



**Rivista medico-scientifica dell'Ordine dei Medici
Chirurghi e degli Odontoiatri della Provincia di Arezzo**

Giugno 2020 numero 50

IL CESALPINO

- **Filosofia della medicina**
- **Approfondimenti: Genetica ed Epigenetica**
- **Opinioni scientifiche a confronto: La Sperimentazione Animale**
- **Ambiente e salute**
- **Pandemie e Covid-19**
- **Opinioni scientifiche a confronto**

Editoriale

- 2 ■ Lorenzo Droandi

Filosofia della medicina

- 3 ■ **La salute come sistema**
P. Luisi, A. Bonaldi, A. Gardini

Approfondimenti: Genetica ed Epigenetica

- 7 ■ **La poliposi adenomatosa familiare**
F. Coppedè
- 11 ■ **Genetica ed epigenetica dei disturbi dello spettro autistico**
R. Gallo, L. Migliore

Opinioni scientifiche a confronto: La Sperimentazione Animale

- 18 ■ **Sperimentazione animale e psichiatria: un'analisi critica**
S. Cagno, E. Venco
- 22 ■ **Ricerca sull'artrite reumatoide nel XXI secolo: limiti dei modelli animali e nuovi approcci human-based**
M. Cassotta

Ambiente e salute

- 26 ■ **Inquinamento acustico ed atmosferico correlati al traffico portuale marittimo**
G. Porcile, G. Ghirga, G. Orbellò, A. Litta,

Pandemie e Covid-19

- 31 ■ **Pandemie e sostenibilità ambientale**
C. Panizza
- 35 ■ **Bioteχνologie innovative e Covid-19**
G. Errico, A. Barbieri

Opinioni scientifiche a confronto

- 39 ■ **Tecnologie informatiche e futuro della medicina: aspetti etici e politici della intelligenza artificiale**
A. Pantì
- 42 ■ **Curare con i cinque sensi: la sfida della pandemia**
S. Spinsanti

IL CESALPINO

*Rivista medico-scientifica
dell'Ordine dei Medici Chirurghi
e degli Odontoiatri
della Provincia di Arezzo*

Giugno 2020

anno 20 - numero 50

Editore: Consiglio provinciale dei Medici Chirurghi e degli Odontoiatri di Arezzo

Presidente Ordine dei Medici Arezzo:
Lorenzo Droandi

Direttore responsabile: Roberto Romizi
Coordinatore Redazionale: Amedeo Bianchi

Comitato Redazionale:

Borghesi Simona, Falsini Giovanni, Felici Massimo, Linoli Giovanni, Martini Marco, Martini Nicoletta, Nassi Rossella, Parca Gino, Pavani Raffaella, Raspini Giovacchino, Sasdelli Mauro.

Comitato Scientifico e Revisori

Ambiente e salute: Bianchi Fabrizio, Di Ciaula Agostino, Gentilini Patrizia, Maurello Maria Teresa, Romagnoli Carlo, Sallese Domenico, Tamino Gianni.

Appropriatezza in medicina: Bonaldi Antonio, Donzelli Alberto, Falsini Giovanni, Parca Gino, Vernerò Sandra.

Altri lavori scientifici: Borghesi Simona, Cuccuini Alberto, Felici Massimo, Linoli Giovanni, Martini Marco, Martini Nicoletta, Nassi Rossella, Pavani Raffaella, Raspini Giovacchino, Sasdelli Mauro.

Segreteria redazionale e

progetto grafico

Simona Ghezzi
redazionecesalpino@gmail.com
c/o Ordine dei Medici Chirurghi e degli Odontoiatri
Viale Giotto, 134 - 52100 Arezzo
tel. (+39) 0575 22724
fax (+39) 0575 300758
chirurgi@omceoar.it
odontoiatri@omceoar.it
www.omceoar.it

Aut. Trib. n°7 - 2001

del registro stampa n° 522/2001

La informiamo che secondo quanto disposto dall'art. 13, comma 1, della legge 675/96 sulla "Tutela dei dati personali", Lei ha diritto, in qualsiasi momento e del tutto gratuitamente, di consultare, far modificare o cancellare i Suoi dati o semplicemente opporsi al loro trattamento per l'invio della presente rivista.

LORENZO DROANDI

Presidente Ordine dei Medici Chirurghi e degli Odontoiatri di Arezzo

Cari Colleghi,

le riflessioni da fare in tema di coronavirus sarebbero moltissime e tutte sicuramente importanti e consistenti. Tra tutte quelle possibili, e doverose, scelgo solo quella relativa alla lungimiranza dei nostri politici e dei nostri amministratori, sottolineando fin da ora che non è un problema di colore politico.

La profonda crisi economica globale in cui la corrente pandemia ci ha precipitato appare essere, in questo momento, il problema che maggiormente assilla i governi di tutto il globo. Credo sia molto giusto e doveroso, per le evidenti e pericolose ricadute in termini di povertà e quindi di tenuta sociale. Siccome sono un medico, non mi sento di entrare nei numeri, che lascio ai professionisti del settore, ma desidero offrir loro spunti sui quali riflettere. La storia ci insegna che importanti eventi epidemici si ripetono nel tempo. Per restare vicini a noi, rammento gli eventi influenzali: la spagnola di un secolo fa, l'asiatica del 1957/58, l'influenza Hong Kong del 1968/69. Era quindi ragionevole attendersi che un evento epidemico importante potesse non solo aver luogo ma anche rapidamente diffondersi in tutto il mondo, atteso l'attuale livello di globalizzazione.

E la natura, in effetti, aveva fatto le prove, all'inizio del millennio, con la SARS, la quale per nostra buona fortuna fu contenuta prima e fermata poi. In tale occasione, l'OMS (che pure, attualmente, potrebbe avere le sue responsabilità) diramò ai governi aderenti la raccomandazione di mettere a punto un piano di contrasto di possibili, eventuali eventi pandemici. A quanto mi risulta, e desidero fortemente essere smentito ma non credo, il nostro Paese ha redatto il piano pandemico, sollecitato dall'OMS nel 2002/03, ma poi lo ha lasciato lì, non gli ha dato gambe. Non so esattamente cosa prevedesse il piano, ma fatto è che non sono stati acquistati e stoccati i DPI, non sono stati incrementati i posti letto in terapia intensiva, non è stato assunto personale, non è stata fatta formazione né del personale né dei cittadini (per esempio, non sono mai state fatte esercitazioni sul tipo di quelle fatte per le maxiemergenze quali terremoti, inondazioni, ecc.).

È verosimile che quanto sopra sia figlio delle politiche di rigore dei nostri governanti, nel senso che nessun governo si è nemmeno sognato di spendere un euro per far fronte ad un evento ipotizzabile ma ritenuto assai improbabile.

Anzi, i governi che si sono succeduti negli ultimi lustri non solo non hanno fatto quello che, a mio avviso, avrebbero dovuto fare, ma al contrario hanno provveduto a ridurre il finanziamento del SSN di circa 37 miliardi; hanno bloccato le assunzioni ed il turnover; hanno ridotto i posti letto; non hanno fatto programmazione in termini di specialisti; non hanno investito sul territorio e non lo hanno potenziato; non hanno fatto adeguata formazione; non hanno tenuto conto dell'evoluzione demografica della popolazione e del personale sanitario; ed infine non hanno approntato neppure una direttiva di coordinamento che potesse in qualche modo aiutare gli operatori impegnati sul campo.

La pandemia poi è arrivata, ci ha trovati impreparati e si è fatta l'improvvida scelta iniziale di non proteggere gli operatori, medici ed infermieri, soprattutto quelli del territorio. Così, si sono ottenute tre conseguenze nefaste e concatenate: abbiamo fatto contagiare i medici (ne sono morti 165!), consentendo che concorressero a diffondere il contagio prima, e poi depauperando i servizi degli operatori e quindi riducendone efficienza ed efficacia. È stato facile, per l'infezione, mietere oltre trentamila vittime, il cui costo è del tutto incalcolabile. Molte altre, purtroppo, sicuramente ne faranno la crisi economica e le conseguenti tensioni sociali. Il PIL del nostro Paese, si calcola, diminuirà del 9% circa, che in valore assoluto equivale (se non ho sbagliato i conti) a diverse e svariate centinaia di miliardi di dollari. Fu vero risparmio? Temo che i posteri si siano già risposti da soli.

In altre parole, nessuno di coloro che si sono avvicendati alla guida del nostro Paese ha dimostrato di possedere la visione del futuro, la lungimiranza che è richiesta al vero statista. E mi sento di poter dire che fra tutti, chi più chi meno, hanno dimostrato di essere dei dilettanti miopi ed incapaci.

La salute come sistema

Health as a system

Riassunto

Negli ultimi tre secoli scienza e filosofia sono state dominate dalla visione meccanicistica di Cartesio, Galileo e Newton, che si basa sull'analisi delle parti. Questo approccio si è affermato anche in biologia e in medicina dove oggi prevale il cosiddetto modello biomedico, in cui il corpo umano è considerato una macchina che può essere studiata e riparata isolando i diversi componenti: organi, tessuti, cellule, proteine, molecole, ecc.

Durante la prima metà del secolo scorso eminenti scienziati hanno constatato, però, che la realtà è costituita da elementi interdipendenti che formano dei sistemi. Nasce, quindi, la visione sistemica, secondo la quale molti aspetti della realtà, tra cui la salute e la malattia, si possono spiegare osservando non solo le singole parti ma anche le loro mutue interazioni.

Il modello biomedico, con il quale siamo abituati ad affrontare i problemi di salute, deve quindi essere integrato con la prospettiva sistemica. In questo modo avremo una visione più profonda della vita e della salute e potremo disporre di un più ampio ventaglio di soluzioni ai vari problemi. Nel campo della prevenzione significa rendersi conto che la salute non dipende solo dalla medicina ma riguarda la vita in tutti i suoi aspetti. Mentre per quanto riguarda la cura significa riconoscere l'influenza e l'interdipendenza dei vari fattori che interagiscono sulle cause e sul decorso della malattia e considerare la relazione tra medico e paziente, l'empatia, l'ascolto e la speranza di guarigione come indispensabili strumenti di cura.

Parole chiave: Salute, Visione sistemica, effetto placebo

Abstract

In the last three centuries science and philosophy have been dominated by the mechanistic vision of Descartes, Galileo and Newton, which is based on the analysis of the parts. This approach has also been affirmed itself in biology and medicine where now prevails the so-called biomedical model, in which the human body is considered a machine that can be studied and repaired by isolating the different components: organs, tissues, cells, proteins, molecules, etc.

However, during the first half of the last century, eminent scientists found that reality is made up of interdependent elements that form systems. Thus, the systemic vision was born, according to which many aspects of reality, including health and disease, can be explained by observing not only the individual parts but also their mutual interactions.

The biomedical model with which we are used to dealing with health problems must therefore be integrated with the systemic perspective. In this way we will have a deeper vision of life and health and we will have a wider range of solutions to the various problems. In the field of prevention, it means realizing that health does not depend only on medicine but concerns life in all its aspects. While with regard to care it means recognizing the influence and interdependence of the various factors that interact on the causes and course of the disease and considering the relationship between doctor and patient, empathy, listening and hope as indispensable care tools.

Keywords: Health, System vision, placebo effect

Un'interessante discussione della salute in termini di visione sistemica, si può trovare nel libro di Capra e Luisi, "The systems view of life", tradotto in italiano come "Vita e Natura. Una visione si-

PIERLUIGI LUISI*
ANTONIO BONALDI**
ANDREA GARDINI°

*Professore emerito di biochimica, Politecnico di Zurigo

**Medico, Presidente di Slow Medicine

°Medico, co-fondatore di Slow Medicine

Per corrispondenza:
abonaldi@libero.it

stemica¹. È un libro che tratta della visione sistemica in tutti gli aspetti principali della vita biologica, sociale, cognitiva, economica e politica.

■ Che cosa vuol dire visione sistemica?

Tutti lo sanno e tutti l'approvano da un punto di vista generale, filosofico, quanto ad applicarlo è un altro discorso. Cominciamo a dire che è necessario parlarne quando si ha a che fare con sistemi complessi, cioè formati da molte parti giustapposte e interdipendenti; per esempio, un organismo composto da dozzine di organi, una famiglia costituita da genitori, figli e parenti, un ospedale con tutto il personale che ci lavora, un mercato formato da tante nazioni. Ebbene, il discorso principale della visione sistemica è che per capire cosa sia un sistema, non si debbano guardare le singole parti isolate l'una dall'altra, ma si debbano considerare le mutue interazioni.

Parlando di medicina e corpo umano, può essere utile osservare la figura n.1, relativa agli organi del nostro corpo. Nella figura le varie frecce non sono frutto della fantasia dell'artista ma sono realtà fisiologiche, nel senso che lo stato di ogni organo è strettamente connesso a tutti gli altri, nessun organo lavora per conto suo in modo indipendente.

È come una orchestra, in cui i vari suonatori, per ottenere l'armonia, devono necessariamente essere in sintonia l'uno con l'altro. La stessa cosa vale per la struttura di un ospedale, per il mercato comune o per i vari componenti di un partito politico.

■ Tutto è collegato

Il discorso che il tutto è più della somma delle parti, non è nuovo, anche se è entrato in modo dirompente

nella letteratura moderna grazie a von Bertalanffy a metà del secolo scorso². Il concetto che tutto è collegato a tutto è il discorso base della antica filosofia vedica, vecchia di oltre tremila anni, e del buddhismo, di poco più giovane. Anzi, prendendo proprio il buddhismo, è noto che uno dei principi basilari è la causalità, per cui - come diceva il Buddha - c'è questo perché c'è quello, e l'altro c'è perché c'è quell'altro, uno non c'è perché non c'è quell'altro, e così via. Combinando questo principio di dipendenza relativa con l'altro cardine del buddhismo, l'impermanenza, si arriva ad una visione del mondo come unità organica e dinamica, nella sua interezza. Questo concetto di un mondo unitario e indivisibile si è mantenuto in India e in quasi tutto il mondo orientale fino ai nostri giorni. Anche la visione della medicina e della salute ne sono state influenzate. La medicina Ayurvedica e la medicina Ci gong si riconoscono nella visione unitaria di tutto ciò che ci circonda e il corpo è considerato nella sua integrità, non come somma di membra, organi e cellule indipendenti tra di loro.

■ Il modello biomedico

Nel mondo occidentale, il concetto di visione unitaria, che era almeno in parte presente durante il medioevo, si è smarrito. Anzi a partire dal XVII secolo fino ai nostri giorni, scienza e filosofia sono state dominate dalla visione meccanicistica di Cartesio, Galileo e Newton, che si basa sull'analisi delle singole parti. Dato un sistema complesso, la conoscenza del tutto si ottiene sommando la conoscenza delle singole parti, dove ogni parte è vista come l'ingranaggio di una macchina. Per chi fosse interessato ad approfondire questo tema si rimanda al citato libro di Capra e Luisi¹.

Questi concetti si sono affermati anche in biologia e hanno dato origine al cosiddetto modello biomedico, dove il corpo umano è considerato una macchina che può essere studiata isolando i diversi organi di cui è costituita e analizzando frammenti sempre più piccoli, fino a considerare le singole molecole. In questo quadro il compito del medico è quello di verificare il corretto funzionamento dei meccanismi biologici e di riparare i guasti, proprio come se fosse un bravo orologiaio.

Ora, con la visione sistemica, questo modo di pensare si capovolge e si ritorna al discorso dell'unità delle cose. Ma non sarebbe giusto dire che non c'è niente di nuovo nella visione sistemica, anzi eminenti ricercatori della prima metà del secolo scorso, come:

Norbert Wiener	1894 - 1964
Jean Piaget	1896 - 1980
Paul Weiss	1901 - 2002
John von Neumann	1903 - 1957
Gregory Bateson	1904 - 1980
Heinz von Foerster	1911 - 2002
Alan Turing	1912 - 1954
Ilya Prigogine	1917 - 2003
Francisco Varela	1946 - 2001
Humberto Maturana	1928

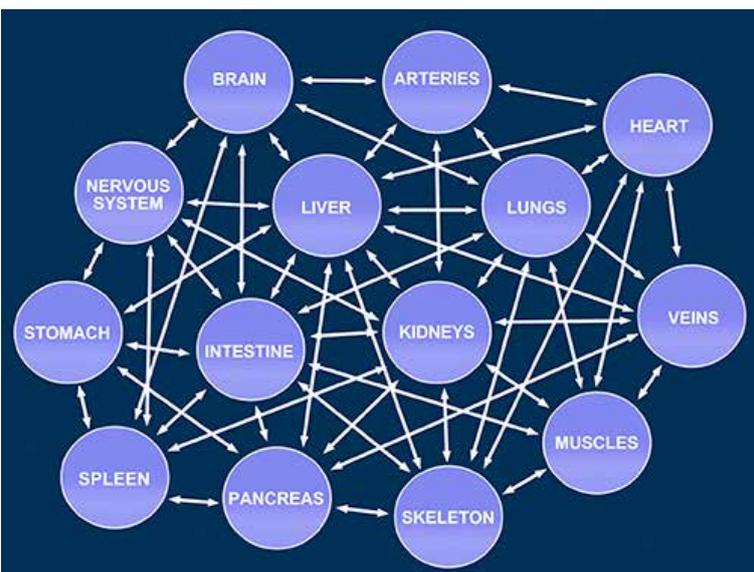


Figura 1: I vari organi del corpo sono tutti interconnessi, nessuno agisce in modo autonomo. La vita è un sistema integrato e quando i legami s'interrompono la vita cessa. Gli organi ci sono ancora e per qualche tempo possono perfino funzionare ma la vita non c'è più.

hanno elaborato una serie di nuovi, fondamentali concetti, che formano la base della scienza moderna, quali, ad esempio, il concetto di emergenza, feedback, non-linearità, contingenza, cooperatività e auto-organizzazione.

■ Dov'è localizzata la vita?

La cosa interessante è che la visione sistemica moderna e la visione filosofica del buddhismo non sono opposte, anzi c'è una assonanza a dir poco mirabile. Per capire meglio questo punto, esaminiamo una cellula vivente nella sua complessità, in particolare la mappa metabolica dell'*Escherichia Coli* (figura n.2), dove ogni punto è un composto chimico e ogni linea una reazione chimica. Come possiamo vedere, ogni composto, ogni reazione è collegata all'altra, non c'è discontinuità, e la domanda: dove è localizzata la vita del batterio? ha una risposta chiara: la vita non è localizzabile, è una rete unica. Non c'è una prima causa.

■ Due modi diversi per affrontare i problemi di salute

In questo schema, il malfunzionamento di un singolo enzima può produrre una disfunzione, un malessere,

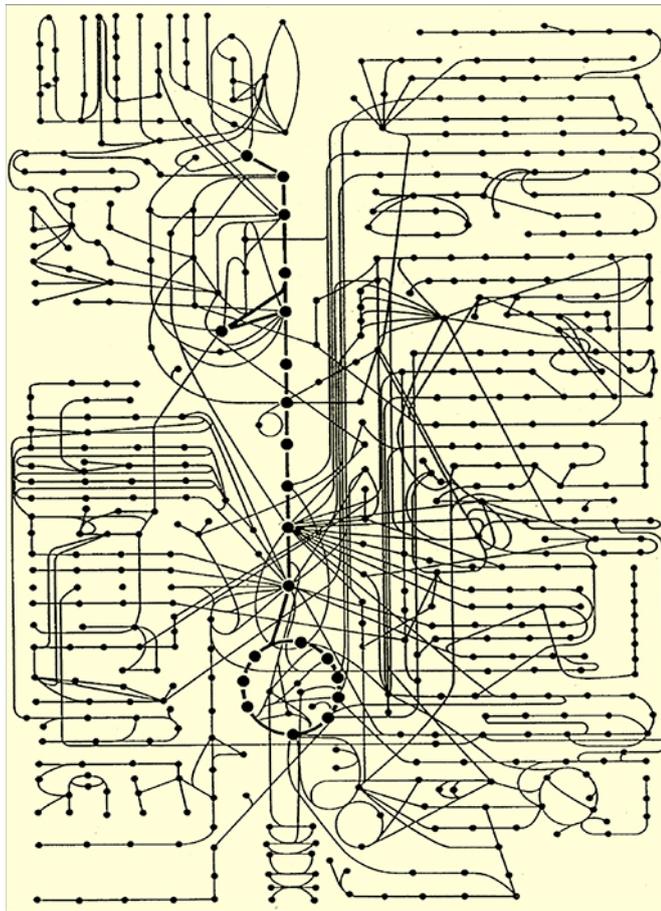


Figura 2: Mappa metabolica dell'*Escherichia Coli*, dove i punti rappresentano un composto chimico e le linee una reazione chimica, catalizzata da uno specifico enzima. La vita non può essere localizzata in un singolo punto, né in una specifica reazione.

un disturbo, una malattia. Tuttavia, questo malfunzionamento dipende a sua volta da tanti altri composti precedenti e determina a cascata molte altre anomalie. Anzi, siccome tutto è collegato, si potrebbe addirittura dire che l'intero metabolismo cellulare è implicato in tale malfunzionamento. Diecimila composti chimici sono allora corresponsabili di questa reazione? Si direbbe di sì. I distinguo e le precisazioni sono importanti clinicamente, ma da un punto di vista generale tutto è interconnesso: non c'è niente di completamente indipendente e isolato.

Torniamo, allora, al nostro malfunzionamento, che potrebbe essere la causa di una malattia. Domanda: come si affronta la malattia, come si può ristabilire la salute? Si possono avere due diversi approcci. Uno di tipo meccanicistico, che dice: il corpo funziona come una macchina, se da qualche parte qualcosa non funziona, devo individuare il guasto e aggiustarlo. Così, ad ogni malattia corrisponde il malfunzionamento di un singolo meccanismo che posso correggere somministrando un farmaco, modificando un gene, riparando o sostituendo un organo. Oppure si può considerare il problema da un punto di vista sistemico, riconoscere che il guasto riguarda un punto di una rete complessa e ponendoci la domanda: perché è sorto tale problema? Una domanda di tipo sistemico, che comporta non solo lo studio dei meccanismi biologici ma anche l'esame dei fattori psichici, ambientali, familiari e sociali che hanno contribuito a generare il problema.

Ecco due punti di vista diversi. Il primo rappresenta l'approccio classico, più clinico, forse anche più facile da affrontare da un punto di vista pragmatico. L'altro approccio assume che il guasto sia la conseguenza di una mancanza di equilibrio dell'intero organismo inserito in un particolare contesto ambientale e sociale. Naturalmente, occorre subito una avvertenza di buon senso: l'uno approccio non esclude l'altro. Qualche volta prevalgono gli aspetti biologici altre volte quelli sistemici, sempre sono presenti entrambi. Ai tempi del "new age" si ascriveva tutto ad effetti psicosomatici, allo stress o a traumi psichici e questo tipo di fondamentalismo è ugualmente pericoloso come lo è il riduzionismo.

■ Cos'è la salute?

Secondo la concezione corrente, la salute è definita come assenza di malattia e la malattia è ascritta principalmente al disfunzionamento di qualche meccanismo biologico. Analizzando il concetto di salute dal punto di vista sistemico si realizza per prima cosa che è impossibile dare una definizione precisa di salute. Si tratta infatti di una esperienza soggettiva che non si lascia quantificare in modo oggettivo. La salute è correlata al concetto stesso di vita e quindi, come la vita, è prima di tutto un processo dinamico, multidimensionale, instabile, ambiguo, carico di valori, che riflette la risposta biologica e creativa dell'organismo alle sfide ambientali e sociali in cui siamo immersi.

Nel caso della vita in generale, e quindi anche nel caso

della salute, si può parlare, di un equilibrio dinamico che coinvolge aspetti biologici, psichici, spirituali, ambientali e sociali. Quindi include anche il concetto stesso di cognizione, intesa come relazione positiva tra l'organismo e l'ambiente fisico e sociale in cui è inserito e che varia naturalmente da individuo a individuo³.

Quali sono le ricadute pratiche del modello sistemico? È evidente che l'orientamento culturale e sociale prevalente influisce sulle modalità con le quali affrontiamo i problemi di salute e sui nostri comportamenti in caso di malattia.

Come abbiamo detto, in medicina, il modello oggi prevalente è quello biomedico, che consiste nell'individuare ciò che non funziona nei singoli organi o nella miriade di processi chimico-fisici che sottendono alla vita e porvi rimedio mediante uno specifico intervento eseguito dall'esterno. In questo modo, però, oltre a separare ciò che succede nel corpo da quello che succede nella mente, rinunciamo ad una delle proprietà più rilevanti dei sistemi viventi: la loro capacità naturale di ricostituire un proprio equilibrio, difendersi e guarire spontaneamente dalle malattie. Questa formidabile capacità è quella che ci consente di riparare i tessuti dopo una ferita, di sostituire le cellule che invecchiano, di opporci alle infezioni di virus e microbi, di compensare i deficit funzionali di un organo e molto altro ancora. Non dimentichiamoci che la maggior parte dei malesseri che ci affliggono quotidianamente si risolvono in modo spontaneo proprio grazie a questi meccanismi di controllo e di autodifesa (*vis sanatrix naturae*), che dovremmo, quindi, cercare di studiare più a fondo e di impiegare ogni qualvolta possibile.

Per esempio, la ricerca scientifica ha ampiamente riconosciuto la straordinaria capacità della mente di influenzare in senso positivo o negativo la nostra salute. Molti studi, inoltre, hanno dimostrato che le aspettative del paziente, la fiducia nel medico, l'empatia, la speranza di guarire influenzano in modo rilevante gli esiti delle cure e di questo dovremmo tener conto ogniqualvolta affrontiamo i problemi di salute. La relazione tra medico e paziente che si esprime attraverso l'ascolto, la parola, la compassione è parte integrante del percorso di guarigione e non può essere completamente sostituita dal ricorso alla tecnologia, per quanto evoluta.

■ L'effetto placebo

Un concetto interessante nel contesto della relazione tra corpo e salute è l'effetto placebo. Per placebo s'intende una terapia o una sostanza, prive di principi attivi specifici, che vengono somministrate al paziente come se avessero veramente proprietà curative o farmacologiche. Il fatto sorprendente è che spesso tali terapie producono un effettivo miglioramento, che è quindi indotto dalle aspettative positive del paziente. Si tratta del più ampio discorso della influenza della mente sul corpo, e ci sono molti studi che documentano e discutono questo fenomeno nei vari aspetti^{4,5}.

Tuttavia, ancora oggi per il modello biomedico classico,

che attribuisce ogni malattia ad un cattivo funzionamento del corpo che può essere corretto dall'esterno, l'effetto placebo è qualcosa di indefinito, soggettivo, oscuro, indecifrabile, privo di basi scientifiche perché non si può spiegare in termini biologici e non può essere controllato con metodi oggettivi. Così, col tempo, l'interesse esclusivo della scienza intorno ai processi chimico-fisici e alle modificazioni delle strutture biologiche ha finito per far assumere all'effetto placebo una connotazione negativa. Ciò ha portato a disconoscere il valore terapeutico e di conseguenza ad escludere dalla pratica quotidiana uno dei più potenti strumenti di cura di cui disponiamo.

■ Allora che fare?

Sicuramente per coltivare la salute ci sono tantissime cose da fare ma non c'è alcuna ricetta preconfezionata a cui affidarsi. Ciò che qui vorremmo sottolineare è l'opportunità di integrare il modello biomedico, con il quale siamo abituati ad affrontare i problemi di salute, con la prospettiva sistemica. In questo modo avremo una visione più profonda della vita, avremo molte più possibilità di spiegare quello che succede dentro e fuori di noi e disporremo di molti più strumenti su cui fare affidamento per impostare le soluzioni ai vari problemi. Nel campo della prevenzione ciò significa rendersi conto che la nostra salute non dipende solo dalla medicina ma riguarda in primo luogo la vita in tutti i suoi aspetti. In questo senso, ciascuno di noi, per quanto di competenza, ha la responsabilità individuale e sociale di adottare comportamenti e stili di vita sobri e rispettosi che contribuiscono a preservare l'ambiente fisico e sociale e a ridurre il rischio di ammalarsi senza, peraltro, essere angustiati dalle minacce, dai dubbi e dalle incertezze che caratterizzano la vita.

