecistectomia onde impedire inutili esplorazioni chirurgiche e strumentali della via principale e papillotomie superflue. I parametri che si ottenevano con queste misurazioni erano quelli della pressione residua, cioè della pressione in assenza di flusso che corrisponde alla pressione a livello della papilla, e del **flusso standard** attraverso la papilla a pressione costante di 30 cm d'acqua. Questo dato dava indirettamente il diametro della papilla di Vater. Queste delicate indagini fatte attraverso il dotto cistico incontrarono difficoltà di applicazione al tavolo operatorio a causa della complessità dell'esame e del tempo troppo lungo che era richiesto per portarlo a termine; furono allora proposte tecniche più semplici e sbrigative che tuttavia rimanevano ben lontane dal fornire dati precisi e veramente attendibili sulla pressione esistente nel coledoco e sulle sue variazioni indotte da farmaci rilassanti dello sfintere di Oddi. L'opportunità di misurare la pressione endocoledocica era legata al bisogno di accertare in corso di colecistectomia per litiasi se esisteva anche la **“Malattia dello sfintere di Oddi”** detta anche **“Oddite”** come fu definita nel **1946** dal celebre chirurgo di Lione. In realtà la malattia dello sfintere di Oddi, alla cui autonomia nosologica Mallet-Guy era giunto attraverso lunghe ricerche sui disturbi funzionali della cistifellea e delle vie biliari e sull'ipersimpaticotonia delle stesse, non era nel 1945 una assoluta novità perché lo spasmo dello sfintere di Oddi era già stato rilevato e descritto nel **1922** da von Bergmann e da Westphal e nel **1923** da Zander mentre la sclerosi dell'Oddi da infiammazione cronica, ossia la vera e propria Oddite cronica, era già stata individuata e descritta per la prima volta nel **1926** da Del Valle e Donovan. Comunque Mallet-Guy, attribuendo alla malattia dell'Oddi la causa di quella fastidiosa e frequente sindrome a tutti nota come il **“domani doloroso del colecistectomizzato”**, diede il via a vivaci e lunghe discussioni tra la fine degli anni '40 e l'inizio degli anni '60. Negata da alcuni e confermata invece da altri, questa malattia descritta da Mallet-Guy ebbe in quegli anni diverse denominazioni quali **“stenosi dell'Oddi”**, **“Oddite stenosante”**, **“Papillite stenosante”**, **“Stenosi della papilla”** e altre ancora. Fu anche dimostrata istologicamente la sua natura flogistica cronica dovuta alla continua irritazione della mucosa dal passaggio prolungato per anni di calcoli e sabbia biliari (M.Roux e coll. 1959; W.Grill e coll.1963). Nel **1966** H.Warren e coll. dell'Università di Chicago, in un lavoro dedicato all'esplorazione chirurgica dell'epatocoledoco per fini diagnostici, scrissero che erano convinti che la stenosi dell'Oddi era una vera entità patologica avendola riscontrata in

molti pazienti come del resto era già stato confermato con la sua grande autorevolezza nel 1957 da R.Cattell nel *“New England Journal of Medicine”*.

Nel 1973 George **Nardi** definì le possibilità diagnostiche della stenosi dell'Oddi, così come si presentavano allora, indicando tra i dati sospetti i valori elevati nel siero di fosfatasi alcalina, di amilasi e lipasi e una dilatazione coledocica alla colangiografia. Fra i test più importanti citava poi la “prova evocativa” di stimolazione pancreatica con iniezione simultanea di 10 mg di morfina e 1 mg di prostigmina. I quattro controlli successivi di amilasemia e lipasemia e il riscontro di una accentuazione dei disturbi soggettivi tipici già accusati da tempo dal paziente servivano per fare la diagnosi clinica preoperatoria specialmente se il test evocativo veniva associato all'esame contemporaneo del succo duodenale estratto da un sondino esofagogastroduodenale a doppio lume. Nel completamento diagnostico intraoperatorio Nardi dichiarava di avere optato, come primo passo, per la esposizione della papilla di Vater attraverso duodenotomia previa ampia mobilitazione della seconda porzione del duodeno e palpazione bimanuale della testa pancreatica lungo il bordo duodenale; una volta visualizzata la papilla, la intubava con un catetere ureterale ed eseguiva la pancreatografia retrograda. Dilatazione, irregolarità e tortuosità del Wirsung e visualizzazione delle sue diramazioni più sottili e periferiche costituivano i dati diagnostici definitivi di una ipertonía sfinterica dell'Oddi e quindi l'indicazione a praticare seduta stante la sfinterotomia o sfinteroplastica.

Con l'avvento dell'ERCP si ripresentò anche la possibilità di far rivivere la manometria della via biliare principale, questa volta per via endoscopica retrograda come attuato e proposto dal tedesco W.Rösch nel 1976 al IX Congresso della Società Tedesca di Endoscopia. Nel 1977 anche F.Hagenmüller e coll. pubblicarono la loro esperienza su questo argomento presso la casa editrice Delmont di Basilea.

La **papillite cronica stenosante** quale causa della pancreatite cronica recidivante fu riconosciuta da G.Nardi e coll. (*Ann.Surg.* 1966) e da J.Toouli e coll. (*Brit.J.Surg.* 1985 e 1996). Per la diagnosi **Toouli** impiegò in pazienti affetti da pancreatite cronica recidivante con anamnesi muta per alcoolismo e litiasi biliare un manometro a triplice via inserito nel canale della biopsia di un duodenoscopia e riscontrò ipertensioni che superavano i 40 mm Hg. individuando così 26 soggetti su 35 reclutati e li sottopose a sfinterotomia e sfinteroplastica attraverso laparotomia sottocostale destra associandovi coledocotomia per inserire una sonda che serviva da repere. In alcuni casi eseguì anche una septectomy per allargare lo sbocco del Wirsung. Dopo 24 mesi di follow-up l'A. constatò di aver ottenuto risultati ottimi in 15 dei 26 operati, soddisfacenti in otto e nulli in tre. La bontà dei risultati corrispondeva pienamente all'entità dell'ipertensione nell'Oddi.

La cura chirurgica della papillite stenosante nel corso del Novecento fu eseguita in vario modo: a) semplice divulsione alla cieca con dilatatori progressivi o con cateteri a palloncino dall'alto per via transcoledocica o transcistica; b) papillotomia dall'alto alla cieca tramite papillotomo; c) papillosfinterotomia per via transduodenale sotto vista con o senza rimozione di una parte dello sfintere e con o senza wirsungotomia. Veniva usato lo sfinterotomo di Doubilet. L'operazione terminava con suture staccate a tutto spessore con filo riassorbibile dell'intero spessore parietale mucoso-sfinterico sui due lati della incisione o resezione. Queste ultime tecniche operatorie, a volte seguite da pancreatite acuta catarrale, già codificate da S.A.**Jones** nel 1952 e anni successivi, furono oggetto di vivo interesse tra i cultori della chirurgia delle vie biliari e del pancreas nel corso degli anni '70 e furono oggetto di pubblicazione nel 1973 da parte di George Nardi della Harvard School e dello stesso Jones della California University. Quest'ultimo, sulla base delle sue 284 sfinteroplastiche, la cui morbidità era stata del 4,6% e la mortalità operatoria del 2%, scrisse che *“con la sensazione di aver scoperto un tesoro, abbiamo trovato che la sfinteroplastica era di grande beneficio nella profilassi e cura dei calcoli biliari residui. Attualmente non esiste per questo intervento una indicazione migliore di questa”*.

La sfinteroplastica alla Jones e quella descritta da P.Tondelli nel 1981 tennero il campo fino a tutti gli anni '80 quando le papillosfinterotomie divennero compito quasi esclusivo dell'endoscopista tramite l'ERCP.

Il **Cancro dell'Ampolla di Vater** tradizionalmente trattato insieme al cancro della testa del pancreas è, dopo di questo, il tumore maligno più frequente della regione coledocopancreatica (A.Nakase e coll in "Ann.Surg." del 1977; J.Forrst e W.Longmire in "Ann.Surg." del 1979). Le resezioni locali dell'ampolla per via transduodenale che erano state eseguite in passato erano già state sostituite dall'operazione di Whipple negli anni Cinquanta e Sessanta del Novecento.

Nel 1995 J.H. Allema e coll., dell'Academic Medical Center di Amsterdam, analizzarono i fattori prognostici della sopravvivenza in pazienti operati di pancreaticoduodenectomia parziale (62 casi) e totale (5 casi) tra il 1984 e il 1992. La sopravvivenza complessiva fu del 50% a 5 anni di distanza dall'operazione, con una mortalità complessiva del 6% e una morbilità del 65% prevalentemente dovuta a processi infettivi endoaddominali. La sopravvivenza fu significativamente influenzata dalla invasione neoplastica dei margini di resezione: 15% se invasivi contro il 60% se indenni. Le dimensioni del tumore dell'ampolla, l'invasione linfonodale e il grading della neoplasia avevano avuto un interessamento lieve e non significativo ("Surgery" 1995).

Precedenti apporti su questo argomento in letteratura degni di segnalazione erano stati quelli di L.Wise e coll. (in "Am.J.Surg." del 1976 – 62 casi), di W.Schlippert e coll. (in "Am.J.Surg." del 1978 – 57 casi), di R.J.Piokowski e coll. (in "Am.J.Surg." del 1982 – 200 casi in un periodo di 12 anni), di B.Jones e coll. (in "Am.J.Surg." del 1985 – quali di questi tumori devono essere asportati?), di K.Yamaguchi e coll. (in "Cancer" del 1987 – 109 casi), di F.Michelassi e coll. (in "Ann.Surg." del 1989 – 647 casi della regione coledocopancreatico-ampollare).

Le **Derivazioni Interne del Coledoco** (coledocoduodenostomia, coledocogastrostomia e coledocodigiunostomia) furono eseguite già nella prima metà del secolo XX in tutti i casi di ostruzione coledocica bassa giudicata irreversibile e non passibile di resezione e, ovviamente, quando non esisteva più la possibilità di anastomizzare il tubo digerente con la cistifellea.

La *coledocoduodenostomia terminolaterale*, di più rara esecuzione rispetto alla *laterolaterale*, era ed è indicata quando una stenosi di qualsiasi natura o l'infiltrazione e ostruzione tumorale del coledoco terminale obbliga a sezionare il coledoco stesso a monte della stenosi e ad abboccarlo alla parete del duodeno in caso di inasportabilità del blocco duodenopancreatico.

La *coledocoduodenostomia laterolaterale* fu ed è tuttora la forma di derivazione biliare più spesso eseguita con l'accorgimento di trasformare la incisione longitudinale della parete anteriore dell'epatocoledoco in bocca trasversale così da ottenere una larga anastomosi che nel 1940 W.Walters e A.M.Snell proposero di corredare di un tubo di Mayo-Sullivan applicato a cavallo dell'anastomosi. Questo tubo "perduto" nel lume coledocico-duodenale aveva due rigonfiamenti che dovevano impedirne la dislocazione e la caduta nel lume intestinale. In seguito i chirurghi che volevano proteggere il processo di guarigione e la tenuta di questa anastomosi applicarono un tubo a T a branca orizzontale lunga alla Cattell facendo fuoriuscire la branca verticale a monte dell'anastomosi attraverso una controincisione coledocica. Nel 1950 F.Lahey e L.Pirtek proposero, come tutore dell'anastomosi postresezione dell'epatocoledoco, l'applicazione di un tubo a T la cui branca orizzontale lunga veniva divisa con una forbice in due doccie così da formare una Y le cui due braccia infilavano i due dotti epatici principali; la branca lunga verticale veniva fatta fuoriuscire a valle dell'anastomosi epatocoledocica.

La *coledocodigiunostomia* fu ed è tuttora la soluzione finale di ricostruzione del deflusso biliare nell'intestino dopo duodenocefalopancreatectomia e dopo pancreatectomia totale

per neoplasie pancreatiche e del coledoco terminale, papilla compresa. L'ansa digiunale viene confezionata a Y sec. il classico metodo di Roux.

La *coledocogastrostomia* fu un intervento eseguito eccezionalmente solo nella prima metà del secolo e poi del tutto dimenticato, come già detto per la colecistogastrostomia

Infine le *anastomosi termino-terminali* dell'epatocoledoco dopo resezione di un tratto di coledoco non rappresentarono mai una percentuale importante nel novero delle varie soluzioni ricostruttive dopo resezione coledocica parziale. Quelle eseguite presso la Lahey Clinic di Boston tra il 1940 e il 1958 fecero segnare una mortalità del 3,9% su 78 casi. Settantatre di questi operati furono seguiti nel tempo dallo stesso Lahey e da Pirtek che riscontrarono risultati a distanza ottimi o buoni nel 60,2% del totale. In 13 pazienti si dovette reintervenire e, grazie anche a questi reinterventi, i risultati completamente nulli si limitarono a dieci. Questi stessi AA pubblicarono nel 1950 i risultati ottenuti in 41 malati affetti da stenosi biliari benigne parziali del coledoco terminale usando la dilatazione strumentale graduata di Bakers seguita da drenaggio con tubo di gomma a T a branca orizzontale lunga applicata in posizione transpapillare in modo da pescare nel lume duodenale per almeno 3 centimetri. I risultati da buoni a ottimi si ebbero nel 75% di questi operati.

Tra le derivazioni biliari di più delicata e rara esecuzione vanno ricordate le *epaticodigiunostomie* su tubo a T pubblicate negli **anni 1935 e 1945** da A.W.Allen e negli anni **1949 e 1952** da W.H.Cole, la *colangiodigiunostomia intraepatica* previa epatectomia parziale pubblicata **nel 1948** da W.P.Longmire e M.Sanford e lo stesso intervento palliativo praticato nel 1979 da C.E.Cahow, previa individuazione preliminare di un dotto epatico periferico subcapsulare che venne incannulato e seguito fino a individuare mediante dilatazione strumentale un dotto di almeno 1-2 cm dentro il fegato, un calibro cioè sufficiente ad assicurare un buon deflusso nell'ansa digiunale ad Y sec. Roux montata e fissata con suture della sua mucosa e sottomucosa alla parete del dotto biliare mentre la sierosa digiunale, previamente scollata dagli strati parietali sottostanti, veniva fissata con un secondo piano di suture staccate alla capsula del fegato. Cahow nei primi 14 pazienti sottoposti a questa operazione ebbe a lamentare tre decessi (21%). La sopravvivenza media fu di 16 mesi che, trattandosi di una operazione solo palliativa, fu considerata un risultato migliore di quelle di 20 o 24 mesi riportate rispettivamente da A.Evander e coll. nel 1980 e dai francesi B.Launois e coll. nel 1979 con complesse e difficili operazioni resettive praticate con intenti radicali..

Nel **1981** James Goodnight, della sezione di chirurgia oncologica dell'università di California, nel fare il punto sulle neoplasie maligne dell'epatocoledoco, concludeva che *"l'asportazione completa del tumore assicura una sopravvivenza più lunga di tutte le altre operazioni ma la maggior parte dei pazienti finisce per soccombere alla malattia. Tuttavia, un trattamento aggressivo per asportare il tumore o bypassare l'ostruzione migliora assai la qualità di vita e la sopravvivenza in molti pazienti"*.

La ***Fistoloenterostomia*** fu proposta ed eseguita nel **1952** da M.Hayes e F.Coller. Questa operazione fu eseguita da altri chirurghi diverse volte anche prima di tale data con lo scopo di liberare i portatori di fistola biliare dal fastidio dovuto alla continua perdita di bile dall'orificio cutaneo della fistola che andava invariabilmente incontro ad arrossamenti e ulcerazioni dolorose e richiedeva un trattamento protettivo della cute particolarmente noioso e deprimente. Tuttavia i risultati delle fistoloenterostomie non furono pari alle speranze e agli entusiasmi iniziali. Molti insuccessi furono dovuti al ripetersi dell'ostruzione biliare dovuta alla stenosi cicatriziale del tragitto fistoloso come attestato nel 1950 da Lahey e nel 1951 e 1952 da O'Malley e coll. Da allora in poi la fistoloenterostomia fu abbandonata definitivamente.

Nel **1973** Stanley **Hoerr** e Robert **Hermann**, della Cleveland Clinic Foundation, pubblicarono una relazione magistrale sulla ***coledocoduodenostomia*** da loro assegnata alle

seguenti indicazioni: ostruzione maligna del coledoco terminale e ostruzione benigna da litiasi coledocica ricorrente, da calcoli ritenuti o dimenticati nella via principale, da recidiva di stenosi sfinterica dell'Oddi dopo sfinterotomia, da stenosi extraepatiche del coledoco. Questi AA sottolinearono che le chiavi del successo di una coledocoduodenostomia con manovra alla Heineke-Mikulicz sulla coledocotomia erano la buona vascolarizzazione dei tessuti sui quali si operava, l'accurato accostamento senza tensione delle pareti duodenale e coledocica e degli strati di sutura e la confezione di un lume confacente all'uso. Le opzioni disponibili ad anastomosi terminata andavano dalla rinuncia ad un drenaggio tubulare interno endoluminale posto a cavallo della neoanastomosi oppure all'applicazione di un tubo a T di calibro 16-20 French fatto fuoriuscire all'esterno dalla parete duodenale con incisione a parte. Questo tubo a T veniva rimosso dopo 3-6 settimane oppure, se la branca esterna veniva fatta uscire dal coledoco a monte dell'anastomosi, dopo 10-14 giorni. In alcuni casi il tubo a T venne sostituito da un breve tubo di gomma fissato con un punto di sutura alla linea anastomotica. Dove la bocca anastomotica risultava abbondantemente ampia Hoerr e Hermann non lasciavano nessun tutore. Tra il 1950 e il 1970 i due AA operarono 48 pazienti per stenosi maligne; questi morirono in media intorno ai 7 mesi dopo l'operazione. Per stenosi benigne i pazienti sottoposti a coledocoduodenostomia furono 44 senza alcuna mortalità e con un solo caso di reintervento per stenosi secondaria dell'anastomosi. Il dato più saliente emerso dall'esperienza di Hoerr e Hermann fu che la coledocoduodenostomia non è mai gravata da colangite ascendente, complicanza questa temuta da molti e che aveva fatto optare per altre soluzioni di tipo chirurgico.

Nel 1994 Leslie H. Blumgart, del Memorial Sloan-Kettering Cancer Center di New York, nel riferire la sua esperienza sulle anastomosi ilari e intraepatiche tra albero biliare e ansa digiunale a Y sec. Roux, consistente in 350 operazioni di questo tipo eseguite tra 1983 e 1993 per stenosi benigne e maligne dell'epatocoledoco all'altezza dell'ilo epatico, sostenne la grandissima utilità dell'impiego, nei casi più difficili, dell'anastomosi tra ansa digiunale e dotto epatico sinistro. **Blumgart** descrisse minutamente la tecnica operatoria delle due possibilità di accesso a questo dotto: 1°- sezionando il ponte di tessuto epatico che corre dalla base del III a quella del IV segmento; 2°- con dissezione iniziata alla base del legamento rotondo previamente sezionato e tenuto in sospensione da un assistente. Questi due accessi hanno dato a Blumgart la possibilità di effettuare con pieno successo molte **epatico-digiunostomie**. Tra le anastomosi biliodigestive di assoluta necessità molto più raramente eseguite l'A. citava l'epaticodigiunostomia con il dotto del III segmento e la intraepaticodigiunostomia con il dotto epatico destro. Secondo Blumgart l'epaticodigiunostomia con il dotto epatico sinistro secondo Longmire e Sanford e l'omologa con il dotto destro conservavano la loro indicazione solo nei rari casi di atrofia/ipertrofia del fegato oppure quando la neoplasia occupa e blocca del tutto la fessura ilare e quella ombelicale.

SPLENECTOMIA E SUE INDICAZIONI

L'indicazione alla splenectomia che ha sempre superato e supera tuttora numericamente tutte le altre è quella della rottura traumatica o spontanea della milza con conseguente emoperitoneo. Nulla è cambiato a tale riguardo nel corso del Novecento, fatta eccezione per il progressivo abbandono di taluni metodi conservativi (tamponamento e sutura)

praticati prima della I Guerra Mondiale (1914-1918). Per le altre indicazioni la loro evoluzione viene qui di seguito tracciata a grandi linee.

La Splenite, per lo più secondaria a flogosi suppurative di altri organi (fegato, polmoni, reni, ecc.), con facile esito in ascessi della milza, malattia ben presente nei trattati di terapia dei primi anni del secolo XX, veniva curata nelle sue fasi iniziali, caratterizzate da vivo dolore in ipocondrio sinistro, splenomegalia e febbre di tipo suppurativo, con ghiaccio locale e sanguisugio in ipocondrio sx, mentre, a formazione d'ascesso avvenuta, il malato veniva inviato al chirurgo che sceglieva la cura più appropriata (incisione e drenaggio oppure direttamente splenectomia) in considerazione delle condizioni locali trovate ad addome aperto (perisplenite adesiva, raccolte ascessuali perispleniche, fistole, interessamento dell'emidiaframma sinistro, ecc.). La prognosi era molto grave: **Reysset prima del 1908** dava un 80% di mortalità. Le possibilità diagnostiche dell'epoca erano ancora molto scarse per quanto riguardava la localizzazione esatta di un ascesso subfrenico e ancor di più per diagnosticare un ascesso splenico. Fu lo sviluppo negli anni '70 della radiologia (TC), dell'impiego dei radionuclidi per le scintigrafie e dell'ecografia che, sfruttando i nuovi aghi da esplorazione cavitaria e l'introduzione nell'ascesso di cateteri 20 French, consentì di raggiungere con sicurezza qualsiasi raccolta purulenta endoaddominale e di drenarla all'esterno con una percentuale e tipo di morbidità accettabili. Uno degli iniziatori di queste importanti nuove metodiche fu **Stephen Gerzhof**, docente di ecografia, scintigrafia e Body CT presso la Tufts University di Boston, che **tra il 1981 e il 1986** diede alle stampe su diverse riviste mediche una lunga serie di articoli sull'uso estensivo dei drenaggi percutanei di ascessi semplici e complessi e di cisti suppurate con sede endoperitoneale: nel 1981 pubblicò i suoi primi 86 casi di ascessi endoperitoneali trattati con successo per via percutanea. Altri pionieri in questo settore furono Brolin e coll (90 casi – 1984), von Sonnenberg e coll (85 casi – 1982), Pruett e coll. (96 casi – 1984). A livello splenico tutti gli ascessi semplici drenati per via percutanea da S. Gerzhof (1981-1986), da W. Berkman e coll (1983) e da R. Lerner e coll: (1984) guarirono con scarsa morbidità ma gli ascessi complessi necessitarono spesso della cura chirurgica.

La splenomegalia cronica da malaria nei primi decenni del Novecento veniva trattata chirurgicamente (splenectomia) solo quando le cure mediche (cura di Mosler a base di chinino e olio di eucalipto e altre pozioni contenenti china calisaya ed estratto di eucalipto) non riuscivano a far diminuire il volume splenico che provocava notevoli disturbi al paziente. In quegli anni, prima di decidersi a favore della splenectomia, alcune scuole internistiche ricorrevano nelle più voluminose splenomegalie alle iniezioni endospleniche di acqua sterile, di chinino, di soluzione al 2% di acido fenico, di tintura di jodio, di ergotina, di liquore arsenicale di Fowler.

Ancora negli **anni Trenta** la letteratura medica informava che le spleniti acute evolute in suppurazione con l'aiuto di applicazioni calde all'ipocondrio sinistro, venivano sottoposte *“per evitare la rottura dell'ascesso in cavo peritoneale libero ad incisione dell'ascesso drenandolo all'esterno e, quando ciò non era possibile, alla splenectomia”* (M. Bufano, 1932). Per le cisti emorragiche di grande volume e fastidiosamente sintomatiche la cura chirurgica variava dalla incisione semplice, seguita da immediata marsupializzazione, alla splenectomia e le stesse possibilità tecniche venivano indicate per una cisti idatidea. Per i tumori splenici, di cui venivano citati emangiomi e linfangiomi cistici da un lato e sarcomi dall'altro, l'indicazione era netta: splenectomia.

Negli anni '40 era comunemente accettato che una splenomegalia che non si riduceva di volume e di peso con le cure mediche *“doveva essere asportata chirurgicamente a titolo profilattico”* (Alain **Mouchet**, 1947). Ottimi risultati erano segnalati con la splenectomia nelle splenomegalie da ittero emolitico. Per la splenomegalia da Malattia di Gaucher (lipidosi glicosil-cerebrosidica ereditaria) dove il mielogramma presenta le cellule tipiche di questa tesaurismosi, la splenectomia era l'unico metodo di cura efficace e, a fine secolo

XX, era ancora eseguita quando venivano constatate anemia, leucopenia, trombocitopenia oppure quando i disturbi determinati dall'eccessivo volume e peso della milza lo richiedevano. I francesi Harvier e Lebée che la eseguirono negli anni '30 e '40 in tredici pazienti ebbero 10 successi e tre decessi postoperatori. La scoperta nel secondo dopoguerra di importanti deficit di glucocerebrosidasi nei malati di m. di Gaucher fu alla base di tentativi di cura medica nei decenni successivi con somministrazione di questo enzima ma i risultati non furono sempre brillanti e sicuri. La mortalità pediatrica era altissima nel primo anno di vita. Invece i bambini che riuscivano a sopravvivere fino all'età adulta avevano davanti a sé buone prospettive di vita normale o quasi pur restando esposti al rischio di splenomegalia, anemia, ecc. e queste erano le situazioni in cui ancora negli anni '80 e '90 la splenectomia otteneva pieno successo.

Sempre negli anni '40 la splenectomia era indicata per la cura della splenomegalia egiziana o bilharziosa. Prima di arrivare alla splenectomia si tentava di curare la splenomegalia con l'emetina che però non poteva impedire l'esito fatale della malattia. Anche la splenectomia, se si voleva salvare questi malati, doveva essere praticata nelle fasi precoci del male. Weill e Gregoire riferirono una mortalità operatoria tra il 10 e il 16%. In seguito la splenomegalia da bilharziosi fu riconosciuta essere una componente della sindrome d'ipertensione portale da cirrosi epatica secondaria allo sviluppo delle uova del parassita nel parenchima epatico e da allora la splenectomia non fu più eseguita.

La Sindrome di Banti, che fino agli anni '50 fu anche chiamata "Anemia Splenica dell'Adulto" e che aveva una evoluzione progressiva in tre stadi (splenomegalia e anemia ipocromica; ipertrofia epatica e subittero ed emorragie digestive; cirrosi terminale), fu trattata negli **anni '30 e '40** con la splenectomia preferibilmente nel primo stadio, quando la mortalità operatoria era più contenuta (12%) rispetto a quella del terzo stadio che arrivava al 56%. Nella seconda metà del secolo il morbo di Banti, ormai identificato come "Splenomegalia Congestizia Secondaria" a trombosi della vena porta o della vena splenica o ancora a malformazioni congenite del circolo portale, trovava un suo specifico trattamento a seconda della causa che l'aveva provocata: splenectomia nella trombosi della vena splenica; eparinoterapia dapprima ed eventuale shunt porto-cava poi nella trombosi acuta della vena porta e nella cirrosi atrofica del fegato.

La Porpora Trombocitopenica Idiopatica detta anche **M. di Werloff** oppure Trombocitopenia Essenziale di Frank, descritta da Werloff già nel 1735, di ignota eziologia, è una malattia che può presentarsi in forma acuta (che tende a guarire spontaneamente nell'80% dei casi) o in forma cronica o cronicizzata dopo un esordio acuto; nelle forme acute caratterizzate da emorragie troppo abbondanti e diffuse la mortalità operatoria nei primi tre decenni del Novecento raggiunse cifre proibitive (83%) per cui già nel **1947** Mouchet avvisava che era meglio astenersi dall'eseguire una splenectomia che restava invece il trattamento di elezione per tutte le forme croniche ad attacchi subentranti e con anemia progressiva. **Negli anni '70** P.Larizza e G.Nenci consigliavano la cura steroidea per 6 mesi: se dopo detto periodo mancava una buona risposta anche a dosaggi di 10 mg di prednisone pro die, passavano alla splenectomia che dava una remissione completa della piastrinemia nel 60% dei casi, un'accettabile risalita del numero delle piastrine nel 20% e assenza di risultati nel restante 20% degli splenectomizzati. A quell'epoca era anche possibile prevedere quale sarebbe stato l'effetto della splenectomia individuando qual'era la sede effettiva della distruzione delle piastrine mediante marcatura piastrinica con Cr51 e conteggio della radioattività di superficie. I risultati migliori si ottenevano quando il rapporto di radioattività milza/fegato era superiore a 3.

