

SINTESI DEI RISULTATI OTTENUTI DELLE RICERCHE SANITARIE FINALIZZATE FINANZIATE NEGLI ANNI 1997 - 1998

SINTESI RICERCA SANITARIA FINALIZZATA 733/01/97

Responsabile Scientifico Amodio Piero - Ente Proponente Università di Padova

“Ruolo Patogenetico della carenza di zinco sulle alterazioni del sistema nervoso centrale nell'encefalopatia epatica ed efficacia della sua correzione”.

Dei 115 pazienti con cirrosi esaminati consecutivamente, 63 hanno presentato ipozinchemia e, di essi, 39 hanno presentato congiuntamente ipozinchemia e deficit cognitivi. Di questi, 26 sono stati arruolati nello studio, mentre 13 hanno presentato almeno un criterio d'esclusione. Dei pazienti arruolati, sei non hanno completato lo studio: cinque nel braccio Zn e uno nel braccio placebo. Dei cinque trattati con Zn che hanno abbandonato lo studio, due lo hanno fatto senza motivazione apparente e tre perché hanno lamentato nausea assumendo Zn. Il soggetto trattato con placebo che è uscito dallo studio, lo ha fatto dopo l'insorgenza d'un'emorragia delle prime vie digestive. Hanno pertanto completato il protocollo terapeutico 20 soggetti: 10 nel braccio di trattamento con Zn, 10 con placebo. Le caratteristiche cliniche dei pazienti arruolati nei due bracci sono risultate comparabili (Tab. 1: **Agli atti presso gli uffici della Segreteria Sanità e Sociale**), mentre nei pazienti arruolati nel braccio trattato con Zinco il livello di encefalopatia subclinica è risultato più elevato: il TCN che è stato espletato più lentamente ed il tracciato EEG è risultato più rallentato (minore MDF, minore attività alfa e più elevata attività theta) (Tab.2: **Agli atti presso gli uffici della Segreteria Sanità e Sociale**). Il trattamento con Zn è stato associato ad un aumento significativo della zinchemia, anche se la zinchemia è tendenzialmente aumentata anche nel gruppo placebo, cosicché la differenza fra i due bracci non è risultata significativa. La zincuria, per contro, è risultata significativamente maggiore nel gruppo trattato con Zn (Tab. 3: **Agli atti presso gli uffici della Segreteria Sanità e Sociale**). Le altre variabili bioumorali, così come la massa muscolare, non hanno mostrato variazioni in rapporto al trattamento con zinco (Tab. 3: **Agli atti presso gli uffici della Segreteria Sanità e Sociale**).

Per quanto riguarda le variabili psicometriche, nel gruppo trattato con Zn vi è stato un significativo miglioramento del TCN, mentre nel gruppo trattato con placebo vi è stato un significativo miglioramento del SDT e un rilevante miglioramento dello Scan test. Tuttavia, alla ANOVA per misure ripetute non è emersa alcuna differenza fra il braccio trattato con Zn e quello trattato con placebo (Tab. 4: **Agli atti presso gli uffici della Segreteria Sanità e Sociale**).

Anche per quanto riguarda le variabili elettrofisiologiche, nel gruppo trattato con Zn vi è stato un aumento della MDF che ha sfiorato la significatività statistica ($P=0.6$), mentre nel gruppo trattato con placebo vi è stato un aumento significativo dell'attività theta ($P=0.01$), ma, nonostante il tendenziale miglioramento nei soggetti trattati con Zn, il confronto fra i due trattamenti non ha mostrato differenze significative (Tab. 5: **Agli atti presso gli uffici della Segreteria Sanità e Sociale**). Tuttavia, considerando i soggetti con ipozinchemia severa (7 u.mol/l), si è riscontrata una significativa velocizzazione del tracciato EEG nei soggetti trattati con Zn (Fig. 1: **Agli atti presso gli uffici della Segreteria Sanità e Sociale**).

Per quanto più specificatamente riguarda la presenza di segni di encefalopatia minima, definiti come presenza di alterazioni ad almeno uno dei test psicometrici considerati o di un EEG alterato secondo i criteri di Van der Rijt et al. (1994) modificati (Amodio et al, 1999), tutti i soggetti erano alterati in entrambi i bracci dello studio al tempo di inizio, mentre, dopo i tre mesi di trattamento, si è assistito alla regressione dei sintomi nel 10% dei cirrotici trattati con Zn e nel 40% di quelli trattati con placebo (test esatto di Fischer: $P=0.15$).

Conclusioni

L'insieme dei rilievi effettuati porta a concludere che:

- l'ipozinchemia non sia un indicatore ottimale di una condizione di carenza di zinco,
- solamente un'ipozinchemia marcata indica una carenza di Zn rilevante,
- l'ipozinchemia severa è associata alla presenza di alterazioni EEG e cognitive subcliniche, ad un maggiore rischio di morte e di insorgenza di encefalopatia conclamata,

- l'ipozinchemia severa contribuisce al rallentamento EEG del cirrotico ed una sua correzione velocizza il tracciato EEG.

SINTESI RICERCA SANITARIA FINALIZZATA 735/04/97**Responsabile Scientifico Baccaglini Ugo - Ente Proponente Azienda Ospedaliera di Padova****“L’appropriatezza dei ricoveri chirurgici: modelli e strumenti di valutazione clinica ed economico-organizzativa”.**

Si è preliminarmente dimostrato che la metodologia SAC™ impone una precisa esplicitazione della sequenzialità logica degli atti diagnostico-terapeutici visivamente rappresentata dai riportati diagrammi di flusso e ciò costituisce un grande valore aggiunto, in quanto è ormai sempre più diffusa la convinzione di poter confrontare il percorso effettivo seguito da un paziente con le più volte richiamate linee-guida o profili di cura (che tuttavia non risultano essere presenti in forma validata ed accettata ufficialmente a livello nazionale in Italia). Rende inoltre possibile l'oggettivizzazione del "costo", in termini di allungamento dei tempi di degenza o di indagini che alla fine si rivelassero non del tutto utili, attraverso l'utilizzo dei Pesì Economici (i citati RVUs) collegati a ciascun atto effettuato, l'implicazione sul costo di un dato percorso ed il raffronto tra detto percorso e il rimborso attualmente garantito (dal Sistema DRG). Da un punto di vista del prodotto CMS/SAC™ i referenti dell'Unità di Day Surgery nonché quelli individuati nel campo della Patologia dell'Esosfago e della Patologia Mammaria hanno mostrato un grande interesse, riconoscendone le elevate potenzialità, pur a fronte della necessità di una serie di adattamenti e di uno sforzo organizzativo per favorirne la compatibilità operativa con la loro pratica clinica corrente.

Obiettivi conseguiti e ricadute per il SSR

La ricerca ha consentito di determinare con chiarezza il campo di applicabilità del prodotto CMS/SAC che costituisce il fulcro della sperimentazione prevista nell'ambito del Programma Speciale per una Sanità Equa ed Efficace "Profili di prevenzione, di cura e di riabilitazione di tipo SAC™" finanziato dal Ministero della Sanità - Dipartimento della Programmazione "Programmi speciali" Art. 12, comma 2, lett. B) del D. Lgs. 502/92 di cui detta ricerca ha costituito una premessa indispensabile. Si sono infatti da un lato selezionati gli ambiti di applicazione delle Linee Guida che il prodotto in oggetto dovrà supportare, dall'altro effettuate una serie di analisi preliminari per le necessarie verifiche di compatibilità tra le Linee Guida inserite nel prodotto - e che già di per sé costituiscono un risultato in termini di punto di partenza (vedi esempi in Allegato 1) - e la pratica clinica delle Unità Operative che hanno partecipato alla ricerca. Sono altresì stati identificati gli aspetti di criticità del prodotto in oggetto e conseguentemente, la definizione degli ambiti di intervento per i necessari adattamenti alla realtà locale. Si è avuto modo di verificare comunque l'accettazione da parte dell'Unità di Day Surgery del prodotto in oggetto e della metodologia che ne ha ispirato la creazione, tanto che esso verrà riproposto in altri progetti orientati a migliorare gli aspetti organizzativi, gestionali e di qualità ad esempio nel campo delle patologie venose (Flebiti, Ulcere Venose).

SINTESI RICERCA SANITARIA FINALIZZATA 738/04/97**Responsabile Scientifico Beltrame Claudio - Ente Proponente ULSS 7 di Pieve di Soligo****“Nuovo modello assistenziale domiciliare a rete dei servizi integrati con entrata unica e coordinazione del caso”**

1) La scheda del sistema VAOR-ADI ha trovato piena applicabilità nell'ambito dell'assistenza domiciliare integrata rivolta prevalentemente alle persone anziane. Tale metodica è da giudicarsi efficace sia per quanto riguarda la possibilità di essere dotati di criteri omogenei di valutazione, sia per quanto riguarda l'identificazione in maniera rigorosa dei bisogni dell'utente. Il primo aspetto riveste una notevole importanza in quanto ha reso univoco il criterio di eleggibilità all'ADI; ciò è testimoniato dal fatto che sono state individuate correttamente le persone da seguire in ADI (significativa compromissione sul piano clinico, funzionale e sociale). Il secondo aspetto, cioè l'identificazione dei bisogni dell'utente, è il presupposto di un'adeguata assistenza

che deve necessariamente partire dal "problema" per poi arrivare, attraverso l'individuazione di "obiettivi realisticamente perseguibili", al conseguente piano d'intervento individualizzato ed interdisciplinare. Quanto sopra è reso possibile mediante l'utilizzo di uno strumento di valutazione multidimensionale "di seconda generazione" come il VAOR-ADI.

2) Punto centrale del modello di assistenza proposta e attuata, insieme all'utilizzo della VAOR-ADI, è dato dalla identificazione di uno sportello unico d'accesso ai vari servizi della rete. Tale accesso unico è garantito dalla figura del "case manager". Allo stato attuale della sperimentazione si può giudicare pienamente positiva la funzione del coordinatore del caso, il quale, adeguatamente preparato attraverso un apposito corso di formazione, è in grado di garantire quel coordinamento che è ritenuto indispensabile per il successo degli interventi collegati all'assistenza domiciliare integrata.

3) Il coordinatore del caso è, di fatto, il professionista della valutazione multidimensionale di primo livello. Garantisce una rapida risposta all'utente e una completezza della valutazione stessa. Il coordinatore del caso si fa carico anche di acquisire le informazioni in ambito clinico dal medico di medicina generale e sociali dall'assistente sociale. Inoltre, com'è evidenziato nella nostra sperimentazione, i cui risultati si allegano al presente rapporto (**Agli atti presso gli uffici della Segreteria Sanità e Sociale**), rende più chiaro e semplice il percorso della "presa in carico" e rappresenta la figura "cerniera" dell'intera rete integrata dei servizi territoriali a favore dell'utente non autosufficiente e/o a rischio di divenirlo.

4) Il software che contiene tutte le informazioni del VAOR-ADI ha risposto in maniera adeguata alle attese. E' in grado di semplificare l'identificazione delle aree problematiche e di ridurre l'errore nell'esecuzione attraverso l'elaborazione di specifici protocolli di valutazione dell'utente. Rappresenta inoltre uno strumento insostituibile per la gestione completa del paziente. Durante la sperimentazione sono state apportate modifiche ed ampliamenti di funzioni che ad oggi ne fanno uno strumento completo, anche nella prospettiva futura di giungere ad una quantificazione dei costi specifici d'assistenza. Infine, ha garantito la possibilità di potersi dotare di una banca dati di estrema importanza sia sul piano epidemiologico che su quello della programmazione. Ad oggi è già stato possibile compiere confronti tra i vari distretti dell'ULSS 7 ed anche con altre aziende sanitarie italiane nonché con altre realtà di altri paesi che allo stesso modo utilizzano il VAOR-ADI.

5) La sperimentazione ADI sul territorio del distretto socio sanitario n. 3 di Vittorio Veneto, che comprende 55.809 abitanti e una popolazione di 11.500 > 65 anni, ha visto, per il 1998, 158 nuovi eletti e 241 casi trattati con una media di 76,9 anni. Tutte le valutazioni sono state effettuate con lo strumento VAOR-ADI ed i supporti informatici connessi, nonché con il sistema della presa in carico attraverso la figura del "case manager". Tale metodo ha permesso la creazione di un data base con dati analitici capaci di comparare le caratteristiche dei pazienti in ADI quali: età media, sesso, numero di diagnosi, numero di farmaci assunti, livello cognitivo, funzione fisica e sociale, tono dell'umore, continenza, supporto informale, misure di prevenzione, decubiti, barriere architettoniche, giorni di ospedalizzazione e di RSA nell'anno precedente e nell'anno seguente all'arruolamento in ADI e durata media della singola istituzionalizzazione.

I report della valutazione VAOR-ADI e quelli relativi al consumo delle risorse saranno inseriti in un software appositamente definito.

Questo metodo permetterà inoltre il controllo di qualità dei dati inseriti, in modo da verificare la congruità delle informazioni. Tutti i dati faranno capo ad un centro unico nazionale collegato via Internet al sistema di "Rete Argento" che vede impegnate molte realtà locali e regionali, nell'utilizzo dello strumento unico. Si potrà così disporre, in diverse realtà, di un metodo che con una lingua comune permetta di valutare e confrontare la tipologia degli assistiti, la qualità dell'assistenza erogata, gli obiettivi perseguiti sino alla spesa sostenuta.

Ricordiamo che i dati del sistema sono inoltre in interfaccia con il programma InterRAI che accomuna 30 centri di ricerca in 16 paesi del mondo interessati all'assistenza continuativa dell'anziano.

SINTESI RICERCA SANITARIA FINALIZZATA 750/01/97

Responsabile scientifico Fabbri Alessandro - Ente Proponente ULSS 6 di Vicenza

“E' possibile curare il malato anginoso cronico che non può trarre giovamento dalle terapie convenzionali, quali il trattamento farmacologico, l'angioplastica coronarica ed il bypass aortocoronarico?”

I dati elaborati non hanno permesso di evidenziare a mezzo degli esami eseguiti (ecocardiografia, ecodobutamina, PET, ECGramma al cicloergometro) un miglioramento della perfusione miocardica nelle aree cardiache sottoposte a LTMR. In modo non spiegabile, come segnalato in letteratura, i pazienti hanno peraltro migliorato il loro grado di angina.

Tre pazienti, arruolati per essere sottoposti a LTMR dopo un consensuale giudizio di "inoperabilità per bypass aortocoronarico" emesso da vari centri cardiocirurgici, sono stati sottoposti con successo a rivascularizzazione miocardica tradizionale a seguito del reperto anatomo-chirurgico nei preliminari della procedura di LTMR.

Questi tre casi usciti naturalmente dallo studio, hanno avuto un buon risultato in termini di sopravvivenza.

È stata reale la difficoltà nel reperire una popolazione di pazienti da sottoporre a LTMR in quanto non altrimenti operabili. Pur avendo agito in un bacino d'utenza superiore a due milioni di abitanti, il primo reclutamento ha raccolto 28 pazienti che poi si sono ridotti per la decisione di procedere verso interventi di rivascularizzazione di tipo tradizionale in ben 17 pazienti.

Lo studio da noi condotto solleva notevoli perplessità non essendo riusciti a dimostrare una logica correlazione fisiopatologia della diminuzione del male anginoso nei pazienti trattati con LTMR.

Analogamente non abbiamo potuto dimostrare un miglioramento nei follow-up rispetto alla storia naturale, nei pazienti trattati.

Appare meritevole di attenzione la presenza in letteratura di casistiche di LTMR relativamente corpose rispetto al tipo di centro che ha prodotto lo studio ed al suo bacino di utenza: la restrizione di indicazioni o l'aggressività chirurgica sembrerebbero infine essere il vero determinante sul numero delle ipotetiche procedure LTMR da effettuare.

Qual'è dunque il reale bisogno di procedure di rivascularizzazione miocardiche non convenzionale?

Sono attuali alcuni programmi TMR per via per cutanea endocavitaria.

SINTESI RICERCA SANITARIA FINALIZZATA 770/05/97

Responsabile Scientifico Palumbo Manlio - Ente Proponente Università di Padova

“Basi molecolari della resistenza/suscettibilità ai fluorochinoloni in *Mycobacterium tuberculosis*: ricadute diagnostiche e approcci terapeutici”

Lo studio intrapreso ha riguardato i seguenti punti:

- 1) acquisizione di ceppi clinici;
- 2) saggi di attività antibatterica;
- 3) isolamento e purificazione della DNA girasi;
- 4) misure di inibizione enzimatica;
- 5) interazioni DNA-girasi-chinoloni;
- 6) saggi di attività antivirale.

- 1) **Acquisizione di ceppi clinici:** Si sono acquisiti oltre 25 ceppi clinici di *M. tuberculosis* attraverso selezione da parte dei seguenti Centri veneti:

Ospedale Civile di Padova

- 2) **Saggi di attività antibatterica:** I vari ceppi sono stati testati per la loro suscettibilità ai farmaci.

Valutazione dell'attività

Il sistema usato per la valutazione dell'attività si rifà al Metodo MB/BacT. Questo sistema è comparabile con il sistema radiometrico BACTEC in quanto permette di far crescere e individuare i microrganismi *M. tuberculosis* e MOTT ("Mycobacteria Other Than Tuberculosis"), negli essudati. Il Test di suscettibilità MB/BacT viene effettuato utilizzando il sistema di coltura MB/BacT (Organon Technika, Turnhout, Belgium), i farmaci antitubercolari da saggiare (una concentrazione di farmaco per flacone) e i ceppi MAC.

MB/BacT è un metodo completamente automatico che prevede l'uso di un sensore colorimetrico (fotodiode) in grado di rilevare la crescita dei microbatteri misurando la produzione di CO₂ attraverso una reazione cromatica.

Quale farmaco di riferimento si è usata la ciprofloxacina alle concentrazioni di 0.1, 1 e 10 µM

I composti esaminati sono 6-amminochinoloni con opportune sostituzioni alle posizioni 7 e/o 8 del sistema biciclico condensato.

Le loro concentrazioni sono state variate nell'intervallo 1-50 µM.

Un controllo di crescita diretto (C) viene utilizzato come indice della vitalità della sospensione di MAC.

Risultati dei saggi di attività

I saggi di attività sono stati eseguiti sui ceppi selezionati. La crescita batterica viene bloccata in presenza di ciprofloxacina alla concentrazione minima di 10 µM, mentre gli amminochinoloni **1** e **5** non risultano attivi fino a 50 µM. Più efficace si dimostra l'amminochinolone **9**, che blocca la crescita batterica alla concentrazione di 30 µM. Anche gli altri chinoloni sono risultati non attivi fino a concentrazioni di 50 µM.

3) Isolamento e purificazione della DNA Girasi: Per valutare gli effetti di inibizione enzimatica e l'eventuale meccanismo di resistenza si è quindi proceduto all'isolamento e alla purificazione dell'enzima DNA girasi di uno dei ceppi isolati (FM35). Allo scopo si è operato secondo lo schema seguente:



Si è inizialmente provveduto alla coltivazione delle cellule e induzione della sintesi proteica mediante aggiunta di IPTG, sonicazione, precipitazione degli acidi nucleici con polymin (girasi A) o streptomycina solfato (girasi B), precipitazione delle proteine con solfato d'ammonio e dialisi.