Per quanto riguarda la cura, significa non limitare l'interesse della ricerca e della pratica clinica dentro l'angusta cornice meccanicistica, ma acquisire la consapevolezza dell'interdipendenza dei fattori biologici, psicologici, sociali e ambientali e considerare la loro reciproca influenza sulle cause e sul decorso della malattia. A questo riguardo è necessario riconoscere gli effetti terapeutici insiti nell'arte della cura, nell'interazione tra medico e paziente, nella speranza di guarigione, sviluppando progetti di ricerca e applicando ciò che già si conosce su specifiche tecniche di supporto al processo naturale di guarigione.

Bibliografia

1. Capra F, Luisi PL: The systems view of life. Cambridge Univ. Press, 2014. Italian edition: Vita e natura. Una visione sistemica; Aboca, 2014.
2. Von Bertalanffy L: General system theory. N.Y. Braziller, 1968.
3. Bonaldi A: Una Scuola per la salute. Wall Street International Magazine, 12 dicembre 2019.
4. Benedetti F: L'effetto placebo. Breve viaggio tra mente e corpo, ed. Carocci, 2018.
5. Benedetti F: La speranza è un farmaco. Come le parole possono vincere la malattia. Mondadori, 2018.

La poliposi adenomatosa familiare

Familial adenomatous polyposis

Riassunto

I tumori eredo-familiari del colon-retto sono responsabili di una piccola percentuale dei casi di questa patologia, stimata attorno al 5-6%. Tra questi troviamo la poliposi adenomatosa familiare dovuta a mutazioni del gene *APC* (FAP) e la poliposi adenomatosa familiare legata al gene *MUTYH* (MAP), entrambe responsabili di meno dell'1% del totale dei tumori coloretali. La FAP è trasmessa con un modello di ereditarietà autosomica dominante e si presenta in forma classica con oltre 100 adenomi coloretali che, se non rimossi chirurgicamente, porteranno all'inevitabile sviluppo di almeno un carcinoma. L'elevata eterogeneità allelica del gene *APC* è tuttavia responsabile di una forma attenuata della malattia (AFAP), generalmente caratterizzata dalla presenza di meno di 100 adenomi coloretali e da un rischio del 70% di sviluppare un carcinoma del colon-retto nel corso della vita, e di una poliposi diffusa, estremamente aggressiva e caratterizzata dalla presenza di migliaia di polipi. Numerose manifestazioni extra-coliche sono osservabili nei pazienti con FAP e nelle sue varianti cliniche, tra queste sono di particolare interesse adenomi duodenali e peri-ampollari che conferiscono ai pazienti FAP un rischio del 12% di sviluppare un carcinoma duodenale nel corso della vita. A differenza della FAP, la MAP è trasmessa con un modello di ereditarietà di tipo autosomico recessivo e ricorda clinicamente l'AFAP, con un numero di adenomi generalmente inferiore a quello osservabile nella FAP classica e un rischio dell'80% di sviluppare un carcinoma coloretale.

Parole chiave: poliposi adenomatosa familiare, *APC*, *MUTYH*

Abstract

Familial colorectal cancers are responsi-

ble for approximately 5-6% of colorectal cancers. Among these, familial adenomatous polyposis due to mutations in the APC gene (FAP) and familial adenomatous polyposis linked to the MUTYH gene (MAP) are both responsible for less than 1% of total colorectal tumors. FAP is an autosomal dominant disorder whose classical form is characterized by more than 100 colorectal adenomas that, if not removed surgically, will lead to the inevitable development of at least one carcinoma. However, the high allelic heterogeneity of the APC gene accounts for both an attenuated form of the disease (AFAP), generally characterized by the presence of less than 100 colorectal adenomas and a 70% risk of developing colorectal carcinoma during life, and an extremely aggressive polyposis characterized by the presence of thousands of polyps. Numerous extra-colic manifestations are observable in patients with FAP, among which duodenal and peri-ampullary adenomas are of particular interest accounting for a 12% risk of developing a duodenal carcinoma in the course of life. Unlike FAP, MAP is transmitted with an autosomal recessive inheritance model and clinically recalls AFAP, with a number of adenomas generally lower than those observed in classical FAP and an 80% risk of developing colorectal carcinoma.

Keywords: *familial adenomatous polyposis, APC, MUTYH*

■ Introduzione

Con oltre 1.8 milioni di nuovi casi stimati e quasi un milione di decessi nel 2018, il tumore del colon-retto si colloca al terzo posto per incidenza e al secondo posto per mortalità a livello mondiale, preceduto soltanto dai tumori al polmone e alla prostata nei maschi e dai tumori al polmone e al seno nelle femmine per quanto riguarda l'inciden-

FABIO COPPEDÈ

Professore associato di Genetica Medica
Dipartimento di Ricerca Traslazionale e delle
Nuove Tecnologie in Medicina e Chirurgia,
Università di Pisa

Per corrispondenza:
fabio.coppede@med.unipi.it

za, e dal tumore al polmone per mortalità¹. Soltanto una piccola percentuale dei pazienti affetti da tumore del colon-retto, stimabile attorno al 5-6%, ha ereditato una predisposizione genetica allo sviluppo della patologia, ovvero appartiene a famiglie in cui segregano mutazioni in geni specifici predisponenti allo sviluppo di sindromi familiari che determinano un elevato rischio di cancro. Tali sindromi sono generalmente suddivise in due grandi categorie: le sindromi poliposiche e i carcinomi ereditari del colon-retto su base non poliposica. Tra le prime si distinguono le poliposi adenomatose, come la poliposi adenomatosa familiare (FAP) e le sue varianti, e le poliposi amartomatose, come le sindromi di Peutz-Jeghers e di Cowden. Tra le non poliposiche ricordiamo il cancro coloretale ereditario non poliposico (HNPCC) o sindrome di Lynch². Nel presente articolo tratteremo le basi genetiche e la correlazione genotipo-fenotipo della FAP classica e delle sue varianti associate a mutazioni del gene *APC* (adenomatous polyposis coli), come pure della MAP, la poliposi adenomatosa familiare legata al gene *MUTYH* (mutY homolog).

■ La poliposi adenomatosa familiare

La FAP (OMIM #175100) è una condizione rara, con incidenza di circa 1/10.000, nella quale i pazienti sviluppano numerosi adenomi coloretali in età adolescenziale a causa di mutazioni nel gene oncosoppressore *APC* localizzato sul braccio corto del cromosoma 5 (5q21-q22). La malattia è trasmessa con un modello di ereditarietà autosomica dominante, implicando che i figli di persone affette hanno il 50% di probabilità di aver ereditato la mutazione. Più precisamente il 70-75% dei casi di FAP è ereditario, mentre il restante 25-30% è dovuto a mutazioni de novo insorte durante il processo di formazione dei gameti e non ereditate da un genitore affetto³. Complessivamente le mutazioni di *APC* sono responsabili di meno dell'1% del totale dei casi di tumore del colon-retto. La forma classica della malattia è caratterizzata dallo sviluppo di molte centinaia di polipi adenomatosi benigni nel colon durante le prime decadi di vita (Fig. 1). In assenza di interventi chirurgici si ha l'inevitabile comparsa di carcinomi che vengono diagnosticati in media all'età di 39 anni, rispetto ai 59-60 anni delle forme sporadiche. Tra le manifestazioni extracoliche sono frequenti polipi gastrici e duodenali. Particolarmente elevato (12%) è il rischio di sviluppo di carcinomi duodenali e ampollari, mentre il rischio di sviluppare carcinomi gastrici nel corso della vita è di circa l'1%. Tra le manifestazioni extra-intestinali si osservano anche carcinomi tiroidei (1-2%), prevalentemente nel sesso femminile, e tumori desmoidi (Tabella 1). La sindrome di Gardner è una variante clinica della FAP caratterizzata da varie anomalie extracoliche tra cui cisti epidermoidi, fibromi e lipomi cutanei, osteomi mandibolari, denti soprannumerari e ipertrofia congenita dell'epitelio pigmentato della retina (CHRPE), mentre la sindrome di Turcot è una variante rara di FAP associata allo sviluppo di tumori del sistema nervoso centrale, per lo più medulloblastomi³. La forma atte-



Figura 1: Immagine endoscopica di colon con poliposi adenomatosa familiare. Fonte: Rodriguez-Bigas M. National Cancer Institute⁸

nuata (AFAP) è associata a un numero inferiore di polipi, in genere compreso tra 10 e 100, e a un rischio ridotto di sviluppare un tumore del colon-retto nel corso della vita (70% nella AFAP rispetto al 100% della FAP) con insorgenza in età avanzata, in media all'età di 56 anni. Il rischio di carcinomi gastrici e duodenali è simile a quello della FAP³.

■ Il gene *APC* e la correlazione genotipo-fenotipo

Il gene *APC* codifica per una proteina di 2.843 amminoacidi che svolge un ruolo decisivo nella regolazione della crescita cellulare, antagonizzando i segnali proliferativi innescati dalla molecola Wnt. Si tratta di una proteina multifunzionale che contiene diversi motivi e domini strutturali che le permettono di oligomerizzare e di interagire con numerose altre molecole. Il ruolo principale di *APC* è di soppressore tumorale regolando negativamente l'oncoproteina β -catenina, che in sua assenza si accumula nel nucleo e promuove la proliferazione cellulare. Inoltre *APC* è coinvolta nell'adesione e nella migrazione delle cellule epiteliali, stabilizza i microtubuli, e la sua inattivazione può portare a segregazione cromosomica difettosa durante la mitosi⁴. Sono note più di 1700 varianti genetiche di *APC*, incluse mutazioni patogenetiche, varianti benigne e varianti a significato incerto (VUS), che si traducono in elevata eterogeneità allelica e fenotipica⁵. Le numerose varianti patogenetiche sono prevalentemente mutazioni nonsense e piccole inserzioni/delezioni che si traducono nella produzione di proteine tronche e più raramente mutazioni missenso, mutazioni dei siti di splicing o ampie delezioni/duplicazioni. Mutazioni che interessano le estremità 5' (primi 4 esoni: codoni 1-157) e 3' del gene (nella seconda metà dell'esone 15, dopo il codone 1.595), o la regione dell'esone 9 sottoposta a splicing alternativo (codoni 213-412), sono generalmente associate ad AFAP e si traducono nella formazione di un

Tabella 1: Principali caratteristiche e raccomandazioni per il management delle poliposi adenomatose familiari

Sindrome	Gene	Ereditarietà	Rischio di cancro nel corso della vita (%)	Protocollo di screening/sorveglianza	Chirurgia preventiva
FAP classica	APC	Autosomica dominante	Colon e retto (100) Duodeno e ampolla di Vater (4-12) Stomaco (<1) Pancreas (2) Tiroide (1-2) Fegato (1-2) Cervello (medulloblastoma) (<1)	Colonoscopia periodica dall'età di 10-12 anni Endoscopia periodica gastroduodenale dall'età di 18-25 anni Ecografia tiroidea periodica	Colectomia
FAP attenuata	APC	Autosomica dominante	Colon e retto (70) Duodeno e ampolla di Vater (4-12) Tiroide (1-2)	Colonoscopia periodica dall'età di 20-25 anni Endoscopia periodica gastroduodenale Ecografia tiroidea periodica	Colectomia
MAP	MUTYH	Autosomica recessiva	Colon e retto (80) Duodeno (4)	Colonoscopia periodica dall'età di 20-25 anni	Colectomia

Fonte: adattata da³: Samadder et al., *CA Cancer J Clin* 2018; 68,394-424.

numero di adenomi inferiore a 100, mentre il fenotipo classico della FAP, caratterizzato dalla presenza di più di 100 adenomi è associato a mutazioni che avvengono nella parte centrale del gene, tra i codoni 157 e 1.595 (escludendo i codoni 213-412) e in particolare nelle sequenze corrispondenti agli esoni 5-8, 9-14 e alla prima metà dell'esone 15. Tuttavia le mutazioni che interessano i codoni 1.250-1.464 del gene, e in particolare il codone 1.309 che è un hotspot mutazionale, sono fenotipicamente associate a una forma estremamente aggressiva, caratterizzata da poliposi profusa (oltre 1.000 polipi) ed età di esordio precoce⁴. Per comprendere a pieno la correlazione genotipo-fenotipo e la penetranza incompleta delle mutazioni associate ad AFAP è necessario ricordare che APC è un soppressore tumorale e che la perdita di una singola copia del gene, a seguito di una mutazione germinale, non è sufficiente allo sviluppo di un carcinoma coloretale, per il quale è necessario che a livello somatico sia inattivata la seconda copia del gene APC e che si abbia tutta la sequenza di eventi mutazionali che caratterizzano la sequenza adenoma-carcinoma, incluse le mutazioni di KRAS, DCC e TP53^{3,4}. Il sito di mutazione di APC è inoltre correlato alle manifestazioni extracolliche, infatti, la presenza di tumori desmoidi è in genere osservata in pazienti con mutazioni che interessano l'estremità 3' del gene, dopo il codone 1.400, mentre la CHRPE è associata a mutazioni tra i codoni 311-1.465. La presenza di adenomi gastro-duodenali è stata associata a mutazioni che interessano i codoni 564-1.493, i tumori epatici sono prevalentemente osservati in pazienti con mutazioni tra i codoni 141-1.751, quelli tiroidei sono associati a mutazioni tra i codoni 140-1.309⁵.

■ La poliposi adenomatosa familiare associata a MUTYH

La poliposi adenomatosa familiare associata a MUTYH (OMIM #608456) è stata identificata nel 2002 e si tratta di una forma di poliposi clinicamente molto simile

alle forme causate da mutazioni nel gene APC, ma si distingue da queste per il modello di ereditarietà di tipo autosomico recessivo. I pazienti sono omozigoti o eterozigoti composti per mutazioni germinali nel gene MUTYH e spesso la malattia ricorda clinicamente l'AFAP, con un numero di polipi compreso tra 10 e poche centinaia e un rischio di sviluppare un tumore del colon retto nel corso della vita pari all'80%. La MAP è responsabile di meno dell'1% del totale dei tumori del colon-retto e i pazienti MAP presentano frequentemente (17-34%) poliposi duodenale e un rischio del 4% di sviluppare neoplasie duodenali nel corso della vita (Tabella 1). Rischi significativamente maggiori rispetto alla popolazione generale di sviluppare carcinoma ovarico e tumore della vescica sono stati riportati nei pazienti MAP^{3,6}.

■ Il gene MUTYH e la correlazione genotipo-fenotipo

Il gene MUTYH mappa sul cromosoma 1 (1p34.3-1p32.1) e codifica per una proteina di 535 amminoacidi coinvolta nella riparazione del DNA per escissione di basi (BER), in particolare nella rimozione di adenine mal appaiate a guanine ossidate. In assenza di copie funzionali del gene MUTYH si ha un aumento della frequenza di mutazioni puntiformi dovuto a malfunzionamento del BER, con frequente mutazione dei geni APC e KRAS e sviluppo del carcinoma coloretale. La MAP può presentarsi non solo con adenomi convenzionali, ma anche sotto forma di adenomi e polipi serrati o con poliposi mista (polipi adenomatosi e iperplastici), suggerendo che la perdita di funzione di MUTYH porti ad accumulo di mutazioni anche in geni diversi da APC e KRAS^{4,6}. Inoltre, lo screening mutazionale di pazienti con tumore del colon-retto ha evidenziato che fino a un terzo dei portatori di mutazioni bialleliche di MUTYH può sviluppare un carcinoma coloretale in assenza di poliposi^{4,6}. Sono state descritte oltre 350 mutazioni diverse nel gene MUTYH, incluse varianti patogenetiche, VUS e varianti benigne⁷. Nella maggior parte dei casi si tratta di

mutazioni missenso che portano alla sostituzione di un singolo amminoacido, anche se mutazioni tronche, dei siti di splicing e piccole inserzioni/delezioni sono state osservate con minor frequenza. Esistono differenze etniche e geografiche nella frequenza delle mutazioni di questo gene a supporto dell'esistenza di un effetto fondatore e le due varianti p.Y179C e p.G396D sono le più frequenti tra i Caucasic^{4,6}. I portatori di un'unica variante patogenetica del gene *MUTYH* rappresentano l'1-2% della popolazione generale di origine Europea, non è ancora del tutto chiaro se questi soggetti abbiano o no un incremento del rischio di sviluppare un carcinoma coloretale rispetto alla popolazione generale⁴. Altre mutazioni frequenti sono state riportate in pazienti provenienti da altre regioni o gruppi etnici, ad esempio in India (p.E480X), Pakistan (p.Y104X) e Giappone (p.R245X)⁴. I pazienti MAP mostrano ampia variabilità fenotipica e il numero di polipi è molto variabile e probabilmente dovuto al tipo di mutazione/i presente/i e al loro effetto sull'attività glicosilasi della proteina *MUTYH*, anche se nella maggioranza dei casi il numero di polipi risulta inferiore a 100. Ad esempio gli omozigoti per la mutazione p.Y179C hanno un numero di polipi maggiore ed un'età di esordio inferiore rispetto agli omozigoti per p.G396D⁴.

■ Diagnosi e management

La diagnosi si basa sulla storia familiare, sul quadro clinico, sull'endoscopia dell'intestino crasso o sulla colonscopia completa. La diagnosi clinica è confermata dai test genetici e quando viene identificata una mutazione del gene *APC* si può procedere ad eseguire un test genetico predittivo nei familiari. A chi ha una mutazione nel gene *APC* o è a rischio elevato di FAP viene raccomandato di eseguire una colonoscopia periodica (una volta all'anno) a partire dall'età di 10-12 anni, o più tardi in caso di forme attenuate. L'intervento chirurgico preventivo viene poi programmato in base ai risultati endoscopici, ovvero quando viene diagnosticato un carcinoma o in base alle dimensioni, al numero e alle caratteristiche istologiche dei polipi. Le principali opzioni chirurgiche consistono in una proctocolectomia totale con creazione di una tasca ileale (ileal pouch) per mantenere la funzione sfinterica, oppure in una colectomia totale con anastomosi ileo-rettale. In entrambi i casi sono necessari controlli endoscopici periodici successivi, poiché rimane un rischio residuo di sviluppo di lesioni precancerose nelle regioni non rimosse chirurgicamente^{3,4}. La colectomia non riduce il rischio di tumori in altre sedi, pertanto è necessario controllare il tratto digerente superiore, e in particolare il duodeno, con indagini endoscopiche periodiche dall'età di 18-25 anni. Il carcinoma duodenale costituisce, infatti, la neoplasia più frequente e la principale causa di morte in coloro che si sono sottoposti a colectomia per ridurre il rischio di carcinoma coloretale. Tra le altre raccomandazioni viene consigliato uno screening annuale della tiroide per prevenire carcinomi tiroidei^{3,4}. Ai soggetti con storia familiare di tumore del colon-

retto consistente con un modello autosomico recessivo, o comunque a coloro nei quali si sospetta una MAP sulla base delle indagini endoscopiche e istologiche, viene proposto il test genetico per la ricerca di mutazioni in *MUTYH*. Il protocollo di sorveglianza nei portatori di mutazioni bialleliche di *MUTYH* è simile a quello proposto ai pazienti con AFAP e prevede colonoscopia periodica (una volta all'anno) a partire dall'età di 20-25 anni, seguito da eventuale intervento chirurgico quando necessario. Anche in questo caso si consiglia, come per l'AFAP, un monitoraggio endoscopico del tratto digerente superiore^{3,4}. Le caratteristiche principali delle sindromi descritte in questo lavoro sono riassunte in Tabella 1.

■ Conclusioni

I pazienti in cui si sospettano forme eredo-familiari di tumori gastrointestinali richiedono un approccio combinato che si basa sull'analisi della storia familiare, sull'indagine genetica e su protocolli di monitoraggio e sorveglianza che coinvolgono un team multidisciplinare che include il medico di medicina generale e numerosi specialisti tra cui genetisti, gastroenterologi, chirurghi e altri in grado di valutare anche le possibili complicanze extra-intestinali. Grazie ai recenti avanzamenti tecnologici e ai moderni sistemi di sequenziamento del genoma, le analisi genetiche possono dare indicazioni sempre più accurate in merito alla correlazione genotipo-fenotipo e indirizzare il paziente e i suoi familiari verso i più opportuni protocolli di sorveglianza. In questo contesto, il medico di medicina generale gioca un ruolo fondamentale nell'identificazione di pazienti e famiglie che possono trarre beneficio da un'accurata e precoce indagine genetica.

Bibliografia

1. Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, Siegel RL, Torre LA, Jemal A. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin.* 2018;68:394-424.
2. Coppedè F, Lopomo A, Spisni R, Migliore L. Genetic and epigenetic biomarkers for diagnosis, prognosis and treatment of colorectal cancer. *World J Gastroenterol* 2014;20:943-956.
3. Samadder NJ, Baffy N, Giridhar KV, Couch FJ, Riegert-Johnson D. Hereditary Cancer Syndromes-A Primer on Diagnosis and Management, Part 2: Gastrointestinal Cancer Syndromes. *Mayo Clin Proc.* 2019;94:1099-1116.
4. Leoz ML, Carballal S, Moreira L, Ocaña T, Balaguer F. The genetic basis of familial adenomatous polyposis and its implications for clinical practice and risk management. *Appl Clin Genet.* 2015 Apr 16;8:95-107.
5. <https://databases.lovd.nl/shared/variants/APC/unique>: accessed 2019 Oct 29.
6. Nielsen M, Infante E, Brand R. *MUTYH* Polyposis. In: Adam MP, Ardinger HH, Pagon RA, Wallace SE, Bean LJH, Stephens K, Amemiya A, editors. *GeneReviews*® [Internet]. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993-2019. 2012 Oct 4 [updated 2019 Oct 10].
7. <https://databases.lovd.nl/shared/variants/MUTYH/unique>: accessed 2019 Oct 29.
8. <https://visualsonline.cancer.gov/details.cfm?imageid=10067>: accessed 2020 Feb 17.

Genetica ed epigenetica dei disturbi dello spettro autistico

Genetics and epigenetics of autism spectrum disorders

Riassunto

I Disturbi dello Spettro Autistico (ASD) sono un gruppo di patologie complesse del neurosviluppo caratterizzate da difficoltà nelle interazioni sociali, nelle abilità linguistiche e da comportamenti stereotipati. Colpiscono circa l'1-2% della popolazione con frequenza maggiore nei maschi, in un rapporto di 4:1. Studi effettuati negli ultimi anni suggeriscono che la causa di tali disturbi sia imputabile a diversi fattori tra i quali quelli genetici, ambientali ed epigenetici. I fattori genetici maggiormente implicati riguardano alterazioni cromosomiche, variazioni del numero di copie (CNV) e mutazioni in singoli geni. Tra i fattori ambientali che sono stati associati ad un maggior rischio di ASD troviamo esposizioni prenatali a sostanze di abuso, sostanze chimiche xenobiotiche, metalli pesanti, stress e una dieta materna non adeguata. È stato dimostrato come tali fattori interferiscano con meccanismi epigenetici, in particolare con la metilazione del DNA; alterazioni dei pattern di metilazione del DNA sono state correlate a diverse patologie, inclusi i disturbi dello spettro autistico. La comprensione del ruolo dei meccanismi di interazione gene-ambiente nello sviluppo di tali patologie potrebbe permettere di attuare strategie preventive al fine di arginarne l'insorgenza crescente a cui si assiste negli ultimi anni.

Parole chiave: disturbi dello spettro autistico; genetica; epigenetica

Abstract *Autism Spectrum Disorders (ASD) are a group of complex neurodevelopmental disorders characterized by difficulties in social interactions, language skills and unusual repetitive behaviors. They affect about 1-2% of the population with a higher frequency in males, in*

a ratio of 4:1. Studies carried out in recent years suggest that many could be the causes of these disorders including genetic, environmental and epigenetic factors. The genetic factors involved are: chromosome anomalies, copy number variations (CNV) and mutations in single genes. Among the environmental factors that have been associated with a greater risk of ASD are prenatal exposures to substances of abuse, xenobiotic chemicals, heavy metals, stress and an inadequate maternal diet. It has been shown that these factors can act through epigenetic mechanisms, particularly DNA methylation whose alterations have been related to several diseases including autism spectrum disorders. Understanding the mechanisms of gene-environment interaction in the development of these pathologies could allow preventive strategies in order to reduce the growing occurrence of these diseases observed in recent years.

Keywords: *autism spectrum disorders; genetics; epigenetics*

■ Introduzione

I Disordini dello Spettro Autistico (ASD) sono un gruppo di patologie complesse del neurosviluppo che si presentano sin dalla prima infanzia. Colpiscono circa l'1-2% della popolazione con frequenza maggiore nei maschi, in un rapporto di 4:1. Gli individui affetti da ASD sono caratterizzati da un ampio range di sintomi che includono difficoltà nelle interazioni sociali, nelle abilità linguistiche, così come comportamenti ripetitivi inusuali. In circa il 30% dei casi sono presenti disabilità intellettive ed epilessia, in altri casi si riscontra la presenza di condizioni psichiatriche che includono ansia, depressione e disturbo da deficit dell'attenzione (ADHD)¹. Gli ASD sono tipicamente classificati

ROBERTA GALLO^{1,2}
LUCIA MIGLIORE^{2,3}

¹Dipartimento di Biotecnologie Mediche, Dottorato in Genetica, Oncologia e Medicina Clinica, Università di Siena

²Dipartimento di Ricerca Traslazionale e Nuove Tecnologie in Medicina e Chirurgia, Università di Pisa

³Azienda Ospedaliero Universitaria Pisana (AOUP)

Per corrispondenza:
lucia.migliore@med.unipi.it

in sindromici e non-sindromici. Il termine sindromico si riferisce a condizioni nelle quali l'autismo è presente in concomitanza a fenotipi aggiuntivi e/o dismorfismi, mentre non-sindromico si riferisce all'autismo classico o idiopatico in cui non sono presenti ulteriori sintomi. Le forme non-sindromiche sono riscontrate nel 75% dei pazienti affetti da ASD, con una prevalenza del 35% nei fratelli e con il 20% di storia familiare positiva. Le forme sindromiche invece si manifestano nel 25% dei pazienti, mostrando una minore ricorrenza nei fratelli (4-6%) e una minore frequenza di storia familiare positiva (9%)². Nonostante la causa dei disturbi dello spettro autistico resti sconosciuta, diversi studi mostrano come fattori genetici, ambientali ed epigenetici giochino un ruolo importante nell'eziologia di questi disordini³.

■ Genetica

Un modo per comprendere in che misura la genetica sia coinvolta nell'insorgenza di diverse patologie è quello di effettuare studi sui gemelli. Nell'epidemiologia genetica, un tasso di concordanza più elevato nei gemelli monozigoti (MZ) rispetto ai gemelli dizigoti (DZ) è spesso considerato come la prova di un maggior peso da parte della componente genetica. Nel caso dei disturbi dello spettro autistico, studi effettuati sui gemelli indicano un tasso di concordanza per i gemelli MZ di circa il 70-90% mentre per i dizigoti di circa lo 0-10%. Questi dati sottolineano come i fattori genetici abbiano un ruolo più consistente nell'insorgenza di ASD⁴. In particolare, tra i fattori genetici implicati nell'eziologia dei disturbi dello spettro autistico ritroviamo: alterazioni cromosomiche, variazioni del numero di copie (Copy Number Variations, CNV) e mutazioni in un singolo gene. Attualmente sono state riportate anche aberrazioni cromosomiche in circa il 2-5% degli individui con ASD⁵ che includono delezioni, duplicazioni, inversioni e traslocazioni. L'aberrazione cromosomica più frequentemente rilevata, nell'1-3% dei bambini con ASD, è la duplicazione 15q11-q13 di derivazione materna⁶. Molti dei geni che mappano in questa regione cromosomica come per esempio *GABRA5* e *GABRB3* (recettori GABA), *UBE3A*, *HERC2*, *SNRPN* e *CYFIP1*⁷, esplicano funzioni essenziali per la funzionalità cerebrale.

Diversi studi effettuati con tecnologie di microarray, come per esempio l'Array - Comparative Genomic Hybridization (Array-CGH), hanno mostrato come in circa il 10% dei casi di ASD siano state identificate CNV de novo o ereditate⁸.