Nel **1984** Roland Hiss, docente di Medicina Interna presso l'Università del Michigan, scrisse che negli USA era stato calcolato che solo il 25% dei casi trattati fin dall'inizio con corticosteroidi otteneva una guarigione stabile. Del restante 75% la metà o poco più

sottoposta a splenectomia guariva definitivamente; rimaneva una quota oscillante tra il 25 e il 30% che non rispondeva nemmeno alla splenectomia. In questi casi fu adottata con successo la cura medica con farmaci immunosoppressivi.

Nel 1991 Delaitre e coll. pubblicarono sulla “*Presse Médicale*” il primo caso di splenectomia per Porpora trombocitopenica autoimmune **per via laparoscopica** con accesso anteriore. **Nel 1994** C.D.Smith e coll. dell’università di Cincinnati eseguirono la prima splenectomia per via laparoscopica con accesso laterale. Nel **1996** questi stessi AA pubblicarono su “*Surgery*” l’intera casistica di 10 operati di splenectomia laparoscopica con accesso laterale confrontando questo metodo con la splenectomia tradizionale per via laparotomica in altri 10 pazienti. Contro un allungamento dei tempi di anestesia (324’ versus 176’) e di operazione chirurgica (261’ versus 131’) si ebbe un accorciamento del periodo di digiuno (1,9 versus 4,4 giorni), di permanenza di sondino nasogastrico (1,2 versus 2,6 giorni) e di degenza (3,0 versus 5,8 giorni). I vantaggi sottolineati dagli AA furono quelli della più rapida ripresa della funzione gastrointestinale e del ridotto tempo di degenza ospedaliera. Ancora nel giugno 1997 su “*Arch.Surg.*” G.Tsiotos e R.Schlinkert pubblicarono 18 casi di splenectomia laparoscopica per porpora trombocitopenica di cui 16 operati in semidecubito laterale destro con un follow-up da 1 a 14 mesi. Questi AA sostenevano che con l’esperienza la durata dell’operazione poteva scendere del 30% e finanche del 50%. Lo studio della letteratura che a fine secolo era diventata veramente abbondante faceva rilevare che l’eccessiva perdita emorragica difficile da dominare per via laparoscopica aveva fatto registrare conversioni in laparotomia per percentuali variabili dal 9% al 25% (U.Yee e coll. in “*Arch.Surg.*” 1996; A.Emmermann e coll. in “*Surg.Endosc.*” 1995; E.Philips e coll. in “*Surg.Endosc.*” 1994).

Per quanto riguarda l’Ittero Emolitico da Sferocitosi (o almeno certe forme di ittero emolitico) dove la splenomegalia rappresentava il maggior sintomo con milze che raggiungevano la cresta iliaca, furono riconosciuti la natura ereditaria fin dalla prima metà del secolo XX e – per quanto riguardava la terapia - il fatto che “*la splenectomia rappresenta in realtà l’unica arma disponibile*” (Mouchet, 1947). Negli anni ’40 prima di praticare la splenectomia si usava fare una trasfusione con emazie lavate, dopo la splenectomia con sangue normale. La mortalità operatoria di quel periodo si aggirava sul 3-5%. Tutta la letteratura intorno a questa malattia congenita apparsa nella seconda metà del Novecento non ha fatto altro che confermare quanto già noto mettendo in rilievo gli ottimi risultati della splenectomia, unica terapia indicata in tutti i pazienti di età inferiore ai 45 anni (specie se è presente anemia), quando si manifestano episodi di ittero o di colica biliare. Dopo l’operazione, con il beneficio dovuto all’aumento della conta degli eritrociti e alla normalizzazione della conta reticolocitaria, la scomparsa dell’attività fagocitaria della milza assicurava uno stato di benessere anche se la sferocitosi non era eliminata.

MALATTIE CHIRURGICHE DEL PANCREAS

Sono, a parte le rarissime lesioni traumatiche, le pancreatiti acute e croniche con le loro sequele e le neoplasie.

Pancreatite Acuta Emorragica

Questa malattia acuta è quella che, ben più della pancreatite acuta edematosa (G. Tasca 1960), ha interessato direttamente e impegnato a fondo i chirurghi fin da tempi lontani. Si tratta del famoso “*dramma pancreatico*” di **Dieulafoy** la cui descrizione magistrale resta un classico capolavoro della letteratura medica ma la storia assegna a Balser, un allievo di Ponfick, la prima descrizione nel **1882** della “*necrosi grassosa acuta del pancreas*” e fu il patologo americano Fitz di Boston a pubblicare il primo studio d’insieme delle pancreatiti acute emorragiche. In Francia le prime descrizioni erano state fatte da Chantemesse e

Griffon, da Lenormant e Lecène. Le ricerche in campo patogenetico condotte nel primo ventennio del secolo posero in primo piano i precedenti traumatici (caso pubblicato da Rolleston di pancreatite acuta avvenuta a 18 mesi di distanza dal trauma), la calcolosi biliare spesso tirata in causa dopo il primo caso denunciato da Thayer, le malattie infettive nonostante la assoluta negatività batteriologica riscontrata più volte da Bryant, Porter e Lund e infine l'autodigestione dovuta al fermento "**steapsina**" (nome dato allora alla lipasi pancreatica). Scriveva a tal proposito **Gosset** nel **1908**: "*...la steapsina digerirebbe i grassi contenuti nelle cellule adipose della cavità addominale, la tripsina attaccherebbe da parte sua la parete dei vasi e in tal modo sarebbero provocate le caratteristiche emorragie. Questa teoria è appoggiata dalle numerose esperienze fatte in proposito*". Gli esperimenti cui Gosset accennava erano quelli dell'iniezione nel Wirsung di cloruro di zinco (Thioloix), di succo gastrico (Hlava), di papaina (Carnot), di bile (Opie), di legatura in massa del pancreas vicino all'imbocco del Wirsung (Doberauer). L'indirizzo terapeutico era nettamente ed esclusivamente chirurgico e il piano operativo era il seguente: previa apertura del legamento gastrocolico si constataba l'entità e i caratteri della lesione, si isolava con tamponi di garza l'ematoma che veniva quindi inciso sulla sua parte più sporgente e vi si applicava un drenaggio che assicurasse lo scolo all'esterno del materiale ivi raccolto. Nella casistica di Lenormant e Lecène su 36 operati si ebbero 30 decessi ma i chirurghi facevano notare che i 6 malati guariti sarebbero stati, senza la chirurgia, sicuramente votati alla morte.

Le notevoli difficoltà diagnostiche della prima metà del secolo posero sempre un difficile e complesso problema di diagnosi differenziale con altre malattie acute dell'alto addome come la perforazione dell'ulcera peptica, l'infarto intestinale, una colica biliare persistente, un infarto miocardico. Su 192 casi raccolti da Brocq solo 39 volte la diagnosi preoperatoria risultò corretta, nei restanti 153 pazienti la diagnosi fu fatta solo alla laparotomia esplorativa eseguita quasi sempre d'urgenza. Nel **1947** Pierre **Mallet-Guy** descrisse come molto caratteristica la constatazione di un punto doloroso elettivo e molto circoscritto in sottocostale sinistra facendo decubare il paziente sul fianco destro. Negli anni precedenti Goldmann e, in Francia, Mondor avevano sottolineato l'importanza del segno diagnostico dell'assenza di pneumoperitoneo nella distinzione tra una perforazione gastrointestinale e la presenza invece di una opacità anomala e piuttosto massiccia, alla radiografia in bianco dell'addome, corrispondente per sede alla massa infartuata ed emorragica del pancreas. Altri elementi utili alla diagnosi evocati fin dai primi anni del secolo furono il reperto di una iperglicemia improvvisa in soggetti certamente non diabetici (per Calzavara 90% di positività), di una glicosuria peraltro di più raro riscontro, di una iperamilasemia e iperamilasuria. L'ampio ricorso alla laparotomia esplorativa fu però il caratteristico riscontro diagnostico di tutta la prima metà del XX secolo.

Fin dai primi anni del Novecento i chirurghi che si trovavano di fronte ad un infarto emorragico totale o subtotale del pancreas si proposero l'obiettivo di ripulire del tutto il focolaio necrotico-emorragico, tamponare le perdite di sangue più cospicue e drenare efficacemente la loggia pancreatica. I risultati complessivi di questo trattamento aggressivo furono piuttosto deludenti. Le operazioni di questo tipo eseguite dagli ultimi anni dell'Ottocento **fino al 1910-1915** comportarono – come ebbe modo di rilevare **Brocq** - una mortalità media del 78% che fu vista scendere lentamente al 68% tra la fine della prima Guerra Mondiale e il 1940. Questo limitato miglioramento fu ottenuto riducendo il trauma chirurgico al solo drenaggio della loggia pancreatica e ad una colecistostomia: questo comportamento fu dettato dalla convinzione che la causa della pancreatite acuta fosse, se non sempre, il più delle volte una litiasi delle vie biliari. Con tutto ciò la mortalità media degli operati trattati solo con il drenaggio, il tamponamento delle perdite di sangue e la colecistostomia senza procedere a necrosectomie rimase intorno al 35%.

Nel **1947** Mallet-Guy ammise che ormai molti tra gli internisti e i chirurghi più autorevoli contestavano il principio della laparotomia d'urgenza e ammettevano che fosse giustificato intervenire solo nel caso in cui il focolaio emorragico si fosse infettato e si rendesse necessario evacuare la raccolta purulenta

R.Léris, che considerava del tutto insufficienti i risultati ottenuti con il drenaggio della loggia pancreatico e la colecistostomia, consigliò di limitarsi a quest'ultima.

Le scuole tedesche di chirurgia degli anni '30 e '40 si fecero sostenitrici dell'astensione totale da qualsiasi manovra chirurgica: Nordmann informò che questo radicale capovolgimento di strategia aveva ridotto la mortalità globale dal 50% al 24%, Walzel dall'86% al 28%, Demel dal 78% al 26%, von Haberer dal 57% al 23%. L'astensione chirurgica seguita da questi AA si accompagnava però alla cura medica a base di atropina allo scopo di inibire le secrezioni digestive, di adrenalina contro lo shock, di sali di calcio, iposolfito di sodio, soluzione fisiologica e, se necessario, insulina,

In Francia P.Mallet-Guy e P. Marion si fecero anch'essi sostenitori di questo nuovo indirizzo terapeutico e aggiunsero a questo schema l'infiltrazione novocainica dei nervi splancnici, accorgimento che si rivelò utile per combattere efficacemente il forte e persistente dolore epigastrico e per favorire una evoluzione benigna del male.

Sia gli AA tedeschi che quelli francesi rimanevano *"in attesa armata"*, pronti a intervenire chirurgicamente in qualsiasi momento davanti ad una improvvisa forte anemia da emorragia interna e per curare adeguatamente le complicanze infettive, tutt'altro che rare, del focolaio necrotico-emorragico. L'infiltrazione novocainica degli splancnici fu usata in Francia con successo anche per la cura della pancreatite acuta edematosa.

Per quanto riguarda le sequele della pancreatite acuta necrotico-emorragica le soluzioni terapeutiche impiegate **fino agli anni '50** furono le seguenti: 1°- nei casi di Pseudocisti Postnecrotica le prime operazioni eseguite furono quelle della cosiddetta "marsupializzazione" che consisteva nella incisione e drenaggio esterno senza asportare le pareti della pseudocisti e, ove possibile, la estirpazione dell'intera pseudocisti, intervento più rischioso e più difficile. A parte la mortalità (3% con la marsupializzazione, 10% con la resezione della pseudocisti e della coda del pancreas; 5-7% con la resezione parziale sec. i dati pubblicati dal chirurgo tedesco Goebbel nel 1907) la sequela pressoché inevitabile di questi interventi era la fistola.

Mallet-Guy ottenne buoni risultati nei casi in cui la pseudocisti era situata nella coda del pancreas eseguendo la pancreatectomia sinistra detta anche *"d'amont"*.

Ombredanne fu invece propugnatore di un'anastomosi tra pseudocisti e prima ansa digiunale. Brocq e Albouker controllarono i risultati a distanza di 17 operati con anastomosi interne di vario tipo (gastriche, duodenali, digiunali) e trovarono una guarigione radiologicamente confermata nel 90%.

2°- nelle Fistole Pancreatiche, caratterizzate da un'estrema variabilità di gravità clinica complessiva, di quantità di succo pancreatico escreto nelle 24 ore, di danni alla cute addominale, di necessità di frequenti medicazioni, di tolleranza dell'infermità da parte del paziente, lo schema di cura definito da Mallet-Guy nel 1947 contemplava due tempi successivi, la fase medica e quella chirurgica. Nella prima fu molto usato il regime antidiabetico di Wohlgemuth che, a detta dell'A., aveva dato numerosi successi; oltre a questo furono impiegate anche l'erepsina per os (albumine già degradate dalla tripsina), l'atropina e l'insulina. La fase chirurgica disponeva di tre tecniche rappresentate rispettivamente dall'ampio drenaggio del tragitto fistoloso onde sopprimere ogni effetto di raccolta in profondità, la resezione completa del tragitto fistoloso (fistolectomia), l'anastomosi del tragitto fistoloso con il lume del tubo digerente (stomaco o duodeno o digiuno). Mallet-Guy basava la sua strategia a seconda della sede della perdita wirsunghiana: quando essa era a destra della linea mediana praticava una fistoloanastomosi, quando invece era a sinistra praticava l'asportazione della coda

pancreatica. Naturalmente il presupposto diagnostico era dato in ogni caso dalla fistulografia.

3°- nelle Suppurazioni Pancreatiche ancora poco studiate all'inizio degli anni '50, la cura consisteva nell'incisione della raccolta purulenta e nel suo drenaggio quasi sempre per via laparotomica, molto più di rado per via lombare retroperitoneale.

Nel 1963 John H. Mulholland, del Bellevue Hospital di New York, dava per universalmente accettata l'astensione dalla terapia chirurgica nella fase acuta della pancreatite necrotico-emorragica ivi compresi i vecchi interventi di "decompressione" della via biliare (v.sopra). La terapia dunque, tutta medica, era quella già descritta da Mallet-Guy nel 1947 salvo l'aggiunta del ricorso all'infusione di plasma, di concentrato d'albumina, di sangue intero tenendo presente che nelle prime 24 ore potevano accumularsi in addome da 3 a 4 pinte di sangue con evidente grave pericolo di shock ipovolemico; si ricorreva anche a somministrazione di vitamina K, antibiotici e sostituzione di liquidi ed elettroliti. Una eventuale fase chirurgica subentrava in caso di erosione triptica di vasi arteriosi di un certo calibro con conseguente improvvisa emorragia interna e, nella evoluzione suppurativa, di raccolte nella retrocavità degli epiploon.

E.Cliffon, del Cornell University College di New York e chirurgo dello Sloan-Kettering Institute, **nel 1965** scriveva che *"nei casi in cui le manifestazioni della pancreatite acuta sono lievi e la diagnosi è praticamente sicura, può bastare la terapia medico-dietetica e l'intervento chirurgico non trova indicazione. Quando le condizioni sono più gravi, e quando i reperti clinici indicano una maggior compromissione del pancreas, si rende necessario un intervento immediato che assicuri il drenaggio delle secrezioni pancreatiche e del materiale necrotico e che aggiri la ostruzione delle vie escrettrici (colecistostomia o coledocotomia con drenaggio). Nell'ascesso pancreatico è sufficiente il semplice drenaggio."*

Nulla di sostanzialmente nuovo veniva detto sulle sequele tardive della pancreatite acuta necrotico-emorragica fatta eccezione per i richiami all'esperienza di H.B. **Schoemacker (1954)** che aveva praticato il drenaggio interno delle pseudocisti pancreatiche mediante cistodigiunostomia su ansa a Y sec. Roux, e a quella del francese M.**Mercadier (1961)** che aveva eseguito l'anastomosi pseudocistoduodenale per le pseudocisti della testa del pancreas. Mulholland riferiva che le pseudocisti avevano dimostrato di autocollassarsi dopo sfinterotomia dell'Oddi come pubblicato ancora nel 1952 da H.Doubilet e coll. e nel 1960 da W.Grimes su 17 casi così trattati.

Nel 1967 Marion C.Anderson e colleghi, della Northwestern University Medical School di Chicago, diedero alle stampe una revisione storica degli studi sperimentali condotti fin dal 1862 da P.L.Panum sulle modificazioni circolatorie che si verificano nella pancreatite acuta. Sia la circolazione locale che quella generale sono fortemente interessate e le loro alterazioni sono direttamente proporzionali a quelle del processo infiammatorio e del quadro clinico: questo è quanto gli AA deducevano dai molteplici dati sperimentali che qui cerchiamo di riassumere: 1°- la pancreatite acuta provocava con l'azione autodigestiva del tripsinogeno attivato in tripsina (Rich e Duff, 1936) una progressiva riduzione del flusso arterioso splancnico che compensava l'ipovolemia sistemica ma riduceva l'apporto di ossigeno alla ghiandola malata (dimostrazione di R.Lillehei e coll. 1964; di H.Popper e coll. 1948; di R.Menguy e coll. 1957; di Anderson e coll sul cane 1967). 2°- la penetrazione di tripsinogeno non ancora attivato e di tripsina negli spazi interlobulari del pancreas provocava un forte aumento della permeabilità capillare con stravasi sanguigni (dimostrazioni dei francesi A.Bernard e coll. 1958; di C.A.Dragstedt, 1943; di M.Hollenberg e coll. 1962; di G.P.Lewis, 1960; di J.W.Ryan e coll. 1965; di M.C.Anderson e J.Bergan, 1962). 3°- nella pancreatite acuta si verificava sempre ipertensione portale (dimostrazioni di Menguy e coll. 1957; di M.Anderson 1963) e congestione intraepatica (dimostrazione di Schoemacker e coll. 1965). 4°- nella pancreatite

acuta linfatici e linfoghiandole presentavano un ingorgo di linfa mista a globuli rossi che ostruivano le vie di deflusso (dimostrazioni di A.Dumont e coll. 1960 e di A.Duprez e coll. 1962). 5°- il sequestro di volemia circolante in una persona di 70 Kg di peso fu calcolato pari o superiore a due litri (dimostrazioni di J.Ryan e coll. 1965 e di M.Anderson 1966).

Queste ricerche contribuirono non solo a conoscere meglio la fisiopatologia del “dramma pancreatico” ma ebbero anche il merito di formulare un nuovo traguardo per la cura medica di attesa armata che **nel 1975**, sec. Larry C. **Carey** dell’università statale dell’Ohio, si prefiggeva appunto di arrestare l’evoluzione della malattia, di correggere le anomalie emodinamiche locali e sistemiche, di curare le complicanze generali e quelle locali. Lo schema di cura medica aggiornato a quella data prevedeva una notevole riduzione d’impiego delle sostanze anticolinergiche affidando la cura del dolore alla meperidina o alla codeina, la messa a dimora di un sondino nasogastrico per tutta la durata della fase acuta, la copertura antibiotica con cefalosporine, il blocco anestetico dei nervi splancnici e, nei primi 4 giorni, una pronta e robusta lotta allo shock ipovolemico con continui controlli di pressione venosa centrale, pressione arteriosa, ematocrito e diuresi evitando le soluzioni glucosate e dando la preferenza al Ringer-lattato insieme a 1-2 litri di soluzione di albumina al 5%

La quantità di destrano non doveva superare un litro pro die. Fu riconosciuto l’effetto nefasto della noradrenalina e del meteraminolo nella ipotensione arteriosa delle prime 24 ore, ipotensione che da allora in poi venne prevenuta e combattuta con rimpiazzo dei liquidi perduti e sequestrati. Per correggere l’acidosi si convenne che di solito bastava correggere l’ipovolemia e, solo in caso di sua persistenza, si faceva ricorso a 50 ml di soluzione di bicarbonato di sodio fino a correzione stabile del pH. Le soluzioni gluconate di calcio 1 gr. ogni 8 ore erano usate solo di fronte a situazioni evidenti di ipocalcemia.

Una novità di cattivo significato prognostico messa a fuoco **nell’anno 1974** da D.**Halmagyi** e coll. e da J.**Ranson** e coll. furono le complicazioni polmonari della pancreatite acuta con grave compromissione delle condizioni generali del paziente: si trattava di insufficienza respiratoria crescente dovuta in parte ad abbondanti versamenti pleurici. Il continuo controllo della ossiemia arteriosa, l’uso dei diuretici, la respirazione assistita ed eventuali toracentesi evacuative fecero da allora la comparsa nel complesso trattamento delle pancreatiti più gravi e complicate.

Carey ammetteva che sulla cura chirurgica esistevano opinioni del tutto opposte e, a tale riguardo, citava N.Waterman e coll. che nel 1968 avevano sostenuto la bontà del metodo del drenaggio a suzione e, sul lato opposto, D.Lawson e coll. che difendevano la cura chirurgica. Per Carey *“c’è una sola giustificazione per prendere in considerazione la cura chirurgica in corso di pancreatite acuta ed è quella che si adotta quando la cura medica è inefficace”*. Nel corso di una laparotomia decisa per tale situazione l’A. consigliava di esaminare bene le condizioni delle vie biliari anche mediante colangiografia intraoperatoria, di rimuovere subito eventuali calcoli indovati nell’ampolla di Vater o di ripiegare su una colecistoduodenostomia associando una gastrostomia su catetere a palloncino per liberare il paziente dal fastidio del sondino nasogastrico a permanenza. Per quanto riguardava la lesione pancreatica Carey consigliava di drenare la loggia pancreatica con un catetere plurifenestrato fatto uscire con incisione a parte in ipocondrio sinistro e di drenare anche la doccia paracolica destra con un altro tubo, e infine di rimuovere tutto il tessuto necrotico rimovibile senza far sanguinare. Dopo sutura della ferita laparotomica iniettava un litro di Ringer lattato chiudendo il tubo di drenaggio di destra per un’ora. Carey aveva avuto successo con questo tipo di trattamento in 4 casi pubblicati rispettivamente nel 1965 e 1973.

Nello stesso anno della pubblicazione del lavoro di Carey, **1975**, John **Cameron** e coll., del Johns Hopkins Hospital di Baltimora, pubblicarono un loro studio prospettico sulla terapia antibiotica in corso di pancreatite acuta su 104 pazienti osservati **tra il 1972 e il 1974**.

Questi AA confermarono che l'agente sempre ritrovato negli ascessi da pancreatite acuta emorragica era l'*Escherichia coli*, sensibile poche volte all'ampicillina – come del resto era cosa nota da tempo – e conclusero in favore della astensione totale dalla terapia antibiotica sia come prevenzione che come terapia, perché la prima aveva dimostrato di non saper prevenire la formazione degli ascessi (12% nella casistica degli AA) e la seconda non otteneva risultati validi.

A detta di Charles **Frey**, della Medical School dell'Università di California, l'incidenza della pancreatite acuta da calcoli biliari negli USA contava negli anni '80 per il 50-60% di tutte le pancreatiti diagnosticate durante ricovero ospedaliero. Non essendoci dubbi sul fatto che una pancreatite acuta da calcolosi biliare indovata nell'ampolla di Vater richiede la rimozione dei calcoli, le incertezze e la relativa discussione riguardarono **a cavallo degli anni '80** la collocazione cronologica dell'intervento sui calcoli biliari rispetto al decorso clinico della pancreatite acuta: J.Acosta sosteneva nel **1978** la rimozione dei calcoli entro le prime 24-48 ore dell'accesso di pancreatite mentre J.Ranson la posponeva alla fine della fase acuta della pancreatite. Per Frey, che analizzò le due casistiche alla luce delle considerazioni esposte dai due chirurghi a sostegno del loro opposto indirizzo terapeutico, le conclusioni dei due *“non erano completamente convalidate dai dati da loro stessi pubblicati”*. La condotta terapeutica suggerita e attuata da Frey era di attesa armata e di sostegno delle condizioni generali e delle difese organiche nei pazienti che al lavaggio peritoneale eseguito subito dopo fatta la diagnosi non rivelavano presenza di sangue e/o di metemalbumina nel liquido peritoneale di ritorno. Se invece questo era nettamente patologico instaurava un lavaggio del peritoneo per rimuovere l'ascite emorragica il cui riassorbimento era origine di tossiemia. Se nelle more di questo trattamento insorgeva colangite con febbre di tipo suppurativo Frey interveniva immediatamente sulla via biliare effettuandone la decompressione. In tale occasione evitava deliberatamente di intervenire sul pancreas per il quale attendeva l'eventuale presentarsi di complicanze suppurative dopo i primi 7-10 giorni, periodo questo particolarmente critico perché gravato da alta mortalità nei pazienti più gravi. Sec. Frey le unità di cura chirurgica intensiva **negli USA degli anni '80** erano perfettamente in grado di gestire questo programma che portava i chirurghi a *“concentrare i loro sforzi nella cura delle complicanze settiche della pancreatite”*.

In Europa, negli anni '60 e '70 in tutti i casi di pancreatite acuta, indipendentemente dalla gravità della malattia, fu fatto grande uso – a differenza dei paesi anglosassoni - dell'**aprotinina** (nome commerciale *“Trasylo1”*) in fleboclisi, un inibitore polipeptidico delle proteinasi prodotto dalla casa farmaceutica Bayer, la cui effettiva efficacia fu oggetto di molte discussioni. L'autore di queste pagine ebbe modo di impiegare questo farmaco in molti casi di pancreatite acuta ottenendo risultati più che soddisfacenti. Altri farmaci usati in Europa furono il glucagone, la somatostatina (vedi avanti), la cimetidina e l'omeprazolo. Però i trials clinici controllati dimostrarono la loro inefficacia come già era successo per l'aprotinina (P.Regan e V.Liang, **1995**). Fece parzialmente eccezione la somatostatina, un peptide ciclico costituito da 14 aminoacidi, appartenente ad una famiglia nella quale furono individuati due importanti prodotti altamente bioattivi, la somatostatina 14 e la somatostatina 28. La somatostatina modula la neurotrasmissione nel SNC e regola la secrezione dell'ormone della crescita e della tiotropina; quando viene secreta e rilasciata nel sistema gastrointestinale e nel pancreas agisce come regolatore autocrino, paracrino e neuronale inibendo la secrezione ghiandolare, la neurotrasmissione, la contrattilità della muscolatura liscia e l'assorbimento di alimenti nonché la funzione di cellule immunitarie attivate (S.Lamberts e coll in *“N.Engl.J.Med.”* **1996**). A livello del pancreas, all'**Octreotide** (analogo della somatostatina introdotto a fini terapeutici perché, a differenza delle somatostatine 14 e 28, ha una emivita più lunga e si presta per una somministrazione ogni otto ore) furono riconosciute diverse azioni utili a partire dalla metà degli anni Ottanta: 1°- ha dato ottimi risultati nel controllare la sintomatologia di alcuni

tumori neuroendocrini del pancreas; 2°- quattro trias clinici dimostrarono che l'octreotide riduce realmente i rischi delle operazioni sul pancreas (H.Montorsi e coll. in *"Surgery"* 1995; H.Freiss e coll. in *"Brit.J.Surg."* 1995); 3°- è straordinariamente attivo nei riguardi delle fistole pancreatiche di cui abbrevia di molto il tempo di guarigione (P.Pederzoli e coll. in *"Surg.Gynecol.Obst."* 1986); 4°- forse è utile in caso di trauma pancreatico ma certamente non svolge azione profilattica nelle manovre diagnostiche invasive sul pancreas (K.F.Binmoeller e coll. in *"Gut"* 1992); 5°- forse è utile nel salvare e proteggere un trapianto di pancreas come dimostrato da un unico studio a questo riguardo (R.J.Stratta e coll. in *"Am.J.Surg."* 1993).