Sono quindi state portate a termine le separazioni cromatografiche utilizzando metodiche FPLC. Queste procedure si sono presentate problematiche data la limitata espressione delle proteine di interesse. Pur avendo avuto successo, la purificazione si è dovuta ripetere più volte ed alla fine si è potuto isolare una quantità assai modesta di materiale.

I saggi di superavvolgimento sul sistema ricostituito hanno dimostrato l'attività dell'enzima e quindi confermato il successo della purificazione.

4) Saggi di inibizione enzimatica (IC₅₀): Sono stati condotti i test di inibizione dell'attività catalitica della Girasi isolata (Tabella 1). In tutti i casi si è verificato che i chinoloni esaminati risultavano poco efficaci nell'interferire con l'attività catalitica di rottura-ricongiunzione dell'enzima nel saggio di supercoiling.

Tabella 1. *Effetto della presenza di amminochinoloni (IC₅₀) sull'attività di supercoiling di DNA-girasi da M. Tuberculosis.*

Chinolone esaminato	IC ₅₀ (μM)
Amminochinolone 1	> 50
Amminochinolone 2	> 50
Amminochinolone 3	> 50
Amminochinolone 4	> 50
Amminochinolone 5	> 50
Amminochinolone 6	> 50
Amminochinolone 7	> 50
Amminochinolone 8	> 50
Amminochinolone 9	35 ± 14
Ciprofloxacina	18 ± 6

I dati sperimentali di inibizione dell'attività enzimatica ben si accordano con quelli di attività antibatterica in precedenza riportati e fanno pensare ad un fenomeno di resistenza al farmaco dovuto non a problemi farmacocinetici (influsso/efflusso), ma farmacodinamici. Per questo motivo non si è ritenuto opportuno condurre studi di uptake, verificata l'assenza di un valido riconoscimento del bersaglio molecolare.

5) Interazioni DNA girasi-chinoloni: Per una comprensione a livello molecolare dei processi di resistenza, si sono eseguiti studi di interazione tra chinoloni e DNA-girasi utilizzando un enzima suscettibile da *E. Coli* ed un suo mutante resistente caratterizzato nella sequenza. In particolare la resistenza veniva indotta da una mutazione Ser83-Trp. Si sono a questo scopo studiati gli equilibri conformazionali della subunità A, ritenuta bersaglio dei chinoloni, e della stessa subunità purificata nel mutante resistente. Le due transizioni individuate corrispondono probabilmente al disavvolgimento dei domini N- e C-terminale. I profili di denaturazione sono fortemente influenzati dallo ione magnesio, già in precedenza da noi individuato come importante ai fini del riconoscimento del sito di legame (interfaccia proteina-DNA) del chinolone. I dati in presenza/assenza di chinolone dimostrano un effetto sulla subunità wt, ma non su quella mutata. Dati di cromatografia di affinità confermano questi risultati. Si conclude che un'interazione chinolone-girasi A, mediata da Mg²⁺, e coinvolgente il residuo di Ser 83, rappresenta probabilmente un momento chiave del processo inibitorio da parte del farmaco. Questi risultati suggeriscono una revisione dei modelli finora disponibili per l'avvelenamento della girasi prodotto dal chinolone.

6) Studi su attività antivirale degli amminochinoloni.

Anche se non indicato nel programma originario, allo scopo di approfondire ulteriormente i meccanismi attraverso i quali i chinoloni riconoscono il loro bersaglio farmacologico e quindi di comprendere a livello molecolare le ragioni della resistenza, nonché di valutare nuove potenziali applicazioni chemioterapiche, si è infine condotto uno studio sull'attività antivirale degli amminochinoloni. Di recente, si è infatti scoperto che

alcuni chinoloni possono anche validamente contrastare l'infezione virale da AIDS, sia in fase acuta che cronica. La ciprofloxacina, ad esempio, è in grado di inibire in modo dose-dipendente l'espressione di HIV-1 in cellule U1 attivate con forbolo 12-miristato,13-acetato. L'effetto inibitorio è accompagnato da una riduzione di TNF-alfa e NF-kB, e dalla diminuzione dell'espressione dei geni governati da LTR. Di particolare interesse si è dimostrata la sostituzione del classico fluoro in posizione 6 con un residuo amminico, combinata alla presenza di un raggruppamento metilico. Oltre a rappresentare una novità in campo antibatterico, i nuovi composti amminochinoloni potevano quindi rivelarsi utili anche in campo antivirale. Infatti i composti esaminati, in particolare il derivato amminochinolone **8**, hanno dimostrato un interessante profilo di efficacia in vitro nei confronti di cellule cronicamente infettate con HIV-1, come riportato in Tabella 2.

Tabella 2. *Proprietà anti HIV-1 dei nuovi 6-amminochinoloni in cellule C8166. EC₅₀ rappresenta la concentrazione di composto in grado di ridurre l'attività di trascrittasi inversa del 50%. TC₅₀ rappresenta la concentrazione di composto in grado di ridurre la crescita cellulare del 50%. Si rappresenta l'indice di selettività (rapporto TC₅₀ / EC₅₀).*

Chinolone esaminato	Attività biologica		
	EC ₅₀ (μM)	TC ₅₀ (μM)	SI
Amminochinolone 1	51.2	77.9	1.5
Amminochinolone 2	2.0	8.1	4
Amminochinolone 3	40	80	2
Amminochinolone 4	9.48	42.6	4
Amminochinolone 5	0.7	9	13
Amminochinolone 6	500	>1000	>2
Amminochinolone 7	37	57	1.5
Amminochinolone 8	0.1	7	70
Amminochinolone 9	n.d	n.d.	n.d.
Ciprofloxacina	100	160	1.6

Saggi enzimatici successivamente condotti hanno evidenziato come l'ammino-chinolone interferisca modestamente con enzimi virali quali la trascrittasi inversa, l'integrasi o la proteasi. Esso risulta nettamente più efficace sull'espressione Tat/TAR mediata del trascritto virale, che potrebbe perciò costituire un nuovo bersaglio nel ciclo replicativo del virus.

CONCLUSIONI

Il lavoro riguardante questo progetto si proponeva di evidenziare l'attività di nuovi derivati chinolonici (amminochinoloni) aventi gruppi amminici nella posizione 6 del sistema aromatico al posto dei classici residui di fluoro e di studiare i meccanismi di resistenza.

In particolare si erano individuati i seguenti obiettivi:

- 1) *acquisizione di ceppi clinici,*
- 2) *saggi di attività antibatterica,*
- 3) *isolamento e purificazione della DNA girasi,*
- 4) *misure di inibizione enzimatica,*
- 5) *studio di interazioni molecolari DNA-DNA girasi-chinoloni.*

Gli obiettivi sono stati essenzialmente raggiunti, come riportato analiticamente nei paragrafi precedenti. Si è riscontrato che gli amminochinoloni risultano meno efficaci dei corrispondenti fluoro-derivati nell'inibire

l'enzima da *M. Tuberculosis* e che la diminuzione di attività non va riferita a problemi di farmacocinetica, ma ad un diminuito riconoscimento del bersaglio girasi. Ciò ha avuto anche conferma dagli studi molecolari sulla subunità A proveniente da ceppi suscettibili o resistenti.

Oltre al raggiungimento degli obiettivi dichiarati in precedenza, si sono condotti studi concernenti

6) *saggi di attività antivirale.*

Tali studi hanno dimostrato come i 6-ammino derivati, in particolare il composto **8**, costituiscano interessanti composti guida per lo sviluppo di nuovi ed efficaci farmaci contro l'AIDS, aventi il grosso vantaggio di risultare facilmente sintetizzabili e quindi a relativamente basso costo.

Date le premesse, appare importante ottenere informazioni dettagliate sul meccanismo attraverso il quale si realizza l'attività antivirale.

E' chiara infatti la potenzialità insita nell'uso di agenti antivirali (quali potrebbero rivelarsi gli amminochinoloni) dotati di meccanismi d'azione diversi da quelli già individuati, sia per un impiego congiunto con farmaci diretti verso bersagli differenziati, che per il superamento di fenomeni di resistenza indotti dai farmaci in uso.

Date queste premesse, ritornando al meccanismo di attività antivirale, appare assai interessante studiare in futuro il ruolo dei nuovi chinoloni, come tali o legati al magnesio, nel modulare le interazioni proteina-DNA o proteina-RNA che si realizzano a vari stadi del ciclo virale.

SINTESI RICERCA SANITARIA FINALIZZATA 776/01/97

Responsabile Scientifico Razzolini Renato - Ente Proponente Università di Padova

“Infarto miocardico e sindromi coronariche acute in era trombolitica e interventistica: rapporto costo/efficacia tra diversi trattamenti”.

Lo studio mostra che la PTCA primaria rispetto alla trombolisi sistemica è sicuramente un efficace trattamento alternativo in termini di mortalità, rivascolarizzazione, ischemia ricorrente e scompenso cardiaco.

In termini di recupero della funzione ventricolare la PTCA primaria sembra avere maggiore efficacia rispetto alla trombolisi se eseguita entro le due ore dall'inizio dei sintomi, soprattutto in corso di infarto miocardico acuto a sede anteriore.

Certamente bisogna sottolineare la presenza, nel gruppo PTCA primaria, di una relativa bassa percentuale di flusso TIMI 3 a fine procedura, rispetto agli studi randomizzati, con una percentuale di Blush 3 nel 57,5%. Quindi solo in questi pazienti, sottoposti ad angioplastica primaria a fine procedura, si riesce ad ottenere una ricanalizzazione ottimale a livello di vaso epicardico assieme ad una buona riperfusione miocardica.

E' noto dai risultati del trial GUSTO²⁰ come una pervietà del vaso epicardico, definita come ripristino di un flusso ematico normale nel vaso IMA-relato, comporta una riduzione del danno miocardico e un aumento della sopravvivenza.

Questa percentuale relativamente bassa di riperfusione ottimale miocardica è forse dovuta ad alcuni meccanismi che si verificano a livello del microcircolo: tra questi lo spasmo dello stesso, l'embolizzazione distale e/o trombosi in situ di piastrine e globuli rossi, l'alterazione dell'endotelio, la compressione del microcircolo per la presenza di edema interstiziale e dell'edema intracellulare dei miociti.

In recenti lavori, si è osservata una regressione del fenomeno del no-reflow dopo somministrazione di adenosina e di verapamile^{30,31}. Anche la somministrazione di abciximab in tale situazioni potrebbe avere un beneficio sul microcircolo coronarico.

E' necessario quindi utilizzare delle terapie aggiuntive farmacologiche, in associazione a device (i.e. Percuturge, X-sizer) che riducono l'embolizzazione distale e la disfunzione del microcircolo con conseguente aumento della percentuale a fine procedura di riperfusioni ottimali (alta percentuale di Blush3/TIMI 3).

E' utile anche cercare di ridurre, attraverso la stesura di protocolli, ulteriormente il tempo precoronarico, per ridurre quanto più possibile il tempo di ischemia. Tentando di ottimizzare i risultati della PTCA primaria in termini di flusso TIMI 3 e Blush 3, con una riduzione dei tempi di ischemia, sicuramente si può tentare di ottenere un'ulteriore riduzione in termini di mortalità ed eventi ischemici a breve e lungo termine e un'ulteriore

riore riduzione del danno miocardico in termini di miglioramento della funzione ventricolare rispetto alla trombolisi sistemica.

SINTESI RICERCA SANITARIA FINALIZZATA 782/01/97

Responsabile Scientifico Semplicini Andrea - Ente Proponente Università di Padova

“Verso l'identificazione di genotipi ad alto rischio cardiovascolare; ruolo del Na/H exchange e delle proteine G”.

PKC e NHE nei pazienti ipertesi

Poiché precedenti studi del nostro gruppo di ricerca avevano dimostrato il ruolo della protein kinasi C (PKC) nella regolazione di NHE nell'eritrocita umano, è stata studiata l'attività della PKC e di NHE in eritrociti di pazienti normotesi ed ipertesi. Abbiamo dimostrato che l'attività della PKC dopo stimolazione con l'estere del forbolo PMA (un forte attivatore della PKC) è più elevata negli ipertesi rispetto ai soggetti normotesi di controllo, mentre l'attività di base non differisce in modo significativo nei due gruppi. E' stata inoltre misurata l'attività di NHE sia in condizioni basali che dopo stimolazione della PKC con PMA. Abbiamo riscontrato che i pazienti ipertesi hanno un'attività di NHE più elevata dei soggetti normotesi in quanto è aumentata la velocità massima di traslocazione (V_{max}) ed è diminuito il numero di Hill. La stimolazione della PKC comportava in entrambi i gruppi una riduzione dell'affinità di NHE per i protoni intracellulari e, soprattutto, parificava l'alterazione del numero di Hill negli ipertesi. Nell'intero gruppo di studio è stato, altresì, dimostrato che l'attività della PKC è correlata con i livelli circolanti d'insulina. La maggiore attivazione di NHE nei pazienti ipertesi è quindi dovuta almeno in parte ad un'anomala attivazione della PKC.

PKC nei pazienti diabetici ed ipertesi

Per chiarire la relazione esistente tra controllo metabolico, insulina, glicemia ed attività della PKC nelle cellule circolanti, abbiamo quindi studiato l'attività della PKC nei monociti di pazienti ipertesi con diabete non-insulino dipendente. Nei monociti dei pazienti con diabete non-insulino dipendente l'attività della PKC di membrana era maggiore rispetto ai controlli ed era inversamente correlata con la insulino-sensibilità. Abbiamo dimostrato la presenza dell'isoforma α e dell'isoforma $\beta 2$ della PKC nei monociti umani. Inoltre nei monociti dei pazienti diabetici vi era una maggior quantità di PKC $\beta 2$, ma non di PKC α . Infine nei soggetti normali il clamp iperglicemico (tramite infusione di glucosio e somatostatina) provocava un aumento dell'attività della PKC. Con questo lavoro abbiamo pertanto dimostrato come in vivo l'iperglicemia sia in grado di stimolare la PKC e ciò contribuirebbe all'accelerata aterosclerosi nei pazienti diabetici e ipertesi.

Insulina, MAPK e NHE

Moltissimi studi epidemiologici hanno, da tempo, documentato l'associazione tra iperinsulinemia, ipertensione arteriosa e anomalie metaboliche: è accertato che l'insulino-resistenza si associa a ipertensione, iperinsulinemia, ipertrigliceridemia, iperuricemia, ipercolesterolemia nell'ambito della cosiddetta sindrome X. In vivo è stato dimostrato che l'iperinsulinemia è un importante fattore di rischio cardiovascolare e che pazienti iperinsulinemici ed ipertesi hanno un'attività di NHE negli eritrociti significativamente più elevata rispetto a pazienti ipertesi ma non insulino-resistenti. E' stato inoltre dimostrato che in vitro l'insulina è in grado di stimolare l'antiporto Na^+/H^+ negli eritrociti. Sia gli studi in vivo che in vitro concordano nell'affermare che negli eritrociti l'insulina aumenta la velocità massima di traslocazione (V_{max}) dell'antiporto Na^+/H^+ ma non la costante di affinità (K_m), e che questo effetto non è mediato dalla PKC, perché quest'ultima aumenta l'attività dell'antiporto Na^+/H^+ diminuendo la K_m , lasciando invariata la V_{max} . Un possibile candidato nell'alterata regolazione NHE è la MAPK, uno dei mediatori cellulari dell'azione insulinica. Abbiamo quindi studiato nell'eritrocita umano la relazione esistente tra insulina, MAPK e NHE. Abbiamo dimostrato nell'eritrocita l'esistenza delle due isoforme ERK1 ed ERK2 della MAPK. L'insulina ha stimolato sia l'attività che la fosforilazione della MAPK, raggiungendo il picco tra 3 e 5 minuti d'incubazione. Tale effetto era specifico perché veniva abolito in presenza di PD98059, un inibitore specifico dell'attivazione della MAPK.

Infine l'insulina ha attivato NHE aumentando la velocità massima (V_{max}) ma non ha modificato la costante d'affinità (K_m) per H^+ intracellulare. In presenza di PD98059, tale effetto veniva completamente abolito. Questi risultati suggeriscono che gli effetti cinetici dell'insulina sul NHE siano mediati dalla MAPK e che la

correlazione, dimostrata negli ipertesi essenziali con sindrome plurimetabolica, tra livelli di insulina e indici di insulino-resistenza, da un lato, ed attività del NHE, dall'altro, siano determinati dagli effetti postraslazionali dell'insulina sul NHE attraverso l'azione della MAPK.

Proteine G, genetica dell'ipertensione e rischio cardiovascolare

La MAPK e la PKC sono chinasi attivate da differenti tipi di recettori transmembrana attraverso l'attivazione di proteine trimeriche che legano il GTP (proteine G). Recenti studi concordano nell'attribuire alle proteine G un ruolo nella patogenesi dell'ipertensione e del danno d'organo della malattia ipertensiva. Il gruppo di ricerca del prof. W. Siffert sta attualmente studiando la relazione tra proteine G e malattia cardiovascolare. Il dott. M. Sartori si è quindi recato per sei mesi presso l'Istituto di Farmacologia dell'Università di Essen per studiare sotto la supervisione del Prof. W. Siffert l'impatto del gene GNB3, che codifica la subunità β_3 delle proteine G sulla clinica e sulla fisiologia cellulare. Recentemente il gruppo di ricerca del Prof. W. Siffert ha scoperto una mutazione puntiforme (C \rightarrow T) a carico di tale gene (GNB3 825T) in grado di provocare uno "splicing alternativo". Il prodotto dello "splicing alternativo" è una subunità β_3 più piccola ma più attiva. Studi epidemiologici hanno dimostrato l'associazione di questo polimorfismo con l'ipertensione arteriosa e l'obesità.

In collaborazione con il Dipartimento di Medicina Clinica e Sperimentale dell'Università di Padova è stata studiata la relazione tra il polimorfismo 825T e la massa cardiaca in giovani pazienti ipertesi non in trattamento farmacologico. I pazienti sono stati sottoposti ad analisi del genotipo per il gene GNB3 ed ecocardiogramma. I risultati di tale studio, in corso di valutazione per pubblicazione, evidenziano che i pazienti portatori dell'allele 825T hanno un'indice di massa del ventricolo sinistro aumentato rispetto ai pazienti omozigoti per l'allele C825. I pazienti ipertesi portatori del polimorfismo 825T sarebbero quindi più a rischio di sviluppare malattia cardiaca ipertensiva. Questi risultati saranno oggetto di comunicazione presso il XVII Congresso Nazionale della Società Italiana dell'Ipertensione Arteriosa.

Per quanto attiene alla biologia cellulare, è stata indagata la relazione tra la subunità β delle proteine G e l'attività dell'antiporto Na^+/H^+ .

Presso i laboratori dell'istituto di farmacologia dell'Università di Essen era stato dimostrato che in cellule nucleate d'ipertesi l'attività dell'antiporto Na^+/H^+ era aumentata anche dopo immortalizzazione. Precedenti studi hanno dimostrato che l'aumentata attività non è dovuta a mutazioni del gene dell'antiporto, ma ad un anormale meccanismo di trasduzione del segnale. Per verificare se la subunità β_3 delle proteine G regoli l'attività dell'antiporto Na^+/H^+ e se la mutazione di questo gene sia associata ad un'aumentata attività dell'antiporto Na^+/H^+ , abbiamo transfettato cellule HEK293 con il DNA codificante varie subunità β , tra cui la β_3 non mutata e la β_3 mutata. Attualmente stiamo analizzando i dati dell'attività dell'antiporto Na^+/H^+ nei vari cloni di cellule transfettate. Il confronto tra l'attività nei vari cloni esprimenti le diverse subunità β , permetterà di chiarire il ruolo di tale mutazione nella fisiologia cellulare e fornire la spiegazione molecolare dell'aumentata attività dell'antiporto Na^+/H^+ negli ipertesi.