Le CNV sono piccole varianti strutturali (delezioni o duplicazioni) che portano ad un cambiamento del numero di copie di una specifica regione cromosomica e che possono avere una dimensione che varia da una kilobase (kb) a diverse megabasi (Mb). Esse contribuiscono ad una sostanziale percentuale della variabilità genetica negli esseri umani e all'insorgenza di disordini del neurosviluppo. A questi riarrangiamenti è associato un ampio spettro fenotipico, che va dal normale sviluppo al deterioramento cognitivo. Quelle maggiormente associate ai pazienti con ASD sono microdelezioni e mi-

crouplicazioni a carico della regione 16p11.2, che sono state riscontrate in circa l'1% degli individui affetti. In tabella 1 sono riportate le CNV più frequentemente implicate in pazienti con ASD⁴. Circa il 5-10% dei casi di ASD si presenta in concomitanza a patologie come: la sindrome dell'X-fragile (1,5%-3% dei casi di ASD) causata da mutazioni a carico del gene *FMR1*; la sclerosi tuberosa (1% dei casi di ASD) causata da mutazioni nei geni *TSC1* e *TSC2*; la sindrome di Rett (1% delle donne affette da ASD) causata da mutazioni a carico del gene *MECP2*⁸. Altri difetti monogenici associati includono la neurofibromatosi, la distrofia muscolare di Duchenne e la sindrome di Timothy. Inoltre i casi di ASD possono verificarsi in presenza di disturbi metabolici quali la fenilchetonuria e la sindrome di Smith-Lemli-Opitz. Ulteriori studi hanno riscontrato infine la presenza di ASD anche in concomitanza a disordini causati da alterazioni mitocondriali³ (Tab.2).

■ ASD e ambiente

Alcuni farmaci, sostanze tossiche, fattori metabolici e nutrizionali sono stati identificati negli studi epidemiologici come implicati nell'aumento del rischio di ASD, specialmente durante il periodo prenatale. Per esempio la somministrazione alla madre di farmaci quali acido valproico, talidomide e antidepressivi (inibitori selettivi della ricaptazione della serotonina), specialmente durante il primo trimestre di gravidanza, è stata associata ad un aumentato rischio di ASD nel bambino⁹. Inoltre, in altri studi, sono stati osservati anche fattori di rischio immunologici tra cui infezioni materne durante la gravidanza, malattie autoimmuni familiari, così come anomalie immunitarie. Altre variabili importanti associate ai disturbi dello spettro autistico sono:

- l'uso di pratiche di procreazione medicalmente assistita (PMA), infatti diversi studi hanno evidenziato come l'uso della PMA possa portare anche ad un aumentato rischio di difetti alla nascita, ad un parto prematuro, ad un basso peso alla nascita e a disturbi dell'imprinting genomico¹⁰;
- il parto cesareo¹¹;
- le infezioni materne e/o l'attivazione immunitaria materna durante la gravidanza¹²;
- l'esposizione materna durante la gravidanza e/o l'esposizione del bambino durante il primo anno di vita all'inquinamento atmosferico (biossido di azoto, PM^{2.5} e PM^{10.13});
- l'esposizione a sostanze chimiche come bisfenolo A (BPA) e ftalati (PAE), che possono agire come interferenti endocrini, trasferiti dalla madre al feto o al neonato rispettivamente attraverso la placenta o l'allattamento al seno, e che quindi possono interferire con il neurosviluppo dei bambini¹⁴;
- l'esposizione a metalli pesanti (per esempio mercurio, piombo) che può causare danni alle cellule cerebrali, portando a difetti neurologici, ritardo nello sviluppo, disabilità socio-comportamentali e menomazioni intellettive. A conferma di ciò alcuni studi caso-controllo hanno riportato la presenza di concentrazioni più ele-

vate di metalli pesanti nel sangue, nelle urine, nei capelli, nel cervello e nei denti di bambini con ASD rispetto a controlli sani¹⁵.

Un altro fattore importante associato ai disturbi dello spettro autistico è il microbiota intestinale, essenziale per la salute umana in quanto gioca un ruolo principale nella comunicazione bidirezionale tra il tratto gastrointestinale e il sistema nervoso centrale. Perturbazioni del microbiota intestinale durante le prime fasi della vita possono influire negativamente sul neurosviluppo. Solitamente gli individui con ASD, durante i primi tre

anni di vita, vengono trattati con elevate dosi di antibiotici e questo può destabilizzare il loro microbiota intestinale e quindi permettere ai patogeni potenzialmente competitivi di aggravarne i sintomi. Studi su topi germ-free hanno dimostrato un aumento di comportamenti ripetitivi simili a quelli osservati nei disturbi dello spettro autistico, suggerendo che il microbiota è un fattore critico nello sviluppo del comportamento sociale e nell'eziologia di tale patologia. Questo fornisce opportunità di sviluppare nuove strategie terapeutiche nella gestione dei disturbi del neurosviluppo attraverso

Tabella 1: CNV ricorrenti identificate in pazienti con ASD

LOCUS	CARATTERISTICHE CLINICHE ASSOCIATE ALLE CNV
1q21.1 sindrome da delezione	ID da media a moderata, schizofrenia, caratteristiche facciali dismorfiche nella media, anomalie cardiache congenite, microcefalia, cataratta
1q21.1 sindrome da duplicazione	ID da media a moderata, ADHD, caratteristiche dismorfiche nella media, macrocefalia, ipotonia
2q37 sindrome da delezione	ID, caratteristiche facciali dismorfiche, bradicardia
3q29 sindrome da delezione	ID da media a moderata, schizofrenia, caratteristiche dismorfiche nella media
7q11.23 sindrome da duplicazione	ID, schizofrenia, anomalie cerebrali, caratteristiche dismorfiche variabili
15q11-q13 sindrome da duplicazione	ID da media a moderata, epilessia, atassia, problemi comportamentali, ipotonia
15q13.3 sindrome da delezione	ID da media a moderata, epilessia, difficoltà nell'apprendimento, ADHD, caratteristiche dismorfiche variabili
16p11.2 sindrome da delezione	ID da media a moderata, epilessia, anomalie congenite multiple, caratteristiche dismorfiche variabili, macrocefalia, obesità
16p11.2 sindrome da duplicazione	ID da media a moderata, ADHD, microcefalia, caratteristiche dismorfiche
16p12.1 sindrome da delezione	ID da media a moderata, ADHD, anomalie cardiache congenite, dismorfologia craniofacciale
16p13.1 delezione	ID, schizofrenia, epilessia, anomalie congenite multiple, dismorfismi
17p11.2 sindrome da delezione	ID, ritardo del linguaggio, perdita dell'udito, anormalità del sonno, ipotonia
17p11.2 sindrome da duplicazione	ID da lieve a grave, anomalie congenite, dismorfismi, ipotonia
17q12 sindrome da delezione	ID da lieve a moderata, schizofrenia, epilessia, MODY, dismorfismi facciali
17q21.31 sindrome da delezione	ID da lieve a grave, epilessia, anomalie strutturali del cervello, anomalie muscoloscheletriche, dismorfismi, ipotonia
17q21.31 sindrome da duplicazione	ID da lieve a moderata, microcefalia, irtsutismo, dismorfismi facciali
22q11.2 sindrome da delezione	ID, schizofrenia, difficoltà di apprendimento, anomalie congenite multiple, difetto cardiaco congenito, dismorfismi
22q11.2 sindrome da duplicazione	ID, schizofrenia, disturbi del linguaggio, difficoltà di apprendimento, difetto cardiaco, dismorfismi, microcefalia

ADHD- Disturbo da deficit di attenzione e iperattività; ID - disabilità intellettiva; MODY- diabete giovanile con esordio nella maturità (da Kowalnik et al., 2019)⁴

Tabella 2: Sindromi associate all'ASD

SINDROME	GENI/REGIONI CROMOSOMICHE ASSOCIATI	PAZIENTI AFFETTI DA ASD CON SINDROME	PAZIENTI CON SINDROME AFFETTI DA ASD
Sindrome dell'X Fragile	FMR1	2% - 3%	20% - 40%
Sclerosi Tuberosa	TSC1, TSC2	3% - 4%	43% - 86%
Sindrome di Rett	MECP2	80% - 100%	<5%
Sindrome di Timothy	CACNA1C	-	60% - 70%
Fenilchetonuria non trattata	PAH	-	5% - 6%
Sindrome di Williams-Beuren	7q11.23 del	7%	<1%

(Modificata da: Benvenuto et al., 2009, doi: 10.1007/s12519-009-0033-2; Ivanov et al., 2015, doi: 10.1515/foimed-2015-0015)

il trattamento basato sul microbioma. Per esempio uno studio effettuato su una coorte di bambini con ASD ha rilevato che 8 settimane di trattamento con vancomicina orale (un antibiotico non assorbibile che agisce solo nell'intestino) ha portato a importanti miglioramenti dei sintomi del tratto gastrointestinale e del disturbo autistico, benefici che però sono scomparsi nel giro di poche settimane dalla fine del trattamento¹⁶.

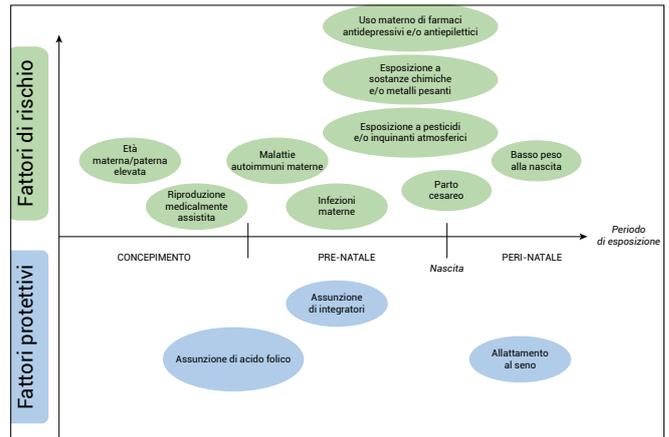
In letteratura sono infine presenti diversi studi che evidenziano come alcuni fattori possano aiutare a prevenire i disturbi dello spettro autistico. Per esempio gli integratori a base di acido folico consigliati nel periodo periconcezionale sono noti per prevenire fino al 70% dei difetti del tubo neurale e sono stati associati a una diminuzione dei problemi comportamentali infantili, dell'iperattività e ad un miglioramento nei punteggi riguardanti lo sviluppo neurologico, tra cui la competenza sociale, l'attenzione, la funzione verbale e verbale-esecutiva. Inoltre è stato dimostrato come le madri che facevano uso di integratori o di supplementi a base di acido folico in fase prenatale avevano un rischio ridotto di avere figli con ASD. Tuttavia altri studi non hanno trovato un'associazione statisticamente significativa tra l'assunzione di acido folico e ASD. La discrepanza tra questi risultati suggerisce che è importante assumere i folati in un momento specifico della gravidanza e nelle giuste dosi (Fig.1)¹⁷.

■ Epigenetica

In letteratura sono presenti studi che evidenziano come coppie di gemelli MZ, in circa il 60 % dei casi, siano tra loro discordanti per i disturbi dello spettro autistico e spesso la discordanza fenotipica è presente anche per molti altri tratti, dal peso alla nascita a una serie di malattie complesse come ad esempio il diabete di tipo 1 (T1D, 61%) o di tipo 2 (T2D, 41%), la schizofrenia (58%) e diversi tipi di cancro (dallo 0 al 16%). Fraga e collaboratori hanno dimostrato in uno studio del 2005 come coppie di gemelli MZ presentavano differenze epigenetiche. In particolare le coppie di gemelli che avevano trascorso poco tempo della loro vita insieme o avevano avuto una storia medica diversa mostravano differenze maggiori¹⁸. Questo è indice di come il genotipo da solo non basta a determinare completamente la variazione fenotipica e quindi bisogna considerare l'interazione tra geni e ambiente. L'epigenetica è stata proposta per essere uno dei principali mediatori di questa interazione. L'epigenetica è lo studio delle modificazioni ereditabili del DNA e della cromatina che influenzano il genoma e l'espressione genica senza alterare la sequenza del DNA stesso. I meccanismi epigenetici meglio caratterizzati sono la metilazione del DNA, le modificazioni delle code istoniche e il silenziamento genico da parte degli RNA non codificanti (ncRNA) (Fig.2).

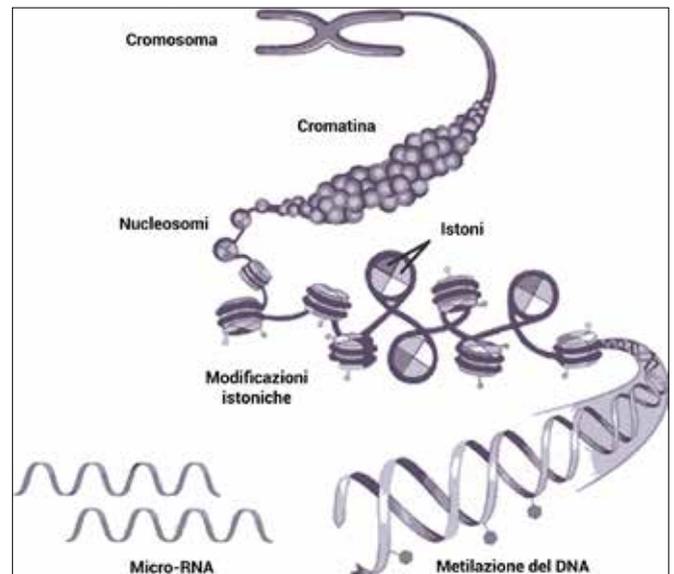
La metilazione del DNA consiste nell'aggiunta covalente, da parte di enzimi che prendono il nome di DNA-metiltransferasi (DNMT), di un gruppo metilico in posizione 5 dell'anello pirimidinico della citosina con formazione

Figura 1: Fattori di rischio e fattori protettivi



(Modificata da Emberti Gialloreti et. al., 2019, doi:10.3390/jcm8020217)

Figura 2: Le principali modificazioni epigenetiche: metilazione del DNA, modificazione delle code istoniche e RNA non codificanti (miRNA nella figura)



(da Weber-Stadlbauer 2017, doi 10.1038/tp.2017.78).

di 5-metilcitosina (5-mC) ed è associata solitamente con il silenziamento genico. Nei mammiferi, la metilazione del DNA si verifica principalmente nel contesto di dinucleotidi citosina-fosfato-guanina (CpG). Mentre la maggior parte di questi dinucleotidi (circa 60% - 80%) è metilata, certe regioni del DNA di circa 500 bp, con alte concentrazioni di CpG, note come isole CpG (CGI), sono di solito non metilate anche se una loro piccola percentuale lo diventa durante i normali processi fisiologici, come l'imprinting genomico e l'inattivazione del cromosoma X e quando questo accade il gene associato è stabilmente silente e pertanto la metilazione del DNA è stata considerata come un segno di repressione a lungo termine.

Lo stato della cromatina rappresenta un altro importante modulatore dei profili di espressione genica. Questa può infatti esistere in uno stato condensato inattivo (eterocromatina) o in uno non condensato, trascrizio-

nalmente attivo (eucromatina). Il nucleosoma è l'unità fondamentale della cromatina ed è costituito da un otamero formato da due copie di quattro "core" istonici (H3, H4, H2A, H2B), attorno al quale sono avvolte 147 paia di basi di DNA. Gli istoni del corpo centrale hanno una coda N-terminale di amminoacidi che si proietta verso l'esterno che subisce diverse modificazioni post-traduzionali come acetilazione, metilazione e fosforilazione, responsabili di cambiamenti conformazionali della cromatina che portano a repressione o attivazione della trascrizione. Gli RNA non codificanti sono coinvolti nella regolazione dell'espressione genica e comprendono i microRNA (miRNA), cioè corti RNA non codificanti di circa 20–24 nucleotidi che legando la regione 3' non tradotta (3' UTR) dell'mRNA bersaglio, portano a repressione traduzionale o degradazione dell'mRNA agendo così da regolatori negativi, post-trascrizionali, dell'espressione genica.

■ Epigenetica e ambiente

I geni ereditati dai genitori costituiscono quello che viene chiamato "genoma strutturale". Gli scienziati hanno proposto un parallelismo tra il genoma strutturale e l'hardware di un computer, entrambi infatti permettono di determinare i limiti di ciò che è possibile, ma nessuno dei due funziona senza un sistema operativo (software) che lo istruisca su cosa fare. Nel genoma, tale sistema operativo è chiamato epigenoma. Questo, così come il software, determina quali funzioni l'"hardware" genetico dovrà eseguire e quali no. L'epigenoma è un importante bersaglio per le modificazioni indotte dall'ambiente. Nelle prime fasi dello sviluppo embrionale, subito dopo la fecondazione, i genomi paterno e materno subiscono un processo di demetilazione. Successivamente vengono ristabiliti specifici pattern di metilazione importanti per il differenziamento delle linee cellulari responsabili della formazione delle cellule completamente differenziate del nuovo organismo. Questa finestra temporale rappresenta uno dei "periodi critici" durante i quali i meccanismi epigenetici risultano particolarmente sensibili alle influenze ambientali, con lo scopo di fornire plasticità adattativa nei confronti dell'ambiente. I fattori ambientali possono indurre alterazioni epigenetiche a carico della linea germinale trasmissibili in maniera transgenerazionale attraverso esposizione indiretta delle generazioni successive e multigenerazionale attraverso esposizione diretta.

Le influenze ambientali riguardano lo stile di vita materno, l'ambiente e la nutrizione. La teoria chiamata DOHaD (Developmental Origins of Health and Disease) sostiene che le esposizioni ambientali precoci (prenatali e nei primi anni di vita) possono modificare il rischio di malattie ad insorgenza nell'età adulta.

I fattori ambientali coinvolti possono essere suddivisi in diverse categorie a seconda della loro natura e della modalità di esposizione (topica e/o sistemica) e comprendono le sostanze di abuso, la dieta e la nutrizione, le sostanze chimiche xenobiotiche, i metalli pesanti e

lo stress. Essi agiscono sui diversi meccanismi epigenetici le cui alterazioni sono state correlate a molte malattie complesse quali cancro, diabete, malattie cardiovascolari, malattie autoimmuni, schizofrenia, malattie neurodegenerative e disordini del neurosviluppo incluso l'autismo.

■ Epigenetica e ASD

Alcuni studi su malattie genetiche hanno dimostrato come i meccanismi epigenetici possano avere un ruolo nell'eziologia dei disturbi dello spettro autistico. La sindrome di Rett è un esempio molto noto di una condizione genetica di alterazione del neurosviluppo che include un comportamento autistico e la cui eziologia è direttamente correlata alla regolazione epigenetica. Essa è causata da mutazioni nel gene *MECP2*, che codifica per la proteina legante il DNA metilato MeCP2. Il fatto che le mutazioni in tale gene causino una sindrome con comportamento autistico, indica un legame diretto tra espressione genica regolata dalla metilazione del DNA e la sintomatologia tipica dei disturbi dello spettro autistico. Queste osservazioni forniscono prove a supporto del coinvolgimento dell'epigenetica nell'eziologia dei disturbi dello spettro autistico, confermate da studi epigenetici che hanno dimostrato un'associazione diretta tra la disregolazione delle modificazioni epigenetiche, sia nei tessuti periferici che nel tessuto cerebrale post-mortem e l'autismo. In uno studio effettuato da su campioni di sangue periferico di bambini con ASD e rispettivi controlli sani, si è evidenziata una diminuzione della metilazione del gene *OXTR* nei pazienti rispetto ai controlli. Un secondo studio effettuato su tessuto cerebrale post-mortem di pazienti con ASD e controlli ha mostrato una ipermetilazione a livello del promotore del gene *RELN* nei pazienti. Un altro esempio è lo studio effettuato da Ladd-Acosta e colleghi, che ha mostrato livelli di metilazione del gene *PRRT1* inferiori nella corteccia temporale e nel cervelletto di pazienti con ASD rispetto ai controlli sani¹. Questi ed ulteriori studi sono riportati nella tabella 3.

È stato dimostrato come un'alterata metilazione del DNA possa essere un potenziale meccanismo attraverso il quale i fattori ambientali influiscono sul rischio di ASD. Capire in che modo questo avviene è importante sia per comprendere i meccanismi di interazione gene-ambiente che per sviluppare potenziali strategie future di intervento per questi e altri disturbi del neurosviluppo.

I prodotti chimici ambientali che sono considerati potenziali fattori di rischio includono policlorobifenili (PCB), piombo, bisfenolo A, mercurio e pesticidi. L'ipotesi maggiormente accreditata è che le sostanze chimiche ambientali possano conferire il rischio di sviluppare ASD in individui geneticamente suscettibili alterando la metilazione del DNA nel cervello in via di sviluppo. I PCB sono sostanze prodotte durante i vari processi industriali, identificate come probabili fattori di rischio ambientale per la salute e in particolare per i disturbi

Tabella 3: Analisi epigenetiche condotte su vari tipi di tessuti di pazienti ASD

Modello sperimentale	Osservazioni	Referenze
Sangue periferico di 236 pazienti sani e 280 pazienti con ASD	Livelli di metilazione globale significativamente maggiori in ASD	Tsang et al., 2016 doi.org/10.1186/s40246-016-0086-y
Sangue periferico di 27 bambini con ASD e 39 soggetti sani	Ipometilazione del gene <i>OXTR</i> (gene del recettore dell'ossitocina) nei soggetti con ASD	Elagoz et al., 2016 doi:10.1080/01677063.2016.1202951
Sangue periferico di 131 pazienti con ASD e rispettivi controlli sani	Ipometilazione del gene <i>ENO2</i> e riduzione dei livelli di mRNA nei pazienti	Wang et al., 2014 doi: 10.1007/s00431-014-2311-9

DMR: Differentially Methylated Regions

del neurosviluppo. In uno studio effettuato su tessuto cerebrale di soggetti con alterazioni del neurosviluppo e su un modello di cellule neuronali in coltura, recanti la duplicazione materna 15q11.2-q13.3, è stata riscontrata una significativa ipometilazione globale del DNA arricchita a livello di geni candidati per l'ASD e capace di influenzare l'espressione genica. In particolare, l'esposizione a tali sostanze ha alterato la metilazione di oltre 1.000 geni. Questi risultati dimostrano gli effetti simultanei di fattori genetici e ambientali sul metiloma neuronale¹⁹.

Un'altra modificazione epigenetica indagata come causa dei disturbi dello spettro autistico è stata la regolazione dell'espressione genica da parte dei miRNA. Questi sono abbondantemente presenti nel SNC, a livello dei neuroni e della glia, e la loro disfunzione è stata implicata in una serie di condizioni neuropatologiche tra cui l'autismo. Negli anni passati si pensava che i miRNA fossero espressi solo nelle cellule e nei tessuti; recentemente invece sono stati rilevati anche nei fluidi corporei extracellulari come siero, plasma, saliva e urina. Diversi studi riportano un'alterazione della loro espressione in soggetti con ASD rispetto ai controlli sani. Per esempio uno studio effettuato nel 2015 su tessuto cerebrale post-mortem di soggetti affetti da ASD ha riscontrato alterazioni nell'espressione di alcuni miRNA coinvolti nella regolazione dell'espressione di geni importanti per l'attività del SNC e nel metabolismo di alcuni neurotrasmettitori²⁰. Un altro studio del 2014 effettuato invece in campioni di siero di 55 individui con ASD e 55 controlli sani aveva riscontrato una differenza nei livelli di espressione di alcuni miRNA nei pazienti rispetto ai controlli. In particolare 5 dei miRNA riscontrati deregolati avevano come target geni implicati in processi neurologici e hanno mostrato un buon potere predittivo nel distinguere gli individui con ASD²¹. Queste ed altre evidenze hanno indotto i ricercatori a continuare gli studi alla ricerca di biomarcatori periferici associati alla condizione ASD.

■ Nuove prospettive

Fino a poco tempo fa i cervelli post-mortem erano l'unica fonte di neuroni corticali umani per studiare direttamente in vitro il ruolo funzionale dei geni candidati

per l'ASD. Uno dei principali limiti nello studio di patologie con coinvolgimento del sistema nervoso centrale è sempre stata la mancanza di un sistema in vitro che riproduca fedelmente la complessità del cervello umano. Negli anni sono stati sviluppati metodi che hanno permesso di generare cellule staminali pluripotenti indotte (iPSC) da cellule somatiche e successivamente protocolli per differenziare le iPSC umane in vari tipi di cellule, incluse le cellule neurali. Inoltre è possibile differenziare le cellule staminali pluripotenti (PSC), comprese le cellule staminali embrionali (CES) e le iPSC, in tessuti 3D detti organoidi (organoids) e in particolare sono stati sviluppati protocolli che utilizzano PSC per generare organoidi cerebrali. Tali organoidi seguono la sequenza temporale dello sviluppo del cervello umano in vivo e possono rappresentare le prime fasi dello sviluppo fino a circa la 35esima settimana di gestazione. Questo è molto importante se si tiene in considerazione che le alterazioni che avvengono nel periodo prenatale possono essere uno dei fattori di rischio di ASD.

Ci sono molte evidenze circa l'importanza degli interventi precoci nel ridurre i deficit associati ai disturbi dello spettro autistico come il linguaggio, la comunicazione sociale, il QI e in generale la gravità dei sintomi; infatti, grazie alla neuroplasticità che si ha nei primi anni di vita, prima viene fatta la diagnosi prima si può dare avvio ad una serie di interventi mirati a migliorare tali deficit. Lo sviluppo di biomarcatori precoci potrebbe consentire di individuare il prima possibile la presenza o meno della patologia e quindi avviare tali interventi. In tal senso l'intelligenza artificiale (IA) si propone come strumento analitico utile a sfruttare tali biomarcatori. Uno studio di Bahado-Singh e colleghi, del 2019, effettuato su campioni di DNA estratto dai leucociti di bambini tra le 24 e le 79 ore dopo la nascita, ha investigato la metilazione dell'intero genoma in cerca di biomarcatori per l'autismo. In alcuni campioni sono stati individuati livelli alterati di metilazione di diversi geni, alcuni dei quali già precedentemente associati all'autismo, e mediante l'utilizzo di specifici algoritmi è emerso che queste alterazioni riguardavano i bambini che negli anni successivi avevano ricevuto una diagnosi di autismo. I bambini che, grazie a questi risultati riscontrati, hanno ricevuto una diagnosi precoce e hanno partecipato ai programmi di intervento (sia cognitivo che comportamentale), hanno mostrato mag-

giori miglioramenti a lungo termine. In questo studio gli autori sono quindi stati in grado, utilizzando campioni di DNA estratto da sangue periferico (tessuto facilmente accessibile) e grazie all'impiego dell'IA, di valutare i cambiamenti epigenetici potenzialmente legati allo sviluppo dell'autismo. Data la difficile reperibilità del tessuto cerebrale, l'uso di biomarcatori facilmente accessibili per la valutazione e la previsione dei disturbi dello spettro autistico potrebbe rappresentare un progresso scientifico e clinico significativo²².