R.C.Russell, del Middlesex Hospital di Londra, in *"Brit.J.Surg."* del 1996 scriveva che *"nella pancreatite cronica non c'è alcun motivo per usare l'octreotide e in trials controllati sul suo uso nella pancreatite acuta, anche se non ha mostrato di ridurre in modo significativo la mortalità, si è accompagnato ad un numero ridotto di complicazioni e, solo su base empirica, è ragionevole somministrare per via sottocutanea 100-200 mg di somatostatina tre volte al giorno nei pazienti affetti da gravi forme di pancreatite acuta per una durata di 14 giorni in linea con quanto pubblicato negli studi più recenti"* (H.Paran e coll. in *"J.Am.Coll.Surg."* del 1995).

Pancreatite cronica.

Nelle sue varie forme questa malattia, nata come entità anatomopatologica prima che clinica dalle prime descrizioni dell'Ottocento fatte da Lanceraux, acquisì interesse chirurgico nel 1896 per merito del clinico chirurgo tedesco **Riedel** e, nell'anno 1900, dell'americano **Mayo-Robson** che ne fece oggetto della sua relazione al Congresso Internazionale di Medicina. Le prime forme descritte furono quelle accompagnate da ittero con tumefazione infiammatoria simil-neoplastica che regredivano dopo esecuzione di una derivazione biliointestinale. La consistenza fu descritta da Riedel simile a quella *"di un tumore duro come il ferro e grosso come un pugno"*. Nel 1908 Gosset distingueva questo aspetto come tipico dello stadio ipertrofico del processo di pancreatite cronica al quale sarebbe seguito nel tempo lo stadio atrofico. **Klippel** distingueva a quell'epoca tre varietà istopatologiche: la sclerosi perilobulare, la sclerosi intralobulare e quella acinosa o interacinosa. Alla prima si riconosceva un'origine infiammatoria infettiva canalicolare, alla seconda un'origine vascolare e alla terza un punto di partenza epiteliale. Venivano poi descritte da molti AA le forme miste in cui le tre sclerosi erano fra loro variamente combinate (Lefas Guillain, Gilbert, Lereboullet e lo stesso Klippel). Le operazioni praticate **prima del 1915** per pancreatite cronica furono di drenaggio delle vie biliari, di liberazione delle vie biliari compresse dal processo sclerotico della testa pancreatico e di resezione pancreatico. La colecistoenterostomia fu praticata per primo da Körte nel 1892, la colecisto-gastrostomia da Giordani, la coledocoenterostomia da Terrier e la colecistocolonostomia da Mayo e di tutte la più utilizzata fino al 1915 fu la colecistoenterostomia. La liberazione dell'epatocolodoco fu preconizzata e praticata per primo da **Vautrin** nel 1908 liberando previa manovra di Kocher la superficie posteriore del coledoco schiacciato nel suo percorso retropancreatico. Invece la resezione del pancreas per pancreatite cronica fu eseguita una sola volta da Reynes per una pancreatite del corpo pancreatico lasciando la testa del pancreas in situ.

Le varie forme di pancreatite cronica furono oggetto di una tesi da parte di P.**Mallet-Guy** che raccolse 106 osservazioni nell'anno 1925. P.Brocq e G.Miginac a loro volta pubblicarono nel 1934 una ricerca eseguita su un numero di pancreatiti croniche con ittero quasi raddoppiato rispetto a quello della tesi di Mallet-Guy. Il segno radiologico e

altamente diagnostico era quello dell'allargamento della cosiddetta C duodenale, lo stesso segno dato dalla neoplasia della testa del pancreas, e infatti l'ittero cronico da ritenzione, continuo e progressivo con cistifellea distesa e palpabile e succo duodenale privo di bile aveva sempre creato un difficile quesito di diagnosi differenziale, mancando nella prima metà del Novecento il grande aiuto delle indagini strumentali invasive diventate operative e disponibili nella seconda metà del secolo. La guarigione di queste forme - divenute peraltro sempre più rare negli anni che seguirono – fu ottenuta sempre con la colecistogastrostomia. Solo nei casi sospetti di litiasi coledocica, la situazione reale del coledoco veniva verificata con la manometria e con la colangiografia intraoperatoria.

Fu sempre Mallet-Guy a descrivere per primo **nei primi anni '40** la pancreatite cronica sinistra o della coda caratterizzata da dolore fisso in ipocondrio sinistro con irradiazione lombare sinistra e accessi di acuzie che si ripetevano ad intervalli di tempo irregolari. Talora l'esame radiologico in bianco dell'alto addome poteva evidenziare la presenza di calcoli e/o di calcificazioni a carico della metà sinistra del pancreas. La pancreatectomia sinistra dimostrò di essere la soluzione migliore con risultati a distanza definiti buoni. Fu praticata anche la splancnicectomia sinistra con risultati a distanza sul dolore altrettanto buoni.

Nel 1959 Kenneth **Warren** su 160 casi osservati e curati presso la Lahey Clinic di Boston compilò una lista della frequenza dei sintomi della pancreatite cronica (dolore addominale 100% e perdita di peso 94%) e una seconda lista con i 14 tipi di operazioni chirurgiche eseguite, tra le quali le più numerose erano la duodenopancreatectomia (31), la pancreatectomia distale (31), la sfinterotomia e disostruzione distale retrograda del dotto di Wirsung (54), la pancreatogastrostomia e la pancreatodigiunostomia (12). La mortalità globale fu molto contenuta (2,5%) e inferiore a quella delle sfinterotomie praticate in altra sede da Doubilet e Mulholland prima del 1956. Warren concludeva che la pancreatite cronica *“è estremamente variabile dal punto di vista eziologico e da quello anatomopatologico”* e che per tale motivo *“nessun metodo singolo di cura chirurgica dà risultati sempre soddisfacenti”*.

Nel 1971 l'argomento della pancreatite cronica, soprattutto nella sua forma più devastante e più frequente definita *“pancreatite cronica recidivante a poussées”* (*“chronic relapsing pancreatitis”* degli AA anglosassoni) fu ripreso e approfondito ancora da **Warren** e dall'inglese John **Mountain** sfruttando la vastissima esperienza maturata presso la Lahey Clinic dove a quell'epoca erano già stati trattati più di 900 pazienti affetti da questa dolorosissima malattia. Quanto all'eziologia i due AA ammisero ch'essa era sconosciuta e incerti erano i rapporti con la colelitiasi, con l'alcoolismo, con i traumi pancreatici e con le anomalie congenite. Nel 37% dei loro pazienti non era stato possibile rilevare alcun fattore eziologico mentre la colelitiasi era presente nel 28% e l'etilismo cronico nel 41% dei casi. A partire dal 1962 le indagini a fini diagnostici si erano arricchite della scintigrafia pancreatica con selenio 75 ad opera di Blan e Blender e un buon contributo a tale riguardo era stato dato nel **1963** da A.Svoboda e coll., i quali dichiararono di aver ottenuto un'accuratezza diagnostica del 90% confrontando i dati della scintigrafia con quelli della citologia pancreatica e degli esami chimici del succo pancreatico. Inoltre alcune scuole chirurgiche (Doubilet e coll.) usavano fin dal **1955** la pancreatografia retrograda attraverso la papilla di Vater per via transduodenale. Le operazioni chirurgiche effettuate presso la clinica Lahey tra il 1940 e il 1965 (546 su 530 malati) furono di tipo indiretto sulla via biliare (39 sfinterotomie, 70 coledocotomie e drenaggio coledocico, 155 decompressioni transduodenali, 34 colecistectomie), sul tratto gastrointestinale (6 diversioni), sul sistema nervoso autonomo (13 splancnicectomie postgangliari) e di tipo diretto sul pancreas (82 duodenopancreatectomie, 73 pancreatectomie distali; 70 interventi per cisti e ascessi pancreatici; 25 decompressioni del Wirsung; 8 pancreatectomie totali). Questa grande varietà di trattamenti corrispose alla grande diversità del quadro clinico e di quello

anatomopatologico della pancreatite cronica da caso a caso. Per Warren e Mountain il principio fondamentale della cura doveva essere quello di *“eliminare l’ostacolo al deflusso del succo pancreatico”* e per tale motivo esprimevano un giudizio negativo nei riguardi di tutti gli interventi indiretti, come del resto fu testimoniato dai loro discreti risultati a lungo termine, che oscillarono, a seconda del procedimento impiegato, dal 15% (splancnicectomie) al 67% (diversioni gastrointestinali) mentre molto migliori furono a distanza di tempo i risultati degli interventi diretti sul pancreas che andarono da un minimo del 60% (decompressione transpancreatica applicando un tubo a T nel Wirsung) ad un massimo dell’88% delle pancreatectomie totali. Solo negli alcoolisti le operazioni demolitive parziali avevano fornito risultati insoddisfacenti a causa della persistenza dell’abuso alcolico. Per tale motivo questi AA sostennero l’importanza di una psicoterapia postoperatoria intensiva in questi soggetti.

Nel 1981 Avram **Cooperman**, della Columbia University di New York, riferendosi a 13 revisioni di altrettante casistiche per un totale di 700 pazienti operati per pancreatite cronica recidivante a poussées, confermò la bassa mortalità operatoria (2% e anche meno) delle operazioni non demolitive del pancreas e la maggior mortalità postoperatoria che diveniva massima dopo le resezioni di pancreas. A differenza dei sostenitori di un unico tipo di terapia chirurgica, l’A. affermò che *“la selezione di una modalità operativa deve basarsi sulle alterazioni anatomiche del dotto di Wirsung”*. Le resezioni superiori all’80% della ghiandola erano tutte seguite dai più importanti disturbi metabolici e digestivi e la percentuale dei risultati favorevoli oscillava dal 50% al 75% indipendentemente dal tipo di operazione adottata. Per gli etilisti Cooperman confermava l’assoluta necessità dell’abbandono totale e definitivo del consumo d’alcol.

Nei primi anni ’90 gli anatomopatologi giunsero ad una semplificazione per quanto riguardava l’eziopatogenesi: le alterazioni anatomofunzionali erano sostanzialmente due a seconda che l’origine fosse di tipo ostruttivo del Wirsung (traumi, cisti, calcoli biliari incuneati nell’ampolla di Vater, fibrosi cistica, iperparatiroidismi, ecc.) o invece da lesioni del tessuto pancreatico da etilismo cronico. Per quanto si riferisce alla prima delle due condizioni si invita il lettore a leggere il testo riguardante la pancreatite cronica nel capitolo delle affezioni internistiche dell’apparato digerente.

I deludenti risultati delle ampie demolizioni di tessuto pancreatico accompagnate sempre da notevole morbidità postoperatoria, fecero virare **alla fine degli anni ’80** i favori dei chirurghi verso le derivazioni interne del dotto di Wirsung (preferibilmente nell’intestino tenue alto). Alla fine del Novecento erano anche entrati nell’uso *stents* applicati nelle stretture del Wirsung per via endoscopica.

Cancro del pancreas

Ci si limita a trattare questo argomento solo dal punto di vista chirurgico rinviando il lettore all’omonimo paragrafo che fa parte del grande capitolo dell’apparato digerente di interesse internistico dove sarà possibile trovare la cronistoria delle conoscenze accumulate nel corso del Novecento su epidemiologia, teorie eziopatogenetiche, aspetti anatomopatologici, quadri clinici e mezzi diagnostici.

Il maggior numero delle operazioni chirurgiche eseguite per cura del cancro del pancreas è sempre stato di tipo palliativo perché questa neoplasia è quasi sempre giunta al tavolo operatorio in condizioni di inoperabilità radicale. Le cure chirurgiche palliative si proponevano due scopi, la eliminazione dell’ittero da ritenzione mediante derivazione della bile e il trattamento del dolore mediante splancnicectomia. In qualche caso la cura palliativa riguardò anche la rimozione della difficoltà di transito alimentare mediante derivazioni gastroenteriche.

Le derivazioni biliari nel corso del secolo XX hanno conosciuto la seguente evoluzione: colecistostomia cutanea o drenaggi dell’epatocolodoco all’esterno con due gravissimi

inconvenienti segnalati fin dal **1908** da A. Gosset, chirurgo degli Ospedali di Parigi e aggregò universitario: 1°- era una derivazione definitiva; 2°- sopprimeva l'afflusso intestinale della bile, necessario alla digestione intestinale. L'A. affermava che questo metodo "...non lo si utilizzerà che come intervento di urgenza nei casi gravi". Fin dagli **anni '10** i chirurghi si erano persuasi che *"l'operazione elettiva è un'anastomosi bilio-intestinale, specialmente la colecisto-enterostomia, o, in caso di impossibilità di eseguirla, la colecistogastrostomia, la colecisto-colostomia od anche la coledoco-enterostomia"*. La colecistoduodenostomia fu molto usata dopo aver riscontrato i disturbi gastritici dati dalla colecistogastrostomia. **Negli anni '60 e '70** la preferenza dei chirurghi andò alla coledocoduodenostomia e, dagli anni '80 in poi, alla coledocodigiunostomia su ansa a Y sec. Roux previa colecistectomia. **Negli anni '90** fu anche impiegata la disostruzione del tratto coledocico occluso da compressione tumorale estrinseca applicando uno *stent* per via endoscopica (ERCP) o per via transepatica con l'aiuto della radiologia operativa. La scelta del metodo derivativo nell'ultimo ventennio del secolo dipendeva dalle condizioni locali del fatto ostruttivo e soprattutto da quelle generali del paziente.

La splancnicectomia fu abbandonata abbastanza presto (anni '60) in favore del trattamento antidolorifico medico e anestesiológico specializzato (Infiltrazione degli splancnici con alcool o con altre sostanze distruttive delle strutture nervose).

Le prime due pancreatectomie totali o subtotali furono eseguite rispettivamente da Billroth e da Franke negli ultimi anni dell'Ottocento. Da allora e fino a poco prima della I Guerra Mondiale furono praticate circa 20 duodenocefalopancreatectomie per carcinoma della testa pancreatica e 9 asportazioni della coda pancreatica per tumori primitivi. **Nel 1907** il caposcuola francese Desjardins e nel **1908** Sauv  studiarono a fondo le implicazioni tecniche della pancreatectomia totale e subtotale per tumori della testa pancreatica (asportazione del duodeno insieme alla testa del pancreas o all'intera ghiandola, seguita da gastroenterostomia, wirsungenterostomia e coledocoenterostomia..

Fu però solo **nel 1935** che nacque veramente il trattamento radicale del cancro del pancreas, quando il chirurgo americano A.O. **Whipple** insieme ai due collaboratori W.B.Parsons e C.R.Mullins, pubblicò sulla rivista *"Annals of Surgery"* il metodo di resezione pancreatica per cancro da eseguire in due tempi. **Negli anni '40** il procedimento di Whipple fu portato ad un unico tempo, pur trattandosi di un'operazione molto complessa e di una durata raramente inferiore alle 6 o 7 ore di esecuzione. In quel periodo e nei successivi **anni '50** molti chirurghi modificarono la successione dei vari tempi operatori fino all'affermarsi di due metodi – ambedue però preceduti da quattro accertamenti intraoperatori della effettiva reseccabilità (esplorazione delle radici del mesocolon trasverso, ampia manovra di Kocher e mobilizzazione del duodeno, esplorazione bidigitale della superficie anteriore della vena porta, manovra di sollevamento del pancreas sopra la vena cava inferiore e l'aorta). I due metodi si distinguevano dal modo di eseguire il primo tempo che alcuni chirurghi praticavano interrompendo la via digestiva all'altezza dello stomaco mentre altri preferivano iniziare con la colecistectomia e con l'epatocoledocotomia immediatamente seguite da legatura e sezione delle arterie cistica e gastroduodena le. Anche i tempi e le modalità della ricostruzione delle vie biliodigestiva, pancreaticodigestiva e gastrointestinale furono soggetti a molte varianti. Tuttavia **alla metà degli anni '60** si erano ormai definitivamente imposte l'epaticodigiunostomia su ansa a Y sec. Roux praticata a 20-30 cm. a monte della gastrodigiunostomia.

I primi entusiasmi per la duodenopancreatectomia subirono un significativo rallentamento nei 30 anni successivi alla pubblicazione del lavoro di Whipple e coll. (1935-1965) a causa dell'alta mortalità e dell'elevata incidenza delle complicanze postoperatorie. La duodenocefalopancreatectomia ebbe un'ampia applicazione non solo per i tumori della testa pancreatica, ma anche per i tumori primitivi maligni dell'ampolla di Vater, per quelli del coledoco e del duodeno. **Nel 1966** Charles Child e Charles Frey, del dipartimento di

chirurgia dell'università del Michigan, pubblicarono i risultati delle 54 duodenocefalopancreatectomie eseguite nel loro istituto prima del 1965 e vi aggiunsero i dati riguardanti altre 7 casistiche rese pubbliche tra il 1960 e il 1965. La sopravvivenza a 5 anni andava da un minimo del 9% per i cancro del coledoco terminale ad un massimo del 59% per gli adenocarcinomi dell'ampolla di Vater. Quelli delle testa del pancreas avevano dato una sopravvivenza media del 26%. Lo stesso Child nel 1952, W.McDermott nel 1954 e T.B.Hobbs nel 1958 avevano pubblicato interventi di duodenopancreatectomia allargata a resezione della vena porta e della cava inferiore per invasione neoplastica per contiguità di queste strutture; i primi risultati erano stati incoraggianti ma, a distanza di 14 anni, lo stesso Child ammetteva che *“la resezione della vena porta ha dimostrato di non essere giustificata se non in casi eccezionali. Quando la vena porta è invasa dal tumore ogni speranza, anche di una resezione palliativa, svanisce”*. La mortalità operatoria nella serie di Child e Frey, nel periodo 1962-1965, fu del 25%.

Negli ospedali americani del New England collegati alla Lahey Clinic di Boston, tra l'anno 1942 e la fine del 1965, furono curati con la duodenocefalopancreatectomia in tempo unico ben 253 pazienti dei quali 97 per cancro della testa del pancreas, 93 per cancro dell'ampolla di Vater, 37 per cancro primitivo del duodeno e 26 per adenocarcinoma del coledoco distale. La mortalità fu del 13,5%. Tra le complicanze pubblicate nel resoconto di questa ampia casistica da Kenneth Warren e coll. nel 1967 vennero citate le fistole pancreatiche (16% nei primi 100 operati, poi azzerate dai miglioramenti di tecnica operatoria), l'emorragia (6%), l'infezione della ferita laparotomica (11%), l'ulcera peptica del digiuno (7,5%), il diabete comparso a distanza di mesi dall'operazione (15%). La sopravvivenza a 5 anni oscillò da un minimo del 12,5% dei cancro del pancreas ad un massimo del 41,2% dei cancro primitivi del duodeno.

Un aggiornamento molto valido fu quello pubblicato nel 1975 da Daniel **Diamond** e Bernard **Fisher**, della School of Medicine dell'Università di Pittsburgh. Questi AA affermarono che i progressi verificatisi a partire dal 1945 non avevano modificato sostanzialmente il decorso e la prognosi del cancro primitivo del pancreas, e ciò in buona parte a causa del notevole ritardo diagnostico medio (da 4 a 9 mesi) rimasto del tutto immutato nel trentennio precedente. Le novità interessanti, dopo la pubblicazione del lavoro di Warren e coll. del 1967, riguardavano anzitutto le modalità tecniche della pancreaticodigiunostomia nella fase ricostruttiva dell'operazione di Whipple che lasciava in situ – nei tumori cefalici – la parte distale sana del pancreas incorrendo in una serie di gravi complicazioni (pancreatite acuta del pancreas residuo, fistole pancreatiche, infezioni). La seconda novità era rappresentata dalla diffusione che stava avvenendo della pancreatectomia totale, operazione che eliminava appunto tutti i problemi legati alla pancreaticodigiunostomia, ma che comportava a sua volta altre sequele come il diabete e la perdita permanente della secrezione esocrina del pancreas. La mortalità dopo pancreatectomia totale era stata dapprima molto alta (50%) e tale si manteneva ancora in talune casistiche del 1975 ma E.Hicks nel 1971 riportò valori di mortalità molto bassi (9%) e W.Remine, l'anno precedente, una mortalità del 22%. Esaminando anche i dati della sopravvivenza Diamond e Fisher conclusero che la sostituzione della pancreatectomia parziale (intervento di Whipple comunque modificato) con la pancreatectomia totale appariva all'epoca giustificata per una morbidità postoperatoria minore e per i più elevati indici di sopravvivenza.

Nei trattamenti chirurgici palliativi (derivazioni biliari) furono riabilite le infiltrazioni del plesso celiaco con alcool al 50% (L.D.Bridenbaugh e coll. 1964) e la splancnicectomia con sostanze chimiche neurodestruenti (J.Copping e coll. 1969) mentre i chirurghi sudafricani G.Falkson e coll. furono gli unici a sostenere l'utilità del trattamento combinato con telecobaltoterapia e 5-fluorouracile ch'essi avevano applicato in 97 pazienti non suscettibili di cura radicale. A conclusione del loro lavoro di aggiornamento terapeutico

Diamond e Fisher scrissero che *“l’unica vera speranza di migliorare la sopravvivenza consiste in una migliorata conoscenza dell’oncogenesi di queste neoplasie e quindi nello sviluppo di terapie adatte per questo processo patologico. Attualmente offrono qualche promessa l’immunoterapia e la chemioterapia adiuvante”*.

Una importante novità tecnica degli anni Ottanta fu la conservazione dello stomaco e del piloro con riabboccamento della prima porzione duodenale così conservata sul versante antimesenterico dell’ansa digiunale a Y sec. Roux in terza e più distale posizione rispetto alle altre due anastomosi facenti parte del programma ricostruttivo della duodenocefalopancreatectomia cioè la pancreasdigiunostomia terminotermiale e, in posizione intermedia, l’epaticodigiunostomia. Questa importante modifica fu pubblicata da John **Braasch** e Ricardo **Rossi**, del Lahey Clinic Medical Center di Burlington, nell’aprile del **1985** dopo averla applicata in 44 duodenopancreatectomie parziali e in 14 pancreatectomie totali con una mortalità complessiva inferiore al 3% a partire dal mese di settembre 1979. In realtà i primi a suggerire questo nuovo particolare di tecnica operatoria erano stati nel **1978** L.Traverso e W.Longmire che l’avevano applicato in due pazienti affetti da malattie non neoplastiche del pancreas, dichiarandosi però dubbiosi nel proporla come metodo di cura di una neoplasia pancreatica periampollare. Negli anni che seguirono Braasch e Rossi aggiornarono la loro casistica di duodenopancreatectomie con conservazione di stomaco e piloro (87 casi operati fino al 1986) e ad essi si aggiunsero gli apporti dei chirurghi inglesi P.A.Grace e coll. nel 1986, G.Eck e J.W.Murray nel 1987, mentre George Jordan di Houston, due anni dopo, dichiarò di aver impiegato la modifica di Traverso e Longmire solo per le malattie chirurgiche benigne del pancreas.

Nel **1995** M.Kayahara e coll., della School of Medicine della Kanazawa University (Giappone), pubblicarono su *“Surgery”* i risultati di un’accuratissima ricerca condotta **nel periodo 1973-1991** sui gruppi linfonodali e sul plesso extrapancreatico coinvolti nel cancro della testa del pancreas, dello sfintere di Oddi e del coledoco. La ricerca fu portata su 110 pancreatectomie repertando valori diversi di metastasi linfonodali a seconda della sede del tumore primitivo ma gli AA furono del parere che nel corso di ogni intervento di pancreatectomia per cancro della testa del pancreas o del coledoco o dell’ampolla di Vater si dovrebbe asportare almeno i linfonodi che circondano l’origine dell’arteria mesenterica superiore. Quelli paraaortici e il plesso peripancreatico dovrebbero essere asportati di routine nei casi di carcinoma del pancreas.

Nel **1997** K.Hirata e coll. della Sapporo Medical University (Giappone) pubblicarono su *“Arch of Surgery”* i risultati di 1001 resezioni pancreatiche per adenocarcinoma invasivo dei dotti pancreatici **nel periodo 1 Gennaio 1991 – 31 Dicembre 1994**: la sopravvivenza ad 1 e a 3 anni fu rispettivamente del 44,5% e del 10,3%. La sopravvivenza cumulativa a 3 anni fu massima nelle forme di stadio I° e diminuì progressivamente con l’avanzare degli stadi di malattia fino ad azzerarsi nello stadio IVb. Per quanto riguarda le metastasi linfonodali non furono riscontrate differenze di sopravvivenza fra i pazienti positivi in N1 e anche quelli positivi in N2, che comunque fu nettamente più lunga rispetto a quella dei pazienti positivi anche in N3. Notevole differenza fu notata anche per la sopravvivenza tra i pazienti che, risultati tutti positivi solo in N1, furono sottoposti a svuotamento linfatico e quelli dello stesso stadio che non lo furono. Gli AA concludevano delusi che *“i risultati delle resezioni pancreatiche per adenocarcinoma duttale invasivo sono in genere insoddisfacenti e una dissezione estesa del tessuto linfonodale nei cancri in stadio avanzato non migliora la prognosi”*.

Nel **1984** vide la luce uno studio prospettico eseguito sull’amplissima casistica della Mayo Clinic di Rochester ad opera di J.A. van Heerden, dove il confronto dei risultati tra operazioni di Whipple e pancreatectomia totale rivelò una mortalità quasi quattro volte superiore dopo pancreatectomia totale rispetto alla classica operazione di Whipple. Il riesame di molte casistiche fatto da George Jordan nel **1989** in effetti non riuscì a chiarire

quale delle due operazioni emergeva sull'altra per minore mortalità e migliore sopravvivenza a 5 anni dall'intervento, risultando molto discordanti i numerosi dati raccolti dalla letteratura. Questa constatazione indusse l'A. a ripetere una vecchia frase di Longmire che suonava così: "...*finché non sarà dimostrato chiaramente che la incidenza della mortalità operatoria dopo pancreatectomia totale è uguale o minore di quella della resezione subtotale e che, rispetto a questa, c'è un miglioramento della percentuale di sopravvivenza, mi sembrerebbe indicato un approccio più conservativo*".

Nel **1998** M.**Tsuji** e coll., del Central Hospital di Toyama (Giappone), affrontarono sulla rivista "*Surgery*" l'annoso problema tecnico della anastomosi pancreaticodigiunale, la più delicata delle tre anastomosi classiche del tempo ricostruttivo della duodenopancreatectomia. E' infatti storicamente accertato che le più gravi complicanze e la maggiore mortalità erano state sempre legate a questo tipo di anastomosi universalmente adottata con il metodo dell'invaginazione nell'ansa digiunale. Nel **1992** Y.Matsumoto e coll. avevano richiamato per primi l'attenzione sul particolare tecnico della anastomosi tra dotto di Wirsung e mucosa del digiuno (*Surg.Gynecol.Obst.*). In 300 pazienti Tsuyji e coll. applicarono la tecnica classica dell'invaginazione 87 volte (gruppo B) mentre negli altri 213 pazienti eseguirono una anastomosi in triplice strato : il primo strato tra dotto di Wirsung e mucosa del digiuno a punti staccati (gruppo A1=93 p.) o con sutura continua (gruppo A2=120 p.), il secondo strato a punti staccati tra parenchima pancreatico e parete sieromuscolare del digiuno, il terzo strato tra capsula pancreatica e sierosa del digiuno. I casi di deiscenza e di mortalità nei tre gruppi furono rispettivamente i seguenti: gruppo B=17,2% e 5,7% , gruppo A1=11,8% e 3,2%; gruppo A2 = 4,2% e 1,7%. Ovviamente questi dati invitarono gli AA a consigliare la tecnica della sutura continua tra dotto pancreatico e mucosa digiunale.