Ricadute della ricerca nel campo della prevenzione e della terapia delle malattie cardiovascolari

L'individuazione di un marker genetico come il polimorfismo del gene GNB3 e di un marker biochimico come NHE costituiscono il primo passo verso una più razionale prevenzione del danno d'organo nella malattia ipertensiva e ottimizzazione della terapia farmacologica. La disponibilità di un test genetico per l'identificazione di soggetti a rischio di sviluppare l'ipertensione arteriosa e per l'identificazione degli ipertesi a maggior rischio di sviluppare le complicanze della malattia consentirebbe l'ottimizzazione delle risorse nel campo della terapia antipertensiva. Si potrebbero infatti individuare i normotesi a maggior rischio di sviluppare l'ipertensione arteriosa nei quali implementare precocemente misure preventive igienico-dietetiche e gli ipertesi a più alto rischio cardiovascolare nei quali intensificare i controlli clinici e la terapia.

L'ipertrofia del ventricolo sinistro è essa stessa un importante fattore di rischio cardiovascolare, indipendentemente dai livelli pressori. L'aver individuato l'associazione del polimorfismo del gene GNB3 con un'aumentata massa cardiaca, può non solo in parte spiegare l'osservazione che non tutti i pazienti ipertesi sviluppano ipertrofia cardiaca, ma può indicare quali pazienti siano più a rischio di danno d'organo nell'ipertensione.

Infine la dimostrazione del ruolo della PKC e della MAPK nella patogenesi dell'ipertensione e del danno d'organo può indicare alla ricerca farmacologica lo sviluppo di nuovi farmaci mirati al trattamento di un fattore eziologico dell'ipertensione arteriosa e del danno d'organo ad essa associato.

SINTESI RICERCA SANITARIA FINALIZZATA 789/01/97

Responsabile scientifico Vergani Lodovica - Ente Proponente Università di Padova.

“Protocollo diagnostico delle miopatie metaboliche con accumulo di glicogeno o di lipidi: prevenzione, trattamento dietetico o farmacologico preventivo”.

Nel corso del primo anno sono stati studiati:

- a) **Glicogenosi tipo II:** in dodici pazienti con deficit di maltasi acida adulta sono state individuate le alterazioni molecolari e correlate al relativo deficit enzimatico. E' stata inoltre testata la validità di una terapia terapeutica di salbutamolo e aminoacidi a catena ramificata in tre pazienti.
- b) **Deficit primario di carnitina:** diagnosi in due pazienti pediatriche e relativi familiari.

Nel corso del secondo anno sono stati studiati:

- a) **Deficit primario di carnitina:** analisi molecolare di mutazioni nei due pazienti pediatriche nei relativi familiari.
- b) **Pazienti con accumulo di lipidi responsivi alla riboflavina:** studio biochimico dell'omeostasi della riboflavina.

a: La deficienza sistemica di carnitina (SCD) è un difetto del trasporto della carnitina a livello del plasmalemma (Treem *et al.*, 1988), che si manifesta con trasmissione autosomica recessiva. Il difetto è generalizzato a tutte le cellule dell'organismo. La patologia si presenta in età pediatrica con cardiopatia e/o sindrome di Reye (Stanley *et al.*, 1991). A tutt'oggi circa 25 casi sono stati descritti in letteratura.

La diagnosi viene fatta in seguito al dosaggio plasmatico della carnitina, che risulta negli affetti molto basso, e confermata dalla valutazione del trasporto della carnitina marcata in vitro, negli affetti quasi totalmente assente e negli eterozigoti dimezzato rispetto ai valori di controllo. La terapia sostitutiva con carnitina è dramaticamente risolutiva, anche a fronte di un grave quadro di cardiomiopatia ipertrofica, se la diagnosi è tempestiva.

Recentemente è stato clonato il gene umano: SLC22A5, che codifica per un nuovo trasportatore proteico, chiamato OCTN2, dimostratosi avere la capacità di trasportare la carnitina con alta affinità. (Tamai *et al.*, 1998). Nezu (Nezu *et al.*, 1999) descrive per la prima volta una serie di mutazioni a carico del gene del trasportatore in pazienti affetti da deficit sistemico di carnitina.

Nel nostro laboratorio sono stati diagnosticati due pazienti pediatriche con SCD, che presentavano cardiomiopatia totalmente risolta dopo trattamento con carnitina. Lo studio del trasporto in vitro è stato esteso a tutti i membri delle rispettive famiglie (padre, madre fratello e/o sorella) e valutato su fibroblasti e linfociti. Lo studio in vitro ha confermato la quasi totale assenza del trasporto attivo da parte dei probandi e un valore intermedio rispetto ai normali nei familiari.

Nel DNA di tali pazienti è stata eseguita analisi molecolare mediante PCR dei 10 esoni e frazioni introniche e sequenza. Da detto studio è emerso che il paziente 1 presenta una mutazione missenso a livello dell'esone 3.4, una cambiamento da C a T a livello della Base 14417. Questa mutazione comporta una sostituzione dell'arginina 169 in triptofanc, ed è presente in eterozigosi. Dato che il paziente 1 presentava un deficit totale del trasporto si può ipotizzare che sia un eterozigote composto. Nel paziente 2 è presente una mutazione missenso in omozigosi a livello dell'esone 8 in posizione 22743 C→T che provoca il cambiamento amminoacidico di una treonina in metionina alla posizione 440.

La mutazione C14417T determina l'annullamento di un sito di restrizione per MspI. Abbiamo potuto quindi verificare il pattern molecolare nella famiglia del paziente 1. E' risultato che il padre è portatore avendo in eterozigosi la mutazione, la madre presenta un normale taglio per entrambi gli alleli e la sorella presentava

l'allele mutato e il wt. I dati molecolari confermavano i dati del trasporto eseguiti su linfociti e fibroblasti. Infatti i valori di trasporto della carnitina erano intermedi tra i valori di controllo e il probando.

La mutazione C22743T provoca la scomparsa di un sito di restrizione per Tsp45I. L'esame molecolare ha individuato l'esistenza della mutazione in omozigosi nel probando e in eterozigosi nella madre, padre e fratello, confermando i dati biochimici del trasporto. Infatti i componenti la famiglia del paziente 2 presentavano una attività di trasporto intermedia tra i controlli e probando, questo dato era compatibile con una loro eterozigoti (Stanley, 1991).

Per confermare che il difetto di trasporto della carnitina era causato da mutazioni R169W e T440M in OCTN2, sono stati clonati il cDNA wt e i cDNA mutati. La funzione di trasporto di OCTN2 mutata e wt è stata misurata mediante espressione in cellule umane di rhabdomyosarcoma. L'attività di trasporto basale di carnitina è stata testata su cellule trasfettate con il solo vettore di espressione (pcDNA 3.1-5), mentre le cellule trasfettate con wt-OCTN2 cDNA aumentavano il trasporto 5 volte il valore di base a concentrazioni di carnitina 5 micromolare. Invece la trasfezione con cDNA mutato sia per R169W che T440M non comportava alcun aumento del trasporto sopra i valori di base, confermando che le due mutazioni eliminavano la funzione di trasporto di OCTN2.

c) Pazienti con accumulo di lipidi responsivi alla riboflavina: studio biochimico dell'omeostasi della riboflavina.

Il ruolo fisiologico della riboflavina risiede essenzialmente nel suo essere il precursore del cofattore flavinmononucleotide (FMN) e flavin adenin dinucleotide (FAD), coenzimi di una ampia varietà di flavocoenzimi del metabolismo intermedio cellulare. La bioenergetica cellulare dipende in modo cruciale dall'attività dei flavocoenzimi, che sono principalmente localizzati nei mitocondri, come i complessi I e II della catena respiratoria, le diverse acil-CoA deidrogenasi e la flavoproteina trasferente elettroni (ETF), appartenenti alla beta-ossidazione degli acidi grassi. Inoltre lo stato riboflavinico, (cioè una adeguata disponibilità di FAD) è rilevante nell'omeostasi del glutatione, un tripeptide ubiquitario, che riveste un ruolo centrale nella rimozione delle specie reattive dell'ossigeno (ROS) e nel mantenimento complessivo dello stato redox cellulare. Infatti la glutatione redattasi (GR), che converte GSSG (glutatione ossidato) in GSH, mantenendo il corretto livello di GSH intracellulare, è un'enzima FAD dipendente.

Negli eucarioti superiori la biosintesi di FMN e FAD dalla vitamina B2 richiede due enzimi cioè : ATP:riboflavina 5 fosfotransferasi (o flavochinasi EC2.7.1.26) e ATP:FMN adeniltransferasi (o FAD sintetasi, EC 2.7.71.26). Entrambi gli enzimi sono stati trovati nel citoplasma e purificati da diverse sorgenti. D'altra parte FMN fosfatasi e FAD pirofosfatasi sono gli enzimi degradativi di questi cofattori, proposti di agire a livello lisosomiale. Recentemente Barile ha dimostrato che esistono enzimi solubili e translocatori nei mitocondri, che permettono il turnover dei fattori flavinici mitocondriali. Infatti i mitocondri possono sintetizzare FAD, che non può entrare nei mitocondri di fegato di ratto (RLM), da FMN trasportato nella matrice da un processo carrier mediato. Inoltre RLM hanno la FAD pirofosfatasi (EC 3.6.1.18) e una FMN fosfoidrolasi (EC 3.1.3.2), le cui catalisi combinate producono riboflavina nello spazio intermembrana.

La miopatia definita come acil-CoA deidrogenasi multipla responsiva alla riboflavina (RR_MAD) è una patologia caratterizzata da debolezza muscolare, accumulo di lipidi nel muscolo, deficit secondario di carnitina con blocco della beta ossidazione. La sintomatologia clinica e le alterazioni biochimiche regrediscono verso i valori normali in seguito a trattamento con riboflavina. Negli ultimi anni è emerso che questi pazienti presentano una alterazione della omeostasi della riboflavina, avendo abbassati i valori di FAD e FMN o solo nei mitocondri o in tutta la cellula.

Abbiamo studiato un gruppo di pazienti RR-MAB (tabella 1: **Agli atti c/o gli uffici della Segreteria Sanità e Sociale**) sui quali abbiamo valutato:

- 1) Carnitina muscolare prima e dopo la terapia con riboflavina (Fig. 1: **Agli atti c/o gli uffici della Segreteria Sanità e Sociale**).
- 2) FAD e FMN nel muscolo prima e dopo la terapia sostitutiva con riboflavina (Fig.2: **Agli atti c/o gli uffici della Segreteria Sanità e Sociale**).
- 3) Attività dei complessi 1 e 2 della catena respiratoria, che sono rispettivamente FMN e FAD dipendenti (Fig.3: **Agli atti c/o gli uffici della Segreteria Sanità e Sociale**).

Nel complesso questi dati indicano che il trattamento con riboflavina ripristina le concentrazioni normali dei flavocoenzimi nel muscolo dei pazienti e di conseguenza le attività dei flavocomplessi della catena respiratoria. Questo recupero biochimico comporta un ristabilimento alla normalità della fosforilazione ossidativa e una normale produzione di ATP. Non è trascurabile inoltre la considerazione che prima della terapia la ridotta attività dei complessi provochi uno stress ossidativo con incremento dei ROS, dannosi a proteine, lipidi e DNA. Il ripristino dell'attività della catena respiratoria potrebbe giovare anche ad una normalizzazione dello stress ossidativo.

SINTESI RICERCA SANITARIA FINALIZZATA 790/04/97

Responsabile Scientifico Vettore Luciano - Ente Proponente Azienda ULSS 20 Verona

“ Proposte e sperimentazioni di linee guida per la cura a domicilio di pazienti affetti da polmonite”

Hanno partecipato allo studio 25 MMG della ASL 20 di Verona - Regione Veneto. I casi totali di CAP considerati furono 201: di questi 193 (96%) furono immessi in trattamento e 8 furono esclusi (4%).

L'età media dei 193 pazienti trattati era di 55 anni; di questi 44% erano maschi, 56% femmine.

Dei pazienti immessi in trattamento:

- 182 furono trattati con successo (94,3%);
- 8 furono ricoverati in itinere per polmonite (4,1%);
- 3 furono ricoverati in itinere per altri motivi (1,6%).

Il periodo intercorso tra la comparsa dei sintomi e la prima visita è stato:

- da 0 a 1 giorno nel 32% dei casi;
- da 2 a 4 giorni nel 50,5% dei casi;
- da 5 a 10 giorni nel 13,5%;
- da 11 a 20 giorni nel 3%;
- sopra i 30 giorni nel 1%.

I sintomi più frequentemente riscontrati sono stati tosse nel 98% e febbre nel 85% dei pazienti. In percentuali molto inferiori sono stati rilevati: mialgia (32%), dispnea (31%) e dolore toracico (24%). Cefalea, cianosi e confusione si sono presentati rispettivamente nel 12%, 2% e 6% dei casi. Ai 182 pazienti trattati con successo a domicilio i MMG effettuarono:

- 298 visite ambulatoriali (in media 1,6 visite per paziente);
- 334 visite domiciliari (in media 1,8 visite per paziente);
- 632 visite in totale (in media 3,5 visite per paziente).

Dei 201 pazienti che contattarono il MMG con il sospetto di CAP per 102 (51%) fu richiesta una radiografia del torace al momento della diagnosi e per 49 (27% dei pazienti trattati) come conferma della guarigione.

L'88% delle 102 radiografie iniziali diede esito positivo per CAP; l'esame obiettivo polmonare (EO) è risultato positivo nell'86% dei casi; nel rimanente 14 % il sospetto clinico fu confermato dalla radiografia. I dati raccolti ci permettono inoltre di effettuare un confronto fra l'esame obiettivo (EO) e la Radiografia, rappresentato in figura 1.

Terapia

Nel 64,5% dei casi il trattamento antibiotico iniziale ebbe successo e pertanto fu mantenuto fino alla guarigione; nel 33% dei casi si rese necessaria durante il decorso la sostituzione con un altro principio attivo o l'associazione di due principi attivi; per il rimanente 3,5 % si dovette ricoverare il paziente in ospedale.

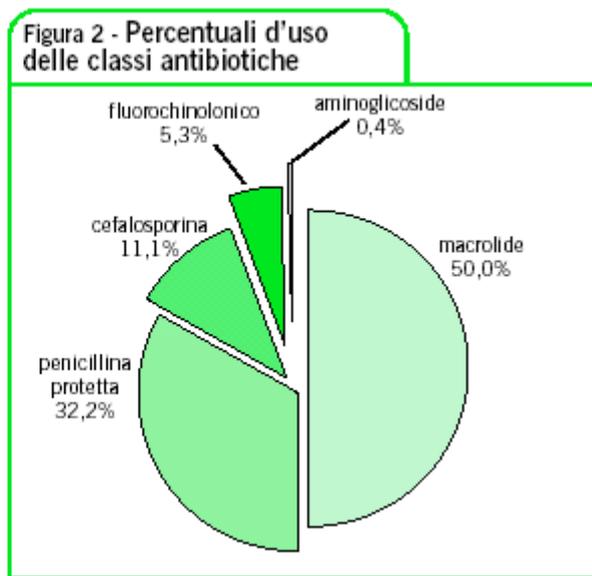
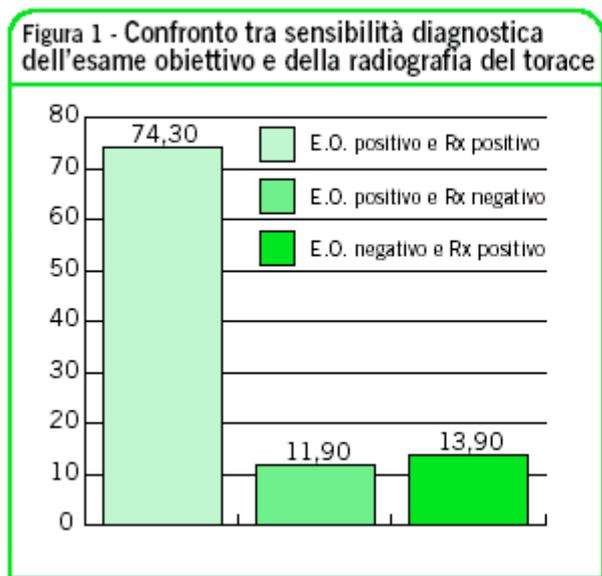
Dei 193 pazienti immessi in trattamento domiciliare, 129 furono trattati in monoterapia (figura 2): in 122 di questi (94,6%) la scelta terapeutica ebbe successo, mentre i rimanenti 7 furono ricoverati. Con la terapia di seconda scelta (associazione di due principi attivi e/o sostituzione dell'antibiotico somministrato inizialmente) furono trattati 62 pazienti: 59 con successo (95,2%); gli altri tre furono ricoverati. Nel 91% dei casi trattati con monoterapia il trattamento farmacologico si protrasse per non più di 14 giorni e nel 28% non più di 7 giorni.

Nei casi che richiesero la sostituzione dell'antibiotico o l'associazione di due principi attivi la durata del trattamento non superò i 14 giorni nel 89% e non superò i 7 giorni nel 47 %. La media complessiva dei giorni necessari alla guarigione fu di 12,6.

Considerazioni sintetiche conclusive

I medici partecipanti alla sperimentazione ritengono che i principali obiettivi del progetto siano stati raggiunti, e che - in particolare - facendo tesoro dei risultati di questa esperienza risulti in futuro più semplice:

- 1) diagnosticare i pazienti affetti da CAP;
- 2) individuare con maggior sicurezza rispetto al passato i criteri per la loro ospedalizzazione;
- 3) scegliere la terapia antibiotica adeguata facendo riferimento alla linea guida terapeutica costruita sulla base della letteratura internazionale e successivamente validata da un gruppo di MMG operanti nello stesso territorio.



SINTESI RICERCA SANITARIA FINALIZZATA 791/04/97

Responsabile Scientifico Vianello Andrea - Ente Proponente ULSS 16 di Padova

“I pazienti ventilatore/dipendenti nella Regione Veneto: definizione di linee guida per la ventiloterapia domiciliare a lungo termine”.