Bibliografia

- Ladd-Acosta C, Hansen KD, Briem E, Fallin MD, Kaufmann WE, Feinberg AP. Common DNA methylation alterations in multiple brain regions in autism. *Mol Psychiatry* 2014;19:862-871.
- Elsabbagh M, Divan G, Koh YJ, Young Shin Kim, Shuaib Kauchali, Carlos Marcín, Cecilia Montiel-Nava, Vikram Patel, Cristiane S. Paula, Chongying Wang, Mohammad Taghi Yasamy, Fombonne E. Global Prevalence of Autism and Other Pervasive Developmental Disorders. *Autism Res* 2012;5:160-179.
- Wiśniowiecka-Kowalik B, Nowakowska BA. Genetics and epigenetics of autism spectrum disorder—current evidence in the field. *J Appl Genet* 2019;60:37-47.
- Abrahams BS, Geschwind DH. Advances in autism genetics: On the threshold of a new neurobiology. *Nat Rev Genet* 2008;9:341-355.
- Liu X, Takumi T. Genomic and genetic aspects of autism spectrum disorder. *Biochem Biophys Res Commun* 2014;452:244-253.
- Hogart A, Wu D, LaSalle JM, Schanen NC. The Comorbidity of Autism with the Genomic Disorders of Chromosome 15q11.2-q13. *Neurobiol Dis* 2011;23:1-7.
- Nishimura Y, Martin CL, Vazquez-Lopez A, Spence SJ, Alvarez-Retuerto AI, Sigman M, Steindler C, Pellegrini S, Schanen NC, Warren ST, Geschwind DH. Genome-wide expression profiling of lymphoblastoid cell lines distinguishes different forms of autism and reveals shared pathways. *Hum Mol Genet* 2007;16:1682-1698.
- Nakai N, Otsuka S, Myung J, Takumi T. Autism spectrum disorder model mice: Focus on copy number variation and epigenetics. *Sci China Life Sci* 2015;58:976-984.
- Matelsk L, Van de Water J. Risk factors in autism: Thinking outside the brain. *J Autoimmun* 2016;67:1-7.
- Liu L, Gao J, He X, Cai Y, Wang L, Fan X. Association between assisted reproductive technology and the risk of autism spectrum disorders in the offspring: A meta-analysis. *Sci Rep* 2017;7:1-8.
- Yip BHK, Leonard H, Stock S, Stoltenberg C, Francis RW, Gissler M, Gross R, Schendel D, Sandin S. Caesarean section and risk of autism across gestational age: A multi-national cohort study of 5 million births. *Int J Epidemiol* 2017;46:429-439.
- Knuesel I, Chicha L, Britschgi M, Schobel SA, Bodmer M, Hellings JA, Toovey S, Prinssen EP. Maternal immune activation and abnormal brain development across CNS disorders. *Nat Rev Neurol* 2014;10:643-660.
- Volk HE, Lurmann F, Penfold B, Hertz-Picciotto I, McConnell R. Traffic-related air pollution, particulate matter, and autism. *Arch Gen Psychiatry* 2013;70:71-77.
- Testa C, Nuti F, Hayek J, De Felice C, Chelli M, Rovero P, Latini IG, Papini AM. Di-(2-ethylhexyl) phthalate and autism spectrum disorders. *ASN Neuro* 2012;4:223-229.
- Lakshmi Priya MD, Geetha A. Level of trace elements (copper, zinc, magnesium and selenium) and toxic elements (lead and mercury) in the hair and nail of children with autism. *Biol Trace Elem Res* 2011;142:148-158.
- Sandler RH, Finegold SM, Bolte ER, Buchanan CP, Maxwell AP, Väisänen ML, Nelson MN, Wexler HM. Short-term benefit from oral vancomycin treatment of regressive-onset autism. *J Child Neurol* 2000;15:429-435.
- Goodrich AJ, Volk HE, Tancredi DJ, McConnell R, Lurmann FW, Hansen RL, Schmidt RJ. Joint Effects of Prenatal Air Pollutant Exposure and Maternal Folic Acid Supplementation on Risk of Autism Spectrum Disorder. *Autism Res* 2018; 11: 69–80.
- Fraga MF, Ballestar E, Paz MF, Ropero S, Setien F, Ballestar ML, Cigudosa JC, Urioste M, Benitez J, Boix-chornet M, Heine-sun D, Sanchez-aguilera A, Ling C, Carlsson E, Poulsen P, Vaag A, Stephan Z, Spector TD, Wu Y, Plass C, Esteller M. Epigenetic differences arise during the lifetime of monozygotic twins. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2005; 102:10-15.
- Dunaway KW, Islam MS, Coulson RL, Lopez SJ, Vogel Ciernia A, Chu RG, Yasui DH Pessah IN, Lott P, Mordaunt C, Meguro-Horike M, Horike SI, KorF I, LaSalle JM. Cumulative Impact of Polychlorinated Biphenyl and Large Chromosomal Duplications on DNA Methylation, Chromatin, and Expression of Autism Candidate Genes. *Cell Rep* 2016; 17:3035-3048.
- Anitha A, Thanseem I. microRNA and Autism: *Adv Exp Med Biol* 2015; 888:71-83.
- Mundalil Vasu M, Anitha A, Thanseem I, Suzuki K, Yamada K, Takahashi T, Wakuda T, Iwata K, Tsujii M, Sugiyama T, Mori N. Serum microRNA profiles in children with autism. *Mol Autism*. 2014 Jul 30;5:40.
- Bahado-Singh RO, Vishweswaraiah S, Aydas B, Mishra NK, Yilmaz A, Guda C, Radhakrishna U. Artificial intelligence analysis of newborn leucocyte epigenomic markers for the prediction of autism. *Brain Res* 2019; 1724:146457.

Sperimentazione animale e psichiatria: un'analisi critica

Animal experimentation and psychiatry: a critical analysis

CAGNO STEFANO*,
VENCO ELENA**

*Vice presidente OSA
Dirigente Medico ospedaliero, disciplina
Psichiatria - ASST Vimercate (MB)

**Coordinatore scientifico OSA
Medico di Medicina Generale AST Città
Metropolitana di Milano

Per corrispondenza:
cagnos@iol.it

Riassunto

Il continuo sviluppo tecnologico ha ulteriormente stimolato il dibattito sulla necessità e sull'adeguatezza dei modelli animali nella ricerca medico-scientifica. Uno dei campi in cui si utilizzano maggiormente è quello psichiatrico, nonostante alle differenze tra le specie si aggiunga l'impossibilità di comunicare con gli animali attraverso il linguaggio.

Sono analizzate le differenze e le contraddizioni tra i modelli animali e i sintomi che si riscontrano nella pratica clinica, in particolare riguardanti la schizofrenia; infine è sottolineata l'esiguità dei fondi stanziati per le ricerche alternative.

Parole chiave: psichiatria, schizofrenia, modelli animali, analisi critica.

Abstract

The continuous technological advancements have stimulated the debate on the necessity and relevance of animal models in biomedical research. Psychiatry is one of the fields where animal models are more frequently used, despite the differences among species and the language barriers with other animals.

In this paper we analyse the differences and the contradictions between animal models and the symptoms observed in the clinical practice, specifically in schizophrenic patients. Lastly, we point out the scarcity of funds for alternative research.

Keywords: psychiatry, schizophrenic, animal models, critical analysis.

Il continuo sviluppo di tecnologie sempre più raffinate, nonché l'interesse anche per gli aspetti etici, hanno stimolato negli ultimi anni un dibattito sempre più serrato all'interno della comunità scientifica sul tema della sperimenta-

zione animale.

L'impossibilità di trasferire automaticamente i dati ottenuti negli animali da laboratorio alla nostra specie sta rendendo necessario lo sviluppo di metodiche sostitutive ai modelli animali, approfittando proprio delle enormi possibilità tecnologiche di cui ormai possiamo disporre.

Uno dei settori dove tuttora si utilizza un gran numero di animali in fase sperimentale è quello della psichiatria, nonostante sia evidente come le differenze tra gli esseri umani e gli animali in questo caso non sono solo biologiche, ma anche psicologiche e soprattutto di comunicazione. Negli anni, molti modelli animali sono stati proposti in psichiatria con l'obiettivo di identificare patogenesi e trattamenti. Nonostante innumerevoli tentativi, i modelli animali sviluppati sono di scarsa utilità, probabilmente perché nessun modello è in grado di mimare adeguatamente disordini complessi. E' presumibile che le patologie psichiatriche siano infatti riconducibili alla complessità del cervello umano¹. Inoltre, è universalmente riconosciuta alla psichiatria l'esigenza di approcci biopsicosociali, nell'ottica di una medicina predittiva, preventiva e personalizzata, capace di intercettare peculiarità di genere ed età. Questa visione implica il superamento del vecchio modello animale².

Uno dei maggiori limiti dei test su animali in psichiatria è che per comprendere la malattia è indispensabile il colloquio: è attraverso il linguaggio che il paziente ci può fornire gli elementi per formulare una diagnosi e il linguaggio, ovviamente, non si può ottenere negli animali da esperimento.

I ricercatori possono riprodurre negli animali solo grossolani modelli di un sintomo, ma non di una malattia. Ciò ha portato alcuni autori a considerare uno stesso modello sperimentale uti-

le per studiare patologie differenti. Ad esempio Martin Seligman nel 1967, osservando che alcuni cani esposti a scariche elettriche ripetute non erano in grado di evitarle, descrisse un fenomeno noto come "Learned Helplessness" (LH, impotenza appresa)³. Alcuni autori, notando che i cani "rinunciavano ad ogni tentativo di evitare lo shock elettrico e diventavano apatici ed impotenti"⁴, elessero il LH a modello di depressione. Invece altri, come Liddell e Masserman, pensavano che un animale sottoposto a ripetuti stimoli nocivi, come lo shock elettrico di Seligman, potesse diventare nevrotico e pertanto essere utile per studiare i disturbi d'ansia⁵. A distanza di oltre 50 anni, nonostante l'impiego di infinite risorse e innumerevoli declinazioni degli esperimenti di Seligman, anche su esseri umani, la comprensione delle cause e la padronanza degli approcci terapeutici della depressione sono scarsi anche per via dell'inadeguatezza del modello animale⁶.

I modelli sperimentali per i disturbi psichici umani consistono nell'indurre negli animali modificazioni comportamentali agendo sull'ambiente, somministrando sostanze chimiche oppure provocando danni del sistema nervoso centrale. Lunghi dall'appartenere al passato, modelli come quello di Seligman sono tuttora utilizzati. Ancora oggi, per ottenere modelli CMS (Chronic Mild Stress) di depressione, gli animali vengono posti in gabbie con il pavimento elettrificato oppure reso rovente, o che vengono agitate; esposti a illuminazione continua o inversione diurna/notturna; deprivati di cibo e acqua; immersi in acqua fredda⁷. Vengono ancora eseguiti test di sospensione dalla coda e di nuoto forzato, test di isolamento o di conflitto sociale (in cui gli animali si aggrediscono tra di loro perché introdotti a forza in gabbie di altri soggetti dominanti). Altri esempi sono la deprivazione sensoriale (gli animali vengono posti in luoghi bui e isolati da qualsiasi stimolo sonoro) e l'allontanamento di cuccioli dalla madre, o di esemplari adulti dal partner (ad esempio, gli studi di Harlow e Suomi)⁸.

In questo campo, sono descritti come "avanzamenti tecnologici" modelli animali di depressione ottenuti per manipolazioni tramite agenti farmacologici ed editing genetico⁹. Tuttavia, l'avanzamento tecnologico, se vi è stato, ha riguardato esclusivamente l'esecuzione dei test su animali, senza potersi tradurre in benefici per la patologia umana.

Esistono già oggi metodi tecnologici avanzati che possono sostituire brillantemente il modello animale. Un esempio sono le banche di tessuti cerebrali, provenienti da donazioni post mortem. La creazione di ampie biblioteche di materiale encefalico umano permette di studiare innumerevoli aspetti, dall'influenza degli stili di vita alle ripercussioni delle terapie, fino alla messa a punto di farmaci, e di facilitare l'accesso ai dati da parte dei gruppi di ricerca¹⁰. Esistono anche approcci che, studiando i network di segnalazione su singola cellula, forniscono screening attendibili del funzionamento dei farmaci in vivo, accelerando il percorso verso una me-

dicina personalizzata¹¹. Infinite sono poi le prospettive di utilizzo delle tecniche di imaging funzionale, come la fMRI, rivelatasi efficace nell'evidenziare connessioni tipiche di patologie psichiatriche, come autismo e disturbo ossessivo-compulsivo. Inoltre i ricercatori ripongono aspettative crescenti negli organoidi, ovvero mini-cervelli 3D ottenuti a partire da cellule staminali, che possono essere utilizzati ad esempio per studiare le cause genetiche delle malattie e guidare il processo di selezione dei farmaci.

Per meglio comprendere il rilevante divario tra i modelli animali e la realtà clinica possiamo utilizzare come esempio la schizofrenia, anche se analoghe osservazioni possono essere proposte anche per tutte le altre patologie psichiatriche.

Per porre diagnosi di schizofrenia bisogna che siano soddisfatti alcuni criteri elencati nei manuali diagnostici. Tra questi, il più utilizzato in psichiatria è il DSM-V che stabilisce, per la diagnosi di schizofrenia la presenza di almeno due dei seguenti sintomi: deliri, allucinazioni, elquio disorganizzato, comportamento grossolanamente disorganizzato o catatonico, sintomi negativi, vale a dire appiattimento dell'affettività, alogia, abulia¹². Contemporaneamente deve verificarsi uno scadimento delle funzioni sociali/lavorative. Ad eccezione dell'abulia e in parte dell'appiattimento affettivo, nessuno di questi sintomi può essere indagato attraverso gli animali. Il delirio è una falsa credenza basata su una deduzione non corretta concernente la realtà esterna, sostenuta nonostante prove e l'opinione unanime contrarie. È quindi evidente come un delirio può essere comunicato solo attraverso il linguaggio, pertanto non è mai possibile affermare che un animale delira. Ragionamento analogo vale per le allucinazioni, che sono percezioni sensoriali in assenza di stimolazione esterna dell'organo sensoriale in questione. Qualsiasi tipo di allucinazione, visiva, uditiva, olfattiva, può essere comunicata solo attraverso il linguaggio. Anche gli animali potrebbero percepire allucinazioni e anzi è molto probabile che ciò avvenga, ma non potremmo mai essere sicuri del momento in cui avviene questo sintomo psicopatologico.

Riguardo al comportamento disorganizzato, riteniamo sia valutabile solo nelle specie più evolute come cani, gatti e primati non umani. Questo sintomo, però, è comune a molte altre patologie, non solo psichiatriche, come ad esempio nelle demenze.

È curioso constatare come i modelli animali per le ricerche sulla schizofrenia utilizzino sostanze chimiche come le anfetamine o danni del sistema nervoso centrale come l'ippocampo¹³. Queste due condizioni, per i manuali diagnostici, escludono proprio la possibilità di porre diagnosi di schizofrenia. Il DSM-V infatti stabilisce come criterio diagnostico il fatto che "il disturbo non è attribuibile agli effetti fisiologici di una sostanza (per es., una sostanza di abuso, un farmaco) o ad un'altra condizione medica". La validità, quindi, dei modelli animali in psichiatria è spesso smentita dagli stessi manuali diagnostici, oltre che dalla completa non aderen-

za al principale criterio di valutazione dei modelli sperimentali, quello della "validità di costrutto", che valuta la somiglianza del meccanismo patogenetico¹⁴.

Quindi, analogamente a quanto rilevato per la depressione, l'affidabilità del modello animale di schizofrenia è fortemente minata, dal momento che i criteri su cui dovrebbe basarsi sono disattesi: non vi è né l'aspetto morfologico della patologia umana (il delirio), né analogia eziologica (essendo il modello animale di schizofrenia ottenuto per somministrazione di sostanze) né somiglianza terapeutica. In aggiunta a questi criteri, la teoria universalmente accettata dell'interazione genoma-ambiente nel determinare l'insorgenza di patologie decreta altri elementi di infondatezza¹⁵.

Infine è evidente che anche lo scadimento delle funzioni sociali e lavorative non può essere valutato negli animali. La complessità del comportamento umano e delle relazioni interpersonali non è assolutamente paragonabile a quello degli animali, tanto meno dei roditori.

L'impossibilità di ottenere dati scientificamente validi per la comprensione della schizofrenia attraverso i modelli animali è stata bene riassunta da Nancy Andreasen, considerata uno dei massimi esperti al mondo su questa patologia: "Un aspetto fondamentale del problema è rappresentato dalla mancanza di modelli animali. Molti sintomi della schizofrenia rappresentano alterazioni delle funzioni cognitive e comportamentali che si verificano solamente negli esseri umani, almeno ad un livello elevato di sviluppo. Poiché solo gli esseri umani sono dotati di linguaggio, non è possibile avere modelli animali per il disturbo del pensiero formale. Analogamente, anche per le allucinazioni uditive, che di solito comportano un contenuto verbale, non esistono modelli. L'ipervigilanza indotta dalle anfetamine costituisce un modello poco valido per lo studio delle complesse aberrazioni del pensiero deduttivo che caratterizzano il pensiero delirante dei pazienti schizofrenici. Anche i modelli animali utilizzati dalle case farmaceutiche per testare l'efficacia terapeutica degli antipsicotici (ad esempio, catalessia, stereotipia, comportamento rotatorio) non sono validi"¹⁶.

Molte delle considerazioni sulle ricerche riguardanti la schizofrenia valgono anche per i disturbi affettivi (depressione e mania) e per i disturbi d'ansia. In moltissimi casi la patologia sperimentale è indotta attraverso condizioni fortemente traumatiche come ad esempio la somministrazione di scariche elettriche.

Così il comportamento "depressivo" si manifesta in una percentuale molto maggiore negli animali rispetto a quella presente nella popolazione generale e questo è facilmente intuibile poiché la quantità di stress cui sono sottoposti gli animali è notevole. Inoltre, non sempre negli uomini è presente un evento stressante e comunque non così forte come negli animali. Anzi, se seguiamo sempre i criteri diagnostici dei manuali, ci accorgiamo che questi modelli sperimentali non sono assolutamente riferibili alla depressione. Questa

patologia, infatti, si manifesta molto spesso senza una causa scatenante evidente. Quando invece questa è presente, soprattutto se particolarmente traumatica, dobbiamo porre altre diagnosi, come quelle di disturbo dell'adattamento con umore depresso oppure disturbo post-traumatico da stress o disturbo acuto da stress.

E' ormai noto che i modelli animali dei disturbi d'ansia differiscono notevolmente tra loro nella risposta ai farmaci. Per di più le ricerche vengono di norma condotte per brevi durate, mentre nell'uomo i trattamenti possono protrarsi mesi o anni. Questo fa sì che il valore predittivo di questi test resti ampiamente sconosciuto¹⁷. Infine, questi sintomi indotti artificialmente negli animali regrediscono rapidamente se gli animali vengono reintrodotti in un ambiente normale. Questo non avviene negli esseri umani, non solo nei casi di sindrome depressiva, ma anche quando è presente una reazione depressiva a un evento traumatico.

■ Conclusioni

L'interesse per i metodi sostitutivi i modelli animali è dimostrato dal moltiplicarsi di Centri la cui finalità è d'implementare il loro sviluppo. Tra i più importanti possiamo citare il CAAT (Center for Alternatives to Animal Testing) con sede a Baltimora negli USA e a Costanza in Germania, l'HDMT (Human Organ and Disease Model Technologies) in Olanda, il FICAM (Finnish Center for Alternative Methods) in Finlandia e il FRAME Researching Alternatives to Animal Testing in Inghilterra. Se l'Italia vorrà restare al passo con gli altri Stati, dovrà però decidere di investire molto di più in questo campo. Bisogna, infatti, ricordare che ogni anno il governo italiano stanziava solo un milione di euro per lo sviluppo dei metodi alternativi, ma la metà di tale cifra serve per l'addestramento di chi compie esperimenti sugli animali e il mezzo milione restante è diviso per ogni regione in base alla popolazione; quindi in Lombardia i ricercatori possono chiedere non più di 98.101 euro ogni anno e in Molise non più di 3.164 euro. Con tali cifre, non solo non si può sviluppare nulla d'innovativo, ma nel 2019 non si può in generale fare ricerca¹⁸.

Infine bisogna ricordare che nessun modello animale è mai stato sottoposto a un processo di validazione. Sarebbe quindi auspicabile che al più presto tutti i modelli animali che sono utilizzati in maniera routinaria in campo psichiatrico, e non solo, fossero validati, come giustamente lo sono i metodi alternativi. A maggior ragione poiché, paradossalmente, i risultati che si ottengono con questi ultimi sono confrontati con quelli ottenuti mediante i modelli animali che a loro volta, come abbiamo detto, non sono mai stati validati.

I modelli animali che non superassero il processo di validazione dovrebbero essere immediatamente aboliti poiché costituirebbero una truffa ai danni dei consumatori, che in questo caso sono i pazienti: infatti non rappresenterebbero un adeguato filtro per sostanze in fase sperimentale che potrebbero dimostrarsi, come spesso accade, tossiche e/o inefficaci.

La scienza è fatta di verifiche e solo ciò che può essere verificato e riprodotto ha un valore: se i modelli animali non saranno validati, credere nella loro efficacia rappresenta un atto di fede, atteggiamento questo estraneo alla mentalità scientifica.

Bibliografia

1. Czeh B, Fuchs E, Wiborg O, Simon M. Animal models of major depression and their clinical implications. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 2016; 64:293-310.
2. Seifirad S, Haghpanah V. Inappropriate modeling of chronic and complex disorders: how to reconsider the approach in the context of predictive, preventive and personalized medicine, and translational medicine. *EPMA J*. 2019 Jul 31;10(3):195-209.
3. Seligman MEP, Maier SF. Failure to escape traumatic shock. *Journal of Experimental Psychology*. 1967;74:1-9.
4. Maier, S.F., Seligman, M.E.P., Solomon, R.L.. Pavlovian fear conditioning and learned helplessness. In: Campbell, B.A., Church, R.M. (Eds.), *Punishment*. Appleton-Century-Crofts, New York. 1969.
5. Sanavio E. a cura di, *Le nevrosi apprese* p.41, Franco Angeli Editore, 1981.
6. Matthews K, Christmas D, Swan J, Sorrell E. Animal models of depression: navigating through the clinical fog. *Neurosci Biobehav Rev*. 2005;29(4-5):503-13.
7. Willner P. The chronic mild stress (CMS) model of depression: History, evaluation and usage. *Neurobiol Stress*. 2016 Aug 24;6:78-93.
8. Suomi SJ, van der Horst FC, van der Veer R. Rigorous experiments on monkey love: an account of Harry F. Harlow's role in the history of attachment theory. *Integr Psychol Behav Sci*. 2008 Dec;42(4):354-69.
9. Wang Q, Timberlake MA, Prall K, Dwivedi Y. The recent progress in animal models of depression. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 2017 Jul 3;77:99-109.
10. Gveric D. e Reynolds R. Banche di cervelli per la scienza. *MS in focus*. 2011;17:23-24.
11. Santiago G. Lago e altri. Drug discovery for psychiatric disorders using high-content single-cell screening of signaling network responses ex vivo. *Sci. Adv*. 5, eaau9093 (2019).
12. American Psychiatric Association, *Manuale diagnostico e statistico dei disturbi mentali*, V ed., Raffaello Cortina Editore, 2015.
13. Jones CA, Watson DJG, and Fone KCF. Animal models of schizophrenia. *Br J Pharmacol*. 2011 Oct; 164(4): 1162-1194.
14. Van der Staay FJ, Arndt SS, and Nordquist RE. Evaluation of animal models of neurobehavioral disorders. *Behav Brain Funct*. 2009; 5: 11.
15. Yuanzhen Hao, Huixiang Ge, Mengyun Sun and Yun. Review. Selecting an Appropriate Animal Model of Depression. *Int. J. Mol. Sci*. 2019, 20(19), 4827.
16. Andreasen N. C. e altri, *I meccanismi neurali dei fenomeni mentali*, in "Schizofrenia. Dalla mente alle molecole", Andreasen N.C., Centro Scientifico Editore, 1998.
17. Borsini F, Podhorna J, Marazziti D. Do animal models of anxiety predict anxiolytic-like effects of antidepressants? *Psychopharmacology (Berl)*. 2002 Sep;163(2):121-41.
18. *Gazzetta Ufficiale della Repubblica Italiana*, 14 marzo 2014, pag 2-69.

Ricerca sull'artrite reumatoide nel XXI secolo: limiti dei modelli animali e nuovi approcci human-based

Research on rheumatoid arthritis in the 21st century: limits of animal models and new human-based approaches

MANUELA CASSOTTA

O.S.A. (Oltre la Sperimentazione Animale) –
Milano <https://oltrelasperimentazioneanimale.com>

Per corrispondenza:
manucassotta@gmail.com

Riassunto

L'artrite reumatoide (AR) è una malattia infiammatoria / autoimmune sistemica e cronica caratterizzata da sinovite articolare, distruzione progressiva di ossa e cartilagini, compromissione funzionale e disabilità a lungo termine. Nonostante sia stata descritta in letteratura da oltre 200 anni, l'eziologia e la fisiopatologia dell'AR non sono state sufficientemente comprese. Attualmente il trattamento dell'AR si basa principalmente su farmaci che interferiscono a vari livelli sulla risposta immunitaria, con limitata efficacia e / o importanti effetti collaterali. Gran parte della ricerca sull'AR si è tradizionalmente basata su animali e modelli in vitro semplicistici, che spesso non riescono a ricapitolare adeguatamente l'eziopatogenesi dell'artrite umana e le risposte ai farmaci. Una rivoluzione nella scienza e nella tecnologia ha prodotto una nuova generazione di strumenti più rilevanti e predittivi per l'uomo (human-based), tra cui colture cellulari tridimensionali ingegnerizzate, cellule staminali pluripotenti indotte, tecniche "omiche" e modelli computazionali, che qualora integrati con i risultati degli studi clinici ed epidemiologici su larga scala, rappresentano un'opportunità per studiare l'AR in un'ottica più rilevante per il paziente. Dopo aver considerato alcuni limiti dei modelli tradizionali, in questo articolo viene presentato un elenco di nuovi strumenti applicabili per una ricerca sull'AR orientata all'uomo, sottolineando nel contempo la necessità di un approccio più olistico alla malattia.

Lo scopo è quello di stimolare una discussione sia a livello scientifico che pubblico sull'opportunità di esplorare nuove strade nella ricerca sull'AR per comprendere meglio la fisiopatologia di questa malattia complessa e sviluppare terapie mirate e più efficaci per il

trattamento personalizzato e la prevenzione.

Parole chiave: artrite reumatoide, modelli animali, approcci human-based, prevenzione

Abstract

Rheumatoid arthritis (RA) is a chronic systemic inflammatory/autoimmune disease characterized by joint synovitis, progressive bone and cartilage destruction, functional impairment and long term disability. Despite RA has been described in the medical literature for over two hundred years, the underlying aetiology and pathophysiology are insufficiently understood. Current treatment of RA is mainly based on drugs that interfere with generic steps in immune response, with limited effectiveness and/or important side effects. Much of RA research has been conventionally based on animals and simplistic in vitro models, which often cannot recapitulate adequately human RA etiopathogenesis and drug responses. A revolution in science and technology has produced a new generation of more relevant and predictive tools. These tools, which include patient-derived cells, innovative three-dimensional cell culture systems, computational analyses and models, together with omics readouts and large-scale epidemiological studies represent novel and exciting equipment to boost and advance RA research in a human-based perspective. After considering some pitfalls and flaws of traditional models, here we present a list of the novel available tools applicable to design a human-oriented RA research, while emphasising the need for a more holistic and preventive approach to the disease. The aim is to stimulate a discussion both at scientific and public level on the opportunity to explore new avenues in RA research and to support a paradigm-shift

from animal-based towards human biology-based systems, to better understand human pathophysiology, and to develop more effective targeted therapies for personalized treatment and prevention.

Keywords: *rheumatoid arthritis, animal models, human-based approaches, prevention*

■ Introduzione

L'artrite reumatoide (AR) è una malattia autoimmune cronica caratterizzata da sinovite persistente, infiammazione sistemica, erosione ossea e cartilaginea a vari gradi. Sebbene le articolazioni diartrodiali siano il bersaglio primario dell'AR, i pazienti possono presentare caratteristiche extra-articolari, tra cui noduli sottocutanei, pericardite, fibrosi polmonare e vasculite, soprattutto nei casi più gravi. Nei paesi industrializzati, l'AR colpisce circa l'1% della popolazione ed è la forma più comune di artrite infiammatoria. Il disturbo è più frequente nelle donne e l'età di insorgenza è in genere tra i 25 ed i 50 anni, nel bel mezzo della vita lavorativa, con un impatto sociale ed economico significativi, sebbene possa colpire a qualsiasi età. Il decorso è variabile e va da una forma lieve che colpisce alcune articolazioni con un danno minimo, ad una poliartrite progressiva che porta a marcata compromissione funzionale e a deformità. L'AR è una sindrome complessa, influenzata sia da fattori genetici che ambientali, e cui circa il 50% del rischio di sviluppo della malattia è attribuibile a fattori ambientali tra cui fumo di sigaretta, inquinamento atmosferico, stile di vita¹.