Nel **1989** fu pubblicato un interessante studio epidemiologico di Elizabeth Fontham e Pelayo Correa sul cancro del pancreas. Nell'anno precedente (1988) c'erano stati negli USA 24.500 decessi per questa malattia ed erano stati diagnosticati nello stesso periodo 27.000 nuovi casi. A partire dal 1930 questo tumore maligno aveva dimostrato un continuo aumento di frequenza che si era fermato negli ultimi anni '70 e primi anni '80 analogamente a quanto registrato in tutti i paesi industrializzati. Tuttavia la più alta incidenza di questa malattia aveva dimostrato di essere un requisito delle popolazioni a più alto tenore di vita: tra la popolazione indiana di Madras e quella di razza negra della California correva negli anni '80 una differenza di 20 volte. L'incidenza più bassa era quella dell'India, di Singapore e del Kuwait. Le conclusioni degli AA sui risultati delle ricerche eziopatogenetiche ammettevano che si brancolava ancora nel buio, fatta eccezione per un unico dato che sembrava sicuro, l'effetto dannoso del tabacco. Speranze venivano espresse nei riguardi delle ricerche in atto sui fattori eziologici di natura alimentare.

Il trattamento del dolore pancreatico da neoplasie inoperabili fu oggetto di rinnovato e vivissimo interesse dalla fine degli anni '70 a tutti gli anni '80 da parte soprattutto degli anestesisti. Fra i quali si distinse in campo internazionale l'italiano S.**Ischia** che, con i suoi collaboratori, si dedicò intensamente al **blocco celiaco** eseguito per via transaortica. Questa tecnica portava la sostanza neurolitica (quasi sempre alcool etilico al 50%) direttamente in seno al plesso che ha sede davanti alla parete dell'aorta. La via classica molto più usata fu invece quella di Moore e coll. che era stata pubblicata nel 1979 e che consisteva nell'infiltrazione bilaterale tenendo come punto di riferimento principale il corpo della I vertebra lombare; Moore faceva tenere ai suoi pazienti la posizione prona. Filshie e coll. (1983), S.Jackson e coll. (1969), U.Hankemeier e coll. (1987), S.Orwitz e S.Koppolu (1983) modificarono il metodo Moore usando l'accesso monolaterale sotto controllo radiologico e su pazienti in decubito laterale. La sostanza più usata era sempre l'alcool al 50%.

Il blocco celiaco eseguito dai chirurghi in corso di laparotomia richiedeva quantità minori di liquido neurolitico. Indifferentemente dalle tecniche impiegate i risultati furono definiti da buoni a eccellenti fino al 93% dei casi trattati e pubblicati da 19 anestesisti. In mani esperte il blocco del plesso celiaco non ha mai avuto come complicanza più di una ipotensione arteriosa passeggera accompagnata da dolore al rachide altrettanto passeggero. Altre complicanze descritte abbastanza spesso furono un dolore toracico e irradiato agli arti inferiori, attribuito a perdita del liquido neurolitico in stretta vicinanza di radici di nervi somatici toraciche basse o lombari. Quando la perdita accidentale di questo liquido avveniva negli spazi epidurali e subaracnoidei la paralisi che ne conseguiva poteva essere permanente: Moore riferì 18 casi di spandimento subaracnoideo in oltre 3000 blocchi del celiaco ma in 17 di questi casi l'errore fu riconosciuto in tempo e l'immediato ritiro dell'ago prima di iniettare il farmaco neurolitico evitò qualsiasi sequela; nell'unico caso in cui fu iniettato del liquido la paralisi che ne seguì fu fortunatamente passeggera. Invece E.Galizia e S.K.Lahiri descrissero nel 1974 un caso di paraplegia e perdita del controllo vescicale dopo iniezione di fenolo in corso di blocco celiaco. Gli anestesisti del ventennio 1960-1980 eseguirono talvolta anche il **blocco dei nervi intercostali interessati**, quando i malati di cancro del pancreas si lamentavano di dolori da interessamento dei nervi somatici toracici bassi e/o addominali alti.

La bibliografia della **splancnicectomia chirurgica** è tanto scarsa quanto abbondante è invece quella del blocco celiaco praticato dagli anestesisti. I primi a trattarne in modo esauriente furono **nel 1967** i chirurghi W.C.Heisey e D.F.Dohn i quali la praticarono in 15 pazienti del Cleveland Clinic Hospital tra il 1950 e il 1965 per dolore intrattabile da cancro del pancreas. **Nel 1974** E.Sadar e A. Cooperman pubblicarono i risultati a distanza della splancnicectomia chirurgica bilaterale per via toracica in 56 pazienti a partire dal 1950 con accurata asportazione di tutti i tratti maggiori e minori dei due nervi: il 75% di questi malati fu seguito dagli AA fino all'exitus e nel 31% di essi l'abolizione completa del dolore si mantenne per tutta la durata della sopravvivenza, che fu in media di 4 mesi, mentre nel 34% - che ebbe un buon beneficio pur necessitando di qualche dose di analgesico per eliminare il dolore del tutto - la sopravvivenza media fu di 11 mesi. Il 21% ebbe scarso o nessun beneficio. Donora Saltzburg e Kathleen Foley, che riesaminarono questo argomento facendolo oggetto di pubblicazione nel **1989**, conclusero che *“l'esperienza con la splancnicectomia chirurgica finora riportata in letteratura è troppo limitata per giudicare il suo ruolo nella cura del dolore da cancro del pancreas”*.

Nel **1993** K.Lillemoe, J.Cameron e H.Kaufman diedero alle stampe un loro *trial* prospettico randomizzato a doppio cieco sul valore curativo del dolore intrattabile da carcinoma pancreatico con la splancnicectomia iniettando ad addome aperto alcool al 50% in un primo gruppo di malati e soluzione fisiologica nel secondo gruppo. L'età media dei pazienti era di 65 anni. Non furono notate differenze di mortalità ospedaliera, complicanze, tempo di ritorno all'alimentazione orale, durata di degenza ospedaliera. Tutti i pazienti furono controllati a due, quattro e sei mesi e l'ultimo controllo fu fatto poco prima dell'exitus. Quelli trattati con alcool al 50% accusarono molto meno dolori degli altri. Il beneficio dovuto all'infiltrazione con alcool fu presente sia nei p. che accusavano forti dolori prima dell'intervento sia in quelli che non ne accusavano affatto. La vera sorpresa fu data dall'aumento della sopravvivenza nei pazienti che prima dell'intervento avevano lamentato dolori molto forti rispetto ai controlli.

Gli AA conclusero che *“la splancnicectomia chimica dell'asse celiaco dovrebbe essere fatta in tutti i pazienti che vengono sottoposti a laparotomia per cancro del pancreas”* e *“per via percutanea sotto guida fluoroscopica o TAC in quelli che non vengono operati”*.

Nel **1994** lo stesso Lillemoe, chirurgo delle Johns Hopkins Medical Institutions di Baltimora, occupandosi delle malattie pancreatiche dell'anziano, prese in considerazione la decompressione biliare preoperatoria negli anziani sofferenti di cancro del pancreas attuata

con gli *stents* applicati per via transepatica o mediante ERCP e fece riferimento ai risultati di una ricerca controllata randomizzata **del 1985** condotta da H.A.Pitt e colleghi. In base a questo giunse ad affermare che “*la decompressione biliare preparatoria di routine non sembra giustificata nel paziente anziano itterico*” in attesa di duodenopancreatectomia, fatta eccezione “*per i pazienti malnutriti o affetti da sepsi biliare*”. Nello svolgimento delle manovre diagnostiche, Lillemoe, oltre a confermare la grandissima utilità dell’ERCP e della colangiografia transepatica, sottolineava l’importanza dell’angiografia viscerale, esame che poteva fornire utili indicazioni non solo per l’operabilità ma anche sulla disposizione anatomica dei vasi della regione pancreatica. Per quanto riguardava i fattori di rischio (età avanzata, estensione del tumore, malattie internistiche associate) e i risultati dell’unica possibile cura radicale (la duodenopancreatectomia), l’A. riportava la completa assenza di differenze tra due gruppi di pazienti facenti parte di una serie consecutiva di 145 duodenopancreatectomie, divisi dall’età anagrafica al di sotto e al di sopra dei 70 anni (37 operati con più di 70 anni d’età e 108 al di sotto di tale età). Non vi fu mortalità; la morbidità postoperatoria fu lievemente superiore negli operati più giovani e tutti gli altri parametri (durata della degenza ospedaliera, dei tempi operatori, entità delle perdite di sangue) fornirono dati perfettamente uguali nei due gruppi. Questo indusse Lillemoe a concludere che “*l’età avanzata non è più una controindicazione relativa all’esecuzione di una duodenopancreatectomia*”.

Contrariamente a questo, F.Herter e coll., **nel 1982**, avevano osservato una mortalità del 7,7% nei pazienti al di sotto dei 50 anni di età e del 25% nel sesto decennio di vita; questi AA non davano dati su pazienti ultrasessantenni. Lo stesso si dica per J.Lerut e coll. che **nel 1984** su 103 operati, prendendo come età discriminante il 65° anno d’età, dichiararono il 41% di mortalità e il 58,8% di morbidità nei pazienti ultrasessantacinquenni rispetto al 5% di mortalità e al 16,3% di morbidità dei pazienti più giovani. Ancora gli inglesi H.Obertop e coll. avevano dichiarato nel 1982 una mortalità operatoria del 33% nei pazienti ultrasessantenni contro il 4% dei pazienti più giovani

Prima di chiudere questo paragrafo bisogna anche citare il ***Cistadenocarcinoma del pancreas*** che rappresenta solo l’1% di tutte le neoplasie maligne del pancreas ma che, a differenza di queste, offre un indice di resecabilità radicale elevato (67% e più a seconda delle casistiche) seguita da una sopravvivenza media ai 5 anni pari al 72%.

Trapianto di Pancreas

Dopo molte ricerche di chirurgia sperimentale i primi quattro trapianti di pancreas da cadavere nell’uomo vennero eseguiti in altrettanti malati di diabete giovanile e insufficienza renale dal gruppo di chirurghi dell’università americana di Minneapolis nel **1966**. Ovviamente fu contemporaneamente eseguito anche un trapianto renale. Il pancreas asportato *en bloc* con il duodeno, fu impiantato nella fossa iliaca sinistra mentre in quella destra fu impiantato il rene. La rivascolarizzazione fu ottenuta anastomizzando un segmento dell’aorta contenente l’origine del tripode celiaco del donatore con l’arteria iliaca comune del ricevente; il moncone prossimale del duodeno fu suturato e affondato sotto borsa di tabacco, quello distale fu abboccato alla cute dell’addome nei primi interventi mentre nei successivi – una volta controllato che dalla enterocutaneostomia fuoriusciva succo pancreatico normale per qualità e quantità, la bocca aborale del duodeno fu abboccata ad un’ansa del tenue. Superata con l’immunosoppressione la fase dei rigetti, la funzionalità endocrina ed esocrina del pancreas trapiantato risultò normale. A questa prima tecnica operatoria ne seguirono altre con anastomosi dell’arteria celiaca e della vena porta, prelevate insieme al pancreas dal cadavere, ai vasi iliaci del ricevente, e del dotto pancreatico all’uretere. Una terza tecnica messa a punto dal gruppo dell’Università di Lione diretto da **Dobernard** è consistita nella preparazione sul cadavere di corpo e coda

del pancreas con la vascularizzazione fornita dai vasi splenici (arteria e vena) e nella eliminazione della produzione esocrina della ghiandola iniettando neoprene nel suo dotto. I vasi splenici venivano anastomizzati a quelli iliaci del ricevente. Prima del 1983 erano stati eseguiti con queste tecniche 57 trapianti protetti da diversi trattamenti immunosoppressivi (azatioprina, prednisolone, irradiazioni con cobalto 60). I due primi trapianti di pancreas in Italia furono eseguiti da E.Tosatti e dal **gruppo romano di Cortesini nel 1981.**

Nel 1983 si stava sperimentando anche la tecnica di preparazione delle isole di Langerhans da pancreas umano e della loro iniezione nella v. porta nella speranza che potessero colonizzare in seno al tessuto epatico ma il rigetto, nonostante la protezione immunosoppressiva, è stato costante e inevitabile. La ricerca stava continuando nel 1983 con isole prelevate da pancreas di feti.

Se nel **1992** R.Robertson si chiedeva ancora sul "*N.Engl.J.Med.*" se il trapianto di pancreas e di isole di Langerhans per la cura del diabete fosse una terapia degna di questo nome o invece una curiosità, la letteratura precedente e quella successiva furono ricche di lavori che riportavano analisi dei fattori di rischio e della mortalità di questo intervento. Negli USA dove venivano diagnosticati ogni anno 30.000 nuovi casi e 160.000 decessi per diabete giovanile e dove era stato dimostrato che questo tipo di diabete era la causa primaria di insufficienza renale (27% di tutti i casi dello stadio finale d'insufficienza renale), si era fatta strada da qualche anno la convinzione che questi malati erano i candidati ideali per un trapianto di pancreas (PTX) oltre che per un trapianto renale (SKPT). Alla metà degli anni Novanta l'aggiunta di un trapianto di pancreas ad un trapianto renale rappresentava però ancora una questione controversa circa la morbilità e la mortalità. Nel **1998** R.J.Stratta, del dipartimento di chirurgia dell'università di Tennessee-Memphis, pubblicò su "*Surgery*" un'analisi retrospettiva delle cause di morte del PTX in 22 operati su 196 (12%) avvenuta in media 19 mesi dopo il trapianto. L'80% dei decessi era avvenuto per infezione (entro i primi mesi e per cause legate a complicazioni operatorie), per infarto miocardico e per morte improvvisa.

BIBLIOGRAFIA

Adams H.D.	Malignant Tumors of the Esophagus and Esophagogastric Junction	"Surg.Clin.North Am." XLIV, 1964
Ahn S.S.	Status of Peripheral Atherectomy	Surg.Clin.North Am." LXXII, 1992
Albertini A.	Biotechnologie	Enc.Novec.Ist.Ital.Enc. suppl.II°1998, Roma
Albertini A.	Biotechnologie	Enc.Novec,Ist.Ital.Enc.suppl.VIII 1989, Roma
Allen A. W. e coll.	Abdominal Surgery	Hoeber P.B.-New York, 1961
Allgower M. e coll.	Trattato di Gastroenterologia chirurgica	Antonio Delfino editore Roma, 1983
Allison P.R. e coll.	Esophagojejunogastrostomy	J.Thor.Surg.XXX,1957
Aloisi M.	Fisiologia delle cellule	Enc.Novec.Ist.Enc.Ital., I, Roma, 1975
Aloisi M.	Patologia sperimentale	Enc.Novec.Ist.Enc.Ital.V. Roma,1980
American College of Surgeon	Manuale del Trattamento Pre e Postoperatorio	Piccin editore - Padova, 1972
Anderson K.P. e coll.	Surgical excision of focal paroxysmal atrial tachycardia	"Am.J.Cardiol." XLIX, 1982
Anderson R.W. e coll.	Carcinoma of the lung	"Surg.Clin.North Am.", LX/41980,
Anderson W.F.	Human gene therapy	"Science", CCLVI, 1953
Ascoli A.	Elementi di Sierologia	Stab.Tip. Stucchi – Milano, 1912
Ashikari R.H.	Modified Radical Mastectomy	"Surg.Clin.North Am." LXVI, 1964
Baker R.B.	Preoperative Assessment of the Patient with Breast Cancer	"Surg.Clin.North Am." LXVI, 1984
Barbensi G.	Storia della Bivetrina	Enc.Novec.Ist.Ital. I, Roma, 1975
Bardeleben A.	Istituzioni di Patologia Chirurgica-7° ediz. traduz. Berté F.	Jovene N.- Napoli, dopo 1876
Barnard Ch.	A human cardiac successful transplantation performed at Groote Schnur Hospital, Capetown	"South African med.J." XLI 1967
Beger H.G.	Surgical management of necrotizing pancreatitis	"Surg.Clin.North Am." LXIX, 1989
Bergan J.J. e coll.	Venous reconstructive surgery	"Surg.Clin.North Am." LXVII, 1982
Bergh N.P.	Bronchogenic Carcinoma	"Acta Chir.Scand." suppl. CCCXLVII, 1965
Biancalana L. e Paletto A.E.	Malattie di Bronchi e Polmoni	Tratt.Ital.Pat.Chir. volume IV
Bickam-Callamder-Shackelford	La Chirurgia dell'Apparato Digerente	edizione italiana Soc.Ed. Universo-Roma-1958
Binet J.P. e coll.	Clinical use of heterografts for replacement of the aortic valve	"J.Thor.Cardiovasc.Surg." XV, 1968
Blalock A. e coll.	The surgical treatment of malformation of the Heart in which there is pulmonary stenosis	"J.A.M.A." CXXVII 1969
Boas J.	Sul carcinoma dello Stomaco e dell'Intestino	S.E.L. – Milano, 1909
Bourgeon R. e coll.	L'hépatectomie droite	"J.Chir." XCI, 1966
Bowman H.E.	Colon-Rectal Cancer: Organization and Government Regulations	"Surg.Clin.North Am." LVIII, 1978
Boyd D.P.	Surgery in Hiatus Hernia	"Surg.Clin.North Am." XLIV, 1964
Braasch J.W. e Denbo H.E.	Tumors of the Small Intestine	"Surg.Clin.North Am." XLIV, 1964
Bradford J.K. e DeCamp P.	Bronchiectasis	"Surg.Clin.North Am." XLVI, 1966
Brunori M e coll.	Biofisica	Enc. Novec.Ist.Ital.Enc. suppl.II°1998, Roma
Callow A.D.	Current status of vascular grafts	"Surg.Clin.North Am." LXVII, 1982
Calne R.Y. e White D.J.G.	The use of Cyclosporine in clinical organ grafting	"Ann.Surg." CXCVI, 1982
Carlon C.A. e coll.	Generalità di terapia chirurgica delle malattie del cuore e dei grossi vasi	Tratt.Ital.Patol.Chir. di Ceccarelli G, Piccin editore Padova, 1964
Carlon C.A. e coll.	Malattie Cardiovascolari congenite	Tratt.Ital.Pat.Chir. c.s
Carpentier A.	Le coeur artificiel. Mythe ou réalité	Paris, 1980
Carpentier A.	La valvuloplastie reconstructive. Une nouvelle technique de valvuloplastie mitrale	"La presse medicale" LXXIX, 1980
Cattell R.B.	An evaluation of the long T-Tube	Surg.Pract.Lahey Clinic- Saunders-Philadelphia, 1962
Cattell R.B. e coll.	Stenosis of the Sphincter of Oddi	Surg.Pract.Lahey Clinic Saunders-

		Phildelphia, 1962
Cattell R.B. e coll.	Periampullary Carcinomas	Surg.Pract.Lahey Clinic Saunders-Philadelphia, 1962
Cavaye D.M. e coll.	Intravascular Ultrasonography	"Surg.Clin.North Am." LXXII, 1992
Ceccarelli G	Malattie dell'Intestino	Tratt.Diagnostica Chir. Ceccarelli Vallardi editore,Milano, 1957
Ceccarelli G e coll.	Malattie del Torace	Tratt.Diagnostica Chir. Ceccarelli Vallardi editore, Milano, 1957
Ceccarelli G.	Sindromi Dolorose Addominali	Tratt.Diagnostica Chir. Ceccarelli Vallardi editore, Milano 1957
Ceccarelli G.	Trattato Italiano di Patologia Chirurgica	Piccin editore-Padova, 1964
Ceccarelli G.	La Sutura	Marsilio ed., Padova,1970
Centanni E.	Trattato di Immunologia	S.E.L.- Milano, 1921
Cevese P.G.	Malattie della Mammella	Tratt.Diagnostica Chir. Ceccarelli Vallardi editore, Milano,1957
Cevese P.G.	Malattie dell'Esofago	Tratt.Diagnostica Chir. Ceccarelli Vallardi ditore, Milano, 1957
Christian Ch.B. e coll.	Current status of Coronary Bypass Grafting for Coronary Artery Atherosclerosis	"Surg.Clin.North Am." LXV, 1985
Cole W.H. e coll.	Textbook of Surgery	Appleton-Century- Crofts, 8°ed.- New York, 1963-1965
Cooley D.A. e coll.	Surgical management of aneurysms of aortic arch	"Surg.Clin.North Am." XLVI, 1966
Cooperman A.M e coll.	Breast Cancer: an Overview	"Surg.Clin.North Am." LXVI, 1984
Corman M.L.	The management of Anal Incontinence	"Surg.Clin.North Am." LXIII, 1983
Corman M.L.	Rectal Prolaps	"Surg.Clin.North Am." LXVIII, 1988
Cotton P.B.	Nonsurgical Palliation of Jaundice in Pancreatic Cancer	"Surg.Clin.North Am." LXIX, 1989
Crick F.H.C. e coll.	Selfish DNA: the ultimate parasite	"Nature", CCLXXXIV, 1980
Curti B.	Biochimica	Enc.Novec.Ist.Enc.Ital. suppl.II 1998, Roma
Dale W.A.	Venous Bypass Surgery	"Surg.Clin.North Am." LXVII, 1982
Daw E.F. e coll.	Controlled Hypotension	Surg.Clin.North Am." XLV, 1965
De Bakey e coll.	Successful resection of aneurysms of thoracic aorta and replacement by graft	"J.A.M.A." CLII, 1953
De Bakey M.E. e coll.	Dissecting Aneurysms of the Aorta	"Surg.Clin.North Am." XLVI, 1966
De Blasi A. e coll.	Tumori della testa del Pancreas e della Papilla di Vater	EMES editrice, Roma1958
De Quervain F.	Diagnostica Chirurgica per medici e studenti	Vallardi - Milano, 1907
Deddish M. R.	Local Excision	"Surg.Clin.North Am." LIV, 1974
Devloo R.A. e coll.	Anesthesia in Cardiac Surgery	"Surg.Clin.North Am." XLV, 1965
Dianzini M.U.	Patologia Generale - 2 volumi	UTET, Torino, 1974
Dogliotti A.M. e doll.	Les bases physio-pathologiques de l'hypothermie et les possibilités de l'association Hypothermie--Circulation	"Lyon chir.",XLIX, 1954
Doolittle W.F. e coll.	Selfish genes, the phenotype paradigm and genuine evolution	"Nature"CCLXXXIV,1980
Doty J.E. e coll.	Alterations in Digestive Function caused by pancreatic Disease	"Surg.Clin.North Am." LXIX, 1989
Dubost Ch e coll.	Sténoses congénitales de l'orifice aortique	"J.Chir."XC, 1965
Dubost Ch e coll.	The association of the artificial heart-Lung with deep hypovolemie in open heart surgery	"J.Cardiovasc.Surg.", I, 1960
Dubost Ch.	Cardiochirurgia	Enc.Novec.Ist.Ital Enc. suppl.VIII, Roma, 1989
Dubost Ch.	Anastomose porto-cave termino-lateral pour hypertension portale	Nouv.Prat.Chir.Illustr. XII-Doin & co.-Paris, 1958
Dubost Ch.	Reconstructive surgery of mitral valve incompetence. Ten years appraisal	"J.Thor.Cardiovasc.Surg LXXIX, 1980
Dubost Ch.	Chirurgie de la tetralogie de Fallot	"Ann.Chi.Thor. et Cardiovasc." I, 1962
Dukes C.E.	Familial Intestinal Poliposis	Surg.Clin.North Am." XLV, 1965
Duplay S. e coll.	Manuale di Diagnostica Chirurgica	S.E.L.- Milano,1903
Durante F.	Trattato di Medicina Operatoria	UTET-Torino-1909
Epfelbaum R. e coll.	La Pancreatite cronique	"J.Chir". XCI, 1966
Efron G.	Te natural history of Panceatitis	"Brit.J.Surg." LIII 1966
Earlan R.J. e Ellis F.H.	Tha surgical repair of Hiatal Hernia; current controversies	"Surg.Clin.North Am."XLVII, 1974
Ewald C.A.	Ulcera ed Emorragia dello Stomaco	S.E.L. - Milano, 1909
Falaschi A.	Struttura e sintesi del DNA	"Quaderni Biol.",Padova,1975
Fazio V,W.	Cancer of the Rectum-Sphincter-Saving Operation Stapling	"Surg.Clin.North Am. LXVIII, 1988

	techniques	
Fazio V.W.	Regionale Enteritis (Chron's Disease): Indication for Surgery and Operative strategy	"Surg.Clin.North Am." LXIII, 1983
Fisher E.	Protein phosphorylation and cellular regulation – II°	"Angew.Chemie" intern.edition XXXII, 1993
Flavell G.	An introduction to chest surgery	Oxford Univ.Press – London, 1957
Fortner J.G.	Regional resection of cancer of the pancreas: A new surgical approach	"Surgery", XXVIII 1973
Fortner J.G.	Recent Advances in Pancreatic Cancer	"Surg.Clin.North Am." LIV, 1974
Frank H.A. e Zoll P.M.	Long-term electrical stimulation of the heart: present status	"Surg.Clin.North Am." XLIX, 1969
Freeman N.E e Leeds F.H.	Operations on large arteries	"Calif.Med." LXXVII, 1952
Gallagher D.M. e Russell Th.R	Surgical Management of Diverticular Disease	"Surg.Clin.North Am." LVIII, 1978
Gandini D. e Juliani G.	La Broncografia nella Fisiopatologia Bronchiale	Minerca Medica ed.-Torno, 1957
Gasser H.S. e coll.	Action and excitability in mammalian A fibers	Am.J.Physiol. 117, 1936
Gedda L.	Novant'anni delle Leggi Mendeliane	Ist."Greg.Mendel", Roma, 1956
Gilbert W. e coll.	On the antiquity of introns	"Cell", XLVI, 1980
Giordano D.	Chirurgia	Firenze, 1938
Giorgi L.V. e coll.	Incessant focal atrial tachycardia: a surgically remediable cause of cardiomyopathy	"J.Thor. Cardiovasc. Surg." LXXXVII, 1984
Glenn W.W.L. e coll.	Circulatory by-pass of the right heart	"Yale J.biol. a. med." XXVII 1954
Gordon Ph.H.	Squamous-Cell Carcinoma of the Anal Canal	"Surg.Clin.North Am." LXVIII, 1988
Gordon Ph.H. e coll	Experience with Stapling in Rectal Surgery	"Surg.Clin.North Am." LXIV, 1983
Gorman R. e coll.	Esophageal Disease in the Elderly Patient	"Surg.Clin.North Am." LXXIV, 1994
Gosset J.	Maladies de l'Estomac et du Duodenum	vedi Patel J.
Graham E.A.	The Year Book of General Surgery Series 1955-56	Year Book Publ. – Chicago, 1955
Greenfield L.J.	Surfactant in surgery	Surg.Clin.North Am. LIV, 1974
Greenfield L.J. e coll.	Endovascular Therapie of Venous Thromboembolic Disease	"Surg.Clin.North Am." LXXII, 1992
Griffen F.D. e coll.	Stapling technique for Primary and Secondary Anastomosis	"Surg.Clin.North Am." LXIV, 1983
Griffen W.O.	Gastric Bypass for Morbid Obesity	"Surg.Clin.North Am." LIX, 1979
Grinnell R.S.	The rationale of subtotal and total colectomy in the treatment of cancer and multiple polyps of the colon	"Surg.Gynec.& Obst." CVI, 1958
Gross R.E. e coll.	Surgical ligation of a patent ductus arteriosus: report of first successful case	"J.A.M.A." CXII, 1939
Grundfest H.	Electrophysiology and Pharmacology different components of bioelectric transducers	Cold SpringHarb Symp.Quant. Biol. XXX, 1965
Grundfest H. e coll.	Properties of mammalian nerve fibers of slowest conduction	Am.J.Physiol. 110-126, 1958
Gruntzig A.	Transluminal dilatation of coronary artery stenosis	"Lancet", I, 1978
Hackford A.W.	Biochemical Markers for Colorectal Diagnostic and Therapeutics Implications cancer:	"Surg.Clin.North Am.", LXXIII, 1993
Hackford A.W. e coll.	Diverticular Disease of the Colon – Current Concepts and management	"Surg.Clin.North Am." LXV, 1985
Halioua B.	Histoire de la Médecine	Masson dit, Paris, 2001
Hallman G.L. e coll.	Coarctation of the Thoracic Aorta	"Surg.Clin.North Am." XLVI, 1966
Hanley P. H.	Anorectal Abscess Fistula	"Surg.Clin.North Am." LVIII, 1978
Hepp J.	Pathologie de l'Intestin Grele	vedi Patel J.
Hepp J.	Pathologie des Colons	vedi Patel J.
Hepp J.	Pathologie du Rectum	vedi Patel J. Intrahepatic
Hepp J.	Pathologie de l'Anus	vedi Patel J.
Holcrooft J.W. e coll.	Extraanatomic Bypass Grafts	"Surg.Clin.North Am." LIX, 1979
Howard J.M.	Cystic Neoplasms and True Cysts of the Pancreas	"Surg.Clin.North Am." LXIX, 1989
Hubay Ch. A. e coll.	Hormone Receptors: an Update and application	"Surg.Clin.North Am." LXVI, 1984
Hubbard T.B., Jr e coll.	Familial polyposis of the colon: the fate of the retained rectum after colectomy in children	"Am.Surgeon" XXIII, 1957
Humphrey J.H. e White R.G	Principii di Immunologia	"Il Pens.Scient." Roma, 1967
Hunter J.G.	Endoscopic Laser Applications in the Gastrointestinal Tract	"Surg.Clin.North Am." LXIX, 1989
Hyland W.T.	Subcutaneous Mastectomy: Promises and Pitfalls	"Surg.Clin.North Am." LXV, 1985
Illiingworth Ch.	Patologia Chirurgica 1° ediz.ital.	Marrapese ed., Roma, 1982
Jones E.L. e coll.	Results of coronary revascularization in patients with recent myocardial infarction	"J.Thor.Cardiovasc.Surg." LXXXVI, 1978
Jones R.H. e coll.	Halothane and nonhalogenated Anesthetic Agents in patients with Cirrhosis of the Liver	"Surg.Clin.North Am." XLV, 1965