LINEE-GUIDA PER LA VENTILOTERAPIA DOMICILIARE A LUNGO TERMINE - Parte I

Condizioni mediche appropriate:

- Neuropatie e miopatie (esiti di poliomielite, lesioni midollari, Sclerosi Laterale Amiotrofica, Distrofie Muscolari e Miopatie Congenite)
- Deformità della gabbia toracica (cifoscoliosi, esiti di toracoplastica)
- Obesità grave
- Broncopneumopatia cronica ostruttiva

Indicazioni al trattamento:

a. Principali

- «Non svezabilità» dalla protesi ventilatoria
- Frequente insorgenza di episodi di severa Insufficienza Respiratoria Acuta
- Presenza di sintomi di ipercapnia, associati a lieve-moderata ritenzione di CO2, in condizioni cliniche stabili

b. Accessorie

- Ipossiemia notturna stabile ($\text{SaO}_2 < 90\%$ per oltre 5 minuti consecutivi), nei disordini primitivi della pompa ventilatoria

Modalità di trattamento:*a. Connessione paziente-ventilatore*

- non-invasiva, tramite maschera nasale o oronasale
- invasiva, per via trachestomica, nei seguenti casi:
 1. fallimento della ventilazione non-invasiva
 2. coesistenza di disturbi della deglutizione di grado severo

b. Tipo di ventilazione

- A Pressione Positiva Intermittente
 - ciclata sul volume
 - ciclata sulla pressione (non applicabile per via invasiva)

c. Durata quotidiana dell'applicazione

- legata alle esigenze del singolo paziente; preferibilmente per l'intera notte

Controindicazioni:

- rifiuto del paziente o scarsa motivazione
- inadeguate condizioni socio-culturali o familiari

LINEE-GUIDA PER LA VENTILOTERAPIA A DOMICILIARE A LUNGO TERMINE - Parte II**Follow-up clinico-funzionale:***a. Tipo di indagini*

- fondamentali:
 1. esame fisico
 2. emogasanalisi
- accessorie:
 1. spirometria

b. Cadenza dei controlli domiciliari

- ogni 4-6 settimane, in condizioni cliniche stabili;
- al bisogno, in caso di variazione dello stato clinico o di modifica del piano di cura e gestione

Risorse e servizi indispensabili a domicilio:*a. Risorse*

1. ventilatore meccanico
 - caratteristiche preferenziali:
 - versatilità (applicazione invasiva e non-invasiva)
 - silenziosità
 - efficiente assistenza tecnica
 - accuratezza dei sistemi di allarme, in caso di totale dipendenza dal respiratore
2. sistema di umidificazione-riscaldamento dell'aria, in caso di ricorso a tIPPV
3. sistema di aspirazione bronchiale, in caso di ricorso a tIPPV
4. resuscitatore manuale (tipo Ambu), in caso di totale dipendenza dal respiratore
5. polsossimetro transcutaneo, qualora vi sia il rischio di una frequente e severa ingravescenza clinica

b. Servizi

- per soggetti sottoposti a ventilazione invasiva:
 - reperibilità ed assistenza tecnica nelle 24 ore
 - assistenza infermieristica
 - reperibilità del medico di medicina generale nelle 24 ore
 - consulenza specialistica rianimatoria
- per soggetti sottoposti a ventilazione non-invasiva
 - consulenza pneumologica
 - reperibilità ed assistenza tecnica nelle 24 ore

SINTESI RICERCA SANITARIA FINALIZZATA 795/01/97**Responsabile scientifico Zonzin Pietro - Ente Proponente ULSS 18 di Rovigo****“Infarto miocardico e sindromi coronariche acute in era trombolitica ed interventistica: identificazione di cause non aterosclerotiche e conseguenti strategie terapeutiche”.**

In donne in età fertile, se assumono estroprogestinici o soprattutto in gravidanza o nel peripartum, la comparsa di IMA da dissezione coronarica rappresenta un evento, sebbene raro, tuttavia non eccezionale.

L'istituzione di un registro su tale patologia si è dimostrato dare la possibilità di uno studio più completo, con analisi dei dati clinico strumentali ed anatomo - patologici, sui vari aspetti della malattia e ricavare elementi di tipo epidemiologico sino ad ora ancora incompleti e di poter acquisire una maggiore sensibilità al problema permettendoci di essere più attenti nella diagnosi e di meglio capire quale miglior trattamento terapeutico istituire.

Inoltre potrà essere lo spunto per ulteriori ricerche future anche in campo genetico e di tipo collaborativo con altre branche (visto anche la relativa frequenza, per esempio, della dissezione spontanea delle arterie carotidi e vertebrali).

SINTESI RICERCA SANITARIA FINALIZZATA 797/03/98**Responsabile scientifico Angi Mario - Ente Proponente Università di Padova****“Anoftalmo e microftalmo: studio epidemiologico e clinico nei nati vivi del Nord-Est d'Italia nel periodo 1981-1998”.**

Nel periodo 1981-2000 sono stati diagnosticati nella Regione Veneto: 24 anoftalmi (22 nati e 2 IVG) e 2 microftalmi (29 nati e 3 IVG).

Nello stesso periodo sono nati nella Regione Veneto 780.392 nati.

La prevalenza per anno di anoftalmo e microftalmo è in tabella.

Non vi sono differenze temporali nel periodo studiato e la variabilità osservata rientra nell'atteso per una malformazione rara.

La valutazione della distribuzione dei casi per provincia di residenza dei genitori non ha evidenziato alcuna aggregazione significativa.

L'analisi dei casi segnalati ha permesso di evidenziare che l'anoftalmo/microftalmo è solo raramente isolato. Solo 11 casi (4 anoftalmi e 7 microftalmi) su un totale di 56 casi non sono associati ad altre malformazioni.

18 casi sono associati ad anomalie cromosomiche che rendono la prognosi per questi bambini infausta (trisomia 13, trisomia 18).

Non è possibile escludere una sottostima nei casi di interruzione volontaria di gravidanza per anomalia fetale, in quanto la valutazione oculare è particolarmente difficile nei feti.

Tabella.**Distribuzione dei casi di ano-microftalmo nelle Regione Veneto nel periodo 1981-2000**

ANNO	N. CASI ANO/MICROFTALMO	TOT NATI VENETO	PREVALENZA X10,000
------	-------------------------	-----------------	--------------------

1981	0	27708	-
1982	0	36321	-
1983	1	37233	0.03
1984	2	37252	0.05
1985	3	37303	0.08
1986	2	34806	0.05
1987	5	34714	0.14
1988	2	37301	0.05
1989	1	36997	0.03
1990	0	37852	--
1991	4	37722	0.11
1992	2	38112	0.05
1993	5	37089	0.13
1994	5	36236	0.14
1995	3	35954	0.09
1996	3	39339	0.08
1997	5	38585	0.13
1998	3	40774	0.07
1999	7	41512	0.18
2000	3	41389	0.08
Totale	56	780392	0.07

RICADUTE CLINICHE

L'anofalmo/microftalmo rappresenta un completo insuccesso di sviluppo della vescicola ottica, o un precoce arresto del suo sviluppo. Sono state proposte molte cause nella patogenesi dell'anofalmo. La bilateralità induce a pensare ad un evento teratogenico precoce e generalizzato. Infezioni pre-natali, esposizione a radiazioni, agenti chimici o droghe quale l'LSD o altri composti ambientali possono giocare un ruolo nel determinismo della patologia.

Alcune famiglie hanno presentato un gene dominante per coloboma, con variabile espressione di microftalmo o criptoftalmo.

La variabilità osservata nella prevalenza di anofalmo/microftalmo riportata in tabella e l'associazione significativa con anomalie cromosomiche indicano che non vi è stato nel periodo 1981-2000 nel Veneto un aumento di tale malformazione che possa essere imputato 'tout court' ad eventi teratogenici, in quanto la percentuale annuale dei casi non supera (salvo nel 1999) lo 0,17 x10.000 descritta come normale nella popolazione.

Il difetto della visione dipende dalla severità del microftalmo, e dalla sua bilateralità.

L'oculista che si trovi in presenza di un caso di microftalmo nel neonato è chiamato a:

- valutare il livello della funzione visiva
- valutare il difetto refrattivo
- esplorare il fundus, alla ricerca di un eventuale coloboma
- valutare il tono oculare, per escludere un glaucoma
- raccogliere un'accurata anamnesi per individuare fattori contribuenti sia ambientali che genetici

L'intervento terapeutico precoce è di estrema importanza, e si basa su un approccio pluridisciplinare che coinvolge oculisti, psicologi, fisioterapisti e rieducatori della ipovisione. In presenza di anofalmo, è indicata una protesi cosmetica che, avendo il ruolo di tutore, collabora nello sviluppo delle ossa orbitarie e deve essere sostituita periodicamente con aumenti progressivi di volume.

SINTESI RICERCA SANITARIA FINALIZZATA 798/03/98

Responsabile scientifico Anglani Franca - Ente Proponente Università di Padova**“Malattia di dent: una causa rara e misconosciuta di insufficienza renale cronica potenzialmente prevenibile”.**

La ricerca in oggetto aveva lo scopo di individuare mediante analisi di genetica molecolare i pazienti affetti da una particolare forma di calcolosi ereditaria, chiamata Malattia di Dent. E' questa infatti, contrariamente alle altre forme di calcolosi, una nefropatia con alto rischio di evoluzione in uremia tra la 3°-5° decade di vita. La possibilità quindi di una diagnosi precoce e precisa della malattia, in epoca pediatrica, quando i segni clinici sono spesso trascurati o misconosciuti, è di estrema importanza ai fini della modificazione della storia naturale della malattia. Inoltre poiché riteniamo che la malattia di Dent possa essere sottodiagnosticata, abbiamo condotto l'analisi molecolare per identificare portatori della malattia di Dent anche in pazienti adulti, con calcolosi idiopatica che sono evoluti in IRC.

La malattia di Dent rientra nel pool delle malattie rare e la sua prevalenza è quindi inferiore a 1/2000. Il primo anno di attività si è quindi incentrato nell'organizzare una rete di comunicazione e collaborazione tra ricercatori in campo nefrologico ed urologico che avesse come tema di ricerca la genetica della calcolosi e che costituisse un canale privilegiato di reclutamento di pazienti con calcolosi familiare, compresa la malattia di Dent, su cui condurre analisi di genetica epidemiologica e molecolare. Sono stati costituiti 2 network, uno a livello nazionale e uno a livello regionale.

E' stato inoltre attivato e segnalato all'Istituto Superiore di Sanità, nell'ambito dell'iniziativa di sorveglianza delle malattie rare da questo intrapresa, il registro per il reclutamento della malattia di Dent. Il nostro gruppo ha partecipato, a Roma nel novembre 1999, e nel dicembre 2001 al III e IV Convegno sulle malattie genetiche e malattie rare organizzato dall'Istituto Superiore di Sanità.

Sono stati reclutati 25 pazienti di cui 5 con sospetto clinico di malattia di Dent

Per ogni paziente, previo consenso informato, è stato raccolto il DNA da leucociti di sangue periferico. Mediante amplificazione genica (PCR) con primer specifici, è stata analizzata l'intera sequenza codificante del gene CLCN5, le cui alterazioni sono causa della malattia di Dent, comprese le regioni di giunzione intron-esone con la tecnica SSCP e successivo sequenziamento.

Sono state trovate due nuove mutazioni, mai precedentemente descritte: l'una, una sostituzione di una citosina con una guanina in posizione 1309 della sequenza nucleotidica e precisamente nell'esone 8, è stata trovata in un paziente pediatrico, con familiarità per malattia di Dent. Infatti la mutazione è stata trovata nello zio materno, affetto da malattia di Dent, e la madre e la nonna materna del probando sono risultate, come atteso, portatrici della mutazione. L'altra mutazione è stata trovata in un paziente adulto affetto da calcolosi idiopatica familiare (anche il padre e la madre sono calcolotici), ma non con i classici segni di malattia di Dent, tranne una leggera insufficienza renale. In questo paziente è stata trovata una mutazione de novo (la madre non è portatrice della mutazione) e precisamente una sostituzione di una adenina con una guanina nell'introne 2, in una posizione cruciale per il corretto processamento del RNA messaggero. Mentre per la prima mutazione, la sostituzione amminoacidica causata dalla sostituzione nucleotidica, e cioè la sostituzione di un amminoacido polare non carico, l'asparagina, con uno polare carico, la lisina (N340K) costituisce senza dubbio una perturbazione del funzionamento della proteina (il cambiamento amminoacidico cade in un dominio intramembranoso, dove la polarità della sequenza proteica deve adattarsi a quella dello strato lipidico), per la seconda è stato necessario procedere all'analisi del RNA messaggero di CLCN5 nel paziente per verificare se la mutazione fosse causa di errori di splicing. Per fare ciò, abbiamo raccolto RNA totale dai leucociti del paziente e abbiamo analizzato la regione del 5' del gene sia quella tradotta (esone 2-5) sia quella non tradotta, comprendente gli esoni 1a e 1b che caratterizzano le due isoforme del gene. Inoltre abbiamo utilizzato RNA estratto da biopsie renali di controllo (parte sane di nefrectomie per carcinoma renale) e da leucociti di sangue periferico di soggetti normali per verificare l'espressione di queste isoforme nei due tipi di tessuto. I risultati ottenuti da questa analisi ci hanno permesso di verificare che, contrariamente a quanto descritto in letteratura, nel tessuto renale l'isoforma 1B non è espressa, è presente invece l'isoforma 1A ed un'altra isoforma mai descritta. Il sequenziamento di questa isoforma ci ha permesso di definire che essa è costituita da una nuova estremità 5' caratterizzata dalla presenza dell'esone 1b e dell'introne 1, che, contrariamente a quanto succede di solito, non è stato eliminato durante il processamento dal trascritto primario a messaggero maturo. Questo fenomeno di inserimento di un introne nel messaggero, soprattutto nella parte non tradotta, può rispondere ad

esigenze di regolazione della traduzione. Anche nei leucociti è presente questa nuova isoforma, non è presente l'isoforma 1B, e l'isoforma 1A sembra essere sottoregolata. Ipotizziamo che nei leucociti possa essere presente un'altra isoforma non ancora descritta, la cui caratterizzazione sarà oggetto di un nuovo progetto di lavoro.

Nel paziente portatore della mutazione nell'introne 2, l'estremità 5' tradotta è identica a quella dei soggetti di controllo, mentre quella non tradotta è a tutt'oggi oggetto di indagine. La definizione di tutte le isoforme del gene *CLCN5* ci permetterà di definire meglio anche il significato funzionale della mutazione insorta de novo in questo paziente che non presentava i classici segni della malattia di Dent.

In conclusione, i risultati da noi conseguiti ci hanno permesso:

1. di costituire un network per lo studio e la diagnosi delle calcolosi idiopatiche;
2. di approntare un test diagnostico per la malattia di Dent e le sue varianti fenotipiche, quali il rachitismo ipofosfatemico X-linked, la nefrolitiasi recessiva X-linked, e la proteinuria a basso peso molecolare idiopatica;
3. di identificare due nuove mutazioni del gene *CLCN5* che sono causa dell'insorgenza della malattia di Dent in una famiglia e probabile causa di una forma di calcolosi idiopatica non riconducibile al fenotipo Dent o alle sue varianti, in un'altro paziente;
4. di fornire una consulenza genetica appropriata nel caso della mutazione familiare, soprattutto per la sorella del probando, escludendo per lei lo stato di portatore;
5. di escludere la presenza di mutazioni del gene *CLCN5* in un caso di tubulopatia prossimale, molto simile alla tubulopatia presente nella malattia di Dent in un'altra famiglia;
6. di individuare la presenza di una nuova isoforma del gene, sia nel tessuto renale che nei leucociti di sangue periferico, mai descritta precedentemente, il cui significato funzionale sarà oggetto di ricerca.

I risultati della presente ricerca sono stati accettati per la presentazione al convegno nazionale della Società Italiana di Genetica Umana (Verona 25-27 settembre 2002) e al convegno nazionale della Società Italiana di Nefrologia Pediatrica (Cagliari 10-12 ottobre 2002).

SINTESI RICERCA SANITARIA FINALIZZATA 799/04/98

Responsabile scientifico Armato Ubaldo – Barisoni Dino - Ente Proponente Università di Verona e Azienda Ospedaliera di Verona.

“Studi sulla capacità degli xenotrapianti di cute suina di indurre la rigenerazione del derma umano in corrispondenza di ustioni profonde ed estese”.

Il nostro studio ha operato su due linee parallele, una secondo i criteri della ricerca biologica di base ed una secondo i parametri della ricerca clinica applicata.

Per gli studi biologici di base sono state impiegate tecniche molteplici — di istologia e microscopia ottica, di immunocitochimica, di immunofluorescenza, di coltura *in vitro* di tessuti, di RT-PCR, di Northern *blotting*, di *RNA protection assay* (RPA), di Western *immunoblotting*, e di ELISA/EIA — al fine di documentare la capacità della cute suina neonatale di produrre citochine tanto *in vitro*, prima e dopo un ciclo di congelamento e scongelamento, quanto *in vivo* dopo la sua applicazione sui letti di ustioni profonde ed estese.

Le ricerche cliniche effettuate in parallelo hanno consentito da un lato di prelevare ad intervalli temporali predefiniti alcuni frammenti della cute suina applicata sui letti delle ustioni per studiarne la produzione di citochine *in vivo* e dall'altro di documentare sotto il profilo clinico gli effetti favorevoli dell'applicazione degli xenotrapianti, da soli o combinati con omotrapianti cutanei, sul processo di guarigione e sugli esiti delle ustioni gravi ed estese.

A. Ricerche biologiche di base

I risultati delle nostre indagini hanno in primo luogo dimostrato che la cute suina neonatale, se preparata correttamente, mantiene a lungo *in vitro* la vitalità tanto delle cellule epiteliali epidermiche e dei bulbi piliferi quanto delle cellule connettivali (per lo più fibroblasti e cellule endoteliali dei vasi sanguigni). *In vitro*, le

cellule epiteliali soprattutto, ma anche quelle connettivali della cute suina possono mantenere un'attività proliferativa di entità modesta simile a quella che è loro propria *in vivo* e che consente il completamento del processo di cheratinizzazione (**Figg. 1, 2: Agli atti presso gli uffici della Segreteria Sanità e Sociale**).

L'esame istologico dei campioni di cute suina prelevati a distanze di tempo diverse dai letti delle ustioni gravi cui era stata applicata ha dimostrato il buon mantenimento della struttura del derma accompagnato, per contro, da un certo grado di declino della vitalità dell'epidermide (ma non delle cellule epiteliali dei bulbi piliferi) probabilmente causato *in vivo* dalla perdita per evaporazione dell'acqua cellulare.

I diversi metodi di esame impiegati ci hanno comunque consentito di stabilire che le cellule epidermiche e dermiche della cute suina neonatale mantengono per periodi di tempo protratti (sino a 21 giorni *in vitro* ed a 10-12 giorni *in vivo*) la capacità di produrre svariate citochine, le quali tutte svolgono ruoli importanti nei processi di rigenerazione cutanea e di guarigione delle ferite profonde ed estese causate dalle ustioni gravi.

Tra le citochine che le cellule della cute suina *in vitro* ed *in vivo* esprimono a livello di RNA messaggeri (mRNA) specifici e sintetizzano come proteine si annoverano il *tumor necrosis factor- α* (TNF- α), il *transforming growth factor- β* (TGF- β), l'interleuchina-1 α (IL-1 α), l'interleuchina-1 β (IL-1 β), l'interleuchina-6 (IL-6), ed il *granulocyte-macrophage colony stimulating factor* (GM-CSF). Riteniamo importante menzionare qui il riscontro che *in vitro* e, molto probabilmente anche *in vivo*, le citochine sopra menzionate sono, con l'eccezione del TGF- β , anche secrete nell'ambiente esterno in quantità tali da potervi essere dosate senza difficoltà particolari mediante le tecniche *ELISA/EIA*.

Inoltre, i risultati delle ricerche di immunocitochimica hanno dimostrato che tale produzione a livello cellulare e, probabilmente secrezione, delle svariate citochine ha luogo anche nella cute suina neonatale applicata sui letti delle ferite da ustione *in vivo*.