Le attuali opzioni di trattamento dell'AR comprendono farmaci antinfiammatori non steroidei, glucocorticoidi e farmaci antireumatici modificanti la malattia (DMARDs) come il metotressato e, per i pazienti che non rispondono in modo soddisfacente a questi farmaci, l'uso aggiuntivo di DMARDs biologici. In particolare, gli inibitori del fattore di necrosi tumorale α (anti-TNF- α) offrono maggiori possibilità di gestione della malattia. Tuttavia, nonostante l'indubbio successo degli anti-TNF α nel controllare l'infiammazione legata all'AR, circa il 40% dei pazienti trattati con questi farmaci rimane refrattario al trattamento e fino al 50% dei pazienti con risposta primaria perde la risposta entro 12 mesi dall'inizio della terapia^{2,3}. Inoltre, questi farmaci richiedono un trattamento per tutta la vita, associato spesso alla comparsa di gravi effetti avversi sistemici, come un aumento del rischio di infezioni o tossicità, con notevole impatto sulla qualità di vita dei pazienti. L'AR rimane quindi una condizione cronica per la quale non esiste attualmente una cura efficace⁴.

La mancanza di conoscenza verso i complessi meccanismi patogenetici dell' AR ostacola gravemente lo sviluppo di farmaci mirati e l'adozione di strategie preventive efficaci. Ciò è almeno in parte dovuto ad una eccessiva dipendenza dai modelli animali o da modelli

in vitro semplicistici, che spesso non mimano adeguatamente le condizioni fisiopatologiche umane e le risposte ai trattamenti, nonché ad una scarsa considerazione ed utilizzo di metodologie incentrate sulla biologia umana (dette altrimenti "human-based").

Oggi, grazie ai recenti sviluppi nel campo dell'ingegneria tissutale, microfluidica, cellule staminali, intelligenza artificiale, bioinformatica, scienze "omiche", tecniche di imaging avanzate, ecc. stiamo assistendo ad una vera e propria rivoluzione tecnologica che sta portando allo sviluppo di modelli sperimentali human-based ed approcci completamente nuovi.

Dopo aver visto i principali limiti dei modelli tradizionali, sia in vitro che in vivo, in questo articolo verranno portati alcuni esempi di tecnologie ed approcci innovativi che vengono già utilizzati con successo e che potrebbero essere applicati in modo integrato per fare luce sui meccanismi della malattia e per implementare nuove strategie terapeutiche o preventive.

■ Limiti degli approcci tradizionali in vitro e dei modelli animali

Finora, l'AR è stata prevalentemente studiata utilizzando una varietà di test in vitro e modelli animali. I saggi in vitro si basano su sistemi cellulari relativamente semplici. Le colture cellulari e tissutali sono strumenti preziosi per la ricerca sull'AR, in particolare quelle di origine umana. Tuttavia, l'uso di cellule e tessuti in condizioni statiche e non fisiologiche (ad es. Piastre di Petri), potrebbe influenzare negativamente la rilevanza dei risultati. L'assenza di un cross-talk biochimico con gli altri tipi cellulari e la matrice extracellulare, la mancanza di stimoli fisici e strutturali derivanti dal microambiente tridimensionale (3D) e l'assenza di stimoli meccanici derivati dal movimento e dal flusso, provocano infatti delle alterazioni delle funzioni e della fisiologia cellulare⁵.

Nel corso degli anni sono stati sviluppati molti modelli animali di AR, sia indotti (ad es. da sostanze chimiche o da collagene) che spontanei, inclusi quelli transgenici e più recentemente quelli "umanizzati". La specie più comunemente utilizzata per studiare l'AR è il topo. Sebbene tali modelli presentino alcune caratteristiche salienti della patologia umana come ad esempio la sinovite, la formazione del panno, l'erosione ossea, nessuno di questi modelli rispecchia realmente l'artrite umana né è in grado di predire in modo soddisfacente gli effetti di farmaci e terapie⁶. Inoltre tra uomo e roditori vi sono significative differenze a livello immunitario^{7,8}, nei meccanismi di regolazione della risposta infiammatoria⁹, nonché nell'assorbimento, distribuzione, metabolismo, escrezione e tossicologia dei farmaci¹⁰. Ciò contribuisce a rendere difficile il trasferimento dei risultati dagli animali al contesto clinico reale¹¹.

■ L'AR come sindrome complessa e multifattoriale

L'eziopatogenesi dell'AR è multidimensionale ed estremamente complessa. In accordo con le più recenti evidenze l'AR non dovrebbe essere considerata come un'entità clinica discreta con un'unica fonte eziopatologica, ma piuttosto come un endpoint comune per una serie di diverse condizioni di partenza^{12,13}. Numerosi sono i fattori legati allo stile di vita che determinano il rischio di ammalarsi di AR o il grado di attività di malattia, tra i quali il fumo, l'inquinamento atmosferico, la dieta, le infezioni, lo stress, l'attività fisica, il microbiota, lo stato ormonale e i fattori di rischio associati alla patologia cardiovascolare e alla sindrome metabolica^{14,15}. Risulta intuibile quanto possa essere complesso studiare tutti questi fattori così intrinsecamente collegati allo stile di vita umano ed all'ambiente in modelli animali, come i topi.

■ Nuovi approcci human-based per la ricerca sull'AR

Negli ultimi 20 anni, nel campo della tossicologia si è verificata una transizione dall'uso di animali, a metodologie focalizzate sulla biologia umana, basate su sistemi in vitro ed in silico, che integrati assieme si ritiene possano avere una maggiore rilevanza per la specie umana, sia per le valutazioni tossicologiche che per lo studio delle malattie^{16,17}. Segue un elenco dei principali e più moderni modelli sperimentali ed approcci human-based con i relativi esempi di come tali metodologie vengono già sfruttate o potrebbero essere utilizzate nello studio dell'AR.

a. Cellule staminali umane pluripotenti indotte (hiPSCs) e colture cellulari 3D ingegnerizzate

Le cellule staminali umane ormai rappresentano un sistema modello ampiamente riconosciuto ed estremamente utile per chiarire i meccanismi molecolari e patogenetici di diverse classi di malattie umane complesse. Oggi è possibile derivare cellule staminali pluripotenti, le iPSCs (induced Pluripotent Stem Cells), direttamente da cellule della pelle, o dalla membrana sinoviale dei pazienti affetti da AR¹⁸. Le iPSCs ritengono le caratteristiche genetiche ed epigenetiche del paziente da cui derivano e possono essere differenziate nei tipi cellulari di interesse, come ad esempio i cardiomiociti, le cellule endoteliali o gli epatociti. Modelli basati su cellule staminali pluripotenti derivate da pazienti, sono già stati utilizzati con successo per riprodurre gli effetti epatotossici a lungo termine del metotressato¹⁹, il farmaco di prima linea per l'AR, aprendo la strada all'identificazione degli affetti tossici paziente-specifici dei farmaci antireumatici e ad alla possibilità di un approccio terapeutico personalizzato. Grazie ai progressi nel campo dell'ingegneria tissutale e della microfluidica, oggi è possibile integrare le cellule derivate dai pazienti all'interno di sistemi tridimensionali che permettono

di mimare molti aspetti fisiologici come ad esempio la tridimensionalità, l'interazione con altre cellule e gli stimoli meccanici similmente a quanto accade in vivo. Gli organs-on-a-chip ad esempio, rendono possibile lo studio delle malattie e degli effetti dei farmaci sia a livello d'organo che multiorgano. Nel caso specifico dell'AR, l'articolazione umana su chip²⁰ è un modello emergente che può essere utilizzato per riprodurre in modo più fedele la patologia, permettendo un'analisi più realistica dei processi fisiologici e patologici a livello articolare, mentre altri organs-on-a-chip o sistemi di organi interconnessi attraverso un sistema fluidico che mima la circolazione sanguigna possono essere utilizzati per studiare gli aspetti sistemici dell'AR a livello multi-organo, nonché l'effetto di nuovi farmaci, o del microbiota intestinale in condizioni fisiologicamente rilevanti²¹.

b. Approcci "omici", metodi computazionali e biologia dei sistemi

I tessuti derivanti da biopsie di pazienti, campioni di sangue o di liquido sinoviale, possono essere impiegati negli studi "omici" (come genomica, epigenomica, trascrittomica, proteomica), che si basano su tecniche di sequenziamento di terza generazione, tecniche citometriche avanzate, tecnologie a singola cellula. I metodi computazionali ed informatici permettono di combinare le letture ottenute da diversi studi "omici" e i dati clinici ed epidemiologici su larga scala (approccio "multi-omico"). Dati riguardanti la genetica e l'epigenetica possono essere combinati con quelli ambientali come ad esempio l'esposizione al fumo di sigaretta, l'inquinamento, la dieta, generando una lettura senza precedenti dell'interazione del sistema biologico con l'ambiente e di comprendere meglio i meccanismi che sottostanno al passaggio da uno stato di salute a uno di malattia. Tale approccio olistico, che nel complesso definisce la biologia dei sistemi, ha il fine di rispondere a domande biologiche complesse (per esempio, patogenesi, storia naturale o successo terapeutico e prognosi di una malattia)^{6,22}.

■ Discussione

L'utilizzo integrato di nuovi approcci metodologici human-based potrebbe portare ad un avanzamento della ricerca sull'AR, permettendo di indagare sui meccanismi eziopatogenetici ed identificare nuovi marcatori precoci di malattia.

Ciò permetterebbe sia l'identificazione di nuovi target farmacologici mirati, sia la possibilità di diagnosi precoce, che la stratificazione dei pazienti che rispondono in modo diverso o presentano caratteristiche differenti, al fine di effettuare interventi preventivi e terapeutici mirati (medicina di precisione). L'utilizzo delle cellule staminali riprogrammate derivanti dai pazienti, in combinazione con le nuove tecniche di editing genomico, rappresenta una grande opportunità sia per la medicina di precisione che per studiare in vitro l'influenza

dei fattori genetici /epigenetici ed ambientali sullo sviluppo della malattia²³. Grazie alle cellule staminali pluripotenti indotte, è infatti possibile ottenere in modo non invasivo anche cellule cardiache, muscolari, polmonari, ecc. altrimenti difficilmente ottenibili dai pazienti e studiare in vitro anche gli aspetti extra-articolari dell'AR, come ad esempio le manifestazioni cardiovascolari o l'infiammazione a livello dell'endotelio dei vasi sanguigni^{24,25}. Tecniche di imaging sempre più avanzate permettono inoltre di studiare in modo non invasivo gli effetti di trattamenti farmacologici e non-farmacologici sulla funzionalità articolare.

Lo scopo di questo articolo è stimolare la discussione all'interno della Comunità Scientifica ed arrivare, attraverso l'integrazione di diversi approcci e la collaborazione multidisciplinare ad incentivare una ricerca più rilevante e più vicina ai problemi dei pazienti, destinando sempre più risorse verso gli approcci human-based piuttosto che verso il miglioramento di costosissimi modelli animali, che per quanto possano essere perfezionati presenteranno sempre un limite intrinseco legato alla differenza di specie²⁶.

Bibliografia

- Tobón, G.J.; Youinou, P.; Saraux, A. The environment, geo-epidemiology, and autoimmune disease: Rheumatoid arthritis. *Journal of Autoimmunity* 2010, 35, 10-14, doi:https://doi.org/10.1016/j.jaut.2009.12.009.
- Buch, M.H.; Bingham, S.J.; Bryer, D.; Emery, P. Long-term infliximab treatment in rheumatoid arthritis: subsequent outcome of initial responders. *Rheumatology (Oxford, England)* 2007, 46, 1153-1156, doi:10.1093/rheumatology/kem075.
- Wijbrandts, C.A.; Tak, P.P. Prediction of Response to Targeted Treatment in Rheumatoid Arthritis. *Mayo Clinic Proceedings* 2017, 92, 1129-1143, doi:https://doi.org/10.1016/j.mayocp.2017.05.009.
- Taylor, P.C.; Moore, A.; Vasilescu, R.; Alvir, J.; Tarallo, M. A structured literature review of the burden of illness and unmet needs in patients with rheumatoid arthritis: a current perspective. *Rheumatology international* 2016, 36, 685-695, doi:10.1007/s00296-015-3415-x.
- Pamies, D.; Hartung, T. 21st Century Cell Culture for 21st Century Toxicology. *Chem Res Toxicol* 2017, 30, 43-52, doi:10.1021/acs.chemrestox.6b00269.
- Cassotta, M.; Pistollato, F.; Battino, M. Rheumatoid arthritis research in the 21st century: Limitations of traditional models, new technologies, and opportunities for a human biology-based approach. *Altex* 2020, 37, 223-242, doi:10.14573/altex.1910011.
- Davis, M.M. A prescription for human immunology. *Immunity* 2008, 29, 835-838, doi:10.1016/j.immuni.2008.12.003.
- Mestas, J.; Hughes, C.C. Of mice and not men: differences between mouse and human immunology. *Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)* 2004, 172, 2731-2738, doi:10.4049/jimmunol.172.5.2731.
- Seok, J.; Warren, H.S.; Cuenca, A.G.; Mindrinos, M.N.; Baker, H.V.; Xu, W.; Richards, D.R.; McDonald-Smith, G.P.; Gao, H.; Hennessy, L., et al. Genomic responses in mouse models poorly mimic human inflammatory diseases. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 2013, 110, 3507-3512, doi:10.1073/pnas.1222878110.
- Van Norman, G.A. Limitations of Animal Studies for Predicting Toxicity in Clinical Trials: Is it Time to Rethink Our Current Approach? *JACC Basic Transl Sci* 2019, 4, 845-854, doi:10.1016/j.jacbts.2019.10.008.
- Seyhan, A.A. Lost in translation: the valley of death across pre-clinical and clinical divide – identification of problems and overcoming obstacles. *Translational Medicine Communications* 2019, 4, 18, doi:10.1186/s41231-019-0050-7.
- Firestein, G.S. The disease formerly known as rheumatoid arthritis. *Arthritis Res Ther* 2014, 16, 114, doi:10.1186/ar4593.
- Stanich, J.A.; Carter, J.D.; Whittum-Hudson, J.; Hudson, A.P. Rheumatoid arthritis: Disease or syndrome? *Open access rheumatology : research and reviews* 2009, 1, 179-192.
- Hallajzadeh, J.; Safiri, S.; Mansournia, M.A.; Khoramdad, M.; Izadi, N.; Almasi-Hashiani, A.; Pakzad, R.; Ayubi, E.; Sullman, M.J.M.; Karamzad, N. Metabolic syndrome and its components among rheumatoid arthritis patients: A comprehensive updated systematic review and meta-analysis. *PLoS One* 2017, 12, e0170361, doi:10.1371/journal.pone.0170361.
- Donzelli, A.; Schivalocchi, A. Lifestyle and Rheumatoid Arthritis: Prevention and Non-Pharmacological Treatment. *J Vasc* 2016, 2, doi:10.4172/2471-9544.100117.
- Archibald, K.; Tsaion, K.; Kenna, J.G.; Pound, P. Better science for safer medicines: the human imperative. *Journal of the Royal Society of Medicine* 2018, 10.1177/0141076818812783, 141076818812783, doi:10.1177/0141076818812783.
- Langley, G.; Austin, C.P.; Balapure, A.K.; Birnbaum, L.S.; Bucher, J.R.; Fentem, J.; Fitzpatrick, S.C.; Fowle, J.R., 3rd; Kavlock, R.J.; Kitano, H., et al. Lessons from Toxicology: Developing a 21st-Century Paradigm for Medical Research. *Environ Health Perspect* 2015, 123, A268-272, doi:10.1289/ehp.1510345.
- Lee, J.; Kim, Y.; Yi, H.; Diecke, S.; Kim, J.; Jung, H.; Rim, Y.A.; Jung, S.M.; Kim, M.; Kim, Y.G., et al. Generation of disease-specific induced pluripotent stem cells from patients with rheumatoid arthritis and osteoarthritis. *Arthritis Res Ther* 2014, 16, R41, doi:10.1186/ar4470.
- Kim, J.; Kim, Y.; Choi, J.; Jung, H.; Lee, K.; Kang, J.; Park, N.; Rim, Y.A.; Nam, Y.; Ju, J.H. Recapitulation of methotrexate hepatotoxicity with induced pluripotent stem cell-derived hepatocytes from patients with rheumatoid arthritis. *Stem Cell Res Ther* 2018, 9, 357, doi:10.1186/s13287-018-1100-1.
- Rothbauer, M.; Schobesberger, S.; Byrne, R.; Kiener, H.P.; Tögel, S.; Ertl, P. A human joint-on-a-chip as alternative to animal models in osteoarthritis. *Osteoarthritis and Cartilage* 2020, 28, S89, doi:10.1016/j.joca.2020.02.135.
- Edington, C.D.; Chen, W.L.K.; Geishecker, E.; Kassib, T.; Soenksen, L.R.; Bhushan, B.M.; Freake, D.; Kirschner, J.; Maass, C.; Tsamandouras, N., et al. Interconnected Microphysiological Systems for Quantitative Biology and Pharmacology Studies. *Sci Rep* 2018, 8, 4530, doi:10.1038/s41598-018-22749-0.
- Karczewski, K.J.; Snyder, M.P. Integrative omics for health and disease. *Nat Rev Genet* 2018, 19, 299-310, doi:10.1038/nrg.2018.4.
- Bassett, A.R. Editing the genome of hiPSC with CRISPR/Cas9: disease models. *Mammalian genome : official journal of the International Mammalian Genome Society* 2017, 28, 348-364, doi:10.1007/s00335-017-9684-9.
- Lee, J.; Jung, S.M.; Ebert, A.D.; Wu, H.; Diecke, S.; Kim, Y.; Yi, H.; Park, S.H.; Ju, J.H. Generation of Functional Cardiomyocytes from the Synoviocytes of Patients with Rheumatoid Arthritis via Induced Pluripotent Stem Cells. *Sci Rep* 2016, 6, 32669, doi:10.1038/srep32669.
- Williams, I.M.; Wu, J.C. Generation of Endothelial Cells From Human Pluripotent Stem Cells. 2019, 39, 1317-1329, doi:doi:10.1161/ATVBAHA.119.312265.
- Pound, P.; Ritskes-Hoitinga, M. Is it possible to overcome issues of external validity in preclinical animal research? Why most animal models are bound to fail. *Journal of translational medicine* 2018, 16, 304, doi:10.1186/s12967-018-1678-1.

Inquinamento acustico ed atmosferico correlati al traffico portuale marittimo

Noise and air pollution related to the sea port traffic

GIANFRANCO PORCILE*,
GIOVANNI GHIRGA**,
GIANFRANCO ORBELLO°,
ANTONELLA LITTA[§],
Gruppo di Lavoro ISDE Italia
su "Inquinamento da attività
portuale"

*Referente regionale Liguria ISDE Italia Medici per
l'Ambiente

** ISDE Civitavecchia

° ISDE Taranto

§ Antonella Litta, ISDE Viterbo

Per corrispondenza:
Gianfranco.porcile@fastwebnet.it

Riassunto

Qualunque modalità di trasporto è causa di inquinamento atmosferico e contribuisce ai cambiamenti climatici. L'attenzione dei ricercatori è stata in passato indirizzata verso i danni da traffico autoveicolare su gomma, ma oggi sappiamo che anche il traffico aereo e quello marittimo sono importanti sorgenti di inquinamento. L'attività portuale è dimostrata essere responsabile di inquinamento dell'aria e da rumore. Dopo una breve disanima della situazione in alcune città italiane e non, vengono sinteticamente ricordati gli accorgimenti tecnici che possono mitigare questa forma di inquinamento che danno all'ambiente e alla salute. Le istituzioni devono urgentemente intervenire per salvaguardare ambiente e salute, pur tutelando il turismo ed il lavoro. ISDE Italia Medici per l'Ambiente è attivamente impegnata anche su questo fronte.

Parole chiave: inquinamento acustico, inquinamento atmosferico, attività portuale, salute e ambiente

Abstract

Any modality of transport can cause air pollution and contributes to climate change. In the recent past, researchers have focused their attention on damage caused by road traffic, but today we know that air and sea traffic is also an important source of pollution. Harbour activity has been demonstrated to be responsible for air and noise pollution. After a brief summary of the actual situation in some Italian and non-Italian cities, this article briefly report some technical choices that can mitigate this form of important damage to the environment and human health. Public institutions must urgently act to safeguard the environment and health, avoiding any damage for tourism

and social work. International Society of Doctors for Environment (ISDE Italia) is actively engaged in this area.

Keywords: *acoustic pollution, atmospheric pollution, sea port activity, environment and health*

■ Introduzione

Come è noto, una delle più gravi emergenze del momento attuale è l'inquinamento ambientale e in quest'ambito i porti, fluviali ma specialmente marittimi, svolgono un ruolo centrale spesso sottovalutato. Impressionanti sono ad esempio i dati relativi alle grandi navi da crociera, che nel 2017 hanno prodotto più di 10 volte tanto la quantità di SOx (anidride solforosa) prodotta da tutto il traffico autoveicolare in Europa. (Transport&Environment)^{1,2}. Il problema dell'inquinamento da traffico navale è letteralmente esploso negli ultimi tempi principalmente per due ordini di motivi:

a) i porti sono diventati il fulcro del commercio mondiale: la navigazione è infatti la modalità di trasporto più utilizzata per lo spostamento delle merci, in quanto circa l'80% delle merci mondiali si muove via mare;

b) il traffico passeggeri, diminuito drasticamente in seguito al boom del traffico aereo, è nuovamente aumentato in maniera esponenziale grazie al successo del turismo di tipo crocieristico.

In considerazione del fatto che gli inquinanti prodotti dai motori delle navi sono gli stessi prodotti dalle altre fonti di inquinamento atmosferico (traffico auto veicolare, riscaldamento domestico, insediamenti industriali, ecc.) gli studi epidemiologici esistenti sono riferibili a stime effettuate sugli abitanti delle zone vicine ai porti. Prendendo in considerazione per brevità la sola si-

tuazione italiana, ricordiamo tre studi.

Andando a studiare le differenze di mortalità per tutte le cause nei diversi quartieri di Genova, con un dato che si ripete sostanzialmente nel corso degli anni, la sopravvivenza dei cittadini genovesi risulta inferiore, spesso in maniera significativa, nei quartieri ubicati di fronte al porto passeggeri (S. Teodoro, Lagaccio, Principe) e nel Ponente, che si trova in prossimità del porto commerciale di Prà-Voltri³.

Lo studio epidemiologico "Effetti delle esposizioni ambientali ed occupazionali sulla mortalità della popolazione residente nell'area di Civitavecchia", pubblicato nel maggio 2016, afferma che tra gli abitanti residenti nel raggio di 500 m dal porto si riscontra un aumento del 31% di mortalità per tumori polmonari e malattie neurologiche rispetto al resto della città⁴.

Le stime effettuate da Ennio Cadum, epidemiologo ambientale, sulla base dello studio EPIAIR2 (eseguito sul 25 città capoluogo di provincia italiane) tenendo conto soltanto delle 10 città portuali: correlazione statisticamente significativa tra aumento degli Ossidi di Azoto e ricoveri ospedalieri a per malattie respiratorie acute come bronchiti, riniti, polmoniti in bambini fino a 14 anni di età⁵.

In sintesi, la navigazione marittima in generale è una delle maggiori fonti di inquinamento. Inquinamenti molto importanti sono quello chimico (rifiuti, plastiche, sversamenti di combustibile, ecc.) e quello acustico. Ma la nostra attenzione sarà rivolta soltanto ai problemi ambientali correlati alla navigazione portuale. Alcuni studi affermano che, nelle città sede di porto, la fonte principale di emissioni in atmosfera di alcuni inquinanti, come gli ossidi di zolfo e gli ossidi di azoto, è costituita dal settore della navigazione, che in alcune zone supera quelle prodotte dalle sorgenti terrestri. Ad esempio a Genova è già così: L'ARPAL (Agenzia Regionale Ambiente Liguria), nel 2015 ha affermato che le emissioni di NOx (Ossidi di Azoto) in atmosfera dovute alle attività marittime, in particolare allo stazionamento delle navi, furono il 62% delle emissioni totali, seguite da quelle emesse dal trasporto auto-veicolare su strada (26%).

Molteplici sono le fonti di inquinamento in un'area portuale: in particolare lo spostamento dei mezzi marini e di quelli terrestri adibiti al trasporto delle merci che sbarcano e imbarcano, la produzione di rifiuti scaricati in mare e il deposito al suolo di sostanze nocive. Tuttavia la principale causa di emissioni inquinanti è quella collegata all'esigenza di alimentare servizi di bordo, di carico, di scarico. Infatti le navi ormeggiate, a differenza dei veicoli auto terrestri, mantengono i motori accesi per garantire che tali servizi restino attivi.

Le navi da crociera assumono particolare importanza in questo contesto data la mole di energia necessaria per il mantenimento di servizi a bordo quali quelli alberghieri, quelli legati al riscaldamento delle piscine, quelli connessi a diverse strutture ricreative. Dal punto di vista del consumo energetico equivalgono a piccole

città galleggianti: è stato calcolato che il consumo di energia sia corrispondente a quello di una cittadina di 10-11.000 abitanti (ad esempio la cittadina di Ovada, in provincia di Alessandria).

Diversi sono i tipi di inquinamento prodotti dalle navi: quello delle acque (dragaggio dei fondali, immissione di sostanze tossiche e/o rifiuti), quello acustico (una nave può produrre suoni fino a 120 decibel) dovuto a tutti i rumori delle attività e dei mezzi che operano nel contesto portuale: navi, motori, sistemi di spostamento dei container, ecc.

Ma l'inquinamento più dannoso per la salute umana è senza dubbio quello atmosferico. Le emissioni dei gas di scarico sono composte principalmente da sostanze non nocive come Azoto, Ossigeno, Anidride Carbonica e, in piccole percentuali, da sostanze tossiche come ossidi di azoto, ossidi di zolfo, particolato-PM, monossido di carbonio⁶.

I biossidi di azoto e di zolfo sono gas tossici che, se inalati, provocano bronchiti, tracheiti e altre malattie respiratorie talvolta gravi: inoltre gli ossidi di azoto sono sospetti cancerogeni.

L'inquinante più dannoso per la salute umana è il particolato-PM, riconosciuto cancerogeno dalla Agenzia Internazionale per la Ricerca sul Cancro (IARC) di Lione nel 2013.

Le prime preoccupazioni relative a questa problematica risalgono agli anni '60. Negli anni '60 e '70 si verificarono infatti diversi disastri ambientali, che costrinsero a prendere atto del problema con la Convenzione Marpol 73-38 (Maritime Pollution), convenzione entrata in vigore nel 1983, a cui aderiscono 161 paesi e che da quel momento è punto di riferimento per la normativa internazionale in ambito di trasporto marittimo ambientale. Nel 2005 è entrato in vigore il sesto allegato riguardante le norme per la prevenzione dell'inquinamento atmosferico da scarichi provenienti dai motori marini. I limiti imposti da tale normativa per gli ossidi di zolfo nel carburante sono: 3,5% dal 2012 e 0,5% dal 2020 e 1,0% dal 2010 e 0,01% dal 2015 nelle aree SECA (particolari aree nelle quali sono vigenti limiti speciali per le emissioni di zolfo nell'atmosfera, più stringenti rispetto a quelli internazionali. Rientrano in tali aree le regioni geografiche del Mare del Nord, del Mar Baltico, e l'area Caraibica degli Stati Uniti).

La continua evoluzione legislativa limiterà sempre di più le emissioni comportando un aumento dell'utilizzo dei combustibili alternativi e meno inquinanti. Uno di questi è il Gas Naturale Liquefatto (GNL).

Un'altra innovazione che sta cominciando a diffondersi, è l'elettrificazione delle banchine portuali. Grazie a tale sistema verrebbe utilizzata energia elettrica per l'alimentazione delle navi in sosta nei porti, permettendo quindi di arrestare le apparecchiature interne. Non pochi sono i benefici apportati da tale tecnologia: a) riduzione dell'inquinamento acustico; b) riduzione dell'inquinamento dell'aria (circa il 90% in meno di ossidi di azoto, il 99% di Ossido di carbonio e il 50% di anidride

carbonica).