Jordan Jr G.L.	Pancreatic Resection for pancreatic cancer	"Surg.Clin.North Am."LXIX, 1989
Katzen B. e Becker G.J.	Intravascular Stents: Status of Development and clinical application	"Surg.Clin.North Am." LXXII, 1992
Kausch W.	Malattie della Ghiandola Mammaria	S.E.L. – Milano, 1909
Kay J.H. e coll.	Surgical treatment of tricuspid insufficiency	"Ann.Surg.", CLXII, 1965
Kay J.H. e coll.	The repair of mitral insufficiency associated with ruptured chordae	"Ann.Surg." CLVII, 1961
Khubchandani I.T.	Operative Hemorrhoidectomy	"Surg.Clin.North Am." LXVIII, 1988
Killingback M.	Management of perforative Diverticulitis	"Surg.Clin.North Am." LXIII, 1983
Klenshoj N.C.	Fundamentals of Biochemistry in Clinical Medicine	Ch.C.Thomas publ. – Springfield, 1953
Kolff J e Deeb G.M.	Artificial Heart and Left Ventricular Assist devices	"Surg.Clin.North Am." LXV, 1985
Kowey J.M. e coll.	Pacemaker Therapy	"Surg.Clin.North Am." LXV, 1985
Kraepelin K.	Principii di Biologia	SEL – Milano, 1911
Krauss F.	Clinica delle Neoformazioni del Fegato e delle Vie Biliari	S.E.L. – Milano, 1909
Krupp M.A. e coll.	Diagnostica e Terapia attuale 2° edizione	Piccin ed.-Padova, 1972
Kulka F. e coll.	Über die Möglichkeiten der operativen Behandlung solitärer intrathorakaler Lungenmetastasen	"Thoraxchir." – XIV, 1966
Lanzara A	Malattie dell'Esofago	Tratt.Ital.Pat. Chir.volume IV
Lattanzi M e coll.	Vaccini intelligenti	Enc.Novec.Ist.Enc.Ital.XIII, 2004, Roma
Lawrence P. e Goodman G.R.	Thrombotic Therapy	"Surg.Clin.North Am." LXXII, 1992
Lazarus H.M.	Endovascular Grafting for the treatment of Abdominal Aortic Aneurysms	"Surg.Clin.North Am." LXXII, 1992
Lebrun J.	Cholecystectomy avec controle radiomanometrique	Nouv.Prat.Chir.Illustr.- IX – Doin & Co.-Paris1956
Lee J.A.	Manale di Anestesia	Piccin ed.-Padova 1963
Levett J.m. e Karp R.B.	Heart Transplantation	"Surg.Clin.North Am." LXV, 1985
Levitan N.	Chemotherapy in Colorectal Carcinoma	"Surg.Clin.North Am." LXXIII, 1993
Lillehei C.W. e coll.	Vision intracardiac. Surgical correction of the tetralogy of Fallot	"Ann.Surg.", CXLII, 1955
Little J.M. e coll.	Venous Thrombo-embolie Disease	"Brit.J.Surg". LIII, 1966
Lillemoe K.D.	Pancreatic disease in the Elderly Patient	"Surg.Clin.North Am." LXXIV, 1994
London S.B. e London R.	A new simple readout instrument for continuous automatic Central Venous Pressure Monitoring	"Surg.Clin.North Am." XLIX, 1969
Longmire W.P.	Total gastrectomy for carcinoma of the stomach	Surg.Gyn.Obst.LVIIIIV, 1947
Longmire W.P. and Beal J.M.	Construction of a substitute gastric reservoir following total gastrectomy	Ann.Surg. CXXXV, 1952
Longmire W.P. and Sanford M.C.	Intrahepatic cholangiojejunostomy with partial hepatectomy for biliary obstruction surgery	"Surgery",XXIV, 1948
Longmire W.P. e Ravitsch M.M.	A new method for constructing an artificial esophagus	vedi Bickam e coll.
Malan E.	Malattie del Mediastino	Tratt.Ital.Pat.Chir. volume IV
Mallet-Guy P.	Maladies du Pancreas	vedi Patel J.
Mallet-Guy P.	Le Syndrome Cholangiolitique chronique Récidivant	"Lyon chir."XLIX, 1954
McKee D.M. e Swinton N.	Total Colectomy and Ileoproctostomy for Polyposis	"Surg.Clin.North Am." XLV, 1965
Menghetti L.	Malattie del Pericardio	Tratt.Ital.Pat.Chir. volume IV
Merendino K. e coll	The open correction of reumatic mitral regurgitation, treated by posteromedial annuloplasty using a pump-oxygenator	"Ann.Surg.", CL, 1959
Michenfelder J.D. e coll.	Induced Hypothermia: Physiologic effects, indications and techniques	"Surg.Clin.North Am." XLV. 1965
Mikukicw J.	Stato attuale della Chirurgia dello Stomaco e dell'Intestino	S.E.L. – Milano, 1909
Misiewicz J.J. e coll.	Malattie dell'Apparato Digerente e del pancreas – volumi 1 e 2	ediz.libr.Cortina, Verona,1988
Monod Ch. E Vanverts J.	Trattato di Tecnica Operatoria – 2 volumi	S.E.L.- 1904
Monod J.	Il caso e la necessità	1970, Milano
Moruzzi G. e coll.	Brain stem reticulata gormation and activation of the EEG	Neurophysiol. I. 455, 1949
Mouchet A.	Affections des voies biliaires	vedi Patel J.
Mouchet A.	Maladies du Foie	vedi Patel J.
Mullis K.	The unusual origin of the polymerase chain reaction	Scient.Am.,262, 1990
Mullis K. e coll.	The polymerase chain reaction	Birkhauser, Boston, 1994
Murray J.J. e Stahl Th.J.	Sphincter-Saving alternatives for treatment of adenocarcinoma involving distal rectum	"Surg.Clin.North Am." LXXIII, 1993
Murray V. e coll.	Mechanism for RNA splicing of gene Transcripts	"FEBS letters", CVI, 1979
Nakajama K. e coll.	Die Ergebnisse der chirurgischen Behandlung des Oesophuskarzinom	Chirurg,XXVIII,1957

Naldini L. e coll.	Terapia genica	Enc.Nov.Ist.Enc.Ital.XIII, Roma,2004
Natali D.	L'italiano che ha inventato la "mini" chirurgia polmonare	Corr.della Sera 8 Dicembre 2013
Neville J.E.	Respiratory Gas exchange – normal and abnormal	Surg.Clin. North Am. LIV, 1974
Nigro N.D.	Procidentia of the Rectum	"Surg.Clin.North Am." LVIII, 1978
Nolte e coll.	Conoscenze e compiti delle Assistenti Sanitarie e degli infermieri nella moderna Anestesia	Piccin ed., Padova, 1973
Novis D.H. e coll.	The cephalic phase of pancreatic secretion in man	"Scand.J.Gastroenterol."VI, 1971
Ochsner A.	History of Thoracic Surgery	"Surg.Clin.North Am." XLVI, 1966
Ochsner A.	Cancer of the Lung: recognition and management	"Surg.Clin.North Am." XLVI, 1966
Ochsner J.L.	Cardiac Surgery in Infancy	"Surg.Clin.North Am." XLVI, 1966
Ochsner J.L.	Myocardial Revascularization	"Surg.Clin.North Am." XLVI, 1966
Oeser H. e Ernst H.	Die Lungenszintigraphie als Mittel zur Fruerkennung del Lungenkrebses	"Dtsch.med. Wschft",XCI, 1966
Owens R.B.	Selective cultivation of mammalian epithelial cells	New York, 1976
Pappagallo M.	Cancro, la ricerca italiana scopre nuovi geni mutati	Corr. della Sera 7.XI.2013
Patel J.	Nouveau Précis de Pathologie Chirurgicale	Masson edit.-Paris – 1947
Pende N.	Terapia Medica Spdeciale	Wassermann ed.-Milano, 1932
Peters M.V.	"Local" treatment of early Breast Cancer	"Surg.Clin.North Am." LXVI, 1964
Peters R.M.	Work of breathing and abnormal mechanism	Surg.Clin.North Am. LIV, 1974
Polonowski M.	Pathologie Chimique – 2 vol.	Masson ed., Paris, 1952
Potts W.S. e coll.	Anastomosis of the aorta in the pulmonary artery	"Jama", 1946
Quénu J.	Colectomie subtotal	Nouv.Prat.Chir.Illustr.- VIII – Doin &c.-Paris-1954
Ravitch M.M.	Varieties of Stapled Anastomosis in Rectal Resection	"Surg.Clin.North Am." LXIV, 1983
Renzi R.	Ora la chirurgia sperimenta le "vie naturali"	Corr. della Sera 1 Dicembre 2013
Rhodes J. e Rose J.	Chron's disease in the elderly	"Brit.Med.J." CCXCI, 1985
Riegel P.	Dilatazione gastrica: sua diagnosi e cura	S.E.L. – Milano, 1909
Rinderknecht H.	Pancreatic secretory enzymes	In "The exocrine Pancreas,etc." di Go V. e coll. – Raven Press – New York, 1986
Ripstein C.B. e Lauter B.	Etiology and surgical therapy of massive prolapse of the rectum	"Ann.Surg."CLVII, 1963
Robbins G.F. e coll.	Inflammatory Carcinoma of the Breast	"Surg.Clin.North Am." LIV, 1974
Roberts e coll.	Current status of Percutaneous Transluminal Angioplasty	"Surg.Clin.North Am." LXVII, 1982
Rondoni P.	Biochimica – 2° edizione	UTET, Torino, 1928
Rosenheim Th	Sulle stenosi dell'Esofago	S.E.L. – Milano, 1909
Ross D.	Homotransplantation of the aortic valve	"J.Thor,a.Cardiovasc.surg." XLVII, 1964
Ross S.T.	Fistula in Ano	"Surg.Clin.North Am." LXVIII, 1988
Rossi R.	Elementi di Patologia Generale	Ambrosiana editrice Milano 1982
Rossi R.L. e coll.	Management of Cancer of Bile Duct	"Surg.Clin.North Am." LXV, 1985
Rossi R.L. e coll.	Surgical management of Chronic Pancreatitis	"Surg.Clin.North Am." LXV, 1985
Santoni Rugiu P	Microchirurgia ricostruttiva	"Enc.Novec.Ist.Ital.Enc." VIII suppl. 1989
Schatz G. e coll.	Common principles of protein translocation across membranes	Science, CCLXXI, 1996
Schrock Th.R.	Colonoscopic Diagnostic and Treatment of Lower Gastrointestinal Bleeding	"Surg.Clin.North Am." LXIX, 1989
Scott H.W.	Surgical Experience with jejunoileal bypass for morbid Obesity	"Surg.Clin.North Am." LIX,1979
Sedgwick C.	Splenectomy	Surg.Pract.Lahey Clinic Saunders-Philadelphia, 1962
Self S.B. e coll.	Laser Angioplasty	"Surg.Clin.North Am." LXXII, 1992
Sell G.	Erfahrungen mit der Enteritis Regionalis	"Langenbecks Arch. Klin. Chir." - CCCXI,1965
Sgaramella V. e coll.	Biologia molecolare	Enc.Novec.Ist.Enc.Ital. VIII, 1989, Roma
Shoji B. e Becker J.M.	Colorectal Disease in the Elderly Patient	"Surg.Clin.North Am." LXXIV, 1994
Siniscalco M.	Genetica	Enc.Novec.Ist.Enc.Ital.VIII, 1989, Roma
Smith P.K. e coll.	Surgical treatment of Supraventricular Tachyarrhythmias	"Surg.Clin.North Am." LXV, 1985
Solomon M.J. e coll.	Screening Strategies for Colorectal Cancer	"Surg.Clin. North Am." LXXIII, 1993

Sommer H. e coll.	Output-dependent nonparallel enzyme secretion of the human pancreas	"Hepatogastroenterol."XXXII, 1985
Spadolini I.	Elementi di Fisiologia	UTET, Torino, 1934
Staniunas R.J. e coll.	Extended resection for Carcinoma of colon and rectum	"Surg.Clin. North Am." LXXIII, 1993
Starr A. e coll.	Mitral replacement: the shielded ball with Prosthesis	"J.Thor.Cardiovasc.Surg.", XLII, 1961
Stearns M.W.	Benign and Malignant Neoplasms of Colon and Rectum	"Sug.Clin.North Am." LVIII, 1978
Stewart J.R.. e coll.	Transvenous Vena Cava filtration and pulmonary embolectomy	"Sug.Clin.North Am." LXVII, 1982
Sugawa Ch.	Endoscopic Diagnostic and Treatment of Upper Gastrointestinal Bleeding	"Surg.Clin.North Am." LXIX, 1989
Sutherland D,E.R e coll.	Experience with cyclosporine vs. azathioprine for pancreas transplantation	"Transplant.Proc." XV,1983
Sutherland D.E.R. e coll.	Pancreas Transplantation	"Surg.Clin.North Am." LXVI, 1986
Swinton N.W. e Nugent F.W.	The treatment of Ulcerative Colitis	"Surg.Clin.North Am." XXIV, 1964
Tagariello P.	Malattie della Mammella	Tratt.Ital.Pat.Chir.volume IV
Tasca G e coll.	La mortalità operatoria in chirurgia toracica pleuro-polmonare	Acta Chir.Ital.,Padova, 1960
Tasca G.	Cura chirurgica della pancreatite cronica	Gazz.Sanit. XXXVI°, 1965
Tasca G. e coll.	Contributo istologico e clinico allo studio della Coartazione Istmica dell' Aorta	Acta Chir.Ital., Padova, 1956
Tasca G. e coll.	Il Cancro-Ascesso del Polmone	Rass.Pat.App.Resp. VI, 1956
Tasca G. e coll.	Contributo clinico alla conoscenza della pancreatite acuta edematosa	Il Friuli Med. XV°, 1960
Tasca G. e coll.	Unsere Erfahrung bei Relaparotomie nach chirurgischen Eingriffen am Magen-Darm Kanal	Deut.Zft.Chirurgie CCCI, 1962
Tasca P.	La Chirurgia dell'Intestino	Tip.Castion-Portogruaro, 1921
Turnbull RB jr	Abdomino rectal pull-through resection for cancer and for Hirschsprungs-disease: delayed posterior colorectal anastomosis	"Cleve. Clin.Q." XXVIII, 1961
Ulmer K.	Protein engineering	Science",CCXIX, 1983
Ungeheuer e coll.	Die Darmentleerung mit Hilfe eines Ballonkatheters waender de Ileusoperation	"Der Chirurg", XXXVII, 1966
Valdoni P	Chirurgia	Enc.Novec.Ist.Enc.Ital. I,1975 Roma
Valdoni P.	Manuale di Patologia Chirurgica	SEI, 3° ediz. Milano, 1961
Van Buren Ch.T.	Cyclosporine: Progress, Problems and Perspective	"Surg.Clin.North Am." LXVI, 1986
Veidenheimer M.C.	Colonic Hemorrhage	"Surg.Clin.North Am." LVIII, 1978
Vesell E.S.	Multiple Molecular Forms of Enzymes	"Surg.Clin.North Am." XLIX, 1969
Vourch'h M.G.	Les accidents anesthésiques	"J.Chir." XC, 1965
Wangensteen O.H.	Physiologic operation for Megaesophagus: Dystonia, Spasm,Achalasia	Ann.Surg. CXXXIV, 1951
Warren K.W	Pathologic considerations as a guide to the choice of surgical procedures in the management of Chronic Relapsing Pancreatitis	Surg.Pract.Lahey Clinic, Saunders,Philadelphia, 1962
Warren K.W.	Choledochostomy and Cholecystectomy	Surg.Pract.Lahey Clinic- Saunders-Philadelphia, 1962
Warren K.W.	Modifications of the Roux-en-Y Procedure	"Surg.Clin.North Am." XLV, 1965
Watkins E. e coll.	Design and use of a Pump-Oxygenator	Surg.Pract.Lahey Clinic Saunders-Philadelphia, 1962
Watson J.D. e coll.	Molecular biology of the gene	Redword City, California, 1989
Watson J.D. e coll.	Recombinant DNA: a short course	New York, 1988
Watson J.M. e coll.	Molecular structure of nucleic acids	Nature" CLXXI 1953
Weakley F.L.	Cancer of the Rectum: a review of surgical options	"Surg.Clin.North Am." LXIII, 1983
Wetstein L. e coll.	Current status of Surgery for Ventricular Tachyarrhythmias	"Surg.Clin.North Am." LXV, 1985
White G.H.	Angioscopy	"Surg.Clin.North Am." LXXII, 1992
Wise R.E.	Current Concepts of Cholangiography	Surg.Clin.North Am." XLIV, 1964

INDICE ANALITICO DEI NOMI

Abbott	313	Anderson M.C.....	521
Abel L.	283; 296	Anderson R.	351
Abrahamson H.	125	Andervont H.	233
Abrahamson J.P.	15	Andrews.....	496
Abrahamson V.C.....	167	Andrews L.B.....	98
Absolon K.	314	Angastiniotis M.	97
Acosta J.....	522	Angelchick.....	409
Ada G.....	201	Angelchik.....	372
Adams F.....	380	Angeletti P.U.	60
Adams H.	382	Ansbro	293
Adams J.....	78; 324	Anschuetz K.	329
Addison.....	212	Antholine W.E.	26
Adler J.....	348	Anthonisen N.R.	156
Adson M.	479; 503	Apolant H.	240
Ageno M.	28	Apstein M.	497; 499
Agren G.....	128	Aradel P.	215
Ahlquist R.	263	Arber.....	83
Ahn S.	331	Arbib M.	53
Akakura J.	383	Arcidiacono R.	424
Akijama.....	383	Arcot S.S.....	87
Albarran	300; 509	Ardenne M.....	41
Albertini A.	34	Arderne J.....	473
Albouker	520	Arentzen.....	351
Albus J.S.	51	Ariani M.	329
Alcock.....	141	Arn dorfer R.C.	119
Alessandri	300	Arnheim F.	181
Alessandri R.....	396	Arthus	217
Alexander.....	340; 343	Artusio	286
Alexander J.	318; 348; 354	Arvy.....	45
Alexander J.W.....	492	Asburn H.....	445
Alexander P.....	32	Ascher P.....	62
Aleximeskishvili V.	311	Aschoff L.	44; 45
Allema J.H.	512	Ashikari R.	361
Allen A.W.	513	Ashley.....	234
Allen D.S.	332	Ashton-Rickardt.....	198; 207
Allen-Mersh T.....	449	Ashwell	82
Allessie A.	317	Assenmacher I.	112
Allgöwer	411; 415	Aston.....	41
Allison.....	191	Astrom A	153
Allison P.	324	Attar B.	487
Allison P.R.....	349; 371; 406; 408; 409	Attwell D.	108
Aloisi M.	183; 184; 185; 189	Auer	294
Alper J.S.....	96	Auer E.....	455
Alpert J.....	322	Auerbach.....	73; 134; 138
Al-Sumdaie	365	August J.	78
Altemeier W.....	469	Auth D.	331
Altmann R.	10	Avery O.	11; 75
Alvarez.....	387	Axell M.....	432
Alvarez T.	224	Azar H.....	433
Alwens W.	238	Baarle A.	332
Alzheimer.....	18; 95; 275; 278	Babcock	468
Amassian V.E.	116	Baccelli	487
Ambrose N.S.....	465	Bacon H.	457; 458; 462; 467; 468; 471; 473
Amdrup E.....	397	Baggi G.F.....	221
Ameville.....	345	Bailey.....	238; 313
Amouyala P.....	509	Bailey C.	302; 308; 313; 314
Amplatz.....	325	Bailey M.	96; 375
Amprino R.	47	Baillarger J.G.F.....	51
Anastasi.....	257	Bainbridge F.A.	165
Ancel.....	47	Baker.....	25
Andersen R.L.	38	Bakers	513
Anderson.....	235	Bakulev	311
Anderson E.T.	497	Balfour D.	391; 398; 458
Anderson F.....	17	Bali H.....	250
Anderson K.....	317	Balko A.....	320

Ball.....	462	Behar J.	371
Balser	518	Behring E.A.	193
Baltimore D.....	245	Beinert	25
Bancroft J.....	101	Beklin M.....	31
Bang O.....	231	Belinoff S.....	368
Bank J.....	392	Belling J.....	71; 74
Banti.....	516	Belsey R.....	372; 408
Banyai.....	339	Benacerraf B.....	207
Barbeau G.....	330	Bender A.D.....	175
Barbensi G.....	39	Bendixen H.....	155
Barbot D.....	379	Benedict E.....	369
Barcroft J.....	152	Bengue	291
Bard.....	117	Bennett.....	104
Bard P.....	167	Bennett C.L.....	443
Bargen J.....	419; 425	Bennett J.....	407
Bargmann.....	111	Bennett K.....	395
Barker	396	Benoist C.....	200
Barker W.....	321; 342	Benoit J.....	112
Barkett.....	324	Bensande.....	368
Barnard C.....	306; 307	Benzer S.....	76; 77
Barnard E.A.....	265	Berenblum I.....	239; 240
Barnes P.....	433	Berg	89
Barnet G.....	283; 296	Berg J.M.....	26
Barnett.....	489	Berg P.....	12
Barney J.....	354	Bergan J.....	334; 521
Baron J.H.....	123	Bergdahl L.....	503
Baron M.....	96	Berger H.....	116
Barr	42; 241; 243	Bergheden C.....	32
Barr M.....	81	Bergmann.....	356; 510
Barrett	371; 409	Bergmann M.....	128
Barron J.....	465	Bergsma.....	249
Barry	112	Berk	505
Barthelemy.....	294	Berk J.....	430
Basedow.....	212	Berkman W.....	515
Bass N.....	470	Berlin R.....	51
Bassett L.W.....	363	Berliner	102
Bateson W.....	68; 69; 70; 71; 74; 76	Berman.....	381
Batini C.....	117	Berman E.....	369
Batten	19	Bernard	163
Batzer.....	88; 89	Bernard A.....	521
Baum.....	365	Bernard C.....	100; 183
Baumann	427	Bernhard V.....	332
Baur E.....	69	Bernier	402
Bave A.....	329	Bernou	340
Bayer	429	Berns K.E.....	404
Bayliss W.M.....	13; 122; 134; 142; 149	Bernstein F.....	72
Bazy L.....	321	Bernstein J.....	168
Bazzocchi G.....	140	Berquist.....	505
Beadle G.....	74	Berridge M.J.....	62
Beahrs O.H.....	459; 470	Berry J.L.....	182
Beard.....	252	Bertel G.....	486
Bearle.....	76	Berthrong.....	221
Beart.....	440	Bertini I.....	25; 26
Beart R.....	479	Bertoni G.....	439
Beasley.....	243	Bertram E.....	81
Beatson	362	Bertrand D.....	110
Beatty B.....	81	Bertrand G.....	13
Beaumont W.....	122	Berzelius J.J.....	99
Bechterew	416	Bess M.....	450
Beck C.S.....	347; 380	Best R.....	416; 509
Becker J.....	426	Bethune.....	343
Becker J.M.....	147; 148	Betz.....	52
Becker W.....	496	Bhuyan.....	21
Beck-Jianu	388	Biancalana L.....	341; 346; 349; 350; 351
Beckwith J.....	93	Bickam.....	387; 397; 431; 468; 478
Beermann W.....	80	Bielsky.....	21
Begin	487	Bier	222; 279; 289
Begouin.....	366	Biermer	399

Bigelow	288; 313	Borel J.....	307
Billings P.....	96	Borelli G.A.	37
Billroth.....	297; 300; 356; 380; 390; 391; 401; 411; 527	Boron W.F.	66
Binet J.	305	Borrel A.	240
Binmoeller K.F.	523	Bors E.	181
Biondi D.....	340	Bosman	212
Birnbaum W.....	437	Bosset J.B.	503
Bischoff.....	238	Bosworth J.	361
Bishop J.M.	89	Botallo	312; 313
Biskind G.	249	Botha G.....	120
Biskind M	249	Boucheck R.....	224
Bitter J.....	233	Bouckaert J.J.....	153
Bizzozzero C.	42	Bouhnik Y.....	386; 423; 427; 460; 466; 474
Björk	305	Bourbon	282
Bjorkman P.	208	Bourdon-Sanderson	168
Black	361; 457	Bourne	296
Black 1	237; 252	Bovet D.....	109; 256
Black J.W.....	264	Bowen.....	451
Blackett R.	397	Bowmann.....	46
Blackman	198	Boyd D.P.	406; 407
Blades	303	Boyd W.....	194
Blades B.....	345	Boyden A.M.	496
Blair D.A.....	172	Boyden E.A.	147
Blair E.A.	105	Boyer	83
Blair T.	35	Boyle.....	285
Blaisdell F.....	328	Braak H.....	52
Blake	364	Braasch J.....	411; 529
Blakemore A.	319; 373; 374	Brachet J.....	77
Blakford	392	Braden L.M.....	362
Blalock	310; 311; 312; 314	Bradford A.	39
Blan.....	525	Bradley O.C.	50
Blanchard	478	Bradsher J.	318
Blanden	13	Brady	169
Blender.....	525	Braitenberg V.....	51
Bliss C.J.	39	Branicki F.	393
Bloch	428	Brannan M.	403
Block H.....	340	Braun	390
Bloom	89	Breilings D.....	414
Bloom H.....	357	Breinl F.....	193
Blos.....	283	Bremer F.....	115; 116; 117
Blum A.....	370; 408	Bremner C.....	371
Blumberg	243	Brener	282
Blumgart L.H.	514	Bresciani F.....	250
Blunt C.	425	Bretscher P.A.....	203
Bobrow	488	Briccoli A.	455
Bockus A.L.	497	Bricker	381
Bockus H.L.	392; 413; 419; 425; 502	Bridenbaugh L.D.	528
Bodansky O.....	148	Bridges G.....	73; 88
Bodwick.....	442	Brinig S.....	429
Boehmer.....	198	Brintnall E.....	468
Boerema I.....	303; 372; 407	Briot.....	116
Boerhaave	220	Brister S.	446
Boey J.	395	Britten R.	81
Boineau	317	Britton.....	377
Boivin A.....	223	Britton Chance.....	27
Bolis.....	234; 249	Brock R.....	332
Bolk L.	50	Brock R.C.	311
Bolton T.B.	137	Brocq	518; 520
Bond T.	488	Brocq P.	524
Bonnadonna	362	Brodal A.	55
Bonner.....	82	Broder.....	430
Bonnet.....	116	Brodmann K.....	51
Bonomo.....	428	Broelsch C.E.....	493
Boorly H.	199	Brolin.....	515
Booth R.A.	395	Bronwell A.	159
Boowsheer D.	55	Brooke B.....	422; 450
Bordet J.....	23	Broten	173
Borel F.E.....	37	Brown	208