I dati che in modo sia pure succinto abbiamo qui sopra riportato indicano che la cute suina neonatale adeguatamente preparata e quindi xenotrapiantata sulle ustioni gravi e profonde non funziona *sic et simpliciter* come un bendaggio inerte o passivo, che chiuda le ferite prevenendo le perdite di liquidi e proteine da un lato e la penetrazione nell'organismo dell'ustionato di microorganismi patogeni pericolosi per la vita. La cute suina neonatale risulta operare anche e soprattutto come un **bendaggio attivo**, che produce e rilascia almeno per 10-12 giorni *in vivo* svariate citochine. Tali molecole esercitano, con l'insieme delle loro attività fisiologiche, un impatto molto favorevole (1) sui processi di rigenerazione del tessuto dermico mediati dai fibroblasti e, presumibilmente dalle cellule degli endoteli vascolari e (2) sull'attecchimento sul derma così rigenerato degli autotrapianti cutanei.

B. Ricerche cliniche

Gli studi effettuati in parallelo *dall'equipe* del Prof. Dino Barisoni hanno ulteriormente ampliato la casistica clinica degli ustionati gravi trattati con gli xenotrapianti di cute suina neonatale, impiegati da soli od in associazione con gli autotrapianti cutanei preparati a rete (*meshed*).

I risultati sono stati lusinghieri con entrambe le modalità applicative, in quanto si è ottenuto un accorciamento significativo dei tempi di guarigione delle lesioni da ustione grave ed una non trascurabile riduzione degli esiti cicatriziali locali.

Inoltre, è stato possibile prelevare dalla cute suina neonatale applicata ai letti delle ustioni gravi ed estese una serie di piccole biopsie effettuate a distanze di tempo predeterminate, sulle quali i Collaboratori del Prof. U. Armato hanno evidenziato con metodi diversi il mantenimento della produzione di citochine *in vivo*.

In sommario, gli xenotrapianti temporanei di cute di suino neonato preparati in modo adeguato mantengono la capacità di produrre e rilasciare *in loco* svariate citochine che favoriscono la rigenerazione del derma umano nelle sedi delle ustioni profonde. Per tale ragione, gli xenotrapianti temporanei di cute di suino neonato risultano altrettanto, se non addirittura più efficaci degli allotrapianti cutanei prelevati dai cadaveri e costituiscono un presidio terapeutico di sicura efficacia per gli ustionati gravi tanto se impiegati da soli quanto se associati ad autotrapianti cutanei.

SINTESI RICERCA SANITARIA FINALIZZATA 804/05/98

Responsabile scientifico Cazzola Luigi - Ente Proponente ULSS 2 di Feltre.

“Attivazione sistema qualità aziendale, coordinato con il piano aziendale per la sicurezza e con il sistema per la gestione controllata delle risorse”.

L'Azienda ULSS n. 2 di Feltre ha inteso sperimentare con la Ricerca Sanitaria Finalizzata l'implementazione di un Sistema di **Gestione Aziendale Integrato** strumento di governo dei processi trasversali e di miglioramento continuo necessario per perseguire gli obiettivi aziendali.

I principi fondamentali che sottintendono la politica della nostra azienda sono:

- la centralità dell'utente;
- la sicurezza delle cure;
- il miglioramento continuo dei processi in termini di efficacia, efficienza, appropriatezza ed economicità;
- l'attenzione agli impatti ambientali delle attività svolte;
- l'approccio sistemico alla gestione aziendale;
- il coinvolgimento e la valorizzazione di tutti i professionisti che operano struttura sanitaria;
- l'affidabilità delle decisioni basate su dati oggettivi e reali.

Si ritiene che il progetto presenti aspetti fortemente innovativi per le seguenti ragioni:

- 1) è stato introdotto un concetto di "qualità" correlato, non solamente all'efficacia, all'efficienza e all'appropriatezza delle prestazioni o di un Servizio, ma anche alla sicurezza degli operatori, alla tutela ambientale ed all'uso appropriato delle risorse disponibili;
- 2) è stata applicata in un'azienda di servizi pubblica una metodologia manageriale nata e sviluppata in ambito industriale e della quale la letteratura in merito offriva riferimenti oggettivi sulle modalità di approccio e di attuazione;
- 3) all'avvio del progetto non esistevano realizzazioni applicative che coinvolgevano tutta la struttura;
- 4) l'azienda ULSS n. 2 non ha limitato la sperimentazione ad alcune Unità Operative ma ha cercato di coinvolgere tutta la struttura aziendale.

Per realizzare questo progetto ci siamo mossi in modo graduale applicando dapprima le norme UNI EN ISO 9000 quale strumento per implementare un sistema di qualità in aree omogenee, individuate in alcune Unità Operative/Servizi. Questo ha permesso, tra l'altro, di diffondere gradualmente in tutta l'azienda la metodologia di cultura di una gestione per processi e di cogliere gli aspetti problematici da affrontare.

Successivamente, nei medesimi Servizi, gli aspetti qualitativi delle attività sono stati integrati con quelli della sicurezza, dell'ambiente e dell'utilizzo appropriato delle risorse da sperimentare la fattibilità di un approccio globale ai problemi mediante un Sistema di Gestione Integrato.

Infine, con l'esperienza acquisita dalla sperimentazione nei singoli Servizi, si va gradualmente estendendo, in tutte le strutture aziendali, un sistema organizzativo capace di governare i processi trasversali sotto ogni dimensione.

I risultati, che prescindono dal riconoscimento dell'efficacia del sistema di gestione ottenuto per quattro servizi della nostra ULSS da parte di un Organismo di Certificazione sono molteplici e di rilevante interesse.

E' migliorato il livello di soddisfazione degli utenti, misurato attraverso la somministrazione di questionari appositi e l'analisi dei reclami pervenuti.

E' costantemente tenuto sotto controllo un gruppo di indicatori significativi e di valutazioni effettuate sino ad oggi si dimostra aumentata l'economicità della gestione dei singoli servizi, la tempestività di risposta e l'efficienza.

E' maturata la volontà di trasferire questa sperimentazione settoriale, ai processi trasversali dell'Azienda.

L'azienda ha formato al proprio interno un gruppo di persone di professionalità che lavorando in sinergia hanno adattato una metodologia tipicamente management aziendale alla complessa realtà sanitaria e sono ora in grado di trasmettere al proprio interno e all'esterno i fondamenti di questo nuovo modo di operare conoscendone difficoltà culturali ed applicative.

A dimostrazione delle attività svolte nell'ambito della Ricerca Sanitaria Finalizzata allega una relazione puntuale esplicativa della realizzazione del progetto presentato e nei passi maggiormente significativi la documentazione prodotta.

SINTESI RICERCA SANITARIA FINALIZZATA 806/03/98**Responsabile scientifico Bonetti Franco- Ente Proponente Università di Verona.**

“La sclerosi tuberosa: analisi morfologica, immunoistochimica e genetica delle lesioni della sclerosi tuberosa; attivazione sito internet di informazione e comunicazione sulla sclerosi tuberosa con acquisizione di immagine”.

Lo studio si è concentrato sull'analisi morfologica, fenotipica e molecolare delle lesioni associate alla sindrome della Sclerosi Tuberosa. Abbiamo identificato un nuovo tipo cellulare che abbiamo denominato PEC (Perivascular Eepithelioid Cell).

Questa nuova cellula è presente in una famiglia di tumori di nuova identificazione (PEComi). Caratteristica di tali tumori è il presentarsi come tumori maligni, essere quindi così diagnosticati, mentre nella grande maggioranza dei casi sono benigni. Da ciò la necessità di identificare parametri per definire la benignità o malignità di tali lesioni.

E' stato identificato un nuovo tumore addomino-pelvico composto da cellule PEC, che appare correlato alla sindrome della Sclerosi Tuberosa. (bonetti et el, Mod Pathol 2001).

Abbiamo dimostrato la presenza di alterazioni geniche (perdita di eterozigotità al 16p) in un tumore benigno composto da PEC del rene, nella sua trasformazione maligna e nella metastasi polmonare seguente.

Questo dato dimostra che i tumori composti da PEC presentano una alterazione del DNA analoga a quella della sindrome della Sclerosi tuberosa e che questa alterazione permane anche nella rara evenienza di una trasformazione maligna (Martignoni et al, Am J Surg Pathol, 2000).

Abbiamo identificato una variante di angiomiolipoma renale associato alla Sclerosi Tuberosa, che presenta aspetti morfologici di un'altra neoplasia: l'oncocitoma, con cui era precedentemente confuso.(Oncocytoma-like angiomyolipoma: Marignoni et al, Arch Pathol Lab Med, 2001).

L'analisi molecolare delle lesioni nella Sclerosi Tuberosa e nella malattia policistica del rene ha evidenziato una notevole analogia e parziale sovrapposizione tra queste due patologie. Abbiamo dimostrato la continuità morfologica nel rene di un paziente con la "TSC2/PKD1 contiguous genetic Syndrome" evidenziando la presenza nello stesso rene delle lesioni tipiche tanto della TSC che della PDK1. Questo dimostra che la contiguità a livello genico può trovare un corrispettivo nella espressione tumorale nel rene del paziente. L'insieme di questi dati approfondisce il tema fondamentale della nostra ricerca e cioè che il danno genetico della Sclerosi Tuberosa ha un effetto oncogeno ben definito sulle cellule PEC.

La maggior conoscenza dei meccanismi molecolari alla base della TSC avrà quindi un importante effetto anche sulle nostre conoscenze sulla oncogenesi.

Possibili Sviluppi Della Ricerca

Possibili sviluppi benché vadano avanti di pari passo ci sembra utile dividere i possibili sviluppi nei due aspetti scientifico e assistenziale:

1) Sviluppo scientifico: la Sclerosi tuberosa era dieci anni fa una malattia praticamente sconosciuta. In questi ultimi anni c'è stata una vera esplosione di ricerca su questo argomento e numerosi lavori sono apparsi nella letteratura mondiale. Oltre alla tipizzazione morfologica e fenotipica delle lesioni che prosegue appare ora necessario procedere con una più diffusa tipizzazione molecolare con sonde di DNA e correlarla alla analisi genetica dei pazienti. I recenti velocissimi progressi nelle tecniche di studio del DNA rendono questo obiettivo realizzabile. Appare però necessario uno sforzo di centralizzazione dei dati e della casistica (TS Clinic);

2) Sviluppo assistenziale: In una patologia complessa come la TS, che coinvolge praticamente tutti gli organi anche se in modo molto variabile, appare necessario sviluppare un centro di riferimento a cui i pazienti possano rivolgersi. Non è infatti pensabile che un paziente visiti numerosi specialisti tutti con scarsa conoscenza della TS. Inoltre le nuove informazioni che emergono sulla TS devono essere subito a disposizione dei pazienti.

SINTESI RICERCA SANITARIA FINALIZZATA 809/03/98

Responsabile scientifico Carnielli Virgilio - Ente Proponente Azienda Ospedaliera di Padova.**“Metabolismo del surfactant polmonare in neonati con ernia diaframmatica congenita”.**

Lo studio aveva come obiettivo quello di misurare il metabolismo del surfactant endogeno in neonati con ernia diaframmatica e insufficienza respiratoria acuta.

Abbiamo studiato 14 neonati con ernia diaframmatica (CDH) e 8 neonati di controllo. In 12 neonati con CDH e in 5 neonati di controllo è stata somministrata per 24 h una infusione sterile di acido palmitico marcato con l'isotopo stabile carbonio 13. Sono stati raccolti aspirati tracheali ogni 6 ore per le prime 72 ore dello studio in tutti i pazienti studiati e successivamente ogni 12 h fino all'estubazione o per 10 giorni consecutivi. Abbiamo inoltre raccolto, nei neonati che avevano ricevuto l'infusione di palmitato isotopo stabile, un campione di sangue ogni 6 ore durante le prime 24 ore dello studio.

Abbiamo misurato la quantità di DSPC, di proteine totali e di proteina specifica A (SP-A) ottenuta da ciascun aspirato tracheale con i metodi recentemente descritti (Cogo P et al. AJCCM in press). Questi parametri quantitativi sono stati espressi per ml di "Epithelial Lining Fluid (ELF) secondo il metodo descritto da Dargaville et al. (Dargaville et al: AJRCCM 1999;160:778-84). Abbiamo inoltre misurato l'arricchimento isotopico in ¹³C nel palmitato della DSPC ottenuta dagli aspirati tracheali e nel plasma di tutti i bambini che avevano ricevuto una infusione di isotopo stabile con tecniche di spettrometria di massa.

Dalle curve di arricchimento isotopico abbiamo calcolato i seguenti parametri di cinetica: Frazione di sintesi della DSPC (FSR), tempo di secrezione (ST), tempo di picco (PT) e vita media (HL). Abbiamo inoltre calcolato le medie per ciascun paziente della DSPC e della SP-A ottenute da tutti gli aspirati tracheali raccolti. Successivamente abbiamo calcolato la media delle medie di DSPC e SP-A per ciascun gruppo di pazienti (CDH vs Controlli)

I valori sono espressi come media±DS. Abbiamo confrontato i risultati nei 2 gruppi con test parametrici o non parametrici a seconda della distribuzione delle variabili. Le correlazioni statistiche sono state calcolate nel gruppo CDH con la correlazione di Pearson.

Il valore medio di DSPC degli aspirati tracheali è risultato 2.3±1.3 mg/ml ELF nel gruppo CDH e 4.6±1.5 mg/ml ELF (p=0.001). Le proteine totali sono risultate rispettivamente 9.6±6.1 e 6.1±2.3 mg/ml ELF (p=0.07) e l'SP-A 16.2±9.3 e 61.2±30.6 µg/ml ELF (p=0.03) La cinetica del surfactant è stata calcolata in 12 dei 14 neonati con CDH e in 5 degli 8 controlli. DSPC FSR è risultato 22±17% e 17±11 % per giorno, ST 8.3±3.5 e 8.5±2.5 ore, il PT 52±15 e 51±13 h, e la DSPC HL 59±21 e 43±6 ore rispettivamente nel gruppo CDH e controlli.

Nessuno di questi parametri è risultato statisticamente diverso nei 2 gruppi.

In conclusione neonati con CDH e insufficienza respiratoria grave non hanno mostrato alterazioni significative del metabolismo del surfactant. La quantità di SP-A e di DSPC per ml ELF è risultata statisticamente più bassa nei neonati con CDH.

Altri fattori, quali la ridotta superficie alveolare o un accelerato catabolismo della DSPC o delle proteine specifiche del surfactant potrebbero contribuire alle alterazioni del surfactante che sono state descritte in neonati con CDH.

SINTESI RICERCA SANITARIA FINALIZZATA 815/04/98**Responsabile scientifico Conconi Maria Teresa - Ente Proponente Università di Padova.****“Biomateriali naturali (matrici acellulari) utilizzabili come sostituti di organo o come componenti di bioreattori”.**

La ricerca si proponeva di verificare l'applicazione di matrici acellulari di diversa provenienza quali sostituti di organo allo scopo di:

- ottenere un ampliamento della superficie intestinale con matrice acellulare omologa;
- valutare l'efficacia di condotti valvolati acellulari eterologhi di grosso calibro, come sostituti nelle patologie della valvola aortica e dei grossi vasi;

- valutare l'efficacia di segmenti vascolari acellulari eterologhi per il trattamento delle vasculopatie periferiche.

MATERIALI E METODI

Preparazione delle matrici acellulari

Le matrici acellulari da parete gastrica, da intestino tenue, da condotto valvolare aortico e da arterie femorali di maiale sono state ottenute tramite il metodo detergente-enzimatico proposto da Meezan (1975) modificato dal nostro laboratorio, secondo il seguente schema:

<i>Matrice</i>	n° cicli congelamento/ scongelamento	<i>Trattamento detergente-enzimatico^a</i>		
		<i>Acqua distillata</i>	<i>4% sodio deossicolato</i>	<i>DnasiI 2000 K units</i>
<i>Parete gastrica</i>	4	72 h	4 h	3 h
<i>Intestino tenue</i>	4	72h	4h	3h
<i>Condotto valvolare aortico</i>	0	18h	4h	2h
<i>Arteria femorale</i>	0	72h	4h	3h

^a Numero di cicli del trattamento detergente-enzimatico: 4 per la parete gastrica, 2 per l'intestino tenue, 4 per il condotto valvolare aortico, 2 per l'arteria femorale.

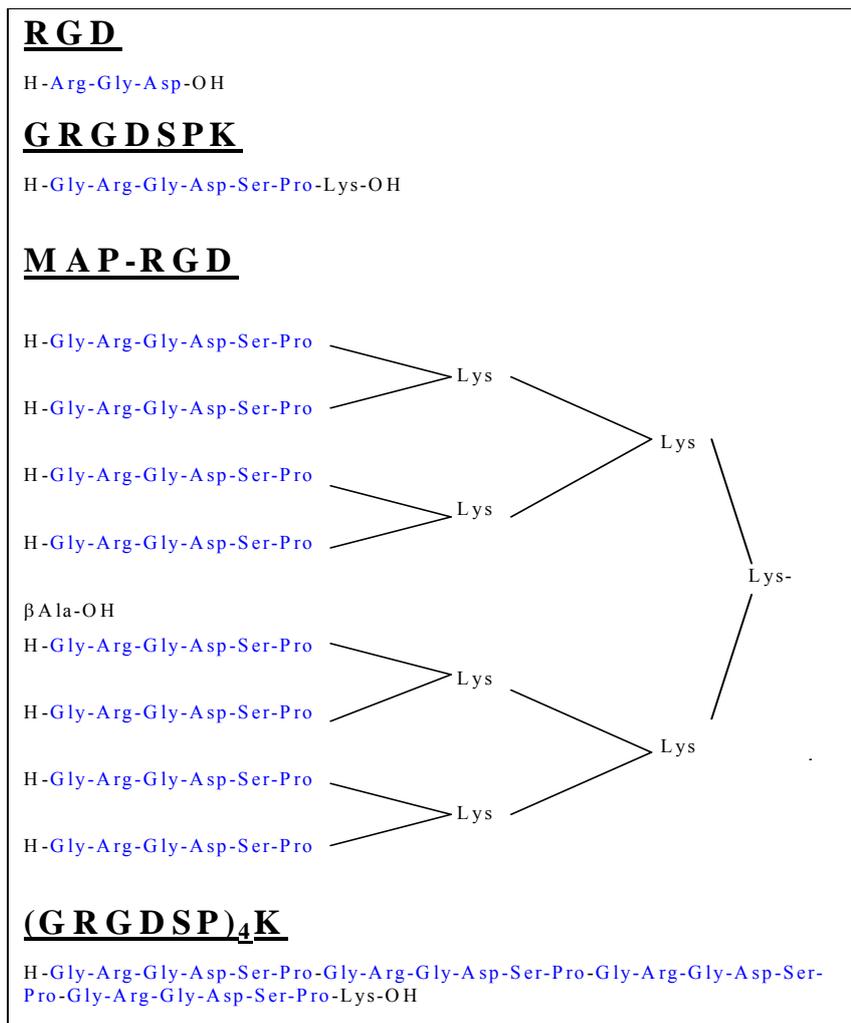
L'acellularità delle matrici è stata verificata tramite analisi istologica.

Colture di cellule endoteliali

Le cellule endoteliali sono state ottenute da aorta toracica di maiale tramite digestione enzimatica con collagenasi B 0.1%, seminate su piastre di coltura condizionate in precedenza con collagene (1µg/cm²) e fibronectina (1µg/cm²) e coltivate con Endothelial Basal Medium.