In Italia alcune città come Venezia o Civitavecchia hanno avviato importanti progetti per ridurre le emissioni dei loro porti: accordi che prevedono che le navi utilizzino combustibile allo 0,1% di tenore di zolfo in massa non solo all'ormeggio, come è previsto dalla normativa, ma fin dall'entrata nel porto. Venezia inoltre si batte per impedire il passaggio delle Grandi Navi da crociera che hanno un fortissimo impatto negativo sul delicato ambiente marino della laguna⁵.

Analizziamo adesso la situazione di alcune città, italiane e non, tramite brevi flash.

Genova

Il porto di Genova è uno dei maggiori scali marittimi d'Europa: nel contempo è uno dei maggiori fattori di inquinamento ambientale per la città.

Come si è già detto, l'Agenzia Regionale per la Protezione Ambientale Liguria, nel 2015 ha affermato che le emissioni di Ossidi di azoto-NOx in atmosfera dovute alle attività marittime, in particolare allo stazionamento delle navi, erano il 62% delle emissioni totali, seguite da quelle emesse dal trasporto su strada (26%).

Nel 2011 si è stimato che il traffico autoveicolare ha prodotto a Genova 633 tonnellate di NOx, mentre le attività portuali ne hanno prodotte 7940 tonnellate.

Già nel 2016 organi di stampa avevano parlato di circa 100 i morti per anno provocati dall'inquinamento, altrettanti ricoveri per patologie gravi e più di 47 mila genovesi esposti a concentrazioni di inquinanti superiori a quelle consentite.

Un Comitato di cittadini, il Comitato Tutela Ambientale Genova Centro Ovest, supportato dall'Ecoistituto di Reggio Emilia e Genova, si batte per questa problematica e nel 2018 ha contribuito a installare alcuni campionatori passivi per il monitoraggio degli NO2 in casa di cittadini volontari, allo scopo di misurare le rilevazioni di fumi del porto.

Per quanto riguarda l'elettrificazione delle banchine, sono iniziati i lavori nel 2015 per l'area delle riparazioni navali, adesso dotata di un collegamento di energia da terra per la sosta delle navi. Alla fine dell'anno 2018 sono stati stanziati altri 12 milioni di euro per l'elettrificazione del terminal di Voltri-Prà (traffico commerciale) e altri 3 milioni saranno forse stanziati per la Stazione Marittima. Tuttavia, l'area che più avrebbe bisogno di tale tecnologia, ovvero quella destinata al traffico passeggeri che va dal Terminal Traghetto di San Benigno a Ponte dei Mille, ad oggi ne rimane sprovvista.

Venezia

Il 27 aprile 2007 è stato stipulato, tra le autorità portuali e le compagnie di navigazione, l'accordo volontario "Venice Blue Flag", finalizzato alla riduzione dell'inquinamento atmosferico nella città di Venezia e poi ratificato anche per le stagioni crocieristiche 2008,2009,2013,2015,2016,2017 e 2018.

Dal 2018 è previsto che anche i rimorchiatori utilizzino su base volontaria carburante con tenore di zolfo infe-

riore allo 0,1%.

Venezia, infine, ha anche il problema del transito di grandi navi da crociera all'interno della laguna. Il comitato No Grandi Navi - coadiuvato dall'Ecoistituto del Veneto "Alex Langer" ed altre associazioni - da tempo chiede che le navi da crociera si fermino all'entrata della laguna invece di transitare nel Bacino di San Marco, cuore storico di Venezia. La laguna è un ambiente artificiale fragile e il passaggio delle grandi navi produce diversi danni: forte moto ondoso, inquinamento atmosferico, elettromagnetico (causato dai radar) ed acustico.

Civitavecchia

Nel 2008 l'Associazione locale di ISDE-Medici per l'Ambiente presentò un esposto alla Procura della Repubblica e alla Regione Lazio in relazione alla pericolosità dei fumi portuali sulla salute, ma la denuncia non condusse, negli anni che seguirono, ad una riduzione dell'inquinamento dell'aria causato dalle emissioni delle navi. Lo studio epidemiologico "Effetti delle esposizioni ambientali ed occupazionali sulla mortalità della popolazione residente nell'area di Civitavecchia", pubblicato nel maggio 2016 e condotto dal Dipartimento del Servizio Regionale del Lazio in collaborazione con ASL Roma 4 e ARPA Lazio, afferma che tra gli abitanti residenti nel raggio di 500 m dal porto si riscontra un aumento del 31% di mortalità per tumori polmonari e malattie neurologiche rispetto al resto della città⁴.

Nel 2018 dallo studio ISAC-CNR sul monitoraggio ambientale del porto, risulta che il porto sia la fonte di provenienza del 50% dei principali inquinanti come anidride solforosa, biossido di azoto e particolato.

Anche a Civitavecchia è stato firmato un accordo volontario simile al Venice Blue Flag, chiamato Civitavecchia Blue Agreement. L'accordo prevede che le compagnie firmatarie utilizzino combustibile con tenore di zolfo non superiore allo 0,1% in massa non solo all'ormeggio ma fin da un'ora prima dell'inizio della manovra di accesso al porto di Civitavecchia.

L'accordo, proposto ai soli operatori italiani, è stato accettato ad oggi dalla Compagnia Grandi Navi Veloci senza condizioni.

Livorno

Qui opera un Comitato di cittadini molto attivo: il Coordinamento Livorno Porto Pulito.

A Livorno esiste il Sistema di Alimentazione Elettrica delle navi attraccate alla banchina Sgarallino (elettrificazione delle banchine). Tale predisposizione non sembra utilizzata per il fatto che la maggior parte delle navi non possiede l'apparato tecnico necessario all'allacciamento alla rete elettrica.

Taranto

Dal mese di febbraio del 2018 Ecotaras spa svolge una campagna di monitoraggio della qualità dell'aria in ambito marino per il controllo delle emissioni da parte delle navi cisterna stazionanti o in transito nella rada di Mar Grande. Le misurazioni sono registrate da op-

portuali strumenti dotati di tecnologia avanzata e sono di pertinenza di ENI spa e ARPA-Puglia. La fase ancora iniziale non offre ancora dati sufficientemente significativi dal punto di vista quantitativo per esprimere valutazioni scientificamente corrette. D'altra parte ARPA Puglia sta conducendo ricerche allo scopo di ottenere una analisi qualitativa delle polveri rilevate (PM_{2,5}) con l'intendimento di discernere quelle provenienti dalla attività portuale da quelle della attività industriale dell'impianto siderurgico ex-ILVA, attualmente in affitto ad Arcelor-Mittal.

ARPA Puglia ha evidenziato che l'introduzione dell'AIA ha ottenuto il risultato di ridurre quasi della metà il numero di soggetti esposti ad un rischio di cancro inaccettabile: ciononostante a Tamburi si stima un rischio non accettabile anche per lo scenario 2015⁸.

Savona

Un comitato di cittadini, denominato Comitato Porto Elettrico di Savona, si batte per ottenere direttamente l'elettrificazione delle banchine e non intende accettare che imbarcazioni alimentate a LNG (Gas Naturale Liquefatto) ormeggino in porto in quanto i serbatoi a bordo (normalmente due, uno per il viaggio di andata ed uno per il viaggio di ritorno) posseggono la stessa pericolosità dei bunker di stoccaggio sulla terraferma in porto.

Napoli

Un accordo, firmato molto recentemente all'interno dell'area portuale, consente alle imbarcazioni Caremar in arrivo a Napoli di usare l'energia elettrica spegnendo i generatori di bordo. L'auspicio è che l'esempio virtuoso di Caremar sia seguito a breve da altri operatori. Tra l'altro grazie al contributo di Enel, saranno anche installate infrastrutture di ricarica elettrica che consentiranno ai veicoli in transito da e verso il porto di annullare le emissioni e creare un sistema integrato di mobilità cittadina senza impatto ambientale».

Barcellona

Per il porto di Barcellona si potrebbe parlare di una svolta verde: l'Autorità Marittima ha presentato un progetto di miglioramento della qualità dell'aria, con lo scopo di ridurre le emissioni contaminanti dell'attività portuale. Promuovendo l'uso del gas liquido naturale come combustibile per le navi e camion che trasportano merci, si prevede di ridurre dell'80% le emissioni di gas nocivi. Secondo i dati della società di pianificazione pubblica Barcelona regional, l'attività portuale è la responsabile del 7,6% della concentrazione media annua di ossido di zolfo nella capitale catalana e del 1,5% delle emissioni annue di particelle sospese della città.

Marsiglia

Anche Marsiglia è soffocata dai fumi delle navi, in particolare le navi da Crociera. A luglio 2018 è iniziata la causa legale contro il capitano della nave da crociera Azura che ha superato i limiti delle emissioni nel porto. Il capitano rischia un anno di galera e una multa di 200.000 euro.

■ Le soluzioni tecniche

IL GNL

Si tratta di Gas Naturale Liquefatto: forma liquida del gas naturale, ottenuto abbassando la sua temperatura a -160°C. I benefici ambientali derivanti dal suo uso sono una quasi totale eliminazione di emissioni solforose e di ossidi di azoto rispetto all'olio combustibile pesante tradizionale, una consistente riduzione (90%) di particolato (in particolare per l'eliminazione del particolato secondario formato da elementi gassosi come NO_x) e una riduzione del 25% di anidride carbonica CO₂.

Consentendo, con tali riduzioni, di soddisfare i requisiti richiesti dalla Marpol, il GNL si appresta probabilmente a diventare il combustibile del futuro per quanto riguarda il trasporto marittimo.

Elettrificazione delle Banchine

Il primo porto a livello europeo che ha elettrificato le banchine è stato quello di Goteborg, in Svezia, dove nel 2000 sono state installate sei banchine elettrificate a bassa e media tensione. L'iniziativa della Svezia è stata seguita da altri paesi europei come Germania, Belgio, Norvegia, Paesi Bassi: si trovano infatti banchine elettrificate in importanti porti come Amburgo, Rotterdam, Oslo, Stoccolma.

Dal 2001 il porto di Juneau, in Alaska, si è dotato di una banchina elettrificata per le navi da crociera ed è stato uno dei primi nel mondo.

Attualmente è, come si è detto, in uso in paesi del Nord Europa come Svezia, Germania, Belgio, Norvegia, Paesi Bassi e in Nord America, principalmente sulla costa Ovest in città come Los Angeles, Seattle, San Diego, Vancouver, dove ha portato non pochi benefici. Uno degli svantaggi che il sistema di elettrificazione può presentare è il costo d'installazione cospicuo e il fatto che durante la navigazione non vi siano riduzioni degli inquinanti.

La Delocalizzazione

In tutto il mondo i vecchi porti interni si spostano verso il mare aperto.

Londra e New York, ad esempio, hanno spostato il porto verso la foce dei loro rispettivi fiumi. Marsiglia da tempo si è spostata verso ovest lasciando il vecchio porto (il "Vieux Port" di tanti romanzi, specie quelli di Jean Claude Izzo) per andare verso il mare della costa. Montecarlo ha oggi un avamposto galleggiante che dalla Spagna, dove è stato costruito, è stato trainato e poi ancorato davanti al suo porto vecchio. Amsterdam e Rotterdam si sono spostate con il loro porto verso il largo del mare. Genova si è spostata all'inizio verso il mare, specie con l'aeroporto, e poi verso ovest fino a Pegli-Multedo, dove esiste il Porto Petroli, e fino a Prà-Voltri dove insiste il Porto Commerciale (il problema è che tutte queste zone, pur lontane dal centro storico della città, sono intensamente abitate).

La Rottamazione

Le imbarcazioni adibite al traffico passeggeri spesso sono obsolete. Ad esempio nel porto di Genova operano imbarcazioni vecchie: la Moby Otta e la Moby Drea sono state costruite nel 1975, la Moby Corse nel 1977 e la Moby Zaza nel 1982 e hanno quindi rispettivamente 43, 41 e 36 anni. Navi per le quali, tra l'altro, e paradossalmente, non si applica il limite di NOx previsto dal Regolamento 14 della Convenzione Marpol 73-38 (Maritime Pollution), già citata all'inizio, perché costruite prima dell'anno 2000. Aggiungiamo che lo standard di vita in sicurezza per questo tipo di traghetti è di norma considerato di 25 anni come massimo.

Gli Scrubber

Infine esistono gli scrubber, un'innovazione simile ad un filtro installabile sulle imbarcazioni che permette di depurare le correnti gassose abbattendone la concentrazione di sostanze inquinanti e polveri. Molte navi, non volendo convertirsi al GNL o investire in installazioni a bordo per l'allacciamento elettrico alle banchine, se ne stanno dotando.

Il ruolo dell'Associazione medici per l'ambiente-ISDE

ISDE ha istituito nel 2017 un Gruppo di Lavoro su questo specifico problema. Ad oggi non tutte le città sede di porto hanno un referente ISDE che si interessi di tale problematica.

La gravità del problema ambientale ed anche la constatazione che le maggiori associazioni ambientaliste ad oggi non si impegnano e non si interessano in modo adeguato di questo problema suggeriscono per ISDE un costante e sempre più forte impegno anche su questo fronte: le città portuali in Italia sono numerose, tutte stanno affrontando tale problematica in ordine sparso, ma soltanto un approccio integrato e coordinato degli interventi potrà consentire una utile battaglia in favore dell'ambiente e della salute.

■ Conclusione

Appare necessaria un'azione coordinata delle città portuali italiane, una sorta di visione integrata per promuovere progetti e avere una sinergia più elevata possibile. Esiste infatti nelle Capitanerie di Porto il timore, reale ma non esplicitato, che misure restrittive potrebbero indurre gli armatori a scegliere scali vicini meno attenti all'ambiente e più attenti ai traffici commerciali. Serve inoltre l'istituzione di un'area ECA (Area Controllo Emissioni) nel Mar Mediterraneo che potrebbe produrre notevoli vantaggi sulla qualità dell'aria e sulla salute pubblica, come è successo nelle regioni Baltiche dove si stima che il miglioramento della qualità dell'aria sia stato del 60% con i relativi vantaggi socio-economici del valore di miliardi di euro. La proposta di un'area ECA nel Mediterraneo, caldeggiata dalla Associazione Cittadini per l'Aria, è già stata accettata da Francia, Italia e Spagna e comporterà non soltanto una diminuzione diretta delle emissioni di Ossidi di azoto e zolfo, ma anche indirettamente un abbattimento della produzione

di Polveri.

E' necessaria una legge per aumentare e migliorare le procedure di monitoraggio. Ad oggi la normativa prevede che solo il 10% delle navi siano controllate e che sul 20% di queste sia eseguito il controllo del tenore di zolfo nel combustibile. In altre parole per legge è sufficiente che solo il 2% delle imbarcazioni all'anno sia sottoposto alla verifica del combustibile utilizzato. Anche alla luce dei cambiamenti climatici, è assolutamente urgente che si inizi seriamente, non soltanto in Italia, a coniugare di pari passo lavoro e turismo da una parte con tutela dell'ambiente e salvaguardia della salute dall'altra.

Qualunque conquista sulla strada della tutela dell'ambiente portuale sarà possibile soltanto se la partecipazione dei cittadini e dei Comitati sarà continuativa ed ben preparata sul piano tecnico e scientifico, anche grazie al supporto di Associazioni ambientaliste competenti.

Una constatazione positiva e consolante è che alcune Associazioni e Comitati sono impegnati attivamente su questo fronte variegato: Cittadini per l'Aria, Ecoistituto del Veneto e Ecoistituto di Reggio Emilia e Genova, Comitato NO Grandi Navi, ISDE Medici per l'Ambiente e Comitati diversi sorti ed attivi nelle varie città portuali. La sfida è sempre la stessa: dimostrare che tutela dell'ambiente e della salute non sono necessariamente antitetici alle esigenze dell'economia e del lavoro. Su questo fronte ISDE è sempre stato in prima linea e continuerà ad esserlo.

Incoraggiante è comunque il fatto che il Ministero dell'Ambiente e della Tutela del mare abbia, alla fine del 2018, emanato le Linee Guida per i Documenti Energetico Ambientali dei Sistemi Portuali⁹.

Bibliografia

1. <https://www.transportenvironment.org/press/luxury-cruise-giant->
2. <https://www.snpambiente.it/2020/02/14/trasporto-marittimo-le-nuove-regole-per-ridurre-i-livelli-di-zolfo-nel-carburante/>
3. Le potenzialità del Referto Epidemiologico Comunale (REC) nella comprensione delle disuguaglianze di mortalità e salute. Gennaro V., Murchio G., Torrigiani C.. Il Cesalpino 44, pag. 27-31, 2017
4. <http://www.deplazio.net/it/home/225-effetti-delle-esposizioni-ambientali-ed-occupazionali-sulla-mortalita-della-popolazione-residente-nellarea-di-civitavecchia>
5. Inquinamento atmosferico ed acustico da attività portuale: l'esperienza di una città italiana. G.Porcile, A.Litta, Il Cesalpino marzo 2018, anno 17, N.45, pag. 41-44, 2018
6. Sostenibilità ambientale del traffico portuale: città a confronto" L. Porcile, Università di Genova, Facoltà di Scienze Politiche, Tesi di Laurea, 2018
7. <https://www.genova24.it/2016/05/a-genova-100-morti-al-lanno-per-smog-navi-in-porto-prima-fonte-di-inquinamento-107962/>
8. Ida Galise¹, Maria Serinelli¹, Angela Morabito¹ et al. L'impatto ambientale e sanitario delle emissioni dell'impianto siderurgico di Taranto e della centrale termoelettrica di Brindisi, Epidemiol Prev 2019, 43 (5-6), 329-337 http://www.epiprev.it/articolo_scientifico/l'impatto-ambientale-e-sa
9. Linee Guida per i Documenti Energetico Ambientali dei Sistemi Portuali Gazzetta Ufficiale n. 301 del 29 dicembre 2018: decreto n. 408 del 17 dicembre 2018 del direttore generale per il clima e l'energia del Ministero dell'ambiente

Pandemie e sostenibilità ambientale

Pandemics and environmental sustainability

Riassunto

Mentre gli impatti delle attività agricole sull'uso del suolo sono, per alcuni aspetti, relativamente ben caratterizzati (ad esempio, la contabilità delle emissioni di carbonio e la perdita di biodiversità), meno consolidati sono i potenziali impatti sulla salute umana. In questo ambito le ricerche riguardano gli effetti dell'esposizione a pesticidi, prodotti chimici e metalli pesanti.

L'emergenza Coronavirus (Covid-19) richiama l'attenzione alle interazioni tra cambiamento ambientale e insorgenza di malattie infettive.

Gli ecosistemi possono svolgere un ruolo importante nella regolazione delle malattie mantenendo le dinamiche naturali delle malattie nelle comunità faunistiche e riducendo la probabilità di contatto e trasmissione di agenti patogeni tra esseri umani, bestiame e fauna selvatica.

Per affrontare le pandemie come per le malattie non trasmissibili è necessaria una visione che risale alle cause prime dei fenomeni e una visione sistemica, integrata, dei processi in atto. Per raggiungere gli obiettivi di sostenibilità ambientale ricercatori e decisori dovrebbero prendere in considerazione le interconnessioni dell'emergenza della malattia e il loro impatto sociale più ampio. Sono necessarie politiche ambientali che promuovano la pianificazione sostenibile dell'uso del suolo.

Parole chiave: Pandemie, CoVid-19, ambiente, sostenibilità, agricoltura.

Abstract

Pandemics and environmental sustainability

While the impacts of agricultural activities on land use are, in some respects, relatively well characterized (for example, the accounting for carbon emissions and the loss of biodiversity), the poten-

tial impacts on human health are less well-established. In this context, research concerns the effects of exposure to pesticides, chemicals and heavy metals.

The Coronavirus emergency (Covid-19) draws attention to the interactions between environmental change and the onset of infectious diseases.

Ecosystems can play an important role in disease regulation by maintaining the natural dynamics of diseases in wildlife communities and reducing the likelihood of contact and transmission of pathogens between and among humans, livestock and wildlife.

What is necessary to face pandemics as well as non-communicable diseases, are a vision that goes back to the root causes of phenomena and a systemic, integrated vision of the ongoing processes. To achieve environmental sustainability goals, researchers and decision makers should consider the interconnections of the disease emergency and their wider social impact. Environmental policies are needed to promote a sustainable planning of land use.

Keywords: *Pandemics, CoVid-19, environment, sustainability, agriculture.*

Nell'estate del 2018 a Brescia, l'epidemia quasi certamente dovuta a Legionella aveva portato all'attenzione aspetti che andavano oltre la contingenza dell'evento che investiva una vasta area del bresciano e dell'alto mantovano. L'ipotesi è che il contagio si sia sviluppato in modo massiccio nelle acque stagnanti e riscaldate del fiume Chiese che alimenta anche una rete di canali che defluiscono tutti i paesi più colpiti dal contagio. La portata d'acqua del fiume, molto sfruttato a fini irrigui e idroelettrici e interessato da scarichi autorizzati e non, si riduce drasticamente soprattutto in estate. I ristagni creatisi sarebbero stati l'ambiente idea-

CELESTINO PANIZZA

Medico del lavoro
Presidente ISDE sez. di Brescia

Per corrispondenza:
cele.panizza@gmail.com

le al proliferare di alghe e amebe, in grado di creare una condizione adatta per la legionella.

Le abbondanti precipitazioni di alcuni giorni avrebbero quindi diffuso i batteri sui campi, andando a contaminare pozzi e falde. Questa ipotesi è quella più verosimile anche in ragione del sierotipo di legionella riscontrata nei campioni di acqua del fiume e quelli riscontrati nei casi di malattia insorti nel corso dell'epidemia. Peraltro, questo caso secondo l'ISS, sulla scorta della letteratura disponibile, sarebbe la prima epidemia di legionella da sierotipi 2-14 al mondo¹.

Anche questo evento circoscritto nel tempo e nello spazio, ma di notevole impatto, rappresenta un segnale di come l'influenza delle attività umane e dei processi produttivi abbiano i loro effetti non solo sulle malattie non trasmissibili ma anche sugli equilibri ecologici, sulla "salute" del territorio che producono poi una grande parte delle malattie infettive dell'uomo. Limitare l'attenzione alle cause ultime, pur necessaria, non deve distogliere l'attenzione dalle dinamiche ecologiche e climatiche che renderanno questi eventi più frequenti.

■ Cambiamenti ambientali e salute umana

Vi è un'attenzione crescente sulle interazioni tra i cambiamenti ambientali globali e la salute umana, che riguardano le malattie non trasmissibili, mortalità e morbidità da eventi meteorologici estremi e correlati all'inquinamento e sulla diffusione di malattie trasmesse da vettori^{2,3}.

Mentre gli impatti delle attività agricole sull'uso del suolo sono relativamente ben caratterizzati in alcuni settori (ad esempio, la contabilità delle emissioni di carbonio e la perdita di biodiversità), meno consolidati sono i potenziali impatti sulla salute umana, dove la maggior parte della ricerca riguarda gli impatti sulla salute dell'esposizione a pesticidi, prodotti chimici e metalli pesanti. Le prove che collegano i cambiamenti nell'uso del suolo e il rischio di malattie infettive nell'uomo, molti dei quali sono legati all'agricoltura, non sono state sistematicamente valutate o quantificate.

Vi sono ampie prove del fatto che "l'esposizione" professionale o residenziale a diversi tipi di agricoltura può esacerbare i rischi di malattie infettive nell'uomo. Un'ulteriore espansione o intensificazione dell'uso del suolo a fini agricoli può provocare la comparsa di nuovi agenti patogeni o una maggiore trasmissione di zoonotici, parassiti o vettori di malattie trasmissibili⁴.

L'emergenza Coronavirus (Covid-19) porta ancora la nostra attenzione sulle interazioni tra cambiamento ambientale e insorgenza di malattie infettive⁵. Sono infatti sempre più consolidate le prove che legano causalmente questi due fenomeni^{6,7,8}.

La pandemia di influenza del 1918 fu l'evento più mortale della storia umana (40 o più milioni di morti, equivalenti in proporzione a 200 milioni nella popolazione mondiale di oggi). Per più di un secolo, è stato un punto di riferimento rispetto al quale sono state misurate tutte le altre pandemie e le emergenze di malattie.

Le emergenze virali mortali associate a comportamenti umani sono tuttavia numerosissime^{9,10}. L'HIV è emerso dai primati e si è diffuso in Africa attraverso vie percorse dai camion e con pratiche sessuali. L'origine dell'Ebola rimane incerta, ma nel 2014-2016 il virus si è diffuso nell'Africa occidentale. Le emergenze di arenavirus che causano la febbre emorragica in Argentina e Bolivia sono associate alle pratiche agricole e la febbre emorragica boliviana è stata diffusa in Bolivia dalla costruzione di strade che ha favorito la migrazione dei roditori. Nel sud-est asiatico, il virus Nipah è emerso dai pipistrelli a causa dell'intensificazione dell'allevamento di suini in un punto caldo della biodiversità ricco di pipistrelli. Il monkeypox umano (vaiolo delle scimmie), un'infezione endemica di roditori africani, attraversò l'Atlantico con animali selvatici esportati, che furono poi spediti dal Texas e infettarono persone in tutto il Midwest degli Stati Uniti. Negli anni '80, le zanzare tigre (*Aedes albopictus*) venivano diffuse a livello globale dall'uomo con i trasporti commerciali; nel 2014 e 2015, vi sono state pandemie di virus Chikungunya e Zika.

Le grandi epidemie associate all'affollamento dell'uomo, al movimento e all'inadeguatezza sanitaria si verificavano in tempi passati senza che ne avvenisse una diffusione a livello globale - ad esempio: le epidemie della peste del VI, XIV e secolo successivo; le epidemie influenzali a partire dal IX secolo; le epidemie di colera tra la fine del XVIII e l'inizio del XIX secolo. Le pandemie divennero frequenti - per esempio, l'influenza nel 1889, 1918 e 1957 - quando furono diffuse a livello internazionale per ferrovia e nave. Poi, nel 1968, l'influenza divenne la prima pandemia diffusa dai viaggi aerei, e presto fu seguita dall'emergere della congiuntivite emorragica enterovirale acuta diffusa tra gli aeroporti internazionali.

Circa il 70% delle malattie infettive emergenti (EID), e quasi tutte le pandemie recenti, hanno origine negli animali (la maggior parte nella fauna selvatica) e la loro emergenza deriva da complesse interazioni tra animali selvatici e / o domestici e umani¹¹. L'insorgenza della malattia è correlata alla densità della popolazione umana e alla diversità della fauna selvatica, ed è guidata da cambiamenti antropogenici come la deforestazione e l'espansione dei terreni agricoli (cioè, il cambiamento nell'uso del suolo), l'intensificazione della produzione di animali da allevamento e un aumento della caccia e del commercio della fauna selvatica⁷. Ad esempio, la comparsa del virus Nipah in Malesia nel 1998 è stata causalmente collegata all'intensificazione della produzione di suini ai margini delle foreste tropicali dove vivono i bacini di pipistrelli della frutta; le origini del virus SARS ed Ebola sono state ricondotte a pipistrelli cacciati (SARS) o consumo di carne di scimpanzè (Ebola). La mitigazione dei fattori alla base dell'emergenza della malattia richiederà pertanto la considerazione di molteplici dimensioni dello sviluppo socioeconomico, che includono gli Obiettivi di Sviluppo Sostenibile¹² destinati a una vasta gamma di questioni sociali.

Integrità degli ecosistemi e pandemie

Nel mondo di^{7,8} miliardi di persone, comportamenti umani impattanti sull'ambiente, cambiamenti ambientali e inadeguati sistemi di salute pubblica globale sono i driver che rendono i virus degli animali una minaccia per l'uomo^{7,10,13}. Un ecosistema globale, dominato dall'uomo, è la condizione ideale perché avvenga il salto di ospite di virus animali, in particolare virus RNA i cui alti tassi di mutazione hanno consentito, per milioni di anni, di passare a nuovi ospiti in nuovi ecosistemi.

Il genoma della specie umana ha impiegato 8 milioni di anni per evolversi dell'1%. Molti virus RNA animali possono evolversi di oltre l'1% nel giro di pochi giorni. Non è difficile capire perché assistiamo sempre più alla comparsa di virus zoonotici.