Brown-Séguard C.E.	163	Cammack R.	25
Bruce H.M.	114	Campani M.	221
Bruce-Smith R.	294	Campbel R.	208
Brücke E.	41	Canestrini G.	459
Bruhat 499		Canniot 488	
Brunetand J.	447	Cannon J.	321
Brunn 343		Cannon W.B. 101; 125; 126; 127	
Brunne H.G.	97	Cao A.	96
Brunner 127; 490		Cappellini R.	218
Brunori M.	29	Caprilli R.	137
Brunschwig 388		Caputo A.	221
Bruton 235; 249		Cardona J.	368
Bryant A. 251; 518		Carey L.C. 521; 522	
Bryant J.C. 31		Carey M. 497; 499	
Buchner E. 9		Carle 297	
Buchwald 411		Carlens E. 346; 351	
Budd-Chiari 492		Carlson C.A. 311; 313; 350; 507	
Bueker E.D. 60		Carlson H.C. 121; 126	
Bueno L. 136; 138		Carnot 518	
Bufano M. 515		Caroli J. 147	
Bühl 489		Carpentier A. 169; 305	
Buie-Smith 462		Carrel A. 31; 40; 298; 320; 333	
Bulmer J. 318		Carrington 284	
Buls J. 464		Carroll K.K. 362	
Bumm 283; 296		Carson J. 339	
Bundred 418		Carter R. 508	
Buren 467		Caselli P. 220; 221; 222; 224; 226	
Burge J. 382		Casoni 490	
Burger 155		Caspary W.F. 131	
Burk D. 232		Casperson 81	
Burk K. 246		Castagna 377	
Burke E.P. 137		Castaing R. 41	
Burkitt D. 83; 233; 241; 243; 244; 249; 465		Castaldi L. 39	
Burkly L.C. 210		Casten G. 309	
Burleigh D. 139		Castle 124	
Burn J. 107		Catambrone G. 371	
Burnet M. 193; 194; 202; 205; 206; 212; 249		Cathelin 294	
Burstall P.A. 123		Catnach S.M. 146	
Burton 164		Cattanach 81	
Bussey H. 450; 451		Cattell R. 421; 453; 507; 510; 512	
Bute L. 419		Catterall W.A. 109	
Butin J. W. 120		Cavallero C. 225	
Butler 391		Cavalli-Sforza J. 87	
Butzengeiger 296		Cavallo G. 202; 215; 219	
Buxton R. 453		Cavanagh C. 496	
Buzzard A. 417		Cavaye D. 333	
Byron F.X. 318		Cavelti E. 206	
Cacher J. 319		Cavelti P. 206	
Cade D. 442		Cazacu F. 499	
Cadenas E. 21		Ceccarelli G. 284; 294; 300; 311; 313; 343; 350; 358; 462; 483	
Cady B. 364; 403; 478; 479		Ceck T. 14	
Cahill C. 441		Celestin 386	
Cahow C.E. 513		Ceriani V. 405	
Caine M. 182		Cerino M. 333	
Cairns J. 76		Cesareni G. 274; 279	
Cali R.L. 140		Chain 261	
Califano L. 194; 238; 240; 245		Chain E.B. 255	
Call 248		Chalot 453	
Callahan D. 278		Chambon P. 83	
Callan H. 80		Champault G. 498; 499	
Callander L. 366; 397; 421; 431; 461; 463; 471; 478; 507		Champiche M. 162	
Callow A.D. 327		Chance B. 14	
Calne R. Y. 491		Chang N.N. 268	
Calvet 477		Chan-Palay V. 50	
Calzavara 519		Chantemesse 518	
Cameron 371		Chapeville F. 78	
Cameron J. 522; 531		Chaput 289	

Chardack W.	315	Conahan J.J. III.....	289
Chargaff E.	11; 75; 76	Confortini.....	352
Charnot P.	127	Conheim.....	44
Chase.....	75	Conn H.....	377
Chase W.M.	203	Connel J.	458
Chauffard.....	493	Connell O.....	391; 440
Chaussevant A.	127	Cook.....	131
Chenoweth D.	227	Cooke A.R.	127
Chernish S.M.	146	Cooke H.J.	134
Chevalier Jackson.....	295	Cooley D.....	308; 311; 312; 318; 324
Chey W.J.....	126	Cooley E.	356
Chiari.....	243	Coombs.....	215; 216
Child.....	378; 480	Cooper J.....	352; 353
Child C.....	527	Cooper R.....	362
Chopra S.	480; 487; 490	Cooperberg P.	501
Choudhury M.	320	Cooperman A.....	525; 526; 531
Chremos A.	410	Cooperman A.M.	359
Christensen J.	119; 136; 138	Copeland J.	309
Christianson D.W.....	26	Copeland N.G.	34
Christie J.P.	437	Copelson G.	504
Churchil.....	343	Coperman H.....	469
Churchill E.D.....	345; 349; 354	Copping J.....	528
Cid dos Santos J.....	320	Coraboeuf.....	169
Ciechanover.....	19	Cori.....	188
Clagett.....	476	Corman.....	442
Clagett O.....	342; 357; 369; 508	Corman M.....	467; 469; 470
Clairmont.....	380; 484	Corning.....	290; 292
Claman H.N.	197	Corradi.....	318; 320
Clark A.J.	109; 262	Correa P.	403; 530
Clark D.....	390	Correns C.....	68; 69
Clarke.....	115	Cortesini R.....	307; 491; 533
Clausen S.W.....	130	Cotran R.S.	221
Clay R.	474; 478	Cotton L.....	335
Cleaver.....	235	Cotton P.B.	509
Clement J.H.	346	Coughlin S.....	229
Clifton E.	520	Coumel P.	317
Clinton Bill.....	35	Counseller V.....	478
Cluff.....	221	Courvoisier S.	261
Cocayne E.A.	449	Coutsoftides.....	436
Cochrane C.	226	Coutsoftides T.....	436
Code C.F.	119; 120	Cowdry E.....	42
Codivilla.....	297	Cox.....	460
Coffey R.....	429	Crabtree H.....	232
Cohen.....	439	Craddock P.	228
Cohen E.P.	32	Crafoord C.....	313; 375
Cohen H.	486	Cragg.....	321
Cohen S.....	60; 127	Craig C.....	485
Cohen Z.....	459	Craig D.B.....	156
Cohnheim.....	220	Crane R.K.	131
Colcock B.	419; 432; 507	Creech O.....	326
Colcock P.....	414	Creighton.....	13
Cole.....	249; 426; 433; 497	Créquy.....	279
Cole W.H.	414; 501; 502	Criado.....	330
Coller.....	458	Crichlow R.W.....	503
Coller F.	430; 513	Crick.....	75; 76; 77
Coller J.....	437	Crick F.H.G.	11; 17
Collet.....	499	Crick R.E.	24
Collins.....	506	Crile.....	293
Collins J.L.	120	Crile G.	357; 359
Collins V.	293	Crispin H.....	332
Collip J.B.	48	Croce.....	83
Collis.....	408	Croce E.	480
Colosimo A.	29; 30	Crohn B.212; 412; 413; 414; 415; 416; 418; 419; 420; 465; 473; 486	
Colp R.....	414; 417	Cruchelt R.F.....	145
Combe C.	413	Csendes J.A.	405; 409
Comerota A.	336	Cuénot L.	69; 72
Comfort M.	508	Cuilleret.....	499
Comroe J.H.	153		

Cumberland D.....	322	De Rosa.....	222
Cumrton	345	De Vrise H.	68
Cuneò.....	400; 404	Deaver.....	476
Cunningham J.	468; 481	DeBakey M.....	318; 324; 326; 327; 430; 485; 486
Cunnings B.	447	Debas H.T.	126
Curie	252	Debove.....	487
Cuschieri A.	385; 396	Deddish M.	440
Cushing.....	212; 352; 391	Def	154
Cutait-Fagiolini	459	Deisenhofer J.	15; 27
Cuthbertson.....	459	Del Giudice G.	276
Cutler E.....	332; 360	Del Valle.....	510
Cutler E.C.	302	Delaitre	499; 517
Cutler R.E.	176	Delanoy A.	223
Cyon.....	163	Delarve.....	345
Czerny.....	380; 453; 456	Delbet P.	320
Dabbs	304	Delbrück M.....	17; 75
Daglies C.B.....	135	Delitala.....	300
Dagnini	474	Dell H.	115
Dagradi A.....	446	Delorme E.....	303; 347; 467; 470
Dai Y.....	36	Demel	519
Daily	319	Demerec M.	78
Dakin.....	298; 342	Demos N.	342
Daland C.	357	Dench H.	375
Dale H.H.	109; 263	Denk W.....	380
Dale W.	333	Dennis C.	381; 414; 420; 422; 426
Dallemagne B.....	385	Dennison A.R.	465
Daly B.	153	Denny-Brown	181
Daly J.	368	Denonvilliers.....	456
Dane E.	238	Dent	120; 249
Danese C.	357	Dent J.....	119
Daniel.....	283; 296	Derby R.....	318
Dao T.	250	Derom F.....	354
Darlibng R.....	327	Desguins	453
Darlington.....	84	Desjardins	527
Darnell J.....	83	Detry R.J.....	441
Darrow	102	Devé F.....	487; 488
Dauber J.	353	Deveney	440
Dausset J.	306	Devine J.	451
David K.R.	218	Devitt H.O.	207
David V.....	432; 467	Devitt J.....	393
Davidson	42	Devries W.	309
Davidson W.R.....	175	Dew H.R.	488; 490
Davies H.M.....	345; 349	Deziel D.....	498
Davis	369	Di George	219
Davis L.....	103	Diamare V.....	48
Davisson.....	41	Diamond D.	528
Davol.....	487	Dib C.	87
Davy.....	281	Dieffenbach	456
Davy H.	99	Dieulafoy	518
Daw E.	287	Differding	304
Dawson I.....	449	Dillon E.....	501
Dawson J.....	375	Dineen P.	486
De Beer R.....	438	Dinerman	172
De Blasi A.....	398; 421; 422; 450	Dingle	188
De Bovi.....	428	Dirk.....	283
De Camilli P.....	108	Ditzler J.....	287
De Cerenville	339	Dixon	206
De Cosse J.....	444	Dixon C.....	458
De Finetti B.....	37	Doberauer	518
De Giovanni A.	37	Dobernard	533
De la Rosa C.	123	Dobson J.F.....	404
De Lorey T.M.	110	Dobzhansky T.....	73
De Lucia P.	76	Dodds J.W.	148
De Meester T.....	372	Doerr R.	444
De Mey	172	Dogliotti A.M.	284; 290; 302
De Page.....	388	Dohlman H.G.....	273
De Paula A.....	385	Dohn D.F.	531
De Quervain.....	380	Doll	234; 237

Dölle W.	415; 416
Domagk.	255; 260; 261
Dombal F.	417
Dominici	400
Domschke	150
Donohue J.H.	403
Donovan A.	475; 510
Donovan A.J.	395
Donovan J.P.	492
Doolittle	32
Doolittle W.	83
Dor	372; 408; 409
Dorp	257
Dott H.	465
Dotter C.T.	320; 321
Dotter W.E.	354
Doty J.	490
Doty J.E.	148
Douane W.A.	452
Doubilet H.	496; 508; 511; 521; 525
Dougherty R.	248
Douglas	467
Dounce A.	76
Dowden J.W.	395; 396
Down	92; 187; 234
Doyen	506
Dozois R.R.	126
Dragstedt	123
Dragstedt C.A.	521
Dragstedt L.	396
Drapanas T.	377
Draper D.E.	26
Drazen J.	231
Dreiling	417
Drew	303
Drews	377
Druckrey H.	239
Drummond	373
Dubois F.	498; 499
Dubost G.	288; 302; 304; 306; 307; 309; 310; 311; 314; 315; 320
Duchenne	34; 86
Dudel	169; 171
Duesberg P.M.	246
Duff	521
Duffy B.J.	129
Dufor	294
Duisberg	296
Düker H.	41
Dukes	430; 432; 433; 441; 448; 455; 461
Dulbecco R.	17; 23; 34; 35
Dumonde D.C.	218
Dumont A.	226; 521
Dumphy J.	458; 468
Duncan R.	468
Dundee	396
Dungal	238
Dunham B.	230
Dunn D.L.	444
Dunphy	468
Dunphy J.	469
Duprez A.	521
Duran C.	305
Duranceau A.C.	119; 120
Durante	279; 281; 290; 297
Duret	280; 467
Duryll W.R.	233
Dutton R.W.	32
Duval	419; 453
Duval P.	380; 413; 419; 427; 428
Dvorak	224
Dyen E.	340
Dyson W.	357; 361
Dzau	172
Eakin	124
Earlam R.	408
Earle	462
East E.	71
Eccles	107
Eccles J.C.	27; 51; 103
Eck G.	529
Eckmann J.P.	30
Edelman G.	28; 29
Edelman G.M.	196
Eden A.	495
Edkins J.S.	122; 142
Edman P.	262
Edwards	105; 294; 305
starr	305
Edwards A.	354
Edwards D.	182
Edwards L.	507
Edwards M.	288
Effler D.	314
Egan S.E.	67
Egerton	306
Ehrlich J.	256
Ehrlich P.	23; 193; 203; 205; 240; 254; 255; 259; 261
Eichelster P.	324
Eicholtz	296
Eigen M.	28
Eijkman C.	22
Einhorn	292
Eisbrodt N.W.	133
Eiseman B.	334
Eisenmenger	353
Eisleb	293
Ekbom A.	418
Eldred	117
Eldred E.	117
Eliasson S.	167
Elion G.B.	261
Ellermann V.	231
Ellinger	46
Elliot J.S.	182
Ellis C.	41
Ellis F.H.	370; 382; 408
Ellison	265
Elsberg	295
Elting	471
Emami B.	504
Emanuel M.	181
Emerson	72
Emmermann A.	517
Emura T.	505
Enero M.A.	107
Engemann	442
Engstfeld	171
Enke J.F.	37
Epercum K.	477
Ephrussi B.	82; 84
Epps D.	228
Epstein	241; 243
Epstein D.	324; 325
Erb	188
Ergin M.	319

Eriksson E.	293	Fick R.	347
Erlanger.	412	Field J.	504
Erspamer V.	267	Fieser	238
Escalier	281	Fiessinger J.	335
Escarce J.J.	499	Fildes P.	260
Esmarch	279; 298	Filshie	530
Estlander J.	347	Finlay J.M.	131
Euler C.V.	107; 133; 153; 257	Finney	391; 502
Euler H.	13	Finney G.G.	497
Euler U.S.	172; 268	Finsterer	391; 502
Evander A.	513	Fischer	381
Evans P.	482	Fischer E.	9; 10; 11; 12
Everett W.	441	Fischer H.	16; 120
Everson G.T.	146; 249	Fischer J.	335
Ewald	412	Fischer R.S.	126; 145; 146
Exelby P.	483	Fisher	360
Fabiani J.	304	Fisher B.	361; 528
Fabricus P.	418	Fisher D.W.	195
Fabris J.	388	Fisher E.	360
Fagiolini	459	Fisher R.	127
Fahrenkrug J.	134	Fisher R.A.	38
Fairchild R.B.	490	Fishman N.	201
Falck G.L.	409	Fiskejonas	456
Falkson G.	528	Fitz	518
Fallace M.	248	Fiume	192
Fallis L.	425	Flack M.	44
Fallot	310	Flajani	212
Faloon F.A.	34	Flatau	283
Faltin	428	Flechsigsig.	105
Fan S.T.	482	Fleg J.L.	175
Fantioni G.	444	Fleig W.E.	376
Farabee W.C.	69	Fleishman J.W.	140
Farabeuf	297	Fleming A.	31; 204; 255; 256; 261
Farber E.	262	Fleming D.	288
Farges O.	504	Fletcher	227
Farley D.R.	403	Fletcher A.P.	334
Farmer	217	Fleury P.J.	20
Farmer R.G.	417	Flint	476
Farnbrough D.H.	263	Flintsch K.	286
Farnbrough D.M.	107	Florey H.W.	221; 255; 261
Farrant J.	504	Flourens P.	151; 282
Farrell	143	Flowers A.	498
Fasiani G.	300	Fogarthy	310; 335
Favaloro R.G.	313	Fogelman M.	475
Fazio V.W.	417; 418; 459	Folds	293
Feifel	439	Folet	419
Fein R.	347	Foley	388
Feinberg	292	Foley K.	531
Fékété F.	384	Folkow B.	167
Feletou	172	Follard B.	428
Feliciano D.	396; 476	Fontaine	293
Fell	188; 304	Fontan	281
Felsen J.	419	Fontham E.	530
Fenci V.	154	Foote F.W.	356
Fenger C.	454	Ford	201
Fenner F.	205	Forde K.	438
Fenton	21	Foregger	295
Fenwick	428	Foreman R.	452
Ferguson	114; 464	Forestier	345
Ferguson D.J.	357	Forges	504
Ferguson J.A.	464; 466	Forlanini C.	339
Ferina	222	Forni	205
Fermi E.	28	Forrst J.	512
Fernbach A.	100	Fost N.	96
Fernet J.	99	Foster J.	435; 444; 479
Ferrata A.	203	Foster J.H.	395
Ferris D.	508	Foulds	252; 253
Fick A.	163	Fouré	380

Fourneau E.....	109	Gardner E.....	449
Fowler.....	515	Garella G.....	137
Fowler D.....	131	Garlock J.....	414; 429
Fox A.D.....	132	Garré.....	345
Fozzard.....	169	Garrod A.E.....	69; 74; 76; 275; 278
Fracchia A.....	358	Gasser H.....	104; 105
Fraenkel A.....	342	Gaston E.A.....	458
Franck.....	388	Gaucher.....	188; 516
Frank.....	516	Gauderer M.....	388
Frank M.....	227; 345	Gauss.....	28
Franke.....	527	Gauss K.F.....	37
Franklin.....	75	Gavrilescu N.....	190
Franklin M.H.....	14	Gaze R.M.....	59
Franseen.....	474	Gebhardt W.....	43
Frantzides C.....	372	Gehuchten A.....	49
Frantzides C.T.....	138	Gell.....	215
Fraser D.....	39	Gennari F.....	51
Fraser-Roberts J.....	449	George G.....	346
Frazer A.C.....	129	Ger R.....	46
Frazier O.....	308	Geraci J.....	342
Fredericq L.....	151; 153	Geraghty.....	208
Freeman L.....	340	Gerbode F.....	302
Freeman N.E.....	321	Germer.....	41
Freiss H.....	523	Gerzhof S.....	515
French J.D.....	115	Gey.....	22
Frenckner P.....	375	Ghadially F.....	225
Frese.....	77	Ghebrehiwet B.....	226
Fresnel.....	41	Ghedman M.....	502
Freud.....	286	Ghossein N.....	361; 447
Freumeni.....	248	Giannelli F.....	79
Freund.....	212	Gianturco.....	323
Freund T.F.....	54	Gianturco C.....	452
Frey C.....	486; 487; 522; 527	Gibbins H.....	139
Freyer.....	300	Gibbon J.H.....	324
Freytang.....	169	Gibbs.....	15
Fried M.....	242	Gibson.....	419
Friedländer.....	483	Gidda J.....	133
Friedreich.....	90	Giere A.....	77
Friedrich P.L.....	339	Gierke.....	188
Friend A.....	492	Giesel.....	292
Friend S.....	248	Gigot J.....	499
Friesen G.....	402	Gilbert.....	32; 79; 524
Frisch R.E.....	362	Gilbertsen V.A.....	356; 404; 437
Frouchaud.....	340	Gilchrist R.....	388; 432
Froux.....	388	Gilchristie R.....	458
Fuchs J.....	322	Gill S.J.....	28
Fujita M.....	51	Gilles de la Tourette.....	97
Fukuda.....	154	Gilles N.....	79
Funk C.....	22	Gillies J.....	287
Funk K.....	256	Gilman A.....	262
Furchgott R.F.....	172	Gilmour R.....	82
Furness J.B.....	134; 139	Gini C.....	39
Furth J.....	250	Ginsberg R.....	379
Fuster J.....	117	Ginsburg R.....	330
Gabriel W.....	452	Ginsburg S.....	260
Gabriel W.B.....	431; 452; 453; 455	Ginzburg L.....	413
Gaddum J.H.....	39; 257; 263; 268	Giordano.....	477
Gagner M.....	480	Giordano D.....	300; 419; 456
Galeno.....	99	Giorgi L.....	317
Galizia E.....	531	Giraudon G.....	315; 316
Gall J.....	80	Glaser.....	439
Gallagher D.....	426	Glenn.....	311; 312; 497
Gallagher J.....	316	Glenn Bell H.....	358
Gallin J.....	228	Glenn F.....	503; 508
Gallo.....	244	Glenn H.....	358
Gallucci.....	308	Glenn W.....	346
Galton F.....	37; 38; 69; 70	Glick J.L.....	31
Gamble J.L.....	102	Glover R.....	455

Gluck.....	162	Greenstone S.....	332
Gluzman.....	85	Greep R.....	160
Goddard M.....	320	Gregoire.....	383; 516
Goebbel.....	519	Gregory R.A.....	123
Goetz.....	150	Gregow.....	458
Goldberg.....	149; 323	Grider J.R.....	138
Goldberg S.....	464; 470	Griffen.....	459
Goldman.....	169	Griffith B.....	353
Goldman P.S.....	54	Griffith C.....	397
Goldmann.....	518	Griffith K.....	446
Goldschmiedt.....	438	Griffon.....	518
Goldsmith H.....	479	Grill W.....	510
Goldsmith N.....	475; 478	Grimes W.....	521
Goldstein A.....	263	Grimm I.....	419
Goldstein D.J.....	205	Grinnell R.....	458
Goldstein I.....	228	Grinnell R.S.....	431; 440; 452; 453; 454; 455
Golgi.....	50; 51; 54; 55; 65; 112; 115; 185; 209	Grisham.....	221
Goligher J.....	433; 441; 458; 465	Grondahl.....	369
Gomberg M.....	20	Groschen S.....	365
Gonzalez.....	173	Gross.....	303; 312; 313
Good.....	249	Gross L.....	232; 237; 241; 242; 244
Good R.A.....	195; 219	Gross R.....	388
Goodman G.....	335; 336	Grossi.....	435
Goodman L.S.....	262	Grossich A.....	297
Goodnight J.....	513	Grossman M.....	129; 142; 143
Goodsall.....	471; 473	Grossmann.....	281
Goosey J.D.....	20	Grotz R.....	424
Gordh.....	292	Groves L.....	407
Gordh T.....	155	Grüber.....	477
Gordon.....	289; 470	Grundfest H.....	102; 104; 105; 106
Gordon H.....	442	Gruntzig A.....	314; 315; 321
Gordon P.....	454; 459	Gue M.....	138
Gores P.....	207	Guedel.....	285; 295
Gorman R.....	384; 409	Guez C.H.....	386
Gosset A.....	400; 419; 501; 502; 518; 526	Guida.....	497
Gosset J.....	390; 395; 398; 400; 419; 490; 524	Guillain L.....	524
Gouerou H.....	386	Guillard.....	402
Gouge T.....	379	Guillemin R.....	113
Gowans J.L.....	197	Guinier A.....	41
Goyanes J.....	320	Guivarch M.....	442
Grabar.....	214	Gullino.....	444
Grace P.A.....	145; 529	Günther R.W.....	323
Graf.....	340	Gurdon J.....	81
Grage C.....	435	Gurin D.....	318
Grage T.....	449	Gurwitz.....	176
Graham.....	343; 395; 401; 457; 495	Gusella J.....	85
Graham A.....	455; 468	Gussenhoven W.....	333
Graham E.....	332; 349	Gutmann R.A.....	402
Graham E.A.....	345; 347	Gutteridge J.M.C.....	20; 21
Grampp.....	105	Guyhrie C.....	333
Grange D.....	377	Guyon.....	279
Granger G.A.....	218	Gwathmey.....	296
Granit R.....	117	Gyorffy E.....	486
Grant J.P.....	132	Haagensen C.D.....	356; 364
Grant L.H.....	221	Haberer.....	391; 519
Graor.....	331; 335	Habib F.....	147
Grassi C.....	344	Hacker.....	282; 390; 400
Gray E.G.....	53	Hagemann O.....	163; 216; 226
Gray H.C.....	74	Hagenmüller F.....	511
Gray J.S.....	152	Haggitt R.G.....	437
Grayboys T.....	316	Haid P.....	328; 329
Green J.D.....	112	Haight C.....	345; 354
Green P.....	402	Hald J.....	260
Greenall M.....	454	Haldane.....	85
Greencard H.....	150	Haldane J.....	101
Greenfield I.....	162; 325; 326	Haldane J.S.....	152
Greenlee H.B.....	123	Hales I.....	472
Greenstein A.J.....	416; 417	Hales S.....	163

Hall	292	Healy J.	475; 478
Hall B.	77	Heaney J.	481
Hall H.	160	Heany	475
Hall S.W.	503	Heaton K.W.	130
Hallberg D.	334	Hecht	169
Hallenbeck G.A.	145	Hecht G.	239
Hallier U.W.	82	Hechtmann H.	229; 230
Halliwell B.	20	Heerden J.A.	529
Halmagyi	522	Hegar	469
Halsen	176	Heidelberg M.	203
Halsted W.	292; 297; 355; 356; 357; 358	Heidenhain	355
Hamazoe R.	480	Heidenhain M.	42; 46; 176
Hamburger V.	57; 60; 270	Heineke	514
Hamilton W.F.	163	Heisey W.C.	531
Hammar J.A.	45	Heitz E.	81
Hammer J.	208	Heller	369; 370
Hammerschmidt	228	Hellmann T.	45
Hammersten	16	Hellstrom K.E.	32
Hampton L.	287	Helly K.	48
Hanafee W.	509	Helm J.F.	120
Hancock	305	Hench	255
Handley R.	357	Henderson B.	363
Hankel	281	Henderson L.J.	100
Hankemeier U.	530	Henking	42
Hankins J.	342	Henle	176; 179
Hanley P.	473	Henle G.	244
Hanlon	304; 311; 312	Henrikson V.	410
Hanot	487	Hensleit F.	16
Hansen P.	385	Hepp J.	425; 443
Harbin W.F.	505	Heppleston A.	224; 226
Hardin C.	333	Hering	153
Hardy J.	308	Hering F.	115
Hardy T.G.	442	Herken	192
Hardy W.	9; 72	Herlant	47
Harfarth Ch.	415; 416	Herlhy K.	371
Harken A.	316	Hermann L.	103
Harken D.	309	Hermann R.	514
Harkins H.	397	Hermann R.E.	359
Harlan J.	230	Hernandez-Peon R.	117
Harmor A.	108	Hernández-Socorro C.	440
Harper A.	143	Herreros B.	79
Harpole D.	355	Herrington J.	507
Harrington C.	22	Herrmann F.	82
Harrington S.W.	357	Hers	188
Harris	84; 171; 185	Herschey	75
Harris G.W.	112	Hershey A.D.	18
Harris L.	140	Herter F.	532
Harrison	59	Hess	80
Harrison J.	321	Hess W.R.	167
Harrison L.H.	341	Hetzel D.	372
Harrison R.G.	31; 40	Hey D.H.	20
Harro J.	269	Heymans C.	153; 166
Hartl	19	Heyrovsky H.	369
Hartman P.	78	Hicks E.	528
Hartmann H. 282; 400; 404; 426; 442; 443; 453; 457; 458		Hieger I.	238
Hartz R.	330	Higgins G.A.	435
Harvey W.	162; 246; 247	Higginson J.	354
Harvier	516	Hildebrand	439
Hashimoto	212	Hill jr.	186; 191
Hasson	499	Hill L.	301; 407; 408; 409
Hattler B.G.	342	Hille B.	109; 110
Haurowitz F.	193	Hilleman M.R.	242; 243
Hauser G.	402	Himal H.S.	389
Hawthorne	369	Hingson	294
Hayashi	19	Hirata K.	529
Hayden E.	425	Hirschel	293
Hayes M.	513	Hirschowitz	387
		Hirschprung	247