Sintesi di peptici

I peptidi di seguito riportati sono stati sintetizzati su fase solida con un metodo introdotto nel 1963 da Merrifield (Stewart e Young, 1984) che prevede l'ancoraggio dell'aminoacido C-terminale della sequenza ad una matrice insolubile, in modo da ottenere la crescita della catena polimerica in fase eterogenea.



Saggio di adesione

I pozzetti di piastre a 96 pozzetti sono stati condizionati con i peptidi in esame o con fibronectina (Sigma-Aldrich) alla concentrazione di 2×10^{-3} $\mu\text{mol}/\text{cm}^2$ in soluzione salina tamponata tramite incubazione a 37°C per almeno 60 minuti. Le cellule (3×10^4 cellule/ cm^2) sono state incubate a 37°C per 5 ore, fissate con 10% formaldeide per una notte e colorate con una soluzione di cresil violetto allo 0.04% in metanolo al 20%. Il colorante è stato estratto dalle cellule con una soluzione di acido citrico 0.1 M in etanolo al 50% e i valori di assorbenza sono stati determinati a 600 nm.

Riendotelizzazione in vitro delle matrici acellulari vascolari

Le cellule endoteliali sono state risospese a densità pari a 2×10^5 cells/ml e incubate per un'ora a 37° in assenza o in presenza dei peptidi di adesione alla concentrazione di 350 $\mu\text{g}/\text{ml}$. Dopo centrifugazione le cellule (1.2×10^5 cells/ cm^2) sono state seminate all'interno di un anello di acciaio sul lato intimale della matrice acellulare ottenuta dal vaso aortico. Dopo 24 ore le colture sono state fissate ed esaminate al microscopio elettronico a scansione.

Valutazione degli esiti degli impianti

Gli animali (maiali e pecore) sono stati sacrificati ai seguenti intervalli di tempo: a) 1, 2 e 4 settimane dagli interventi su intestino di maiale; b) 1 mese dagli interventi su carotide di pecora; c) 1 mese dagli interventi su tronco polmonare di pecora. Gli impianti sono stati prelevati, fissati con formalina neutra tamponata al 10% e inclusi in paraffina. Le sezioni, dello spessore di 5 μm , sono state colorate con ematossilina-eosina.

RISULTATI

Sostituti Intestinali

A 1 settimana dall'intervento, l'innesto formato da matrice acellulare gastrica presentava un moderato infiltrato infiammatorio con formazione di neo vasi (fig. 1) e la zona centrale della matrice non appariva ripopolata. A 14 giorni dall'impianto la risposta infiammatoria regrediva e si potevano osservare fibrocellule muscolari lisce, migrate dal tessuto del ricevente, e che cominciavano a mostrare una iniziale organizzazione (fig. 2). La superficie luminale dell'impianto non era ricoperta da epitelio.

A differenza di quello che si era osservato utilizzando la matrice gastrica, a 1 settimana dall'intervento l'intera protesi formata da matrice intestinale si presentava ripopolata da cellule fibroblastoidi ed era ovunque evidente una diffusa neovascolarizzazione (fig. 3). La risposta infiammatoria era presente, ma appariva di modesta entità. Tuttavia dopo 4 settimane dall'intervento la superficie luminale dell'impianto non risultava riepitelizzata e il suo interno non era stato colonizzato da cellule muscolari lisce. In base a tali insoddisfacenti risultati, riteniamo che la sola matrice acellulare non sia sufficiente per garantire una completa integrazione funzionale dell'impianto e che sia necessario l'utilizzo di matrici preventivamente ripopolate in vitro con cellule autologhe.

Figura 1. Ingrandimento x100

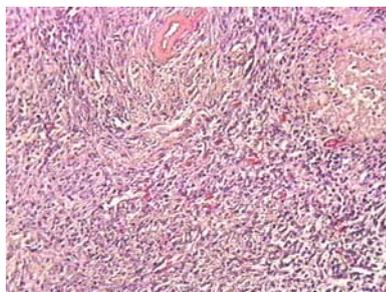


Figura 2. Ingrandimento x100

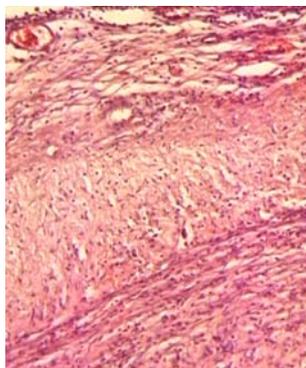
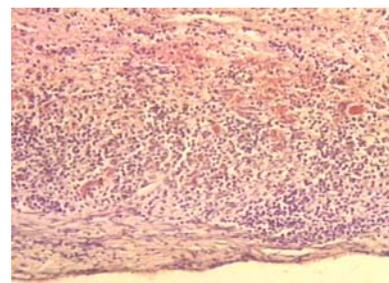


Figura 3. Ingrandimento x100



Peptidi di Adesione

Tutte le sequenze hanno aumentato in modo significativo ($p < 0.05$) l'adesione delle cellule endoteliali al polistirene, ma in misura differente: il peptide $(GRGDSP)_4K$ si è rivelato il più attivo, con una attività paragonabile a quella della fibronectina (fig. 4). Il composto GRGDSPK ha aumentato l'adesione in misura maggiore del composto RGD. Questo conferma l'importanza del contorno di amminoacidi fiancheggianti la sequenza segnale. Infatti in tale peptide è stata inserita una glicina all'amminoacido N-terminale e una sequenza serina-prolina a quello C-terminale. Il peptide lineare $(GRGDSP)_4K$ si è dimostrato più efficace della sequenza GRGDSPK, mentre il peptide MAP-RGD, con otto sequenze segnale, non ha indotto miglioramenti. La struttura lineare potrebbe rendere la sequenza di adesione disponibile in una conformazione tale da essere più facilmente riconoscibile da parte delle cellule. Il peptide $(GRGDSP)_4K$ sembra essere il più adatto per un successivo utilizzo come fattore di adesione per le cellule endoteliali nelle bioprotesi. Secondo diversi autori, la presenza di cellule endoteliali nelle protesi oltre ad aumentarne la forza meccanica, previene l'insorgenza di infezioni, la formazione di trombi e la calcificazione dei lembi (Ishihara et al, 1981). La completa riendotelizzazione *in vitro* della matrice acellulare è stata raggiunta, grazie a una preincubazione delle cellule endoteliali con due peptidi di origine sintetica: RGD e GRGDSPK (fig. 5).

Figura 4. * = $p < 0.05$ vs polistirene Student's t test

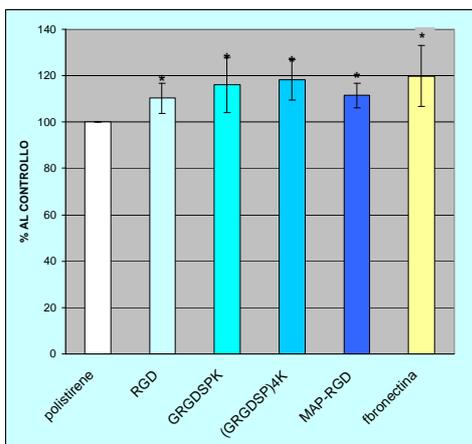
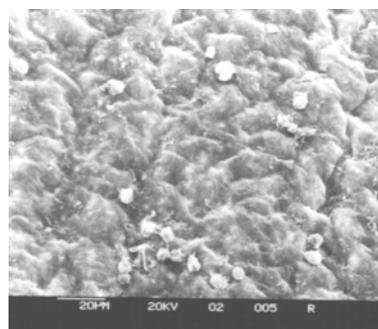


Figura 5.



Sostituti Vasali

Le pecore con l'arteria femorale acellulare eterologa sono state sacrificate dopo 15 e 30 giorni dall'impianto. Dopo 15 giorni tre protesi sono risultate pervie, mentre 2 erano occluse da un trombo. I condotti pervi non sono stati colonizzati dalle cellule endoteliali dell'ospite, ma solo da pochi miofibroblasti e da un modesto infiltrato infiammatorio (fig. 6). Dopo 1 mese, 4 protesi si presentavano occluse da trombi, mentre una è risultata pervia. L'analisi istologica nel secondo caso ha evidenziato una lieve risposta infiammatoria e una scarsa colonizzazione del condotto. Non si sono verificati fenomeni di rigetto.

Le pecore con il condotto acellulare preventivamente ricolonizzato in vitro sono state sacrificate dopo 15 giorni dall'impianto. L'analisi istologica ha evidenziato la presenza di cellule nell'intima, nella media e nell'avventizia, ma anche di piastrine ed eritrociti adesi al lume della protesi.

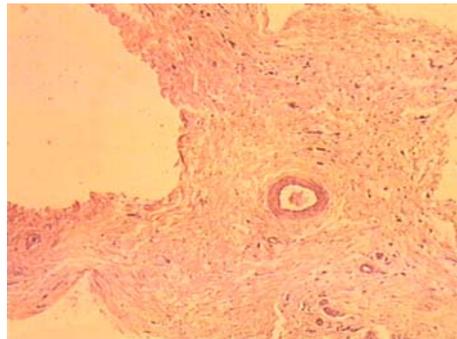


Figura 6. Ingrandimento x50

Sostituti Valvolati Aortici

La microscopia elettronica a scansione ha evidenziato come tutta la superficie del condotto impiantato, compresa la parte valvolare, sia stata completamente ricoperta da uno strato endoteliale continuo del ricevente dopo 1 mese dall'intervento (fig. 7). La superficie della protesi appariva totalmente rivestita da endotelio unilaterale, inoltre si poteva osservare una modesta diradazione della matrice e un accenno di slaminamento della parete. Tutto l'impianto era colonizzato dalle cellule del ricevente: sia a livello della porzione valvolare, che di quella vasale si notava la presenza di miofibroblasti e all'interno dell'avventizia erano ben evidenti neo vasa vasorum (fig. 8). Le fibre elastiche (fig. 9) e il collagene del condotto erano ben conservate.

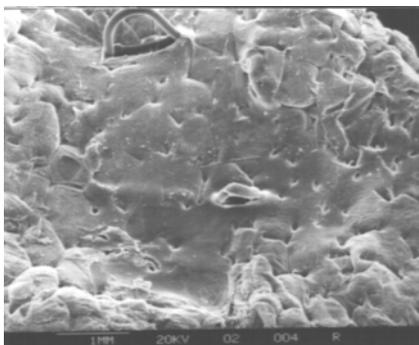


Figura 7.

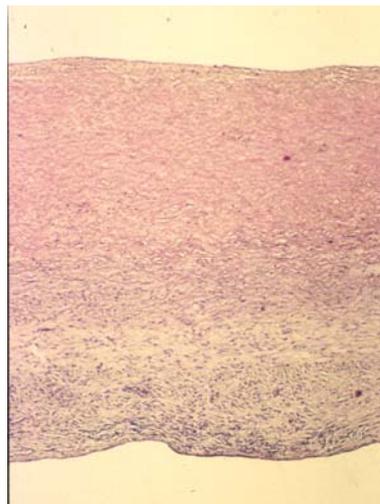


Figura 8. Ingrandimento x50

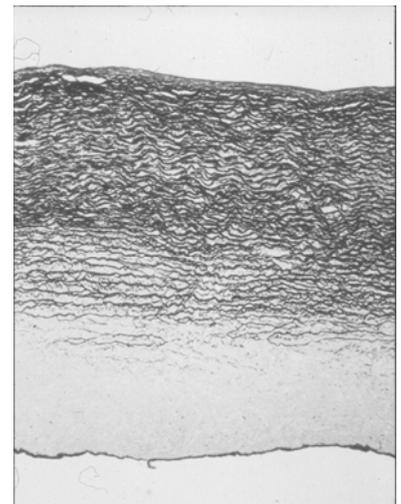


Figura 9. Ingrandimento x50

SINTESI RICERCA SANITARIA FINALIZZATA 816/01/98

Responsabile scientifico Corrado Domenico - Ente Proponente Azienda Ospedaliera di Padova.

“Rischio cardiovascolare nello sport e morte improvvisa: studio clinico - preventivo”.

Dal maggio 1999 al maggio 2002 presso i Servizi di Cardiologia Interventistica e Patologia Cardiovascolare dell'Azienda Ospedaliera di Padova ed il Servizio di Medicina dello Sport della ASL 16 è stata condotta la Ricerca Sanitaria Finalizzata " Rischio cardiovascolare nello sport e morte improvvisa: studio clinico-preventivo".

Sono state riviste le cartelle cliniche di 300 casi di morte improvvisa giovanile (di età compresa tra 12 e 35 anni) verificatesi dal 1979 al 2001. Di ogni caso si sono ricercate informazioni anamnestiche familiari/personali, eventuale attività atletica competitiva e circostanze di morte (se in relazione a competizione sportiva), e sulle indagini clinico-strumentali cardiologiche eseguite in vita, con particolare riferimento ad ECG, Holter, prova da sforzo ed ecocardiogramma al fine di correlare i dati clinici con la causa di morte individuata all'autopsia. Contemporaneamente, sono stati valutati i dati clinico-strumentali ed il follow-up di oltre 40.000 atleti agonisti sottoposti a screening cardiovascolare per l'idoneità all'attività sportiva agonistica presso il Servizio di Medicina Sportiva, nell' intervallo di tempo 1979-2001.

I dati anagrafici, lo sport praticato, il risultato dell'indagine anamnestica e dell'esame obiettivo generale e cardiovascolare, il tracciato ECG ed altri esami strumentali cardiologici, nonché la eventuale causa di non idoneità sono stati progressivamente inseriti in computer grazie all'utilizzo di un programma studiato appositamente allo scopo.

Tali informazioni sono state raccolte in un *data-base* clinico-patologico e sottoposte ad elaborazione statistica principalmente allo scopo di: 1) stabilire le cause di morte improvvisa giovanile, in particolare in giovani atleti agonisti; 2) valutare l'incidenza comparativa della morte improvvisa nei giovani atleti rispetto ai giovani non atleti della regione Veneto e di stabilire così se l'esposizione allo sport agonistico comporti un aumento del rischio di morte improvvisa nella popolazione giovanile; 3) rispondere alla domanda cruciale se lo screening sistematico della popolazione atletica giovanile è un mezzo efficace e con buon rapporto costo/beneficio di prevenzione della morte improvvisa.

I risultati ottenuti possono essere schematizzati come segue:

1) Dei 300 casi di morte improvvisa giovanile verificatesi tra il 1979 ed il 2001, 55 riguardavano giovani atleti agonisti deceduti durante sport e 245 giovani non-atleti deceduti in circostanze diverse dall'attività atletica. Il gruppo dei 55 atleti comprendeva 50 maschi e 5 femmine, di età media 24+7 anni. La morte improvvisa era riconducibile ad arresto cardiaco "aritmico" in 46 atleti; la cardiomiopatia aritmogena del ventricolo destro rappresentava il più frequente substrato patologico (12 atleti, 23%), seguita da coronaropatia aterosclerotica (10 casi), anomalie congenite delle coronarie (9 casi), prollasso della mitrale (6 casi), miocardite (5 casi), patologia del sistema di conduzione (4 casi), cardiomiopatia ipertrofica, cardiomiopatia dilatativa, e sindrome del QT lungo (1 caso ciascuna). Il decesso veniva ricondotto ad una complicanza meccanica in 2 atleti: embolia polmonare massiva e rottura dell'aorta, rispettivamente. In 3 atleti la causa del decesso risultò di natura cerebrale: embolia in 2 e rottura di aneurisma congenito in 1. Infine, in 1 caso la morte rimase inspiegata.

La cardiomiopatia ipertrofica, che rappresenta la causa di gran lunga più frequente di morte improvvisa negli atleti Statunitensi (30- 50% dei casi), è stata diagnosticata in un solo atleta della nostra serie (2,0%). Tale dato non è il risultato di una bassa prevalenza della cardiomiopatia ipertrofica nella Regione Veneto, dato che tale cardiomiopatia era causa di morte improvvisa nel 7,3% della popolazione giovanile non-atletica (una percentuale, questa, molto simile a quella riportata negli Stati Uniti).

Piuttosto, il dato riflette la riduzione selettiva della morte improvvisa nel gruppo degli atleti sottoposti a screening cardiovascolare sistematico.

Parallelamente, lo screening cardiovascolare di 33.735 atleti presso il Centro di Medicina dello Sport di Padova ha permesso l'identificazione e l'esclusione dall'attività agonistica di 22 atleti affetti da cardiomiopatia ipertrofica (0,07%). Durante un follow-up medio di 8,2±5 anni non si è avuto nessun caso di decesso in questo gruppo di atleti esonerati dallo sport agonistico. Questi risultati suggeriscono che lo screening sistematico dei giovani atleti agonisti mediante anamnesi, esame obiettivo ed ECO permette l'identificazione e l'esclusione dei giovani atleti con cardiomiopatia ipertrofica dalla attività sportiva agonistica, prevenendone la morte improvvisa "sul campo".

2) La incidenza *totale* di morte improvvisa giovanile è risultata di 1/100.000 persone per anno. La incidenza negli atleti è risultata di 2.3/100.000 per anno, mentre nei non-atleti di 0.9/100.000 per anno. Pertanto il rischio relativo di morte improvvisa negli atleti rispetto ai nonatleti era di 2.5 (1.95 nei soggetti maschi e 2.02 nelle femmine). Le malattie cardiovascolari a più alto rischio di morte improvvisa durante sport sono risultate l'origine anomala di una coronaria dal seno di Valsalva sbagliato (rischio relativo=79), la cardiomiopatia aritmogena del ventricolo destro (rischio relativo=5.4), e l'aterosclerosi coronarica precoce (rischio relativo=2.6).

Questi risultati sono di grande interesse perché dimostrano che i giovani atleti agonisti, sia maschi che femmine, sono a più alto rischio di morte improvvisa rispetto alla corrispondente popolazione generale di giovani non-atleti. Non è lo sport in sé responsabile dell'aumentato rischio di morte improvvisa, quanto le sottostanti cardiopatie occulte a rischio di arresto cardiaco aritmico durante sport.

3) Lo screening sistematico di tutti i giovani che intendono dedicarsi all'attività sportiva agonistica, pertanto, è un mezzo insostituibile di monitoraggio del rischio cardiovascolare e di prevenzione della morte improvvisa durante sport. Tuttavia, tale strategia è di limitata e difficile applicazione su larga scala, specialmente per ragioni di rapporto costo-beneficio. L'Italia è l'unico paese al mondo in cui l'obbligatorietà dello screening cardiovascolare preagonistico è sancito dalla legge che regola la tutela della salute ed è in vigore da oltre 20 anni. Allo scopo di valutare la ricaduta di tale strategia sulla effettiva prevenzione della morte improvvisa durante sport, abbiamo eseguito una analisi comparativa del rapporto costo/beneficio (costo per anno di vita salvato) di diverse modalità di screening per la identificazione di atleti affetti da miocardiopatia ipertrofica a rischio di morte improvvisa. Lo screening Italiano (tipo I) basato su storia clinica, esame obiettivo e ECG in 12 derivazioni è stato confrontato da una parte con lo screening raccomandato dalla American Heart Association per gli atleti Statunitensi (tipo II) basato esclusivamente su storia clinica ed esame obiettivo e dall'altra con quello più completo, perché inclusivo di ecocardiogramma (tipo III), invocato da alcuni come il più idoneo allo scopo anche se relativamente più costoso.