Gli ecosistemi possono svolgere un ruolo importante nella regolazione delle malattie mantenendo le dinamiche naturali delle malattie nelle comunità faunistiche e riducendo la probabilità di contatto e trasmissione di agenti patogeni tra esseri umani, bestiame e fauna selvatica¹⁴.

■ Interconnessione delle politiche per la sostenibilità ambientale

Per raggiungere gli obiettivi di sviluppo sostenibile decisori e ricercatori dovrebbero tenere in conto i driver interconnessi dell'emergenza della malattia ed il loro impatto sulla società.

Le politiche che mirano a ridurre il tasso di aumento del consumo di proteine animali nei paesi sviluppati¹⁵ ridurranno l'impronta globale della produzione zootecnica intensiva e ridurranno il rischio che il bestiame funga da amplificatore per i patogeni emergenti¹¹.

Vi è anche da considerare che i numerosi habitat umani, animali e ambientali interconnessi possono contribuire all'emergere, all'evoluzione e alla diffusione della resistenza agli antibiotici. La resistenza antimicrobica emerge come risultato di confluenza tra batteri che colonizzano diversi ospiti negli ambienti condivisi in cui i geni della resistenza antibiotica possono essere trasferiti dai loro ospiti originali ai batterici patogeni umani.

Il recente crollo della diversità genetica animale e vegetale dovuto alla distruzione dell'habitat e alla selezione di varietà di interesse economico implica l'omogeneizzazione degli ospiti che favorisce la diffusione di geni della resistenza tra le comunità microbiche. Fattori economici e culturali, come quelli che influenzano l'accesso all'acqua o alle abitudini alimentari, possono anche favorire specifici percorsi di trasmissione tra gli ecosistemi¹⁶.

Alcuni esempi chiariscono questo aspetto. È stato documentato come le modalità di sussistenza (pastori vs agricoltori) che hanno implicazioni sull'accesso alle fonti d'acqua e al consumo di latte non bollito, diano luogo a una maggiore esposizione ai batteri resistenti presenti nel latte; la maggior parte degli antibiotici utilizzati a fini terapeutici vengono rilasciati in acqua e possono agire da inquinanti cronici, costituendo un problema importante non solo per il riutilizzo dell'acqua

ma anche a causa dello spandimento dei fanghi derivanti dagli impianti di depurazione sui terreni agricoli; al giorno d'oggi il 60% delle nostre calorie derivano da soli tre prodotti della terra: grano, riso e mais e quasi tutto ciò che mangiamo è prodotto da varietà che per essere commercializzate dovrebbero essere uniformi e stabili. Vi è un'evidente contraddizione tra l'uniformità indotta dalla filiera industriale agro-alimentare e le indicazioni di diversificare la dieta per la salute e la necessità di adattare i prodotti della terra e quindi l'uso del suolo agricolo al cambiamento climatico.

Il miglioramento della sostenibilità dell'agricoltura è una questione fondamentale per il raggiungimento di obiettivi di sviluppo e ambientali accanto a misure come la riduzione degli sprechi alimentari lungo la catena di approvvigionamento, diete più sostenibili, consumo responsabile di prodotti animali.

Ma considerata una serie di altre esternalità negative, ad esempio, emissioni di carbonio, inquinamento atmosferico, perdita di biodiversità, i sistemi agricoli dovrebbero modificare le modalità d'uso del suolo per ridurre gli impatti delle malattie infettive oltre che per contenere le altre esternalità negative.

A questi fattori che incidono sui sistemi ecologici vanno aggiunti fattori più squisitamente politici. Le guerre possono deteriorare gravemente le infrastrutture e la stabilità della società, come dimostrato dai deficit di capacità del sistema sanitario, derivanti da decenni di guerra civile, che hanno ostacolato il controllo dell'epidemia di Ebola nell'Africa occidentale: gli operatori sanitari e le infrastrutture critiche (ad esempio, la produzione di energia elettrica) sono stati coinvolti nel conflitto che ha ridotto l'efficacia delle misure di contenimento a livello di popolazione¹⁷.

I conflitti locali sono stati fattori della diffusione della malattia, anche per gli agenti infettivi in via di eradicazione come per il poliovirus in Pakistan e in nel 2013 e 2014, ad esempio, dove vi è stata una riduzione dei livelli di vaccinazione a causa degli anni di conflitto in entrambi i paesi¹⁸.

■ Conclusione

Per affrontare le pandemie, come per le malattie non trasmissibili, si rende necessaria una visione che risale alle cause prime dei fenomeni e che richiede una visione sistemica integrata dei processi in atto. Per raggiungere gli obiettivi di sostenibilità ambientale, dovremmo adottare un approccio "One Health" a tutti i livelli del processo decisionale - dal globale al più locale - riconoscendo le complesse interconnessioni tra la salute di persone, animali, piante e il nostro ambiente. Ricercatori e decisori dovrebbero prendere in considerazione le interconnessioni dell'emergenza della malattia e il loro impatto sociale più ampio. Sono necessarie politiche ambientali che promuovano la pianificazione sostenibile dell'uso del suolo, la riduzione della deforestazione e la protezione della biodiversità. Tali politiche devono promuovere la strategia di "risparmio di terre", e mirare

a conciliare le attività agricole e la conservazione della biodiversità, riducendo anche l'interazione dell'uomo e degli allevamenti di animali con la fauna selvatica. Analogamente, la protezione dei paesaggi forestali intatti può favorire la conservazione della biodiversità e lo stoccaggio globale del carbonio, prevenendo al contempo il rischio di trasmissione di malattie all'uomo¹⁹.

Infine evitare azioni disgregatrici della società, come quelle generate dai conflitti armati, rafforza gli sforzi per mitigare il rischio di pandemie: ridurre l'instabilità locale e internazionale è essenziale per prevenire la diffusione della malattia, anche per gli agenti infettivi sull'orlo dell'eradicazione.

Bibliografia

1. AST Brescia - EVENTO EPIDEMICO POLMONITI RELAZIONE EPI-DEMIOLOGICA Aggiornamento 6 marzo 2019
2. Watts et al., The Lancet Countdown on health and climate change: From 25 years of inaction to a global transformation for public health. *Lancet* 391, 581–630 (2018).CrossRefGoogle Scholar
3. M. De Marco et al., Opinion: Sustainable development must account for pandemic risk. *PNAS* 2020 Feb 25;117(8):3888-3892. doi: 10.1073/pnas.2001655117. PubMed
4. Shah HA et al., Agricultural land-uses consistently exacerbate infectious disease risks in Southeast Asia. *Nat Commun.* 2019 Sep 20;10(1):4299. doi: 10.1038/s41467-019-12333-z. PubMed Google Scholar
5. Morens D.M. et al., Escaping Pandora's Box – Another Novel Coronavirus *N Engl J Med.* 2020 Feb 26. doi: 10.1056/NEJMp2002106. CrossRef
6. F. Keesing et al., Impacts of biodiversity on the emergence and transmission of infectious diseases. *Nature* 468, 647–652 (2010). PubMed Google Scholar
7. T. Allen et al., Global hotspots and correlates of emerging zoonotic diseases. *Nat. Commun.* 8, 1124 (2017).PubMed Google Scholar
8. K. E. Jones et al., Global trends in emerging infectious diseases. *Nature* 451, 990–993 (2008).CrossRefPubMedGoogle Scholar
9. WHO Prioritizing diseases for research and development in emergency contexts CrossRef accesso 6 marzo 2020
10. Morens DM, Folkers GK, Fauci AS. The challenge of emerging and re-emerging infectious diseases. *Nature* 2004;430:242-249. Medline. opens in new tab Google Scholar
11. S. S. Morse et al., Prediction and prevention of the next pandemic zoonosis. *Lancet* 380, 1956–1965 (2012).CrossRef PubMed Google Scholar
12. UNEP-Sustainable Development Goals <https://sustainabledevelopment.un.org/?menu=1300>
13. Parrish CR, Holmes EC, Morens DM, et al. Cross-species virus transmission and the emergence of new epidemic diseases. *Microbiol Mol Biol Rev* 2008;72:457-470.Medline. opens in new tab
14. F. Keesing et al., Impacts of biodiversity on the emergence and transmission of infectious diseases. *Nature* 468, 647–652 (2010). CrossRef PubMed Google Scholar
15. D. Tilman, M. Clark, Global diets link environmental sustainability and human health. *Nature* 515, 518–522 (2014). CrossRefPubMedGoogle Scholar
16. Hernando-Amado et al., Defining and combating antibiotic resistance from One Health and Global Health perspectives. *Nature Microbiolog y*, VOL 1432 4, SEPTEMBER 2019, 1432–1442. Abstract/FREE Full TextGoogle Scholar
17. C. R. Wells et al., The exacerbation of Ebola outbreaks by conflict in the Democratic Republic of the Congo. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 116, 24366–24372 (2019).Abstract/FREE Full TextGoogle Scholar
18. C. Mbaeyi et al., Response to a large polio outbreak in a setting of conflict: Middle East, 2013–2015. *MMWR Morb. Mortal. Wkly. Rep.* 66, 227–231 (2017).Google Scholar
19. J. E. M. Watson et al., The exceptional value of intact forest ecosystems. *Nat. Ecol. Evol.* 2, 599–610 (2018).Google Scholar

Biotecnologie innovative e Covid 19

New approach methodologies (nams) e Covid -19 (nams and Covid 19)

Riassunto

in questo articolo viene presentato il contributo all'avanzamento delle conoscenze scientifiche in tema di contrasto alla pandemia in corso da SARS-COV-2 conseguito dalle innovative ed incruente metodologie di ricerca basate su colture tissutali umane e tessuti umani ingegnerizzati (organ-on-chip ed organoidi). Tali metodiche sono state fondamentali per delucidare il meccanismo patogenetico messo in atto dal nuovo Coronavirus per aggredire le cellule bersaglio, per proporre il razionale di un prototipo di vaccino, attualmente in fase di sperimentazione avanzata e per testare farmaci candidati a trattare l'infezione pandemica in atto.

Parole chiave: biotecnologie innovative

Abstract

aim of this paper is to describe the contribution of the new approach methodologies human-based (NAMs) to study the detailed pathogenesis of SARS-COV-2 infection and their use to select specific drugs for COVID 19. Moreover to describe the contribution of NAMs to develop a new vaccine against the novel Coronavirus.

Keywords: (new approach methodologies), SARS-COV-2

■ Introduzione

Scopo di questo breve articolo è quello di analizzare quanto le innovative biotecnologie conosciute come "New approach methodologies, NAMs" abbiano contribuito a far avanzare le conoscenze scientifiche nel contrastare l'attuale pandemia provocata dal virus SARS-COV-2. Nell'ultimo decennio si è assistito ad un impiego sempre più

esteso nella Ricerca biomedica di nuove biotecnologie fondate sull'uso di cellule e tessuti umani ingegnerizzati (organ-on-chip ed organoidi) in grado di investigare con efficienza e precisione le caratteristiche biologiche proprie della specie umana. Tale significativo interesse da parte della Comunità Scientifica Internazionale per i NAMs è basato sull'evidenza che i modelli di Ricerca storico/convenzionali basati su modelli animali sono molto limitati nel simulare i meccanismi fisiopatologici propri delle malattie umane e sull'evidenza che i candidati farmaci che si sono dimostrati promettenti negli studi animali preclinici falliscono nell'86-90% nei trials clinici umani^{1,2,3,4}.

■ Materiali e metodi

Sono state ricercate su PubMed ed esaminate le pubblicazioni scientifiche dell'anno in corso riguardanti l'applicazione esclusiva dei NAMs in riferimento sia allo studio dei meccanismi patogenetici con cui il virus SARS-COV-2 parassitizza l'epitelio respiratorio umano sia mirate allo studio di farmaci utili al trattamento della patologia COVID-19. Sono state individuate, al momento attuale, le due seguenti pubblicazioni:

- a) Inhibition of SARS -COV-2 infections in Engineered human tissues using clinical-grade soluble human ACE 2 CellPress DOI: 10.1016/j.cell.2020.04.004
- b) Human organs-on-chips as tools for repurposing approved drugs as potential influenza and COVID 19 therapeutics in viral pandemics. DOI: <https://doi.org/10.1101/2020.04.13.039917> bioRxiv preprint

Successivamente si è valutato se i risultati e le conclusioni delle pubbli-

GABRIELLA ERRICO*,
ANNA BARBIERI**

*Medico Chirurgo Ospedaliero, Specialista in Pediatria, Terapia Intensiva neonatale P.O. "Vito Fazzi" ASL Lecce.

** Dott.ssa Anna Viola Barbieri, Medico Chirurgo, Specialista in Anestesia e Rianimazione.

Per corrispondenza:
gabriella.errico@libero.it
annaviolabarbieri@icloud.com

cazioni esaminate correlavano con quelli di altri studi contemporanei, ricercati altresì su PubMed, e fondati su riscontri clinici di evidence based medicine o condotti con metodiche laboratoristiche diverse dai NAMs.

■ Risultati

La pubblicazione A è stata redatta da un gruppo di lavoro internazionale coordinato dal Prof. J.M. Penninger (Department of Medical Genetics, Life Science Institute, University of British Columbia, Vancouver, Canada). Tale gruppo di lavoro aveva già dimostrato che "Angiotensin converting enzyme 2 (ACE2)" è il recettore critico per le infezioni da SARS-COV ed ha confermato che ACE2 è il recettore chiave per le infezioni da SARS-COV-2 utilizzando una variante solubile di ACE2 ricombinante umano (hrsACE2) che è in grado di ridurre di un fattore da 1000 a 5000 la replicazione di SARS-COV-2 nella linea cellulare Vero. Tale effetto antagonista sull'entrata del virus nelle cellule non era presentato dall'equivalente murino della variante solubile di ACE2. Infine in questa pubblicazione si evidenzia che SARS-COV-2 riesce ad infettare organoidi umani che simulano i vasi sanguigni ed organoidi renali umani, tale infezione viene inibita in fase precoce da hrsACE2. Si segnala che i vasi sanguigni ed il rene sono effettivamente bersagli del virus in corso di infezione naturale. (Fig. 1)

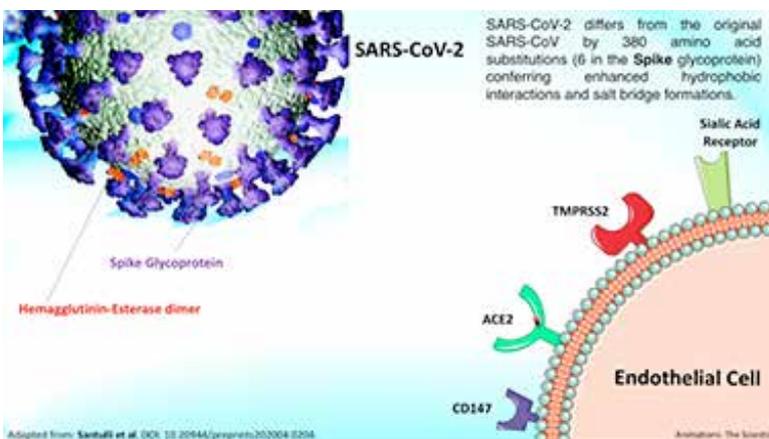


Figura 1: Recettori cellulari umani per infezione da sars-cov-2
Fonte: Webinar 16/04/2020 COVID 19 Le manifestazioni extrapolmonari. Chiesi Farmaceutici

La pubblicazione B è stata redatta da un gruppo di lavoro internazionale coordinato dal Prof. Donald E. Ingber, (MD, PhD, Wyss Institute for Biologically Inspired Engineering at Harvard University, CLS B5, 3 Blackfan Circle, Boston MA). I Ricercatori di questo gruppo hanno messo a punto un organoide polmonare umano che esprimeva linee epiteliali con alti livelli di recettori cellulari virali ACE2 e TMPRSS2. Tale organoide è stato utilizzato per testare la capacità inibitoria su SARS -COV-2 dei seguenti farmaci già approvati per la cura di altre patologie: cloroquina, arbidolo, toremifene, clomifene, amiodachina, verapamil, e amiodarone. Quando tali farmaci

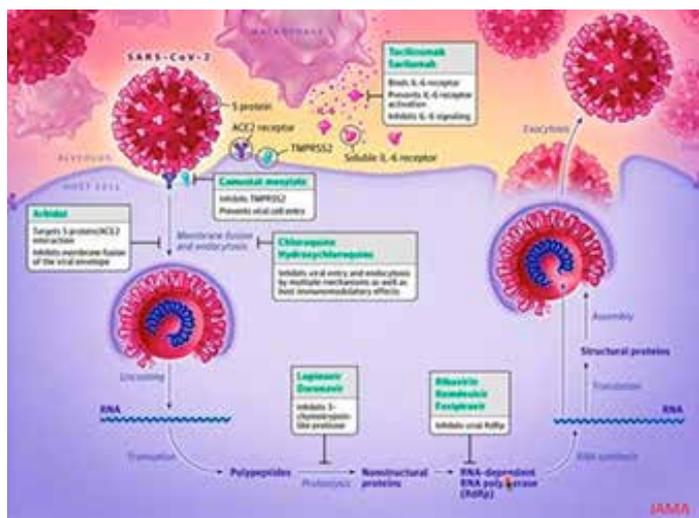


Figura 2: trattamenti farmacologici evidence based in uso per infezione da sars-cov-2
Fonte: Webinar 16/04/2020 COVID 19 Le manifestazioni extrapolmonari. Chiesi Farmaceutici

venivano somministrati nel sistema microfluidico interfacciato con l'organoide polmonare solo l'Amiodachina, derivato della Cloroquina, ed il Toremifene riuscivano ad inibire l'ingresso cellulare nelle cellule umane Hu7 di pseudovirioni SARS-COV-2 rivestiti da proteine virali Spike del SARS-COV-2. (Fig. 2)

■ Discussione

La pubblicazione A conclude pertanto che il recettore ACE2 è un recettore critico della fase iniziale dell'infezione in quanto permette al SARS-COV-2 di fissarsi sulla membrana cellulare dell'epitelio dell'ospite ed innescare la cascata di eventi che esiterà nell'infezione conclamata. Alla medesima conclusione giungono anche 51 altre pubblicazioni scientifiche ricercate su PubMed tramite le parole chiave "ACE2 receptor and SARS-COV-2 infection" nel corso del 2020. Infine un recentissimo studio italiano utilizzando la bioinformatica quindi un approccio in silico, è riuscito ad acquisire la mappa delle proteine cellulari umane attivate e disattivate da SARS-COV-2, includente ACE2, mettendo così in luce le complesse interazioni tra virus e cellula ospite⁵.

La pubblicazione B indica una possibile azione efficace nel contrare l'infezione da SARS-COV-2 dei farmaci aminochinolonici, come Amiodachina e Cloroquina, tale azione è stata confermata per la Cloroquina anche tramite approccio in vitro convenzionale in quanto è in grado di bloccare l'infezione virale sia incrementando il pH endosomico richiesto per la fusione virus/cellula sia interferendo con la glicosilazione dei recettori cellulari utilizzati dai Coronavirus ed inattivando gli enzimi che il virus utilizza per la sua replicazione⁶. Ricercando su PubMed articoli riguardanti l'impiego clinico nel 2020 della Cloroquina ed utilizzando come parole chiave "Chloroquine and Covid 19" si raccolgono

67 articoli, in gran parte di Autori cinesi, che descrivono una discreta efficacia di tale farmaco nel trattare pazienti affetti da COVID 19, tuttavia una recentissima review in merito, pubblicata sul BMJ, sottolinea la necessità di avviare trials clinici controllati per studiare in modo rigoroso le attuali proposte terapeutiche evidence based in relazione all'attuale pandemia in corso⁷.

Per quanto riguarda lo sviluppo di un eventuale vaccino alcuni Ricercatori stanno lavorando per sviluppare modelli animali che possano essere utili a tal fine. Tuttavia i tradizionali "modelli animali" si sono rivelati molto problematici ed inefficienti, infatti i Topi sono gli animali più usati perché facili da maneggiare e riprodurre ma sono insensibili all'infezione da SARS Cov2 perché i loro recettori ACE2 mostrano significative differenze da quelli umani. Una strada per superare l'ostacolo è modificare geneticamente i topi per indurli ad esprimere la versione umana del recettore ACE2. Questi topi transgenici infettati con SARS Cov2 perdono peso e mostrano segni di polmonite ma poco altro. La malattia che compare è veramente molto lieve. Si è cercato di risolvere tale problematica inglobando il gene umano per ACE2 all'interno di un adenovirus con il quale vengono poi infettati i topi. Anche questi topi "transgenici" perdevano peso, arruffavano il pelo come segno di malattia ma non si verificava alcun decesso. Per creare un modello murino più fedele si è anche fatto ricorso al CRISPR per modificare la sequenza degli ACE2 nativi dei topi in modo da renderli riconoscibili al virus.

Altri ricercatori lavorano sui Ratti ma non sono più sensibili al Covid19 rispetto ai topi, anche modificandoli geneticamente.

Più sensibili sembrano i Criceti. Perdono peso, diventano letargici, assumono una postura arcuata, il respiro diventa rapido. Nei loro polmoni e intestini si sono riscontrati elevati livelli di SARS Cov2. Si è pensato di utilizzare i criceti per documentare la trasmissione del virus. Mettendo un animale infettato in una gabbia con un altro criceto non infettato, la trasmissione del virus avveniva ogni volta. Si è sospettata la trasmissione respiratoria ma poiché i criceti mangiano le feci, non si poteva escludere la trasmissione oro-fecale.

I Furetti vengono usati nella ricerca per un'altra patologia respiratoria, l'influenza, perché il virus influenzale non solo è in grado di infettarli, ma produce sintomi che mimano la patologia umana. Questi animali non sono tuttavia un modello fedele di Covid 19. Il virus li infetta e causa un aumento della temperatura ma non altri sintomi. I furetti anziani erano più sensibili rispetto ai giovani che non mostravano sintomi, unico dato simile all'uomo.

Il virus può infettare i Gatti, con lesioni massive a naso, trachea e polmoni riscontrate all'autopsia come riporta uno studio pubblicato online. Tuttavia gli animali che hanno più peso nel valutare eventuali farmaci e vaccini sono le Scimmie. Subito dopo l'isolamento del virus negli umani, sono state infettate diverse specie di scimmie, tra cui macachi rhesus, le verdi africane, i

cinomolgo e i marmoset. In uno studio olandese, otto scimmie cinomolgo sono state infettate con SARS Cov2. Le quattro più anziane hanno sviluppato più alti livelli di virus ai tamponi di naso e bocca rispetto alle più giovani, ma nessuna ha mostrato segni di malattia. L'autopsia ha evidenziato qualche danno polmonare in due animali, comparabili solo ai casi più lievi negli umani. Si è anche esplorata la protezione immunitaria. Due macachi rhesus guariti dopo essere stati infettati con SARS Cov2 erano resistenti alla reinfezione quattro settimane dopo. Ciò suggerisce che l'infezione naturale o l'immunità triggerata da eventuali vaccini, possa fornire qualche forma di protezione⁸.

Proprio utilizzando la sopracitata suscettibilità all'infezione i Ricercatori cinesi della Sinovac Biotech hanno iniettato 2 diverse dosi di un vaccino anticovid allo studio in 8 Macachi, tre settimane dopo i Macachi sono stati infettati per via endotracheale con il SARS-COV-2 e solo gli animali che avevano ricevuto la dose maggiore sono stati considerati responders. Lo studio è stato subito contestato in quanto il numero degli animali utilizzati è troppo piccolo per ottenere risultati statisticamente significativi ed erano presenti dubbi anche sul modo in cui il Coronavirus era stato coltivato, il che avrebbe potuto generare mutazioni non presenti negli umani contagiati dal ceppo selvaggio. Il problema più grave che si è presentato con questo approccio è che le Scimmie non presentano sintomi severi ed i Ricercatori stessi ammettono che "è troppo presto per definire il miglior modello animale per studiare il SARS-COV-2".

Questo studio preliminare solleva anche preoccupazioni sul fatto che una protezione vaccinale parziale potrebbe generare una risposta immunitaria aberrante e peggiorativa del quadro clinico, come si è osservato da precedenti sperimentazioni precliniche con vaccini anticoronavirus per SARS e MERS. Altra evenienza sfavorevole allo sviluppo di un vaccino efficace sono le possibili mutazioni spontanee del SARS-COV-2.

Nonostante i dubbi e le riportate contestazioni, il 16 aprile 2020 è iniziata la fase 1 del trial clinico su 144 volontari cinesi a dosi variabili del candidato vaccino ed un gruppo di controllo della medesima numerosità. Questo vaccino, di "vecchio stampo" consiste in una formulazione del virus inattivata chimicamente. Altri 6 candidati vaccini hanno iniziato i trial clinici dal 23 aprile ed, ad oggi, 77 sono in via di sviluppo, la maggioranza dei quali usa tecniche di ingegneria genetica. Invece il meccanismo patogenetico dell'infezione da SARS-COV-2 messo in luce dalle metodiche NAMs è il razionale alla base della progettazione e sviluppo del vaccino italo-inglese che utilizza come veicolo un adenovirus degli Scimpanzè geneticamente modificato che espone come antigene di superficie le proteine spikes di SARS-COV-2 che fissano il recettore ACE2 ed a fine aprile partirà la sua sperimentazione nel Regno Unito su 550 volontari sani grazie alla collaborazione tra l'Azienda Italiana Advent-Irbm e lo Jenner Institute della Oxford University. Analogamente, basandosi sulla medesima scoperta dell'interazione tra le proteine spikes

ed il recettore ACE2, è in avanzata fase di sperimentazione un altro prototipo vaccinale proposto da Ricercatori dell'Università di Pittsburgh coordinati dal Prof. A. Gambotto

■ Conclusioni

Alla luce dei risultati e delle correlazioni ottenute le metodiche NAMs sembrano molto efficaci nell'indagare i meccanismi patogenetici fini con cui si instaura un'infezione da SARS-COV-2. In senso più generale possono essere anche utili nel testare rapidamente il profilo di efficacia di farmaci o sostanze biologicamente attive. Infine l'individuazione del meccanismo patogenetico che consente l'aggressione virale alle cellule bersaglio costituisce il razionale su cui si basa la progettazione di promettenti prototipi vaccinali.

Bibliografia

1. Perrin S et al. Preclinical research: make mouse studies work. *Nature*. 2014;507:423-425
2. Waring MJ, Arrowsmith J, Leach AR, Leeson PD, Mandrell S, Owen RM, Pairaudeau G, Pennie WD, Pickett SD, Wang J, Wallace O, Weir A, An analysis of the attrition of drug candidates from four major pharmaceutical companies. *Nat Rev Drug Discov*. 2015 Jul;14(7):475-86. doi: 10.1038/nrd4609
3. Hwang TJ, Carpenter D, Lauffenburger JC, Wang B, Franklin JM, Kesselheim AS., Failure of investigational drugs in late-stage clinical development and publication of trial results, *JAMA Internal Medicine*. 2016;176(12):1826-33
4. BioIndustry Association and the Medicines Discovery Catapult. State of the discovery nation 2018 and the role of the Medicines Discovery Catapult. 2018. Available at: https://s3-eu-west-amazonaws.com/media.newmd.catapult/wp-content/uploads/2018/01/16220811/MDC10529-Thought-Leader_v10_Interactive_v1.pdf. Accessed 20/9/19
5. Giorgi et al. Master regulator analysis of the SARS-COV-2/ Human Interactome. *J Clin Med*. 2020, 9(4), 982; <https://doi.org/10.3390/jcm9040982>
6. Remdesivir and Chloroquine effectively inhibit the recently emerged novel coronavirus in vitro. M. Wang et al *Cell Res* 2020 Mar; 30 (3): 269-271.
7. doi: <https://doi.org/10.1136/bmj.m1432> 08/04/2020
8. <https://www.sciencemag.org/news/2020/04/mice-hamsters-ferrets-monkeys-which-lab-animals-can-help-defeat-new-coronavirus>
9. <https://www.sciencemag.org/news/2020/04/covid19-vaccine-protects-monkeys-new-coronavirus-chinese-biotech-reports>.

Tecnologie informatiche e futuro della medicina: aspetti etici e politici della intelligenza artificiale.