Hirt.....	46	Humphries T.J.....	119
His-.....	170; 317; 407	Hungerford.....	188
Hiscoe.....	112	Hünig R.....	383
Hiss R.....	517	Hunt J.....	76; 126
Hito T.....	332	Hunt J.N.....	127
Hlava.....	518	Hunt T.....	469
Ho C.....	389	Hunter J.....	323; 325; 499
Hobbard T.B.	527	Hunter J.G.....	447
Hochenegg.....	428; 453	Huntington.....	85; 90; 93; 95
Hodgkin A.L.	27; 103; 106; 168; 213	Hurler.....	188
Hoerr S.....	514	Hurst.....	369
Hoexter.....	470	Hurst C.....	71
Hofeditz.....	20	Husemann B.....	411; 412
Hoff A.J.	24	Husni.....	334
Hoffman.....	169	Hutter.....	171
Hoffman C.	450	Huxley A.....	27; 105; 168
Hoffman M.	322	Hwang T.L.....	132
Hoffmeister.....	391	Hyatt.....	156
Hofmann.....	128	Iannuzzi M.....	351
Hofmeister F.	100	Ichikana Y.....	223
Höckfelt.....	48	Iggo A.....	127
Holder T.....	388	Iklè.....	291
Holinger P.....	367	Illingworth Ch.....	503
Hollenberg M.....	521	Inahara T.....	321
Hollenberg N.K.....	175	Ingelfinger.....	120
Holley R.....	78	Ingram V.....	76
Hollis J.B.	119	Ingvar D.....	50; 116
Höllwarth M.....	367	Inokuchi.....	377
Holman.....	302	Ippoliti A.....	399
Holman E.	342	Irwin J.....	160
Holman W.....	317	Isaacs A.....	261
Holtzmann E.	95; 107	Isaksson B.....	378
Homans J.....	324	Ischia S.....	530
Hopfield J.....	28; 29	Israel.....	283; 488
Hopkins.....	304	Ito M.....	51
Hopkins F.G.....	22	Ivy A.C.	123; 143; 145
Hoppe-Seyler F.	9; 10	Jaboulay.....	390
Hörkfelt.....	112	Jackson.....	387
Hornbein T.F.....	153	Jackson C.....	295; 297
Horridge G.A.	59	Jackson S.....	530
Horsley.....	115	Jacob F.....	16; 78; 79; 83
Houillon G.	31	Jacobaeus H.....	497
Hounin D.....	493	Jacobaeus H.C.....	300; 339
Houston.....	457	Jacobs.....	498
Houttuin E.....	415; 422	Jacobs D.O.....	132
Hovos.....	359	Jacobs M.H.	129
Howard A.....	245	Jacobs P.	97
Howard Jones.....	290	Jacobson.....	479
Huang H.....	248	Jacobson H.....	250
Hubay Ch.	251; 362	Jacobson J.....	337
Hubbard.....	313	Jacobson M.....	59
Hubel D.H.....	54	Jagelman D.	450; 451
Huber R.....	15	Jagic N.....	237
Huchting.....	124	Jameson G.....	371
Hudspeth.....	444	Jameson J.K.	404
Huebner R.....	245	Jamieson C.....	328
Hueper W.C.	237	Jamieson G.G.....	120
Hufnagel.....	304	Jamison R.....	446
Hufnagel C.....	318	Jan L.Y.....	109
Hughes J.....	113; 263; 268	Jan Y.N.....	109
Hughes J.M.	156	Janeway H.N.....	380; 388
Hughes J.S.	156	Janssen T.....	230
Hughes K.	445; 446	Janu J.....	320
Hugli T.....	227	Jarman R.....	283; 296
Huguet C.....	446; 481	Jarvik.....	309
Huizinga J.D.	136	Jarvinen H.....	439
Hull.....	485	Jasper H.....	44
Hume Logan C.....	401	Jatene D.....	312

Jeanbrau	419	Kaplan H.....	237
Jebbinck M.C.	146	Kaplan-Meier.....	460
Jefferson G.	116	Karaus M.	139
Jeffrey H.	37	Karp R.....	307
Jenkins R.L.	490; 491; 492	Karplus J.P.....	167
Jennings	345	Kastor	305
Jennings H.S.	70	Kasugai T.....	509
Jenninsen.....	19	Katkhouda N.....	396; 397
Jensen.....	438	Katskee E.....	471
Jensen C.O.	240	Katusic	172; 174
Jensen E.	250; 362	Kaufman H.	531
Jensen H.	364	Kauschke G.....	41
Jensen J.	397	Kawahara M.....	441
Jensik R.....	350	Kay	303
Jerne N.K.	193	Kayahara M.	529
Joannides M.	160	Kaziro Y.	270
Johannsen W.	70	Keating.....	59
Johnson	11; 314	Keele C.A.	166
Johnson C.....	413; 430	Keen W.....	478
Johnson G.	496	Kehr	493; 506; 507
Johnson M.....	447	Keighley M.....	140
Johnson W.....	379	Keilin D.	14; 27
Johnston.....	393	Kekulé A.....	23
Johnston C.....	375	Kelling G.	497
Johnston D.	397; 451	Kelly	295
Johnston J.....	350	Kelly K.A.....	125
Johnston K.	367	Kendall E.C.	255
Johnston M.....	286	Kendall M.G.	38
Jones B.....	512	Kendrew J.C.	10
Jones K.....	81	Kendrick	276
Jones P.	350	Kennedy.....	89
Jones Q.L.	224	Kensey K.R.....	330
Jones S.A.	511	Kent E.M.	343; 345
Jones T.	450; 457	Keon W.....	314
Jonesco.....	305	Kergin F.....	354
Jordan G.	485; 486; 529	Kerlin P.....	133
Jordan G.L.	395	Kerr	391; 458
Jordan J.	396	Kersey.....	249
Jordan P.H.....	123	Kewenter J.	133
Jorpes J.E.	145	Keyl H.G.....	80
Joseph L.	393; 394	Keymed.....	386
Josephson M.	317	Khalil	303
Joshi P.C.	21	Kharasch M.S.	20
Joubert.....	291	Khubchandani I.....	459; 464
Joule J.P.	99	Kidd I.G.....	239
Joyce W.P.	418	Kiefer E.....	421; 429
Jubé.....	298	Kieff.....	243
Judd E.S.	414	Kieffhaber P.	447
Juilliard	281	Kiff E.S.....	141
Junker.....	279	Kifor	172; 174
Juttner H.....	501	Kihlman	73
Kader.....	388	Kilbourne C.	463; 465
Kadir S.	502	Killian	291; 295
Kafsoyannis P.G.	12	Killingback M.....	426
Kahan B.	310	Kim	243
Kahler	282	Kim J.	26
Kahn.....	329	Kimoto	303
Kalameghan R.....	362	King D.W.....	32
Kalayanaraman	244	King R.	370
Kalckar H.M.	15	Kinsky.....	204
Kalisch R.....	371	Kirklin.....	304; 312
Kalk.....	497	Kirkpatrick.....	396
Kammerer W.....	490	Kirschner M.	297; 324
Kampmeier O.....	497	Kirsten	244; 246; 247
Kaneko H.	480	Kistner R.L.	334
Kanematsu T.	480	Kisvarday Z.F.	53; 54
Kanitz.....	129	Kitasato S.....	193
Kantrowitz A.....	309	Kite C.....	294

Kith A.	44	Labat G.	294
Kjellgren K.	145	Labey 419	
Klatzki.....	505	Laborde.....	281
Klein 83; 84; 244		Labow S. 454; 469	
Klein e Klein.....	252	Ladenburg.....	290
Kleindienst.....	282	Laennec.....	373
Klempnauer K.....	246	Lagios M.D.	364
Klimberg V.S.	132	Laguesse E.	48
Klinefelter 234		Lahey F.H. 420; 421; 456; 457; 494; 496; 512; 513	
Klippel 524		Lahiri S.K.	531
Knight 459		Laine 394	
Knoll M..... 41		Laing F.C. 501; 502	
Knorre..... 274		Lakatta E.G. 174; 175	
Knox M.T..... 127		Lake 290	
Knudson A. 234; 235; 247		Lam C.R..... 502	
Koch..... 94; 217; 341		Lamb..... 476	
Kocher..... 279; 391; 456; 506; 524; 527		Lambert A. 342	
Koda M. 480		Lambert M. 377	
Köhler G. 33		Lamberts S. 523	
Kohnstamm O. 55		Lambling..... 402	
Kokas 143		Lambret..... 345	
Koler 84		Lammer..... 330	
Kolff J. 309; 310		Lancaster M. 238	
Komorov S.A. 123		Lanceraux 524	
Konstantinov Ign.E. 311		Landau 488	
Kopchok G..... 333		Landis E.M. 163	
Koppolu S. 530		Landsteiner K..... 206; 297	
Koras E. 131		Landymore R. 316	
Kornberg A. 76; 86		Lane 281; 395	
Kornberg E..... 320		Lane N. 438	
Körte 429; 506; 524		Lane W. 329	
Koruth N.M..... 443		Lange J..... 446	
Koschland 14		Langenbeck..... 478	
Kossely A..... 10		Langerhans..... 533	
Koster..... 222		Langley J.N..... 109; 259	
Kosterlitz H.W. 268		Langnas A. 504	
Kowey P..... 315		Lannelongue 488	
Kram H.B..... 476		Lansing 309	
Kraske 453; 456		Lanzara A. 369	
Krause 490		Laplace P.S. 37	
Krause F. 344		Laquer G. 238	
Krebs E.G..... 16		Larizza P. 516	
Krebs H.A. 16; 191		Larrey 401	
Kreidl A. 167		Larsell P. 50	
Kremen A.J. 410		Larson C. 238	
Kreutzberg W.G. 107		Larsson L. 134	
Krogh A. 152		Laschi 192	
Krokuqiez..... 427		Laschley K.S..... 57	
Kronecker H. 119		Lasserge J.M..... 379	
Kronenberg M..... 208		Lathrop A..... 250	
Kronenberg R.S..... 154		Lattanzini M..... 276	
Krönlein 348; 428; 453		Launois B..... 513	
Krook P. 501		Lauren..... 400; 401; 402	
Krukenberg 400		Laurens 315	
Kruse I. 315		Läwen 294	
Kuchroo V..... 199; 210		Lawrence 218	
Kühn F. 294; 296		Lawrence P. 335	
Kumar D. 140		Lawson D..... 522	
Kümmel H..... 348; 453; 458		Lazarus H..... 320	
Kunisaki C. 405		Le Fort 282	
Kunkel L. 86		Le Veen..... 323	
Kunlin M..... 333		Lebée 516	
Kupffer..... 180; 202		Leber..... 222	
Kussmaul 387		Leblanc P. 156	
Küstner..... 216		Lebovics E. 504	
Kuttner 380		Lecène..... 501; 518	
La Via 186; 191		Lecompte Y. 312	
Lababidi Z..... 311		Lederberg J. 74	

Lee A.	286; 292; 295	Lin T.Y.	477; 479
Lee J.	231	Lind.	372
Leeds F.H.	321	Lindemann	488
Leeman S.E.	268	Linden R.J.	165
Lefer A.	230	Lindsey D.B.	115
Leffert	479	Ling-Gerard	168
Legrand	113	Linton R.	327; 334; 373; 374
Leichmann L.	454	Lipmann F.A.	15
Leichtersterm	368	Lippard S.J.	26
Leister	279	Lisfranc	453; 456
Lemaire	381	Litt-	224
Lembert	391	Little C.C.	240
Lemmon	313	Little D.	287
Lemoine	345	Lium	149
Lemole G.	320	Liversay	314
Lenarduzzi	345	Livingston E.	134
Lenhartz	345	Llobet-Varsi	489
Lenormant Ch.	345; 368; 380; 419; 477; 518	Lloyd B.B.	152
Lens.	282	Lloyd-Davies O.	431; 457
Leotta	290	Loberg M.D.	501
Lepow	222	Lockhart-Mummery J.P.	449
Leppard B.	450	Loeb J.	9
Lepsien G.	366	Loeb L.	240; 250
Lerda	429	Loeb P.	509
Lereboullet	524	Loeffler	224
Léliche R.	293; 321; 519	Loeffler R.	447
Lerner R.	515	Loeschke H.	153; 154
Lerut J.	532	Loew O.	259
Lerwick E.	321	Loewi O.	109; 172; 174
Letterer E.	223	Lofking	167
Leung K.	460	Logan A.	382
Leusen J.	153	Lomas M.	469
Leuthardt F.	102	Longmire	381; 401
Levene.	192	Longmire W.	314; 512; 513; 514; 529
Levene P.A.	10	Loop E.	314
Levett J.	307	Lopez-Kostner F.	460
Levi G.	42	Lord	465
Levi-Montalcini R.	43; 57; 58; 60; 270	Lord J.	373
Levin A.L.	386	Lorente de Nò R.	103
Levin K.	424	Lorente R.	54
Levis R.	356	Lortat-Jacob J.	384; 408; 409
Levitan N.	448	Losmar	306
Levy	236	Lotgren	292
Lewis.	474; 501	Louw J.	328
Lewis C.	328	Lowe D.J.	24
Lewis E.B.	74	Lower R.	306
Lewis G.P.	521	Loygue J.	470
Lewis K.	500	Luchinat C.	25
Lewis L.	410	Ludany	143
Lewis R.	231	Ludwig	46
Lewy	456	Ludwig C.	163
Li -	248	Lund.	518
Li C.H.	113	Lundqvist	292
Li L.	141	Lundy J.	283; 290; 296
Liang V.	523	Lupo F.	449
Lieber M.	508	Luria S.	17
Lieberkühn	127	Luxembourg	345
Liebermann M.	237	Lykke	222; 224
Liebig J.	99	Lynch	235; 291
Lightwood	149	Lynch H.T.	438
Lilienfeld	233	Lynch H.T.	468
Lilienthal H.	343; 344	Lyons	494
Lillehei R.	303; 305; 312; 521	Lyons A.	429
Lillemoe K.	531; 532	Lyons W.S.	367
Lillie R.S.	105	Lytle B.	314
Lim S.P.	139	Mac Burney	506
Lima D.	352	Mac Carty	398; 500
Limberg R.	439	Mac Mahon	236; 240

Macbeth R.....	375	Mathey.....	301; 350
Maceven W.....	340	Mathieu.....	507
Machado-Joseph.....	90	Mathis D.....	200
MacIntosh.....	291; 295	Mathus-Vliegen E.....	447
Mackey W.A.....	501	Matsumae M.....	320
Macklem.....	155	Matsumoto Y.....	530
Macklin.....	345	Matthews D.M.....	131
Macklin C.C.....	161	Matthey R.....	58
MacPherson J.....	477	Mauclaire.....	281
Macris M.....	308	Maunsell-Weir.....	459
Madden.....	357	Maurer.....	340
Madden D.....	208	May A.....	314
Madden G.....	475	Mayer W.....	355
Madden I.L.....	443	Maynard.....	388
Madden J.....	358; 361	Mayo.....	303; 429; 506; 524
Magendie F.....	120	Mayo C.....	425
Maggs AA.....	310	Mayo C.W.....	414; 468
Magill.....	295	Mayo-Robson.....	506; 524
Magnus R.....	115	Mays E.....	476
Maillard J.N.....	377	Mazier P.....	464
Maingot R.....	369; 484	Mc Clintock B.....	74; 88
Majeski J.A.....	444	Mc Govern.....	221
Majno G.....	221	McAnena O.....	385
Makhoulf G.....	138	McArdle.....	188
Malette W.....	334	McChaugan J.....	328; 329
Mall.....	45	McClung C.E.....	42; 71
Mallery J.....	333	McCulloch S.....	29
Mallet-Guy P.....	510; 518; 519; 524	McCutcheon.....	222
Malmström B.G.....	26	McDermott W.....	527
Malt R.T.....	377	McDivitt R.....	356
Mann.....	224	McDonough J.M.....	395
Mann S.....	24	McDowell I.....	402
Manni A.....	362	McEnany M.....	310
Mannick.....	328	McEwan A.J.....	395
Manning A.....	135	McGregor.....	222
Manson.....	459	McGregor C.....	353
Marbaix C.....	126	McGregor J.....	458
Marchesi V.T.....	221	McIndoe A.....	478
Marcker K.....	78	McKeith.....	303
Marcum R.....	364	McKesson.....	285
Marion P.....	519	McKittrick L.S.....	421
Mark.....	285	McLachlin A.....	334
Markman H.....	434	McLaughlin.....	369
Marks R.D.....	383	McMahon B.....	363
Markwald M.....	151	McManus J.....	382
Marr D.....	51	McNall.....	293
Marsch J.....	504	McNamara T.....	335
Marshall M.....	425	McNealy.....	391
Marshall S.F.....	401; 414	McNeer G.....	404
Martin.....	368; 444	McNicol G.....	334
Martin E.G.....	435; 436; 440; 468	McQueen J.K.....	108
Martin L.....	124	McWhirter R.....	357; 358
Martin L.W.....	423; 451	Meagher S.....	496
Martin P.....	328	Meakin J.....	251
Martin T.F.....	65	Mecklin J.....	439
Martini.....	428	Medwark P.B.....	202
Martland H.....	237	Mehlin C.....	363
Marton L.....	41	Meier P.....	357
Maruyama T.....	138	Meissner.....	134
Marwedel.....	388	Melamed.....	32
Marxer O.....	425	Melchiorri.....	265; 268
Masch.....	124	Meldolesi J.....	64; 66; 67
Mason E.....	411; 412	Melintosh D.....	501
Massey Dawkins.....	290	Mellanby J.....	149
Matas R.....	318	Mellors R.C.....	206
Mather K.....	81	Meltzer.....	294
Mathers S.....	141	Meltzer S.J.....	119; 494
Mathewson.....	103	mendel G.....	68

Mendel G.	68	Moloney.....	246
Mendoza.....	282	Monaldi.....	340
Menètrier.....	399	Moncada.....	172
Mengoy R.	123	Mondor.....	518
Menguy R.	521	Moningeo P.....	277
Mepherson P.S.	108	Monod.....	346
Mercadier M.....	520	Monod J.	16; 17; 28; 78; 79
Meredith.....	493	Monoulou J.	82
Merendino.....	306	Monson J.....	441; 460
Meselsen M.....	75; 79	Montariol Th.....	509
Metchnikoff E.	23; 193; 254	Monteverde C.	329
Meyer.....	80; 499	Montorsi H.....	523
Meyer W.	344; 345; 380	Moore.....	530
Michaëis L.	9	Moore C.H.	318
Michel.....	15	Moore F.	476; 491
Michelassi F.....	445; 512	Moore G.E.	31
Miedema B.....	486	Moore J.....	291
Miescher.....	74; 293	Moore M.A.S.	197
Miescher F.	10	Moore R.M.	373
Migeon.....	32	Moore S.	356
Miginac G.	524	Moran J.....	316
Mihm.....	224	Morelli E.....	338
Mikesky W.....	475	Moreno-Osset E.	140
Mikulicz.....	368; 387; 414; 428; 458; 468; 514	Morestin.....	456
Mikulicz V.	428	Morgagni.....	373; 473
Miles E.G.	470	Morgan A.....	410
Miles W.E.431; 432; 440; 453; 454; 455; 456; 457; 459; 464; 468		Morgan C.....	462; 464; 466
Milic-Emili J.	155	Morgan C.N.	471
Miller.....	312	Morgan K.G.	126
Miller A.....	36	Morgan R.....	305
Miller A.B.	362	Morgan T.H.	72
Miller D.....	319	Morganstern L.	426
Miller G.....	414	Morgenroth J.....	205
Miller G.A.....	452	Morino M.....	477
Miller J.F.....	197	Moriya.....	440
Miller O.....	81	Morizzi G.....	54; 115
Miller R.....	140; 141; 149	Morquio.....	188
Miller R.J.	62	Morris.....	236
Miller T.R.	478	Morrison.....	373
Miller-Abbott.....	434	Morrison Davies.....	294
Milligan E.T.....	462; 464; 466	Morson B.C.	417
Milligan G.F.....	395	Morson C.	449
Milnes-Walker R.....	379	Morton D.	355
Milstein.....	84	Morton W.	297
Milstein C.	33	Moruzzi G.....	116; 117
Miner N.....	58	Moschowitz A.V.....	467
Ming.....	401	Moser K.	324
Minton J.	435	Moser R.	447
Mir I.	379	Mosler.....	515
Mir S.	133	Moss F.	29
Mirich D.....	320	Most H.....	490
Mirizzi P.L.....	508	Motarjeme A.....	322
Mirowski M.	316	Mouchet A.	477; 489; 495; 501; 516; 517
Mirsky A.	80	Moulonguet.....	501
Mishell R.I.	32	Mouloupoulos S.....	309
Mitchell.....	462	Mountain C.F.....	350
Mitchell R.A.	153	Mountain J.	525
Mitchell S.....	509	Mountcastle.....	117
Mitchison N.A.....	202	Mouret P.	396; 498
Mizuho.....	480	Moutier F.	387
Mizutani S.....	245	Moynihan.....	440; 493; 500; 507
Moersch H.....	375	Mueller P.	506
Moertel C.	450; 478	Muellner S.R.....	181
Moghissi E.	385	Mühe E.	498
Mohler H.....	264	Mühlbacher F.....	445
Möllenstedt G.....	41	Mukarami.....	19
Molnar W.....	506	Mulholland J.H.	520; 521; 525
		Muller H.	72; 73

Müller-Hill B.	79	Nigro N.	454; 468; 469
Mulligan.....	85	Nime	361
Mulligan R.C.....	35	Nirerberg M.	77
Mullins C.R.....	527	Nisonoff A.	196
Mullis.....	12	Nissen R.	371; 391; 407; 408
Mullis K.B.	34; 86	Nisson-Meyer R.	251
Mulvihill	235	Niu M.C.	32
Munro H.N.....	131	Nivatvongs S.....	437
Murlock.....	103	Noble D.....	104; 168
Murphy	297; 428; 442; 497	Nocentini P.	477; 483
Murray	313	Nonidez.....	48
Murray J.W.	529	Norberto I.	386
Murray T.H.	96	Nordmann	519
Mushin	285	Norrby.....	32
Mustard R.	382	Northrop J.H.	13
Myrvik Q.H.....	204	Nossal G.	198; 201; 207
Nadeau O.	497	Notaras M.	469
Nadig D.....	481	Nothdurft H.....	239
Nagai G.	480	Nothnagel.....	420
Nagasue N.....	493	Novis D.....	150
Nagel G.A.	383	Nowell	188
Nagler R.	119	Numa S.	110
Nakamura.....	103	Nunn J.....	155
Nakamura H.	480	Nunneley.....	282
Nakamura S.....	503	Nusbaum M.	376
Nakase A.	512	Nussbaum	176
Nakayama K.....	382; 383	Nylen D.....	337
Nance F.	450	Nyström G.	324
Nandi.....	253	O'Connell	391; 440
Narahashi	106	O'Donnell	335
Narath	373	O'Dwyer S.T.....	132
Nardi G.	511	O'Keefe D.....	432
Narducci F.....	138	O'Malley.....	514
Nasset.....	143	O'Rourke	460
Nathans	83	Obertop H.	532
Nathanson L.....	396	Ochs S.....	107
Nathens A.B.....	443	Ochsner A.318; 324; 347; 349; 369; 380; 382; 430; 483; 484; 485; 496	
Nather	484	Ochsner H.	425
Natowicz M.R.	96	Ochsner J.	382
Naunton Jones L.E.	462	Oddi46; 143; 145; 147; 148; 493; 494; 495; 506; 507; 510; 511; 514; 521; 529	
Nauta W.J.....	54; 55	Ogilvie	242
Neegard K.	162	Ogoshi K.....	509
Negebauer	498	Ogura H.	116
Negri	188	Oi L.....	509
Nehrkorn	419	Okada T.	264
Neil E.	166	Okamura M.Y.	26; 174
Nelsen T.S.....	125	Okamura T.....	403
Nelson R.	228	Okeson	156
Nemanich.....	396	Okike N.....	125
Nenci G.	516	Okuda K.....	505
Neri M.....	145	Old	244
Nesselrod J.P.....	471	Oldberg E.....	145
Netter F.	129	Oldhafer K.J.....	448
Neuberg.....	128	Olds J.	373
Neuhoff H.	342	Oleaga J.	506
Neurath	128	Olinger C.	332
Neville J.F.....	157; 159	Oliver G.	454
Neville R.	333	Oliver S.G.	34
Newman W.	356	Olkon D.M.....	160
Neyman J.	38	Olsen.....	476
Nicholls.....	440	Olsen A.M.	370
Nickel.....	129	Olsen H.	319
Nickel W.	414	Ombredanne.....	281; 298; 520
Nicolis G.	28	Onalt R.....	389
Nicosia J.....	470	Ondetti M.A.	267
Nielsen M.....	152; 440	Onesto N.	51
Niemann.....	188		
Nieroda C.	444		

Opie.....	518	Pastorino U.	355
Oppenheimer B.	239	Patee 373	
Oppenheimer E.	129; 148	Patel J..... 366; 419; 477; 489	
Oppenheimer G.	413	Paterson 453	
Oré 296		Pathak J.D. 127	
Organe..... 287		Pathak M.A. 21	
Orloff M. 376; 377		Pathey D. 357; 359; 361	
Orr..... 401		Patino 311	
Orr T.G..... 468		Patterson A. 352; 353; 354	
Orringer M. 384; 408; 409		Patterson C.O..... 375	
Orsoni 381		Pattle R.E..... 161	
Ortega J. 483		Patrick F.G..... 120	
Orwitz S. 530		Pauchet..... 294	
Osler..... 222		Paul J. 82	
Ostwald A. 258		Pauling L..... 205	
Otsuka 171		Paull A. 371	
Otte J.B. 493		Paulsen..... 47	
Otterson M. 134; 140		Paulson D..... 350	
Ottinger L..... 376; 408		Pavlov I..... 122; 123	
Ottoson..... 105		Payer 197	
Ouchterlony 214		Payne J.H. 410	
Oversen L..... 149		Payne W..... 370	
Overton E. 168; 258		Peacock W. 79	
Owen 202		Pean 297; 391	
Owens 32		Pearl R. 70	
Pachter 476		Pearson F. 408	
Pack G.T. 404; 478		Pearson J.G. 383	
Page F.J.M. 168		Pearson K..... 38; 69	
Pagés 290		Pederzoli P. 523	
Paget 220; 356		Pelc S. 245	
Paine J.R. 218; 386		Pellegrini C. 145	
Paintal A.S. 127		Pellionisz A..... 51	
Painter T..... 73		Pemberton J. 423; 424; 425; 468	
Palade..... 221		Pende N..... 420	
Palay S.L..... 50		Pendinielli L..... 408	
Palazzo L..... 509		Pennica D..... 89	
Paletto A.E..... 341		Pennington J.P. 452	
Palma E. 334		Pennington L.T. 181	
Palmaz J.C. 323		Penrose..... 487	
Palmer 172; 386		Pentimalli F..... 239	
Palmer M..... 445		Perissat..... 498	
Pancoast 349		Perkins R.A..... 260	
Panda A..... 465		Perman P..... 216	
Paneth 20		Perutz M.F. 10	
Pangburn M..... 227		Pestana C. 445	
Panum P.L..... 521		Peters 260	
Paolucci R. 343		Peters J.H. 409	
Papadrianos E..... 356		Peters J.P..... 131	
Papanicolau G.N. 47		Peters R.A. 190	
Papillon J..... 454		Peters R.M. 160	
Pappenheimer J.K. 154; 163		Peterson C..... 500; 501	
Paquet K..... 375		Petit J.L..... 463	
Parada L. 246		Petrakis 363	
Paran H. 523		Petzer 388; 457; 500	
Parent F..... 336		Pezim 440	
Parent S..... 418		Pflüger F. 151	
Park S..... 311		Phemister S. 380	
Parker 383; 391; 458		Philbrick T. 501	
Parkins 303		Philips E..... 460; 517	
Parkinson 19; 317		Pick 188	
Parks A..... 451; 459		Pickrell K..... 478	
Parks A.G..... 423; 463; 465		Pickren J.W..... 356	
Parod J. 320		Piechowski..... 150	
Parodi J.E..... 148		Piehler J.M..... 503	
Parozzani..... 301		Pierandozzi J..... 395	
Parsons W.B..... 527		Pierce W. 310	
Pasteur L. 9; 232		Pieri G. 300; 396	
Pastore J. 315		Pierpont..... 303	