Dei 33,735 giovani atleti competitivi sottoposti a screening cardiovascolare tipo I presso il Centro di Medicina dello Sport di Padova dal 1979 to 1996, solo 3016 (8.9%) sono stati ulteriormente sottoposti ad ecocardiogramma per sospetta cardiopatia e, alla fine, solo 22 (0.07%) sono stati alla fine trovati affetti da cardiomiopatia ipertrofica e considerati non idonei alla pratica della attività sportiva agonistica. Sensibilità e specificità dello screening Italiano (tipo I) risultavano 70 % e 91%, rispetto a 20% e 95% per lo screening di tipo 2, e 100% e 100% per lo screening di tipo 3 (inclusivo di ecocardiogramma che rappresenta la metodica "gold standard" per la diagnosi di cardiomiopatia ipertrofica). Ai fini dello studio, veniva assunto che gli atleti allontanati dall'attività sportiva agonistica perché riconosciuti affetti da cardiomiopatia ipertrofica (indipendentemente dalla modalità di screening) sarebbero vissuti più a lungo: il 10% 40 anni in più ed il 90% 20 anni in più. Il costo dello screening per atleta era stimato pari a 30 euro per il tipo I, 20 euro per il tipo II e 100 euro per il tipo III.

Il costo per scrinare (screening tipo I) inizialmente i 33,735 atleti e per la ulteriore valutazione dei 3,016 risultati positivi fu di 1,176,032 euro, mentre sarebbe stato di 697,640 per il tipo II e 3,373,500 per il tipo III. La stima del numero complessivo di anni di vita salvati fu di: 484 anni con screening tipo I, 132 anni con il tipo II and 680 con il tipo III; mentre, il costo approssimativo per anno di vita salvato era di 2,429 euro 5,285, e 4,961, rispettivamente. In conclusione lo screening Italiano basato su storia, esame obiettivo ed ECG ha dimostrato il miglior rapporto costo/beneficio per la identificazione di atleti affetti da miocardiopatia ipertrofica a rischio di morte improvvisa, con un costo approssimativo per anno di vita salvato di 2,429 euro.

4) La maggior parte delle giovani vittime di arresto cardiaco "ischemico", sia da coronaropatia acquisita (aterosclerotica) che congenita (anomalie di origine e decorso delle coronarie), erano asintomatici o lamentavano sintomi "atipici"; inoltre, il test da sforzo al cicloergometro risultò sempre falsamente negativo per alterazioni ST-T ed aritmie.

Al contrario i giovani atleti con cardiomiopatia aritmogena del ventricolo destro morirono durante attività sportiva nonostante oltre 80% di loro aveva precedenti anamnestici di palpitazioni e/o sincope e alterazioni ECO tipo onde-T invertite nelle derivazioni precordiali destre e/o aritmie ventricolari con morfologia tipo blocco di branca sinistra. Pertanto esiste la possibilità di riconoscere la cardiomiopatia aritmogena del ventricolo destro allo screening preagonistico. A tale proposito, sono stati rivisti i dati del Centro di Medicina dello Sport di Padova su 38.273 atleti sottoposti a screening cardiovascolare (storia, esame fisico, ECO) nel periodo 1982 (anno della "scoperta" della cardiomiopatia aritmogena del ventricolo destro) - 2001. Dei 38.273 at-

leti sottoposti a screening iniziale, 3.597 (9.4%) furono sottoposti ad ulteriori accertamenti (quali ecocardiogramma, Holter, test da sforzo) per "anormalità" dei reperti clinici di base (specialmente alterazioni ECG sotto forma di onde T invertite in sede precordiale destra). Alla fine, 15 di questi (14 maschi ed una femmina; età media 19 anni) dimostrarono evidenza clinica definitiva di cardiomiopatia aritmogena del ventricolo destro allo studio ecocardiografico/angiografico. La prevalenza della malattia nella popolazione generale giovanile risultò pertanto 0,04% (15 di 38.273). Di particolare interesse risulta la sottoanalisi di 2 decenni di screening (1982-1991 e 1992-2001) che dimostra come tale malattia, di recente individuazione, sia stata riconosciuta allo screening preagonistico solo negli ultimi anni [13 su 388 atleti (3.3%) nel periodo 1992-2001 contro solo 2 su 421 (0.5%) nel periodo 1982-1991; $p=0,003$], parallelamente ad una crescente migliore conoscenza del profilo clinico degli atleti affetti. Si prevede che tale miglioramento della capacità diagnostica si tradurrà nel prossimo futuro nella riduzione della morte improvvisa per questa cardiomiopatia durante sport.

SINTESI RICERCA SANITARIA FINALIZZATA 820/05/98.

Responsabile scientifico Dal Corno Gian Ferruccio - Ente Proponente ULSS 6 di Vicenza.

“Progettazione e sperimentazione di un sistema di monitoraggio del grado di soddisfazione e del livello della qualità della vita dei pazienti, dei familiari, degli operatori coinvolti nell’assistenza domiciliare integrata”.

Questo lavoro è nato nel settembre 1998 per verificare il livello di soddisfazione percepita dall'utente che usufruisce del servizio di Assistenza Domiciliare, esperienza innovativa attivata ai primi di quell'anno dalla nostra Azienda ULSS 6.

Uno dei problemi centrali anche nell'erogazione di questo servizio, è infatti il controllo di qualità e la ricerca della massima soddisfazione possibile per il cittadino cui è necessario garantire la qualità delle procedure e dei risultati.

La strategia adottata nella valutazione del servizio, dovendo prendere in considerazione più ambiti dello stesso - qualità, quantità, caratteristiche umane e di personalità degli operatori - è stata quella dell'analisi delle opinioni degli utenti. Si sono quindi costruiti ad hoc due questionari, uno per il paziente ed uno per il familiare, e si è iniziata la rilevazione degli aspetti che si ritenevano più utili allo scopo.

Una prima fase di raccolta dei dati ha reso conforto del servizio prestato, rilevando come sia il paziente che il familiare siano soddisfatti delle prestazioni domiciliari (soprattutto a livello infermieristico: buona organizzazione 76% e distribuzione visite 88%), e di come il nucleo paziente-familiare si trovi a vivere una condizione di relativo isolamento sia sociale che psicologico (solo 24% di soddisfazione per l'andamento attuale della propria vita e del comportamento di amici e conoscenti, il 75% non chiede mai aiuto ad associazioni di volontariato, e comunque solo il 13% ricorre saltuariamente al loro aiuto). I dati hanno anche permesso di controllare la validità degli strumenti da noi costruiti.

In una **seconda fase** di raccolta dei dati si è rilevato l'andamento del servizio di assistenza. Si è verificato come il servizio abbia inciso in modo particolare sul familiare:

- abbassando notevolmente il livello di preoccupazione per molti aspetti della vita dello stesso (sia personale che relativamente al paziente, l'impotenza nei confronti della malattia passa dal 75% al 35% ed il 70% riconquista uno spazio personale),
- andando ad elevare il livello di soddisfazione generale per il servizio ed i vari ambiti di vita (87% di soddisfazione per le visite, la comprensione della situazione vissuta dal familiare da parte dei colleghi di lavoro passa dal 30% al 70%).

La ricerca condotta ha bisogno di ulteriori verifiche ma ha già permesso di mettere a fuoco sia problematiche inerenti il servizio di assistenza domiciliare (orari, disponibilità, burnout degli operatori, personale infermieristico versus socio assistenziale), che relative al fruitore dello stesso (preoccupazioni, bisogni, cambiamenti in vari aspetti della propria vita).

Si dovrà anche pervenire ad una gestione dell'assistenza domiciliare che garantisca un controllo "strutturale" e "automatico" della soddisfazione dell'utenza, cui necessariamente si arriverà per approssimazioni progressive.

I dati da noi raccolti e commentati saranno utilizzati per la futura programmazione del servizio e per raggiungere questo obiettivo.

SINTESI RICERCA SANITARIA FINALIZZATA 827/05/98.

Responsabile scientifico Favaretti Carlo - Ente Proponente ULSS 19 di Adria.

“Lo sviluppo di un modello di sistema qualità per una Azienda ULSS del Veneto”.

L'obiettivo della ricerca era di definire e sperimentare un “modello teorico di sistema qualità” coerente con le logiche di sviluppo di un'Azienda ULSS del Veneto e con le esperienze più avanzate presenti in ambito nazionale e internazionale in tema di gestione per la qualità (norme ISO 9000, accreditamenti professionale e istituzionale, gestione totale per la qualità - TQM, Premi per la qualità).

L'analisi della letteratura e la sperimentazione sul campo hanno consentito di definire meglio l'ambito di azione dei sistemi di gestione per la qualità. Dal momento che quest'ultima è l'insieme delle “attività coordinate per guidare e tenere sotto controllo un'organizzazione in materia di qualità” ne deriva che per una organizzazione è necessario definire la politica per la qualità e stabilire modalità operative per la pianificazione della qualità, il controllo della qualità, l'assicurazione della qualità e il miglioramento della qualità. È quindi limitativo ridurre la questione della qualità nelle aziende sanitarie ai temi delle certificazioni/accreditamenti e ai progetti di miglioramento (che rappresentano solo modalità particolari di assicurazione e miglioramento della qualità), né basta pensare solo alla semplice costituzione di una specifica unità per la qualità che tenti di modificare dall'esterno i processi specifici di tutte le altre strutture aziendali.

L'obiettivo finale è di innestare quindi la gestione per la qualità nel lavoro e in tutti processi quotidiani, orientando alla qualità tutti gli aspetti della gestione aziendale e dando valore anche alle esperienze spontanee. Piuttosto che riservare le attività di qualità a un gruppo limitato di persone, libere da compiti assistenziali e che operano trasversalmente alle unità operative (a volte “sopra le teste” di chi garantisce l'ordinario svolgimento del lavoro quotidiano) è auspicabile sviluppare una logica reticolare che coinvolga, con una opportuna formazione, il maggior numero possibile di persone.

Un elemento concreto di unificazione di tutte le attività di gestione per la qualità è il processo di budget, cioè il programma di attività annuale nel quale sono esplicitate le attività da svolgere e le risorse disponibili. Il budget non è quindi un adempimento burocratico fine a se stesso, ma deve essere uno strumento gestionale di sostegno all'attività aziendale complessiva. Per fare ciò il budget deve essere sempre più lo strumento di integrazione tra i diversi processi dell'azienda come, ad esempio, lo svolgimento delle attività cliniche e assistenziali, la pianificazione, la selezione del personale e l'acquisizione delle attrezzature, l'erogazione delle prestazioni, la gestione degli istituti contrattuali della valutazione e della incentivazione, la sicurezza sul lavoro, la gestione dei rapporti con l'utenza.

Dal momento che l'assistenza sanitaria rappresenta il core business delle aziende sanitarie, non va infine dimenticato che la “clinical governance” rappresenta oggi una modalità decisiva per conciliare la responsabilità gestionale con i contenuti clinici, i comportamenti dei manager con quelli dei clinici. Il governo clinico è una modalità di gestione dei servizi sanitari che attribuisce *anche* alla direzione aziendale la responsabilità della qualità clinica dei servizi, nel senso che quest'ultima ha la responsabilità di creare le condizioni perché vengano realizzate attività sistematiche di valutazione e di miglioramento della qualità professionale (per esempio, con il sostegno alla implementazione della Health Care Evidence Based e allo sviluppo di iniziative di Health Care Technology Assessment). L'esercizio del governo clinico si deve articolare sul livello micro (le decisioni diagnostico terapeutiche dei singoli professionisti), su quello meso (i rapporti tra diverse unità operative aziendali per il governo dei processi assistenziali) e su quello macro (la performance dell'azienda sanitarie e/o del servizio sanitario nel suo insieme).

Un sistema così concepito necessita di una gestione aziendale non deterministica, dinamica, flessibile (adattativa) che governi le reazioni dell'organizzazione alle perturbazioni e consenta di far emergere in modo sostenibile, tra tutte quelle possibili, l'evoluzione organizzativa più adatta a soddisfare gli stakeholder. Per fare ciò, non è più sufficiente utilizzare solo gli strumenti di governo eterodiretti (approccio top-down, budget

imposto, controllo di gestione, ordini di servizio...) ma è necessario sviluppare meccanismi che valorizzino “l'intelligenza interna” del sistema, dando a tutti l'opportunità di dimostrare, in un colpo solo, la propria competenza, autonomia e responsabilità.

La meta finale è di dar vita a un vero e proprio sistema aziendale di “gestione totale per la qualità” (TQM – Total Quality Management) che deve essere necessariamente interconnesso con il sistema di gestione per la qualità del servizio sanitario regionale e nazionale. È necessario cioè sviluppare una “rete di processi” che copra tutti gli aspetti professionali, organizzativi e relazionali di un'Azienda e del sistema di appartenenza e, per fare ciò, lo strumento operativo che oggi appare più disponibile è il “Modello per l'Eccellenza” promosso dalla European Foundation for Quality Management (EFQM). La novità di questo approccio e, allo stesso tempo la sfida, sta nel fatto di considerare tutte le attività aziendali (le scelte gestionali e i comportamenti assistenziali e tecnico-amministrativi di supporto) come processi interconnessi e interdipendenti che devono essere governati in modo condiviso (shifting the power) anche grazie alle competenze:

- dei cittadini, che si muovono dentro i confini della promozione della salute;
- dei professionisti, che si muovono dentro i confini della Evidence Based Health Care – EBHC (assistenza sanitaria basata sulle prove di efficacia);
- delle comunità locali, che si muovono dentro i confini della sostenibilità e della sussidiarietà.

È da segnalare infine un elemento particolarmente interessante: il modello integrato e sinergico di sistema di gestione per la qualità che deriva dallo sviluppo della ricerca finalizzata è risultato coerente con il movimento di progressiva convergenza dei diversi “modelli” di riferimento che è in atto in questi anni. Infatti dal dibattito internazionale e da alcune esperienze concrete (per esempio, il Programma ALPHA della ISQua - The International Society for Quality in Health Care) emerge sempre di più la necessità di un approccio integrato che sappia utilizzare i diversi programmi più come “strumenti” che come “modelli”, cioè delle opportunità finalizzate al miglioramento complessivo della qualità dell'assistenza sanitaria erogata.

SINTESI RICERCA SANITARIA FINALIZZATA 829/04/98

Responsabile scientifico Giaccone Valerio - Ente Proponente Università di Padova.

“Impiego di nuove tecniche di biologia molecolare per il riconoscimento della specie animale utilizzata per la produzione di alimenti a base di carne e/o pesce destinati al consumo umano e di farine per uso zootecnico”.

I risultati osservati, oltre a confermare l'efficacia del metodo di estrazione del DNA, evidenziano una sorprendente sensibilità della tecnica PCR. La presenza di tessuto animale in una matrice composita viene rilevata fino a valori di concentrazione abbondantemente inferiori allo 0,1%. È opportuno tenere presente, a questo proposito, che i limiti di rilevabilità delle altre metodiche per l'individuazione di farine animali nei mangimi destinati all'alimentazione del bestiame da reddito è di circa il 3% e non riesce comunque a scendere al disotto dell'1%.

La metodica di biologia molecolare che abbiamo studiato in questa ricerca e che proponiamo, ha quindi il vantaggio di essere estremamente più sensibile e specifica delle altre attualmente in uso. Non va tralasciato, peraltro, che una volta messa a punto la metodica, il costo unitario delle singole analisi non risulta essere molto superiore a quello richiesto per eseguire le metodiche sinora in uso. In altri termini, le tecniche di biologia molecolare si possono proporre come una reale alternativa alle metodiche istologiche elettroforetiche per la determinazione delle proteine animali e, quindi, per il riconoscimento di specie animale. Inoltre, i costi economici di queste analisi non appaiono così elevati da escluderne l'impiego anche come procedura analitica di routine nel controllo sistematico degli alimenti destinati al consumo umano e dei mangimi per animali.

SINTESI RICERCA FINALIZZATA 830/05/98

Responsabile scientifico Giacobbo Maria - Ente Proponente ULSS 8 di Asolo.

“Progetto per lo sviluppo di un modello di analisi e valutazione del processo di gestione integrata della prevenzione della cura e dell'assistenza dei pazienti neoplastici”.

3.1 Lo schema metodologico di base

Prendendo spunto dal modello Quantum, è stata ideata e sviluppata una matrice integrata di gestione, atta a rappresentare il processo clinico analizzato in modo efficace e sintetico e a costituire uno strumento di semplice ed immediato utilizzo per il monitoraggio e la valutazione della Qualità del processo di cura dei pazienti oncologici.

Tale matrice presenta due dimensioni fondamentali: da un lato le principali componenti della Qualità e dall'altro le varie macro-fasi caratteristiche del processo di prevenzione, cura e assistenza dei pazienti oncologici. In allegato 1 si riporta un esempio di tale matrice integrata di gestione.

Relativamente agli aspetti della Qualità, sono stati presi in esame quelli che anche in base alla letteratura sono riconosciuti come fondamentali:

- efficacia
- qualità tecnico-scientifica
- integrazione
- accessibilità
- utilizzo.

L'intero processo di gestione integrata dei pazienti oncologici è stato scomposto nelle seguenti macrofasi:

- attività di prevenzione
- attività diagnostica e di stadiazione
- attività terapeutica di tipo chirurgico e/o non chirurgico
- attività riabilitativa
- attività assistenziale (follow-up)
- attività assistenziale in fase terminale.

La matrice suddetta contiene una serie di celle, a loro volta contenenti un certo numero di indicatori specifici relativi sia ad una determinata fase del processo (es. attività diagnostica, attività terapeutica di tipo chirurgico e/o non chirurgico, ...) sia ad una delle dimensioni della Qualità identificate (es.: utilizzo, integrazione accessibilità, ...). Una volta valorizzati i singoli indicatori, operando una media ponderata, secondo opportuni pesi, degli indicatori stessi, è possibile ottenere il valore (in scala 0-100) per ognuna delle celle interessate. Il sistema dei pesi è stato definito a partire dal citato modello Quantum, attraverso le opportune modifiche che il Gruppo di Lavoro ha ritenuto opportuno apportare. A titolo di esempio, per meglio comprendere il meccanismo di calcolo, consideriamo un indicatore dato dal numero di visite anestesologiche effettuate il giorno stesso dell'intervento (il cui valore viene rapportato al totale delle visite). Ipotizziamo che per questo indicatore si abbia un valore pari al 10% contro un valore di riferimento pari a 0% (i riferimenti verranno tratti, ove esistenti, dalla letteratura sull'argomento); questo comporta una valutazione (ovvero un punteggio) pari a 2 in una scala da 0 a 4. Ora, dal momento che il peso di questo indicatore relativamente agli altri appartenenti alla medesima cella è pari a 35, in una scala che va da 0 a 50, il valore pesato che si ottiene è pari a 70. Il valore massimo ottenibile, dato dal prodotto del peso del singolo indicatore (in questo caso 35) per il valore massimo ottenibile (pari a 4), risulta invece pari a 140. Operando in modo analogo per tutti gli indicatori e sommando fra di loro tutti i valori pesati ottenuti e tutti i valori massimi ottenibili, si ottengono due valori totali il cui rapporto percentuale, riportato in scala 0-100, è pari al valore da riportare nella singola cella presa in esame.

Applicando il procedimento appena descritto a tutte le celle della matrice e, successivamente, sommando i valori di ogni cella, usando nuovamente opportuni pesi, si ottiene il valore complessivo per le singole macrofasi del processo (somma verticale) e per ognuna delle componenti della Qualità (somme orizzontali). I valori risultanti sono infine sommati per ottenere il punteggio complessivo relativo al processo in esame (nell'esempio 53 su 100).