Information technologies and the future of medicine: ethical and political aspects of artificial intelligence

Premessa

La tecnologia invade il mondo con progresso logaritmico e pervade ogni attività umana, compresa la sanità ancor più quando aumenteranno i finanziamenti e saranno costruite le necessarie infrastrutture informatiche.

All'interno di queste tecniche l'intelligenza artificiale (A.I.) è inserita in molteplici settori della sanità, dalla robotica alle app alle macchine deep learning. La medicina disporrà di strumenti più precisi e sofisticati per conseguire i suoi scopi: la medicina di precisione, la promozione della salute, la gestione dei servizi, l'empowerment del cittadino, il monitoraggio e la sorveglianza, la compliance, l'acquisizione dei dati dei pazienti, la fornitura di dati ai professionisti, le possibilità diagnostiche e prognostiche e così via.

Tuttavia affiora una forte preoccupazione per un futuro che intimorisce più che affascinare e appare così incerto che si tende a rifugiarsi nel rimpianto di un passato forse neppure esistito, quella che Zygmunt Baumann chiama retrotopia.

Gli uomini sono timorosi del nuovo perché, pur rispondendo a antichi bisogni, costringe ad abbandonare antiche abitudini e ad apprendere nuove tecniche.

Il problema è assai rilevante e implica la soluzione di diverse questioni che attingono al diritto e all'etica nonché ai valori e agli interessi dominanti.

La stessa definizione di AI è controversa sia perché è uno strumento multiforme inserito in una serie vastissima di tecnologie, in particolare nei robot, sia perché non vi è chiarezza nei meccanismi di acquisizione e elaborazione dei dati. La trasparenza (necessaria quan-

do si affrontano questioni che riguardano la vita e la salute delle persone) è fortemente limitata dagli interessi dei proprietari dei sistemi perché metterebbe a rischio i segreti industriali di enormi potenze finanziarie.

■ Problematiche che implicano risposte politiche

a) mercato del lavoro. E' la questione più importante; qualche esempio: babylon health, health care self service, dermoscane e dermoclip, sistemi deep learning lettura lastre, monitoraggio anziani, terapia digitale nelle abitudini nocive, uso app diagnostiche, gestione liste d'attesa, chip neuronali, chip diagnostici, reservoir con misurazione continua parametri, profili personalizzati pazienti, app con sintesi letteratura, sistemi life logging, fascicoli sanitari, gestione handover, tutte le infinite applicazioni della robotica, tutte le protesi intelligenti, i robot dotati di AI e di sistemi deep learning, la visita virtuale e via e via. In questa prospettiva ci sarà bisogno di più o meno professionisti? ci saranno categorie più colpite fino alla scomparsa? emergeranno nuove professionalità? e come affrontare i problemi formativi? e quanto varranno i titoli rispetto alle competenze? e come definire e preparare il personale alle nuove competenze? l'abitudine al posto fisso e alla certezza delle mansioni scompare in un mercato flessibile e fluttuante per le continue innovazioni tecnologiche.

b) complessità. Un mondo siffatto esige capacità di adattamento e le cosiddette 4 c, creatività, collaborazione, cooperazione, comprensione, una capacità di continuo studio e di lavoro in equipe di fronte a percorsi e procedure continua-

ANTONIO PANTI*,

*Componente commissione deontologica nazionale.

Per corrispondenza:
antonio.panti@tin.it

mente modificate dalle conoscenze e dalle tecniche.

c) velocità. I cambiamenti sono una costante nella storia del mondo con momenti di rottura che hanno segnato nuovi paradigmi sociali e basti pensare alla stampa o alla macchina a vapore. Però oggi i cambiamenti sono troppo rapidi e ciò causa di disagio. I normali tempi di adattamento del cervello umano sono insufficienti e anche questo diventa questione politica nel momento in cui si richiede agli operatori uno sforzo che può portare al burn out.

d) Dati e informazioni. Il processo dell'A.I. vede l'inserimento di dati e la trasformazione di questi in informazioni per i medici. Ma l'elaborazione delle informazioni è un processo intellettuale la cui proprietà non può sfuggire ai professionisti della sanità. Il problema della proprietà intellettuale degli elaborati della A.I., è questione giuridica da affrontare sul piano politico

■ Problemi etici

a) Responsabilità. Un esempio di scuola è quello dell'auto senza guidatore. Quali valori indirizzano la scelta dell'A.I. di fronte a un pericolo che minaccia più persone? Chi sostiene la responsabilità civile e penale degli eventuali danni? Un problema che potrebbe manifestarsi pesantemente nella cosiddetta robotica. A lume di buon senso responsabile è il progettatore (e anche il gestore, l'utilizzatore, il venditore) del robot o comunque dello strumento che utilizza A.I.. In particolare le macchine deep learning generano problemi non semplici. Può essere complicato attribuire la responsabilità della "colpa professionale": come classifichiamo sul piano giuridico questi fatti? E quali sanzioni applichiamo alla tecnologa incriminata: la distruzione, la ri-educazione, la riparazione? Esiste una intera biblioteca su queste evenienze che si intrecciano con le norme sulla "colpa professionale" e sull'accertamento della causalità.

b) Equità. Quanto graveranno sugli oneri del SSN siffatte tecnologie? Sicuramente molto in specie quelle terapeutiche, rivolte sempre più spesso a piccolissimi target (la precision medicine o medicina personalizzata) per cui pochi pazienti - spesso finora non trattabili- potranno essere curati con oneri maggiori di quelli necessari per una grandissima casistica; un rara patologia costerà più che migliaia di ipertesi i quali, altresì, debbono essere trattati per evitare costosissime complicanze. Tutte le tecnologie saranno disponibili per tutti? L'ICT, la robotica, l'AI aumenteranno o no le disuguaglianze? E' bene tener conto che le scelte in sanità sono condizionate dagli interessi di chi finanzia il servizio, degli amministratori e dei produttori degli strumenti. Tutto ciò che viene usato in medicina è prodotto da privati e quindi pretende la remunerazione del capitale di rischio. Il medico decide nell'interesse del paziente, guidato dalla scienza, ma è purtroppo soggetto anche

alla pressione del mercato, alle esigenze dell'efficienza organizzativa e ai vincoli economici.

c) Proprietà. Assai poco sappiamo sulla formazione dei dati e sulla loro elaborazione. L'A.I. spesso è una "scatola nera" mentre i modelli dovrebbero sempre essere chiari e ripetibili. Come viene addestrata una qualsiasi macchina che contiene AI? E come gli viene insegnato a reagire alle situazioni di stress quali le decisioni sulla vita delle persone? Si può ricostruire sempre all'indietro un sistema di AI? E chi sono i proprietari e i progettisti? Conosciamo le loro idee politiche e morali, i loro interessi personali e societari? Quali comportamenti umani hanno intenzione di condizionare e perché? I responsabili, anche politici, sono sempre individuabili?

■ La questione dei dati

Sono giganteschi gli interessi del mercato intorno alle moderne tecnologie che, se da un lato aumentano i costi ponendo, tuttavia, problemi di distribuzione dei vantaggi, dall'altro diminuiscono gli oneri di gestione che incidono sulla percezione del servizio. Il diritto non è ancora pronto a regolamentare l'acquisizione, l'accesso, la trasparenza, il controllo e il monitoraggio dell'utilizzo dei cosiddetti Big Data. La biopolitica e il biodiritto oppongono strumenti rudimentali di fronte a questo fenomeno pervasivo anche nella sanità.

Di fronte alla "algorithmic knowledge production" i medici dovrebbero avere responsabilità nella progettazione e programmazione dei sistemi e nella conduzione delle ricerche. I bias nella progettazione e "nell'allenamento deep learning" degli strumenti informatici e non, potrebbero indurre discriminazioni e quindi disuguaglianze se la selezione dei dati fosse viziata.

Se la raccolta dei big data può migliorare le competenze, la conoscenza processata dalla macchina può essere non eticamente neutra. Tentare di validare la gestione dei dati, il loro uso, la trasparenza e il funzionamento degli algoritmi potrebbe essere il contributo del mondo medico. I dati necessari a addestrare gli algoritmi quanto sono "puliti" rispetto ai bias della clinica e chi corregge gli errori derivanti dall'impostazione data all'I.A. dall'intelligenza umana, fallibile ma duttile, mentre l'app non lo è? Inoltre i dati del cosiddetto "real world", cartelle, registri, schede ecc, non sempre sono disponibili e spesso sono diversamente impostati e appaiono carenti di condizioni di contesto (fragilità, disagio, fattori psico sociali ec.). Il problema è sia epistemologico, cioè come si costruisce la conoscenza digitale, sia etico, cioè come avviene il coinvolgimento di tutti gli stakeholder; il black box degli algoritmi non è trasparente.

"I dati di per sé sono inutili. Per essere utili debbono essere selezionati, strutturati e interpretati. Decisiva non è la tecnologia ma la capacità di estrarre valore dal suo uso. Il dato non è un'entità chiusa ma un costrutto sociale, risultato di scelte culturali, sociali, tecniche e economiche

poste in essere da individui e istituzioni per raccogliere, analizzare e utilizzare informazione e conoscenza”

Giamapolo Collecchia su QS 2019

I medici debbono cercare supporto nelle macchine, esserne alleati. Gli interessi di mercato possono influenzare le decisioni dei medici molto più che le linee guida perché è difficile dire no a una macchina. Occorre combinare le competenze tecniche con i principi etici, il rapporto rischi benefici con la tutela della dignità delle persone. Infine garantire l'equità. Il possesso dei dati significa potere e finora era il medico a averne una sufficiente quota. Sarà sempre così o il medico diverrà una ruota nella giostra del mercato? **Spetta ai medici mantenere il rigore del metodo scientifico garantendo l'indipendenza rispetto ai propri conflitti di interesse e adottandosi perché quello del paziente sia sempre la stella polare. Il possesso e l'utilizzo dei dati può essere foriero di ancor maggiori disuguaglianze e discriminazioni o essere l'occasione per aumentare il tasso di equità dei sistemi sanitari.**

■ Supporto o sostituzione?

Finora le conoscenze risiedevano nelle biblioteche e nella mente degli uomini. Il pensiero, gli slanci della fantasia, erano più veloci delle conoscenze apprese dalla letteratura e potevano anticipare soluzioni e superare consolidati paradigmi. La A.I. sembra annullare questo vantaggio perché le conoscenze, non più contenute nelle biblioteche ma nel cloud, sono disponibili nello stesso tempo di elaborazione della mente umana. Come influenzerà tutto ciò sul pensiero umano?

Nel caso dell'A.I. le questioni politiche e etiche sono intimamente intrecciate. E' paradigmatica l'evoluzione della giustizia digitale. La standardizzazione dei contratti di assicurazione e delle tabelle risarcitorie potrebbe automatizzare la risoluzione delle controversie e incidere sulla giustizia civile e penale. Sveltire i procedimenti, eliminare pretestuose burocrazie e vagliare meglio grandi quantità di dati, rappresenta un futuro affascinante. Ma non potrebbero essere i prodromi di una giustizia da "Minority report"?

In conclusione: questi sofisticatissimi strumenti miglioreranno i risultati della medicina fornendo un formidabile supporto ai professionisti oppure ne sostituiranno in tutto o in parte l'opera determinando una contrazione del mercato del lavoro e un asservimento a macchine capaci di risolvere problemi insormontabili per gli uomini? Alan Turing sosteneva che se una macchina di fronte a un problema dà la stessa risposta di un uomo vuol dire che ha le stesse capacità; di chi, della macchina o di chi la ha progettata? Domande che incombono sul futuro dei professionisti. E' opportuno riflettervi lasciando da parte i consueti contrasti e le abituali ricriminazioni.

La rivoluzione digitale può essere la risposta ad una nuova domanda di salute e alla progressiva inadeguatezza delle risorse. Tuttavia occorre calibrare gli entu-

siasmi progettando un percorso by default by design, a misura d'uomo, comprensibile, adattabile ai comportamenti dei pazienti, percepito quale più efficace. Pensiamo a una piattaforma orizzontale su cui si inseriscono, tra loro collegati, i dati dai dispositivi, quelli da automisurazioni, quelli non diagnostici, e quelli diagnostici, un'infrastruttura interoperabile. E' difficile fare previsioni ma è possibile unire precauzione e innovazione.

“Ciò che è inquietante non è che il mondo si trasformi in un completo dominio della tecnica ma che l'uomo non sia affatto preparato a questo radicale mutamento e, ancor peggio, che non sappia, attraverso la riflessione, confrontarsi con ciò che sta emergendo nella nostra epoca.”
Martin Heidegger

Riferimenti bibliografici

- CNB BBSV sviluppo della robotica e della bioetica documento 17.07.17
- Zoltan Istvan la cultura del chip sottopelle Internazionale 1309/19
- Big data and Intelligence Community NEJM may,16,2019
- Asch, Nicholson, Berger Toward facilities self service in health care NEJM may,16,2019
- CRB Tecnologie dell'informazione e della comunicazione e big data: profili bioetici 25,11,16.

Curare con i cinque sensi: la sfida della pandemia

To cure and to care with the five senses: a challenge from the pandemic

SANDRO SPINSANTI

Direttore Istituto Giano per le Medical Humanities,
Roma

Per corrispondenza:
sandro.spinsanti@gmail.com

Era l'inizio dello scorso mese di febbraio, precisamente il 7. A Firenze il movimento di Slow Medicine teneva il quinto congresso nazionale. Nella sospensione temporale dei giorni che stiamo vivendo sembra un evento sfocato. E lontano nel tempo; invece era ieri. Il congresso costituiva un'occasione per fare un bilancio sul radicamento di questa proposta di medicina nella realtà italiana: su ciò che questa etichetta mostra; e anche su ciò che rischia di nascondere. E un'occasione per avanzare proposte in armonia con i valori che il movimento ha scelto di abbracciare.

A fronte di eccellenti programmi scientifici – soprattutto nell'ambito delle liste su ciò che va evitato, perché ad alto rischio di inappropriatazza, redatte da Choosing Wisely, nel promuovere un uso più corretto degli antibiotici e nella deprescrizione dei farmaci – non si nota un'adesione massiccia alla proposta. Ci domandiamo se il nome stesso del movimento non possa costituire una difficoltà. Slow Medicine si appoggia apertamente a Slow Food. Riscrivendo ovviamente il proprio programma nel corteo di aggettivi che accompagna il nome: rispetto al cibo “buono, pulito e giusto”, propone come obiettivo una cura “sobria, rispettosa e giusta”. L'esplicitazione con i tre aggettivi è necessaria, perché l'intero programma, veicolato intuitivamente da Slow, rischia di essere frainteso. Ciò non succede con Slow Food. In questo caso l'obiettivo è di contrapporsi, come alternativa, a Fast Food. Basta l'evocazione implicita di quel modo di intendere e di praticare la nutrizione: tutti sanno qual è l'ideologia e quali sono i costumi sociali dai quali ci si vuol distanziare. Lo stesso purtroppo non vale per Slow Medicine. Il referente negativo implicito non è la Fast Medicine. Fast e Slow in questo caso rischiano di essere riferiti, in modo fuorviante, al tempo che si impiega per le prestazioni di cura (mentre

a nessuno verrebbe in mente che il Fast Food intenda promuovere il mangiare adagio...!).

A parte il fatto che la velocità in medicina talvolta è sacrosanta - pensiamo al tempo per sciogliere un trombo o per intervenire dopo un infarto - non si tratta di rivendicare più tempo per la cura. Il bersaglio negativo contro cui si mobilita Slow Medicine non è la medicina della fretta, ma la cattiva medicina. Di questa fa parte tutto ciò che non è “sobrio”, ovvero i trattamenti inutili e per lo più dannosi. Ma anche quanto è riconducibile a una cura non “rispettosa”. Su questo fronte possiamo e dobbiamo rivendicare la conservazione di modalità di cura che non debbono essere eliminate dall'avanzata della tecnologia. Nell'ambito della riflessione congressuale veniva avanzata la proposta di controbilanciare la spinta da parte di un predominio tecnologico e informatico con una cura che passi attraverso i cinque sensi del curante. Più che un suggerimento provocatorio: piuttosto il richiamo a una continuità con la pratica clinica nella quale i sensi hanno giocato un ruolo decisivo.

Una medicina, dunque, fatta con i sensi. Magari risparmiamo il gusto e l'odorato (riservandoli ai medici del passato, che avevano le urine del paziente come strumento privilegiato per arrivare a una diagnosi...). Rimane centrale il tatto. Nella visita medica l'esame obiettivo del paziente non deve recedere di fronte alle raffinate – e necessarie – tecnologie diagnostiche. L'udito è il senso da attivare per una medicina in cui la buona cura non può fare a meno di essere composta di due parti essenziali: ciò che il curante è in grado di fare e ciò che il malato ritiene compatibile con i suoi valori e le sue preferenze. La buona medicina non si esaurisce nell'informazione, che abbiamo aggiunto alle pratiche del passato, ma comincia con l'ascolto. E anche “una zuppiera

di tragedia andrebbe servita un cucchiaino alla volta” (Paul Kalanithi: *Quando il respiro si fa aria*, Mondadori 2016). Senza dimenticare la vista. Gli occhi sono ancora un canale privilegiato di cura. Senza esaltare il troppo mitizzato “sguardo clinico”, rivendichiamo l’importanza di guardare e di essere guardati. Negli occhi. Slow in questo contesto non si traduce con lento, ma con “competenza comunicativa”.

Il paradosso è che, mentre si accrescono gli strumenti per la comunicazione, questa si impoverisce perché sacrifica ciò che passa attraverso i sensi stessi. E’ diventato un luogo comune contrapporre la medicina altamente tecnologica (high tech) a quella con contenuti umani molto caldi e coinvolgenti (high touch). Il tema è presente da parecchio tempo soprattutto nelle pubblicazioni infermieristiche. L’analisi prende per lo più le mosse dalla transizione in atto dalla società industriale a quella dell’informazione. La risposta alle nuove tecnologie, con il loro pericolo intrinseco di freddo distacco, viene individuata in una vicinanza che ha funzione di compensazione. Il compito di “contatto” viene affidato per lo più alla professione infermieristica (in alcuni contesti allo psicologo...), con il risultato globale di una maggiore concentrazione del medico sulla funzione tecnica. La pratica medica, tutta rivolta all’efficacia della prestazione, si sente in tal modo autorizzata e essere sempre più fredda, in quanto la calda presenza di altri professionisti compensa le sue carenze. Tra curare e prendersi cura si instaura così una dicotomia, che giunge a immaginare un “curare” (come impresa eroica, hard), dissociato dal “prendersi cura” (attività lasciata a professioni più soft, dedite alla dimensione relazionale).

Un tema specifico in questo ambito è la denuncia del progressivo retrocedere nella pratica clinica dell’esame obiettivo. Lisa Sanders nel libro *Ogni paziente racconta la sua storia. L’arte della diagnosi* (Einaudi, 2009) dedica un capitolo molto documentato a questo fenomeno. Lo intitola, significativamente, “Il potere del tocco”. A suo avviso, l’esame obiettivo può guidare il medico nel suo ragionamento e ridurre la scelta dei test a quelli che hanno maggiori probabilità di fornire risposte utili. La tendenza attuale, invece, di molti medici e anche di pazienti è di preferire l’apparente certezza dei test tecnologici alla visita diretta, a bassa tecnologia, eseguita dal medico. Così, conclude la dottoressa Lisa Sanders, “l’esame obiettivo - quello che era un tempo il nostro strumento più affidabile nel capire e diagnosticare una malattia - è morto e sepolto”.

Chi milita all’interno del movimento delle Medical Humanities cerca di sottrarsi alle insidiose alternative tra curare e prendersi cura, tra high tech e low touch. In questo senso prendeva forma la riflessione tra i partecipanti al congresso di Slow Medicine. Ora - ironia della sorte - mentre questa presa di posizione si delineava, nel febbraio scorso, l’epidemia da coronavirus stava covando sotto la cenere. Indisturbata e non identificava, contagiava un numero crescente di persone, che la diffondevano inconsapevolmente. Nel giro di poche settimane avremmo visto un cambio di scenario tra i più spettacolari che ci sia stato dato di vivere. Non più

medicina fatta con i cinque sensi: i curanti si sarebbero presentati bardati di maschere, guanti, presidi protettivi. Tra il malato e il terapeuta sono state erette barriere insormontabili: la distanza mai sufficiente, i dispositivi di protezione mai abbastanza. Lo sconvolgimento dei comportamenti sociali - abolita la stretta di mano, cancellati i contatti - si è riversato anche nello scenario clinico, travolgendolo. Il travestimento del curante, il corpo chiuso dentro lo scafandro da astronauta, evoca piuttosto l’equipaggiamento di chi rischia, su un pianeta sconosciuto, di incontrare gli alieni. Eppure la proposta, che nasce dai valori fatti propri da Slow Medicine, di una cura che passi attraverso i sensi non è un’utopia pellegrina.

Che volto avrà la pratica della medicina quando lo tsunami della pandemia si sarà ritirato? Recupereremo la cura con i cinque sensi, che è nel nostro ricordo e soprattutto nelle nostre aspirazioni? Almeno per coloro che non vogliono rinunciare a credere che l’anima della medicina sia l’amore. Come ogni amore, il rapporto tra chi eroga le cure e chi le riceve è una relazione sensuale, impregnata di fisicità.

Dovremo inventarci nuove pratiche, che non derogino sul versante della sicurezza, ma allo stesso tempo che non privino la cura del profilo alto di un rapporto interpersonale. Nel frattempo magari possiamo cercare di investire di più sui sensi che permangono in funzione anche in tempo di pandemia. L’udito e la vista sono inderogabili. Le parole possono e devono costituire il legame tra curanti e persone in cura. Soprattutto lo scambio di parole che si chiama conversazione. Comporta l’ascolto, prima ancora della informazione; tiene conto della consapevolezza e dello stato d’animo di colui che l’informazione la riceve.

E lo sguardo. Anche quando il volto scompare dietro la mascherina, la comunicazione visiva costituisce il ponte essenziale nel rapporto di cura. Un ponte che, ahimè, da tempo minaccia di crollare sotto il peso della tecnologia. Il rapporto visivo è importante nella cura. Quando questo viene a mancare, si diffonde una forma di malessere. Quante volte abbiamo sentito lagnanze di malati che rimproverano ai medici di tenere lo sguardo fisso sullo schermo del computer - ricco di referti clinici e di dati scientifici, certo - durante tutta la durata della visita. Anche se ricevono il trattamento appropriato, non hanno la sensazione di essere stati “visti”. La carenza di contatto visivo è l’indicatore più eloquente di una comunicazione fallimentare.

E se il tatto fisico in queste circostanze deve essere messo in quarantena, almeno il “tatto” come sensibilità interpersonale, delicatezza, capacità di intercettare lo stato d’animo dell’altro e rispettarlo, può sempre essere praticato.

Nella favola dei Fratelli Grimm il bambino abbandonato nel bosco ritrova la strada di casa recuperando le briciole di pane che aveva avuto l’accortezza di lasciare dietro a sé. Anche le briciole dei nostri sensi ci fanno sperare, nonostante il nostro smarrimento attuale, di poter tornare a casa: la casa della Cura.

Norme editoriali

Il Cesalpino è la Rivista medico-scientifica promossa dall'Ordine dei Medici Chirurghi e degli Odontoiatri della Provincia di Arezzo. Pubblica lavori originali, di carattere medico scientifico con periodicità quadrimestrale. La rivista Il Cesalpino è inserita nelle banche dati di EBSCO *Information Services*, una delle più grandi società private di database di ricerca e riviste elettroniche negli Stati Uniti, visionabile al sito www.ebsco.com

Norme Editoriali

La rivista accoglie varie tematiche e rubriche scientifiche in particolare quelle attinenti a *Appropriatezza in Medicina e Ambiente e Salute*.

• I lavori devono essere indirizzati a:
redazionecesalpino@gmail.com

Le relazioni dovranno essere scritte in programma Word con massimo di 4/5 pagine comprese tabelle, grafici e fotografie.

Il lavoro deve iniziare con il seguente ordine:

- **Titolo** (in italiano e in lingua inglese)
- **Autore** (nome cognome, titolo accademico e sede di lavoro) indicando l'indirizzo mail a cui inviare la corrispondenza.
- **Abstract** in italiano e inglese (250 parole)
- **Parole chiave** in italiano e inglese (tre parole), permettendo così una consultazione rapida e una ricerca veloce nel database di Ebsco.
- **Introduzione, materiali e metodi, risultati, discussione e conclusioni** (usare font times new roman e comunque caratteri convenzionali in corpo 12). Si precisa che tutte le sigle e acronimi, scritti nel testo, devono riportare la definizione per esteso alla loro prima chiamata.
- **Bibliografia** (le citazioni bibliografiche vanno riportate nel testo in apice 1 o tra parentesi(1) con corrispettivo riferimento alla bibliografia scritta in fondo all'articolo, per un massimo di 15 chiamate). Per gli articoli di Riviste devono essere riportati: il cognome e l'iniziale del nome degli Autori, il titolo del lavoro, la Rivista, il numero, le pagine e l'anno di pubblicazione: es: De Bac C, Stroffolini T, Gaeta GB, Taliani G, Giusti G. Pathogenic factors in cirrhosis with and without hepatocellular carcinoma. A multicenter italian study. *Hepatology* 1994; 20:1225–1230. Nel caso di libri devono essere citati gli Autori, il titolo, l'edizione, l'editore, la città, l'anno. Per gli articoli su Internet dovrà essere indicato il link del sito. I lavori non ancora pubblicati possono essere segnalati con la dizione "in stampa" tra parentesi.
- **Tabelle, grafici e figure** devono essere preceduti da titolo e seguiti dalla fonte. Devono essere numerati in

modo indipendente e riportare l'indicazione nell'ambito del lavoro. Inviare sempre le immagini ad alta definizione.

• La segreteria redazionale (Segretaria redazionale, Coordinatore redazionale e Direttore responsabile) valuta la conformità degli articoli alle norme editoriali e provvede ad inoltrarli per la loro revisione ad alcuni membri del Comitato scientifico.

• La segreteria si fa carico di richiedere agli Autori le modifiche al testo secondo le osservazioni dei revisori. Gli Autori sono tenuti a fornire le correzioni entro 15 giorni e prima della pubblicazione online sarà a loro inviata l'ultima stesura definitiva. Le correzioni devono essere inviate a: redazionecesalpino@gmail.com

• La segreteria invia i lavori corretti al Comitato di Redazione che ha il compito di approvare il numero della rivista e suddividere gli articoli pervenuti secondo le diverse rubriche.

La proprietà dei lavori pubblicati è riservata ed è vietata la riproduzione anche parziale degli articoli e delle illustrazioni non autorizzate dall'Editore. I lavori accettati sono pubblicati gratuitamente.

Editore: Consiglio provinciale dei Medici Chirurghi e degli Odontoiatri di Arezzo

Presidente Ordine dei Medici Arezzo: Lorenzo Droandi

Direttore responsabile: Roberto Romizi

Coordinatore Redazionale: Amedeo Bianchi

Comitato Redazionale:

Borghesi Simona, Falsini Giovanni, Felici Massimo, Linoli Giovanni, Martini Marco, Martini Nicoletta, Nassi Rossella, Parca Gino, Pavani Raffaella, Raspini Giovacchino, Sasdelli Mauro.

Comitato Scientifico e Revisori

Ambiente e salute: Bianchi Fabrizio, Di Ciaula Agostino, Gentilini Patrizia, Maurello Maria Teresa, Romagnoli Carlo, Sallesse Domenico, Tamino Gianni.

Appropriatezza in medicina: Bonaldi Antonio, Donzelli Alberto, Falsini Giovanni, Parca Gino, Vernero Sandra.

Altri lavori scientifici: Borghesi Simona, Cuccuini Alberto, Felici Massimo, Linoli Giovanni, Martini Marco, Martini Nicoletta, Nassi Rossella, Pavani Raffaella, Raspini Giovacchino, Sasdelli Mauro.

ΙΠΠΟΚΡΑΤΟΥΣ

ΚΩΟΥ ΙΑΤΡΟΥ ΠΑΛΛΙΟΤΑ

Ἐν, πῶς τὰς ἄλλαις κερυραῖαι, δι'
ἑλίας ἔπειτα.



PRO

REN