Pillard R.	96	Rajewsky K.	197
Pillemer L.	204	Ralls P.	501
Pinkus H.	189	Ram M.D.	502
Piokowski R.J.	512	Ramanis Z.	82
Pirtek L.	512	Rambaud J.	386; 389; 399; 423; 427; 460; 466; 474
Pitkin.	293	Ramee S.	333
Pitt H.A.	532	Ramming K.	355
Pitts W.	29	Ramon.	276
Plescia O.J.	197	Ramon y Cajal R.	49; 52; 53; 57; 115
Plummer.	368; 369	Ramon-Moliner F.	55
Pogredniak H.	355	Rampal M.	408
Poiesz.	244	Ramsay W.	37
Poiseuille J.L.M.	163	Ramsey N.	247
Polk.	476	Rand M.	107
Polk H.	435; 436	Randall.	287
Pollack A.A.	164	Rang H.P.	104
Polnitz.	331	Rankin F.	419; 430; 455; 457
Polya.	391	Ranson.	115
Pompa.	369	Ranson J.	379; 522
Pompe.	188	Ranvier.	105
Ponfick.	518	Rappaport.	45
Ponsky P.	388	Rappuoli R.	276
Pontecorvo G.	76	Raptopoulos V.	501
Ponz de Leon M.	439	Raschkind W.	311; 312
Popper H.	521	Rastelli G.C.	312
Poritt A.	357	Rattnoff.	222
Porter.	518	Ravasi.	351
Porter R.R.	196	Ravdin J.	413; 497; 501; 502
Posnak.	287	Ravitch M.H.	347; 381; 421; 422; 441; 451; 459
Posselt.	489	Raymond K.N.	25
Postlethwait R.W.	368; 384	Raynaud.	293
Pott P.	236	Reach.	413
Potts.	310; 312	Read A.P.	90
Powell S.J.	486	Rebière.	113
Powis.	209	Récamier.	487
Pozzan T.	62; 64; 65	Recklinghausen.	95; 248
Pozzi E.	344	Reclus.	360
Prat F.	509	Redaelli P.	225
Pratt.	102	Reddy.	247
Prausnitz.	216	Rees D.C.	26
Prehn.	249; 253	Rees H.	81
Preshaw R.M.	388	Regan P.	523
Prestley J.	101	Rehder K.	156
Priestley.	391	Rehn.	467
Priestley J.G.	152	Rehn L.	236; 301; 380
Prigogine I.	28	Reichstein T.	255
Pringle.	475	Reitemeier R.	478
Pritchard R.	76	Reitz B.	352
Pritchett E.	317	Remak.	45
Prohaska J.	415; 422	Remine W.	528
Pruett.	515	Renger G.	26
Psathakis N.	334	Renison D.	418
Ptaschne M.	79	Resnekov L.	315
Puccinelli.	300	Resse W.F.	204
Puestow e.	385	Revell S.H.	74
Pugh.	480	Reybard J.	458
Puig X.	404	Reyhard.	428
Punnet R.	71	Reynes.	524
Purkinje.	50; 164; 169; 170; 171	Reynier.	279
Purpoura.	257	Reynolds M.	483
Qeenstein.	417	Reynolds T.	486
Quattlebaum J.	478	Reysset.	515
Quensel F.	55	Rhines R.	115
Quénu.	427; 453; 456; 507	Rho.	428
Quetelet A.J.L.	37	Rhoades J.E.	414; 434
Quigley E.	134	Rhodes J.	418
Quinaud.	481	Riccardi V.	248
Raab-Traub.	244	Ricci C.	308; 354

Ricco J.	325	Rossetti	371; 408; 409
Rich.....	521	Rossi R.....	529
Richards R.....	450	Rössle	45
Richardson	291	Rosso R.....	355
Ridge J.	445	Rothman.....	18
Riedel	524	Rotkin	235
Rienhoff W.F.	349; 381; 391	Rotstein O.D.	443
Riker	313	Rotter	453; 456
Rikkers L.F.	378	Rous P.....	231; 233; 239; 244; 246; 247; 248; 252
Rilkin	439	Rousseau H.P.....	323
Rinderknecht H.	151	Rousselot L.	433; 435
Ring E.	322; 506	Roux .. 43; 134; 384; 390; 513; 514; 520; 526; 527; 528	
Riolano.....	429	Roux M.....	510
Ripstein C.	469	Roux-Berger J.....	454
Ripstein M.D.....	466; 470	Rowbotham.....	296
Ris H.	80	Rowe F.....	243
Risch N.	96	Rowers H.	375
Ritossa F.	81	Rubin	323
Rizzoli.....	456	Rubino	398
Rob C.	320	Rubino M.....	421; 422
Robbins.....	235	Ruddle.....	84
Robbins G.F.....	358; 359	Ruddock J.C.....	474; 497
Robbins K.	246	Rueff B.	377
Robbins S.....	485	Ruelle D.....	29
Robert H.....	478	Ruffin J.M.....	129
Roberts B.	322	Ruggi	340
Roberts P.....	140; 439; 440	Ruggieri	343
Roberts R.	77	Rumpel	369
Robertson P.C.	156; 181	Rundle F.	472
Robertson R.	533	Rushton W.A.H.	103
Robinson G.	261	Ruska E.....	41
Robinson S.....	343; 344	Russell R.C.	523
Robson	73	Russell T.	426
Rocha	222; 257	Russo J.....	363
Rochard.....	488	Ruthenberger D.....	470
Roche J.....	23	Ruzicka L.....	255
Rodkey G.	426	Ryan J.W.	521
Roehm J.	324	Sabin	242; 276
Roelants G.E.....	203	Sabiston D.....	314; 451
Rogers J.....	140	Sabiston D.C.....	357
Roitt J.....	212; 215	Sachs G.....	267
Rokitansky	398	Sacks.....	388
Rolland.....	340	Sadanaga N.	385
Rolleston.....	368; 518	Sadar E.....	531
Rolnick H.....	181	Sadove M.....	284
Romeis B.....	47	Saeki J.....	402
Rood J.	218	Sager R.	82
Roos A.	153	Saini S.....	477
Roper J.	76	Sakaguchi A.	84
Rosato E.....	379	Sakita T.....	399
Rosch	438	Salam A.	377
Rösch W.....	511	Salimbeni-Ughi G.....	338
Rose W.C.	131	Salk	276
Rosen H.....	223	Salmon	471
Rosen M.....	315	Salmon P.....	411
Rosen P.	360; 365	Salomon	462
Rosenberg	47	Saltzburg D.	531
Rosenberg A.....	97	Salyamon C.....	239
Rosenschein U.	329	Salzer H.	367
Rosenstein P.....	323	Sambrook J.	85
Rosenthal R.A.	418	Sanarelli G.	231
Rosi.....	440	Sanborn.....	330
Rosi P.....	432	Sandblom P.....	410
Ross.....	303	Sanderson J.	346
Ross D.....	305	Sanfilippo.....	188
Ross G.....	313	Sanford M.	513; 514
Ross S.T.	473	Sanger Fred.....	86
Rossel M.	378	Sanger Frederick	11

Sangro B.	482	Schrock	475
Santoni-Rugiu P.	337	Schultz J.	81
Santorio S.	37	Schumacher S.	389
Santos-Benito	173	Schuman W.	501
Santy	346	Schuster M.	140
Sarabhai A.	76	Schütz E.	168
Sarles H.	150	Schwann T.	122; 183; 187
Sarna S.K.	133; 136; 137; 138; 139; 140	Schwartz	488
Sarnoff S.J.	165	Schwartz J.	267
Sarr M.G.	134	Scolnick E.	78
Satiani B.	486	Scott H.W.	410; 411
Satinsky	303	Scott J.	101
Sauer H.	367	Scott T.	498
Sauer I.	457	Sealy W.	317; 346
Sauerbruch F.	318; 339; 343; 345; 349; 380	Sebrecht	290
Saunders G.C.	32	Seeger J.	330
Saunders W.	413	Seiler H.	354
Sauvage L.	313; 327	Self S.	330
Sauvé	527	Selheim	294
Savage L.S.	37	Semb	340
Savin S.	465	Semm K.	497
Sawant D.	385	Sengstaken R.W.	374
Sawyer P.	314	Senn	388
Sawyers J.	454	Senning A.	314
Saypo G.	508	Sensi	256
Scannell	304	Seo T.	483
Scarpelli	162	Serra	300
Schally	113	Sessler A.D.	156
Scharpff	283; 296	Sette	209
Scharrer E.	111	Seurszwesski J.H.	133
Schattemann G.	367	Severi	240; 252
Schatz	256	Severi A.	477; 483
Schaupp W.	451	Sewell	313
Scheele J.	446; 481	Seybold W.	366
Scheibel A.	55	Shackelford R.	366; 373; 381; 387; 392; 393; 397; 414; 420; 421; 425; 430; 431; 456; 467; 474; 478; 484; 495; 507
Scheibel M.	55	Shafik A.	141
Scheiderlin	282	Shah J.P.	359
Scheidt S.	309	Shapiro S.	363
Scheltone P.M.	59	Sharp E.	324
Scheppert-Kimmijser	235	Shaw R.	329; 350
Schiassi	300; 373	Shear M.J.	239
Schiassi F.	396	Sheeter	32
Schiessel R.	445	Shefts	381
Schiffman E.	227	Sheiner H.J.	127
Schikawa K.	232	Shellito P.C.	389
Schild H.O.	262	Shenstone	343
Schiller U.	464	Shepherd	174
Schimmelbusch C.	297	Sher E.	109
Schindler A.	387	Sherman J.	485
Schlafke M.E.	154	Sherrington C.S.	57; 115
Schlansky	323	Shimkin M.D.	357
Schleich	291	Shingleton W.	357
Schleiden	122	Shinja H.	436
Schlinkert R.T.S.	470; 517	Shoji B.	426
Schlipkoter H.	237	Shope R.	232; 242
Schlippert W.	512	Short R.	497
Schlitt R.J.	420	Shows Th.	84
Schloffner	458	Shumacker H.	318
Schmäl	240	Shumway N.	306
Schmidt S.E.	145	Shure D.	332
Schmiedeberg O.	254	Sicard	294; 335; 345
Schneider	422	Sickle-Santaniello B.	444
Schoemacker H.B.	520; 521	Sidman	57
Schoenheimer R.	19	Siegel R.	329
Schoetz D.	440	Siewert J.R.	366; 367; 370; 374; 375; 384; 401; 408
Schoetz D.J.	145; 146	Sigel H.	24
Schofield B.	123		
Schouten W.	140		

Sigle M.L.	133	Spector W.G.	222; 224; 226
Silva	222; 257	Speer	361
Silverberg M.	226	Spence R.	379
Silverman	474	Spencer F.	324
Silverstein S.	228	Spencer H.	224
Simm M.	325	Spencer J.	120
Simmons R.	226; 228	Spencer K.	287
Simonetti R.S.	480	Spencer Wells	282
Simpson J.B.	331	Sperino G.A.	176
Singer	89	Sperry R.W.	57; 58
Siniscalco	85; 92	Spiegelman	81
Sipet S.	405	Spilmann W.J.	68
Sisley	305	Spina G.	339; 348
Sjögren	212	Spratt J.	435; 436
Skarby H.	293	Sprent	198
Skinner D.	383; 384; 408	Spriggs E.	425
Skinner H.	468	Spry C.	224
Skirey E.	313	Squartini	234; 236; 240; 249
Skubitz K.	228	Ssbanaajew	388
Sloan W.	420	Stabile B.E.	393; 397
Smeloff	305	Stabins S.	468
Smith	42; 83; 85; 222; 404	Stafford E.	342; 373
Smith C.	227; 246	Stahl F.	75
Smith C.D.	517	Stalker L.	468
Smith E.L.	128; 230	Stamm	388
Smith G.	388	Staniunas R.	440
Smith H.	152	Starck	370
Smith J.	223; 403	Starling	134; 142; 149
Smith M.	15	Starling E.H.	122; 163; 229
Smith P.	317	Starzl T.	478; 479; 491
Smith W.	450	Stastny P.	224
Smith-Petersen M.	297	State D.	457
Smith-Trimble	334	Staudinger H.	9; 11
Snell A.M.	512	Stearns M.	435; 440; 454
Snell E.	135	Steele G.	445
Snow J.	294	Stehelin D.	245
Snyder	149	Steiche F.	441
Snyder S.	263	Steigewart R.W.	145
Snyderman R.	227	Stein B.	437
Sobel A.E.	130	Stein J.H.	466
Sobel S.	321	Stein R.	104
Softely A.	418	Steinberg D.	465
Sokolov A.P.	123	Steiner	251
Solbrig O.T.	29	Steiner O.	497
Solcia E.	145	Stenberg	309
Sollner T.	65	Stent G.	75
Solomkin J.	226; 228	Stephens F.	449
Sommer H.	149	Stephens J.R.	126
Sones C.	313	Sterling W.	508; 509
Sonnemburg	456	Stern L.	208
Sonnenberg	515	Stevens C.	62; 72
Sonnenblick E.H.	165	Stewart F.W.	356
Sonnenburg	453	Stewart S.E.	232; 242
Soper N.J.	121	Stiegmann G.W.	389
Soravia C.	477	Still E.U.	142
Sorensen S.P.L.	13	Stinson	306
Sorenson H.	319	Stipa	328
Sorrel M.F.	492	Stockum A.	506
Soto-Rivera	163	Stoeckel	294
Souba W.W.	132	Stokes	315
Sourander P.	116	Stoks	22
Southwick H.W.	433; 490	Stoll A.	255
Soutter H.	302	Stoll B.	251
Spalteholz W.	44	Stoll B.S.	362
Sparkman R.S.	475	Stone	476
Spearman	39	Stone B.	461
Spechler S.J.	409	Stone L.S.	58
Spechler S.T.	372	Stone M.	364

Stone St.....	468	Talma.....	373
Stone W.E.....	497	Tan E.M.....	212
Stoney R.....	321	Tanabe T.....	332
Stossel T.....	228	Tanaka K.....	493
Stout A.P.....	402; 431; 452	Tandler J.....	44
Strachan T.....	90	Tanigaki.....	32
Strah K.M.....	146	Tanikawa K.....	505
Strandell T.....	175	Tao T.W.....	32
Stratta R.J.....	523; 533	Tartavez.....	488
Stratton J.R.....	175	Tarver W.....	148
Strauch G.O.....	503	Tasaki I.....	105
Straud.....	488	Tasca G.....	350; 507; 518
Strax.....	359; 360	Tasca P.....	428; 429
Strieder J.....	312	Tatum E.....	74
Strietz J.M.....	384	Taub W.....	504
Strong L.C.....	240	Taussig E.....	310; 311
Strong S.A.....	417; 418	Taussig F.J.....	452
Stuart Quan.....	454	Tawara S.....	44
Stumpff U.....	329	Taylor.....	396
Sturtevant A.....	72; 74; 88	Taylor I.....	435
Stutinsky.....	114	Taylor J.....	75; 79
Stutman.....	249	Taylor R.....	437
Suarez E.....	337	Taylor T.V.....	397
Suc.....	499	Tay-Sachs.....	95
Sudeck.....	293; 453	Tchirkow.....	418
Sudoh.....	172	Telford G.L.....	134
Suertz C.A.....	339	Telinde R.....	452
Sugarbaker E.....	441	Temin.....	187
Sugarbaker P.....	444; 446	Temin H.....	245
Sugawa C.....	393; 394	Temple J.....	371; 372
Sugimura T.....	363	Teplick S.....	505
Sugiura M.....	378; 379	Terblanche J.....	375
Suhr.....	198	Ternberg.....	124
Sullivan.....	335	Terrenato L.....	39
Sultan.....	345	Terrier.....	283; 507; 524
Summer S.....	413	Testas.....	498
Sumner J.B.....	13	Testut L.....	176
Sumons P.....	248	Thannhauser S.J.....	10
Sunderland D.A.....	404	Thayer.....	518
Surtees.....	440	Thayer T.....	333
Sutherland E.....	18	Theil E.C.....	25
Sutherland S.D.....	144	Therry C.....	325
Sutter.....	305	Thesleff S.....	107
Sutton F.....	71	Thiersch.....	467; 469; 470
Sutton R.....	315	Thiroloux.....	518
Svedberg T.....	11; 214	Thoday J.....	73
Svoboda A.....	525	Thomas B.....	497
Swan.....	288	Thomas C.....	80; 122
Swann W.....	318	Thomas F.....	306
Swanstrom L.....	385	Thomford N.....	354
Sweet B.H.....	242	Thompson G.P.....	41
Sweet R.....	369	Thompson J.C.....	145; 150; 221
Sweet R.H.....	381; 407; 452; 453	Thorbjarnarson B.....	503
Swell L.....	129	Thrusch D.C.....	105
Swieten.....	487	Tice S.C.....	72; 88
Swinton N.....	422; 432; 468	Tierney D.F.....	162
Swinton N.W.....	452	Tierney S.....	146
Sykes A.G.....	25	Tiffany L.....	478
Sylvester.....	281	Timmes J.....	342
Szathmary.....	15	Tiroloux.....	368
Szentagothai J.....	51; 53	Tiselius.....	214
Szent-György A.....	16	Tistze.....	429
Tabern.....	283; 296	Toccaceli S.....	459
Tagariello.....	323; 334; 358	Tockman M.S.....	162
Taheri S.A.....	334	Toda.....	174
Takagi K.....	509	Todaro G.....	245
Takahaschi I.....	148	Toews G.....	351; 352
Takamine J.....	22; 257	Tompkins R.....	490

Toms	502	Vasilevsky C.	459
Tondelli P.	512	Vassalle.....	169
Tonelli.....	369	Vater147; 391; 506; 509; 510; 511; 512; 522; 525; 526; 527; 528; 529	
Tongawa S.	198; 207	Vaughan J.	206
Toouli J.	511	Vaughn W.K.	492
Tooze	13	Vauthey J.	481
Torek	380	Vautrin	524
Torsoli A.	147	Veale A.	449
Tosatti E.	533	Veidenheimer M.	399; 401
Toupet.....	372; 408; 409; 458	Vendrely C.....	75
Touroff A.	312; 342	Vendrely R.....	75
Towne J.	332	Venkatesh K.....	442
Tracy H.J.....	123	Venter C.....	35; 91
Trapogas M.	335	Verenden W.	486
Traube	11	Veress	497
Trautwein.....	169; 171	Verney E.	229
Travaglini V.	302	Veronesi U.	361; 364
Traverso L.	529	Versè M.	402
Trendelemburg	324; 456	Verzar F.	129
Trendelenburg	294; 453	Vesell H.	312
Trentin.....	243	Vetto R.....	328
Trewan I.W.	39	Vezeridis M.	442
Trewek	285	Vicentini L.	110
Triggiani E.	367	Viganò M.....	308; 309
Troisier.....	400	Vignati P.	439; 440
Tronick S.R.	246	Villa	173
Trousseau.....	324	Vine	388
Trouth C.O.	154	Vineberg	313
Trowsdale J.	208	Viola G.	37
Trubestein G.....	329	Viola P.L.....	239
Trump	191	Virchow R.....	42; 61; 183; 220; 323
Tschermak E.	68	Vischer E.	11
Tsuchida N.	246	Visick.....	410
Tsuji M.	530	Visscher M.B.	129
Tuffier T.....	318; 340; 345; 380; 507	Vogelstein B.	248
Tullius T.D.....	26	Vogt	52
Tuohy	291	Volkmann	355; 453; 487
Turcot J.	450	Volkmann A.W.....	151
Turell R.	462	Volkmann R.....	237
Turk J.	218	Volleweider E.	407
Turnbull R.....	417; 422; 433	Vollmar J.	332
Turnbull-Cuthbertson.....	459	Volpe P.	451
Turner	187	Volterra A.	109
Turner F.C.....	239	Volwider	283; 296
Tuttle J.P.	427	Wade P.....	138
Tyburski J.	379	Waggenegger H.	472
Uchiyama	244	Wagner J.	446
Uhr J.W.....	32	Waizer A.	439
Ulsson J.....	317	Waksman B.....	218
Ungar	222	Waksman S.A.	261
Unger	498	Wald A.	38
Urban J.	357; 358; 359	Wald N.J.	363
Utsunomiya J.	423; 450	Waldenstrom.....	213
Utsunomiya T.....	230	Walker G.....	468
Uvnas B.....	123	Walker P.	321
Valdoni P.	336	Wall W.J.	492
Vallar L.	110	Walmsley A.M.....	277
Vallerv	128	Walsh J.	399
Valtancoli.....	300	Walsh J.V.....	137
Van Geel A.	355	Walters	222
Vandertoll D.J.....	459	Walters W.	374; 396; 512
Vanhoutte.....	172	Walzel.....	519
Vantrappen G.	370	Wamba W.M.....	162
Varadi G.....	109	Wanamaker S.....	379
Varmus H.	89	Wanebo.....	359
Varolio	54; 115	Wangensteen O.H.357; 358; 369; 386; 387; 433; 435; 478	
Vasen H.....	439		
Vasen H.F.	235		

Wanscher	281; 296	Wender.....	369
Warburg O.	13; 232; 236	Werloff.....	516
Ward	222; 224	Werner	243
Warren D.....	378	West B.	227
Warren H.....	510	Westhues H.	459
Warren K.....	525; 528	Westphal	510
Warren Nogent F.....	422	Wetstein L.	316; 317
Warren R.	333; 421	Wexler M.J.	377; 378; 379
Warren S.	413	Whaley K.	227
Warren W.	377	Wheat M.	319
Wassermann.....	206	Wheeler.....	11
Waterhouse	199	Wheeler H.O.	144
Waterhose P.	210	Wheelock Jr. F.C.	415; 416; 422
Waterman N.....	522	Wheelon.....	122
Waters	285; 295	Whipple	188
Waters W.A.	20	Whipple A.O.....	512; 527; 528; 529
Waterson	296	White	317
Waterston D.	311	Whitehead.....	462
Watkins	468	Whitehouse	73; 79
Watson	75; 77	Whitemare	335
Watson A.	372	Wholey.....	331
Watson J.....	89; 242; 247	Wieland.....	18
Watson J.D.....	11; 17	Wieland H.	238
Watts J.	464; 470	Wienbeck M.....	137
Watzka M.....	47	Wiener A.....	298
Waugh B.	414	Wiener N.....	27
Waugh J.	433	Wiersma C.A.G.	57
Way.....	440	Wiesel T.N.....	54
Webb R.	451	Wiesenfeld K.	29
Webb S.J.....	155; 160	Wiesner R.	504; 505
Webbs W.R.....	160	Wiggins R.	226
Weber E.F.	163	Wigler.....	85
Weber E.H.	163	Wilbur B.G.	125; 126
Weber J.	125	Wildegans H.	508
Webre D.	159	Wiley D.....	30
Webster M.....	376	Wiley J.....	139
Weeks C.	342	Wilfon B.	96
Weese.....	283; 296	Wilkins	75
Weidenreich F.....	45	Wilkins M.	11; 17
Weidmann S.....	168; 169; 171	Willecke.....	84
Weigert M.	78	Willett C.	447
Weigle J.	79	Williams.....	135; 453
Weigle W.O.	203	Williams G.M.	363
Weill	516	Williams J.	317
Weinberg.....	490	Williams K.....	21
Weinberg J.	395	Williams R.D.	376
Weinberg R.A.W.	67; 72; 85	Williamson.....	221
Weiner M.	509	Willis	233; 252
Weinhouse S.	232	Willoughby D.	218; 222
Weinstein	296	Willstaetter R.	10; 255; 296
Weir	459	Wilms	234; 235; 248
Weir J.	251	Wilson.....	398; 481
Weirich W.....	315	Wilson A.....	262; 322
Weisberg H.F.	102	Wilson J.B.	260
Weisburger J.R.....	363	Wilson J.M.....	36; 42; 45
Weiser H.	370	Wilson L.	402
Weiss.....	112	Wilson M.H.	127
Weiss D.W.	189	Winans C.S.	119
Weiss P.	57	Windaus A.	255
Weissmann G.	227	Winder	252
Weksler B.	230	Windmueller H.G.....	132
Welch C.	425	Winnie A.....	293; 294
Welch-Rheinlander	457	Winslow.....	507
Weldon.....	69	Winterstein H.....	152
Wellings R.	364	Wiper	149
Wells O.	297	Wirsung	508; 509; 511; 518; 525; 526; 530
Wendel	369; 380	Wise L.....	512
Wendell S.....	13	Wise R.E.....	508

Witebsky E.....	211	Yamamoto K.....	480; 481
Wittman D.H.....	444	Yamanaka H.	384
Witzel.....	366; 384; 388	Yanagisawa.....	172
Wodak E.	375	Yanagisawa F.....	382
Wohlgemuth.....	520	Yanasigawa M.	269
Wolarsky W.	419	Yanofsky C.	77
Wolfe W.....	319; 348	Yarnis	417
Wolff.....	317	Yasuda K.	509
Wolff W.	437	Yee U.....	517
Wolf-Jürgensen.....	224	Yersin	276
Wölfler.....	390; 400; 428	Yin F.C.P.	175
Wong C.	447	Yoshi N.....	116
Wood E.	238	Yoshimura K.....	36
Wood E.H.	164	Yudin S.....	381; 392
Wood L.	410	Yule G.U.....	38; 70
Wood R.P.....	379	Yunis J.	247
Woodburne.....	475	Zaaijer.....	380
Woodbury L.A.	168	Zajko A.	322
Woodnurne R.T.....	181	Zamenick	274
Woods D.D.	260	Zanchetti A.	117
Woodward E.	408	Zander.....	510
Wookey.....	381	Zawadzki J.W.	172
Wooler	306	Zeitoun P.....	409
Work	82	Zenilman M.	148
Worledge S.M.....	206	Zenker.....	187
Wormsley.....	149	Zerfas	283; 296
Worthen N.....	501	Zernicke F.	40
Wright.....	330	Zernicki.....	115
Wright L.T.	474	Ziff M.	224
Wu J.	311	Ziffer.....	283
Wühler F.	99	Zigler J.S.....	20
Wüthrich K.	30	Zigmond S.	227
Wylie J.	321	Ziperman H.....	407
Wyman J.	28	Zoll P.	315
Wynder E.	240; 434	Zollikofer C.L.	323
Wyndham C.	317	Zollinger	265; 358; 426
Wyschmeyer P.	424	Zsigmondy	9
Yamagishi S.....	104	Zubai.....	79
Yamagiwa K.	232	Zucker K.	498
Yamaguchi K.	512	Zuntz N.....	163

ABBREVIAZIONI

ACE	enzima convertitore dell'angiotensina
AIDS	sindrome di deficienza immunitaria acquisita
AMC	anticorpi monoclonali
ATP	acido adenosintrifosforico
CCK	colecistochinina
CNR	consiglio nazionale delle ricerche
Coll.	collaboratori
CU	colite ulcerosa
ENDR	risonanza elettroneucleare
EPR	risonanza elettronica paramagnetica
ERCP	colangiografia endoscopica retrograda
GABA	acido gamma-amminobutirrico
LES	sfintere esofageo inferiore
MAO	monoamminoossidasi
MHC	complesso maggiore di istocompatibilità
MSC	shunt mesocavale
PCR	reazione a catena polimerasica
PSC	colangite sclerosante primitiva
PTBD	drenaggio biliare percutaneo transepatico
PTC	colangiografia percutanea transepatica
PTX	trapianto di pancreas
RF	releasing factor
RFLP	lunghezza dei frammenti di restrizione
RMN	risonanza magnetica nucleare
RR	grado di rischio
SK	streptochinasi
SKPT	trapianto renale
SNA	sistema nervoso autonomo
SNC	sistema nervoso centrale
SNP	sistema nervoso periferico oppure polimorfismo di singoli nucleotidi
TNM	tumore – linfonodi - metastasi
TRH	ormone ipofisario che rilascia la tireotropina
UK	urochinasi
VNT	trasmissione volume-dipendente
WPW	sindrome di Wolff-Parkinson-White