Attraverso questa modalità di rappresentazione dei risultati, è possibile monitorare il processo clinico, dal punto di vista della Qualità ed efficacia delle prestazioni, sia in forma sintetica, attraverso il valore complessivo ottenuto per le singole macro-fasi (somma verticale) e per ognuna delle dimensioni della Qualità (somme orizzontali), che in maniera più analitica, andando a vedere dentro il contenuto di ciascuna cella per analizzare e spiegare certi valori "anomali" o "troppo bassi".

Accanto alla valutazione della Qualità attraverso la matrice appena descritta, vi è anche la valutazione del livello di soddisfazione degli utenti, attraverso la somministrazione di questionari predisposti ad hoc.

3.2 Individuazione delle informazioni di base: la "cartella clinica oncologica integrata"

3.2.1 Individuazione dei dati di base

Uno dei fattori più critici per la misurazione della qualità dei servizi sanitari è rappresentato sicuramente dalla scarsa disponibilità delle informazioni di base necessarie per effettuare le dovute analisi ed elaborazioni. Fin dai primi incontri per la definizione degli indicatori è emerso chiaramente come gran parte dei dati necessari per la misurazione degli indicatori non fossero disponibili in modo semplice ed immediato. Allo stato attuale, infatti, i dati di base appaiono:

- frammentati, in quanto contenuti in archivi diversi che hanno diverse caratteristiche
- incompleti rispetto a:
 - alcune fasi del continuum della cura (es.: prevenzione, fase terminale)
 - alcune informazioni cliniche (es.: attività assistenziali infermieristiche).

Dalle discussioni del Gruppo di Lavoro è emerso che i dati di base debbano essere:

- integrati attraverso degli standard comuni di raccolta ed elaborazione
- semplici da rilevare
- rilevanti rispetto all'ampiezza e importanza delle informazioni fornite
- rispettosi della legge sulla privacy.

Proprio dalla necessità di avere dei dati di base con le caratteristiche suddette, si è pensato alla opportunità di strutturare la "cartella clinica oncologica integrata" in modo tale che sia gestita informaticamente e accessibile in rete a tutti gli attori coinvolti nel processo di gestione dei pazienti oncologici, che possa costituire una sorta di "contenitore" ove introdurre ed organizzare una grande quantità di dati clinici ed operativi. Inoltre, è auspicabile che all'interno della cartella informatizzata vi sia la possibilità di inserire anche immagini diagnostiche che possano arricchire il contenuto informativo della cartella stessa.

Attraverso la predisposizione di una modulistica ad hoc, compilata dai diversi attori coinvolti nel processo di gestione integrata dei pazienti neoplastici, sono state individuate le informazioni di base che la "cartella clinica oncologica integrata" deve contenere.

Per una visione completa delle informazioni di base da riportare nella "cartella clinica oncologica integrata" si rimanda all'allegato 2 ed all'allegato 3 (**Agli atti presso gli uffici della Segreteria Sanità e Sociale**), che contengono, rispettivamente, una prima definizione di elenco dei dati di base della cartella, e la modulistica predisposta ad hoc che ha permesso di individuare tali informazioni.

Le informazioni contenute nelle cartelle cliniche di ciascun paziente oncologico dovranno confluire in una Banca Dati centralizzata, che funga da "contenitore centrale" di tutte le informazioni rilevate a livello periferico. Le informazioni di base contenute nelle singole cartelle e in modo più ampio nella Banca Dati centralizzata, potranno rappresentare la base per effettuare le opportune analisi e valutazioni di qualità attraverso la misurazione degli indicatori. Tale Banca Dati centralizzata *può* costituire uno strumento di grande utilità nell'ambito della ricerca, sia clinica che epidemiologica, consentendo di valutare la fattibilità di clinical trials e di studi caso-controllo con pazienti speditizzati. Inoltre il fatto di avere a disposizione via rete e in tempo reale le informazioni relative all'intero processo di cura del paziente costituisce una base di partenza forte per migliorare ulteriormente il processo di integrazione tra i diversi attori coinvolti. In sintesi una cartella siffatta può rappresentare un notevole passo avanti sia verso la possibilità di valutare la qualità ed efficacia dei servizi sanitari che in direzione di un miglioramento dell'iter diagnostico-terapeutico del paziente oncologico.

3.2.2 Specifiche architetturali e funzionali hardware e software di base e specifiche funzionali della Banca Dati centralizzata

Per la raccolta e la elaborazione dei dati secondo quanto indicato è necessario creare un sistema informatico che semplifichi il più possibile il flusso informativo, dal momento dell'inserimento dei dati da parte dei diversi operatori fino alla loro elaborazione centralizzata.

Per venire incontro a tali necessità, si è pensato innanzitutto che il sistema dovesse avere un'architettura di tipo distribuito e, dopo una iniziale ipotesi di tipo client-server, si è ritenuto preferibile optare per un'architettura che sfrutti le tecnologie attualmente disponibili, in particolare il WEB, e quindi si è individuato nel modello multi-tier quello più adatto ai fini suddetti. Più precisamente il sistema dovrebbe essere three-tier, costituito cioè da:

- un livello centrale (database server), preposto alla gestione dei dati, alla loro memorizzazione, salvaguardia ed elaborazione
- un livello intermedio (WEB server), che si occuperà della gestione degli accessi al sistema (login, password di autenticazione, ecc...) e della "distribuzione" delle applicazioni (i vari programmi per l'inserimento dei dati, la loro modifica, consultazione, ecc...)
- un livello client, che in un'architettura siffatta è un client "leggero", con requisiti minimi e molto flessibili.

I requisiti hardware e software per i vari livelli potrebbero essere i seguenti:

- database server: server Unix o Windows NT, processore Pentium a 400 Mhz o superiore, 128 MB di RAM, hard disk di dimensioni da definire in base al volume atteso di dati trattati, DataBase Management System di tipo Relazionale (Oracle, Sybase, Informix, ecc.) o, meglio ancora, data la tipologia e la complessità dei dati trattati, di tipo Post-Relazionale ed Object Oriented (Cache della Intersystems)
- Web server: per i requisiti hardware un server con processore Pentium a 400 Mhz o superiore ad almeno 128 MB di RAM, OS Windows NT o Unix (ad esempio LINUX), hard disk di dimensioni medio-grandi (da 10 GB in su). Per quanto riguarda la parte software, la scelta deve essere fatta sostanzialmente tra le due categorie principali: l'Active Server Page (ASP) della Microsoft o il Dynamic HTML (DHTML); in base alla scelta, si potrà optare per l'Internet Information Server della Microsoft su piattaforma Windows NT o altri WEB server (l'accoppiata LINUX-APACHE è delle migliori soluzioni per l'implementazione dei WEB server, nonché probabilmente la più diffusa sulla rete), o il WEB server della Netscape o altre soluzioni similari: non ci sono particolari indicazioni di preferenza al riguardo
- client: un qualsiasi computer con modem per l'accesso a Internet ed un Web browser grafico (Netscape o Internet Explorer).

In un tale sistema, il flusso informativo dovrebbe essere il seguente: i vari operatori si collegano (da un luogo qualsiasi, grazie ad Internet) al WEB server ed effettuano il login; il sistema li autentica ed inizia con loro l'interscambio delle informazioni, inviando sul WEB browser del client gli applicativi (scripts CGI, Applets JAVA, ecc...) per l'accesso alle varie funzionalità del software, preoccupandosi di memorizzare le informazioni sul database, sul quale verranno poi successivamente elaborate per la produzione dei risultati.

Un sistema siffatto viene ad essere molto flessibile, con costi di realizzazione e, soprattutto, di manutenzione molto contenuti per tutti e tre i livelli dell'architettura (in particolare il terzo livello).

3.3 Indicatori di Qualità

Ai fini della valutazione di Qualità esistono essenzialmente due tipologie di approccio per la raccolta dei dati e delle informazioni: attraverso indicatori misurabili, o attraverso domande che necessitano di risposte di tipo discorsivo. Quest'ultima modalità di approccio è molto usata negli schemi di accreditamento anglosassoni. La prima, invece, più usata negli Stati Uniti è più immediata e direttamente collegata ai risultati. Quest'ultima è la modalità che si è scelto di utilizzare in questo Progetto, in quanto, permette di ottenere risultati immediatamente e univocamente interpretabili, in modo da cogliere gli aspetti caratteristici del processo analizzato, dando la possibilità a chi deve poi intervenire di sapere come e dove intervenire.

Gli indicatori mirano a valutare in modo distinto la performance relativa alle cinque dimensioni della Qualità sopra definite, e dunque si suddividono in:

- indicatori di efficacia
- indicatori di qualità tecnico-scientifica

- indicatori di integrazione
- indicatori di accessibilità
- indicatori di utilizzo.

Gli indicatori, inoltre, sono stati ricondotti alle macro-fasi del processo in esame: alcuni sono specifici e relativi ad una sola macro-fase (es.: N° decessi di pazienti durante l'intervento chirurgico/N° pazienti che hanno subito intervento chirurgico, relativo alla sola fase di attività terapeutica chirurgica), altri possono riguardare più macro-fasi del processo (es.: Percentuale di ore dedicate allo studio e all'aggiornamento sul totale delle ore lavorate).

In allegato 4 (**Agli atti presso gli uffici della Segreteria Sanità e Sociale**) si riporta l'elenco completo (ordinato per grado di priorità) degli indicatori di Qualità. Per ciascun indicatore (contraddistinto da un numero) si riportano le seguenti informazioni:

- aspetto della qualità, indagato dall'indicatore: efficacia, qualità tecnico-scientifica, integrazione, accessibilità, utilizzo.
- fase/i del processo, al quale fa riferimento: prevenzione, attività diagnostica e di stadiazione, attività terapeutica chirurgica e/o non chirurgica, riabilitazione, attività assistenziale (follow up), assistenza in fase terminale.
- fonte dei dati, per la raccolta delle informazioni necessarie per la sua misurazione: Scheda di Dimissione Ospedaliera, Cartella clinica oncologica integrata, Osservazione diretta, Altro.
- grado di priorità, espresso dagli operatori coinvolti nel Progetto, relativo alla rilevanza ed importanza delle informazioni fornite dall'indicatore: alto, medio e basso.

Dei circa 170 indicatori riportati in allegato 4, circa un terzo di essi si ottiene dalle informazioni contenute nella "cartella clinica oncologica integrata" come sopra definita (es.: N° pazienti con sviluppo o aggravamento di ulcere da decubito/N° pazienti totali) e dalle Schede di Dimissione Ospedaliera (N° casi con degenza superiore al valore soglia/N° casi totali), un altro terzo dall'osservazione diretta (es.: Giorni di attività del Servizio di Assistenza Domiciliare, Esistenza di un Piano assistenziale individualizzato per il paziente assistito a domicilio), e il restante terzo da altre fonti informative, alcune delle quali già presenti all'interno delle strutture sanitarie.

Al termine dell'elenco degli indicatori, sempre in allegato 4, si riporta la matrice di valutazione della Qualità (descritta nel paragrafo 3.1), con all'interno delle celle i numeri che contraddistinguono gli indicatori ad esse assegnati (i numeri corrispondono a quelli riportati nell'elenco degli indicatori). Nella matrice si evidenziano (attraverso la sottolineatura) gli indicatori relativi ad una sola macrofase e le diverse fonti dei dati (attraverso colori diversi). A partire dalla misurazione e valorizzazione degli indicatori assegnati a ciascuna cella (come rappresentato in allegato 4), è possibile ottenere il valore (in scala 0-100) per ognuna delle celle, secondo la modalità descritta nel paragrafo 3.1.

3.4 La soddisfazione degli utenti

Il tema della soddisfazione degli utenti, legato all'analisi delle aspettative e della percezione del servizio erogato e della struttura, è sicuramente un tema di notevole importanza, sul quale vengono spesso impegnate rilevanti quantità di risorse con risultati a volte non sempre direttamente e semplicemente utilizzabili ai fini del miglioramento.

L'idea di fondo che ha fornito la base per lo sviluppo di una metodologia di analisi del livello di soddisfazione degli utenti, è stata pertanto quella di contenere al massimo la quantità di informazioni a basso valore aggiunto, rilevando solo quei dati che possono essere direttamente elaborati ed utilizzati per ottenere informazioni utili al miglioramento della Struttura, del servizio erogato e dei processi che vedono coinvolto l'utente.

Sono stati predisposti 6 questionari (riportati in Allegato 5 – **Agli atti presso gli uffici della Segreteria Sanità e Sociale**), uno per ogni tipologia di Struttura sanitaria (Ambulatorio, Ospedale per acuti, Istituto di Riabilitazione, Lungodegenza/Hospice/Residenza Sanitaria Assistenziale, Servizio di Assistenza Domiciliare, Medico di Base) coinvolta nelle diverse fasi del processo. Tali questionari contengono domande codificate per area di appartenenza (servizio o struttura) e numerate progressivamente in maniera tale da tener conto degli attori coinvolti (Medici, Infermieri, ...) e degli aspetti di servizio e di struttura analizzati (Servizi igienici, Cibo,...).

Le risposte raccolte sono state elaborate attraverso l'assegnazione, ad ogni risposta fornita, di un punteggio predefinito (che va da 0 a 10). Ciascuna risposta, inoltre, è stata ponderata attraverso l'attribuzione di pesi che esprimono il grado relativo di priorità (basso o alto) che si può attribuire agli aspetti del servizio o della struttura a cui la domanda si riferisce. Si riportano in allegato 6 (**Agli atti presso gli uffici della Segreteria Sanità e Sociale**) le tabelle di analisi ed elaborazione delle risposte relative alle cinque tipologie di questionari somministrati. I valori ottenuti attraverso il calcolo di una media aritmetica possono essere rappresentati in matrici/grafici che permettono una rapida ed efficace lettura dei risultati ottenuti.

La prima tipologia di matrice rappresenta, per ciascuna delle Strutture sanitarie interessate, le priorità d'intervento nella quale sono immediatamente distinguibili gli aspetti più critici che necessitano di un intervento immediato. Nell'allegato 7 (**Agli atti presso gli uffici della Segreteria Sanità e Sociale**), che si riferisce, a titolo esemplificativo, all'Istituto di Riabilitazione, l'aspetto della struttura caratterizzato dalla domanda STR2.4, alla quale è stata assegnata un'alta priorità, ha ottenuto un giudizio piuttosto basso da parte degli utenti intervistati. Invece tutti gli aspetti connessi con le domande i cui valori cadono nel quadrante in alto a destra (ovvero alta priorità ed alta valutazione da parte degli utenti) rappresentano un'area di eccellenza della Struttura sanitaria. Il quadrante in basso a destra evidenzia giudizi positivi su aspetti di minore importanza (pericolo di sovraqualità), mentre, nel quadrante in basso a sinistra, ricadono aspetti che vanno comunque migliorati ma con una programmazione a più ampio respiro in relazione alla loro bassa importanza.

E' possibile anche, utilizzando un'altra matrice a due dimensioni (si veda l'Allegato 8 – **Agli atti presso gli uffici della Segreteria Sanità e Sociale**), operare dei confronti tra le cinque Strutture sanitarie coinvolte nel processo, separando le due aree (servizio o struttura), e distinguendo, all'interno di ciascuna area, gli aspetti di elevata importanza dagli aspetti di minore importanza. Nel quadrante in alto a destra sono riportati tutti gli aspetti, per ognuna delle cinque tipologie di Strutture Sanitarie, di struttura e di servizio ad alto grado di importanza che hanno ottenuto un alto giudizio da parte del paziente. Nel quadrante in basso a destra sono riportati tutti gli aspetti di minore importanza che hanno ottenuto comunque un giudizio positivo. Nei due quadranti di sinistra si sarebbero collocati gli aspetti molto (in alto)/poco (in basso) importanti ma con valutazione negativa. Dal posizionamento relativo, per ogni singola Struttura sanitaria, di ogni area (servizio o struttura) nel quadrante superiore e nel quadrante inferiore, inoltre, è possibile operare un confronto tra il giudizio espresso dall'utente rispetto agli aspetti ad elevata importanza (quadrante superiore) e agli aspetti a minore importanza (quadrante inferiore) in riferimento alla Struttura considerata. Ad esempio il servizio ospedaliero (SER.OSP.) ha ottenuto un giudizio più positivo relativamente agli aspetti di minore importanza ed un giudizio meno positivo relativamente agli aspetti di maggiore importanza.

Una differente chiave di lettura si ottiene utilizzando i valori ottenuti da ogni singola Struttura sanitaria nelle due aree di indagine (servizio o struttura). Come si può osservare in Allegato 9 (**Agli atti presso gli uffici della Segreteria Sanità e Sociale**), il risultato è assimilabile ad un profilo di gradimento da parte del paziente della gestione integrata del processo nelle diverse Strutture sanitarie, relativamente agli aspetti inerenti la struttura (Grafico 1) o il servizio (Grafico 2). Tale processo risulta tanto più adeguatamente gestito quanto più il profilo è omogeneo e si avvicina a 100 (tutti i valori sono riportati in scala 0-100, dove 100 rappresenta quindi il massimo valore ottenibile per una data Struttura sanitaria in una determinata area di esame).

Un'ultima doverosa notazione riguarda la grande disponibilità e lo spirito di collaborazione dimostrato dagli operatori sanitari selezionati come referenti delle macro-fasi del processo. Ci preme, dunque, ringraziare i referenti e tutti gli operatori coinvolti che, attraverso una piena partecipazione e uno scambio di idee sempre costruttivo, hanno offerto un valido contributo per la realizzazione del Progetto, sia nella fase di definizione metodologica che in quella di sperimentazione.

SINTESI RICERCA SANITARIA FINALIZZATA 832/06/98

Responsabile scientifico Guccione Carmelo - Ente Proponente ULSS 3 di Bassano del Grappa.

“Percorsi clinici in chirurgia generale: neoplasie del grosso intestino, neoplasie della mammella e colidiasis sintomatica”.

Percorsi clinici in Chirurgia Colo-rettale

L'esperienza di applicazione di percorsi clinici nella chirurgia colo-rettale ha portato ad alcuni risultati positivi significativi. I tempi di rimozione del sondino nasogastrico e del catetere vescicale sono stati più brevi. I tempi di canalizzazione sono stati lievemente più brevi. La ripresa dell'alimentazione è stata più precoce. Il trattamento analgesico perioperatorio è stato più efficace. La dimissione è avvenuta in tempi mediamente più brevi.

Cause di variazione (ossia inosservanza delle prescrizioni del percorso clinico) sono state:

- le complicanze post operatorie, mediche e chirurgiche
- la resistenza alla dimissione precoce, da parte dei pazienti più anziani e delle loro famiglie. Nel 30% dei casi ciò ha comportato un prolungamento della degenza di 1-2 giorni.

Percorsi clinici in Chirurgia della Mammella

1 - Percorsi clinici in regime di Day Surgery: gli interventi per patologia mammaria di entità minore sono ottimamente gestibili in regime di Day Surgery. L'aspettativa della Paziente, debitamente informata nel colloquio ambulatoriale, è stata soddisfatta. Non si sono manifestati eventi sfavorevoli né complicanze degne di nota nella casistica riportata.

E' opportuno che le Pazienti dopo la dimissione siano seguite dall'operatore o presso l'ambulatorio senologico per un rapporto più personalizzato in una patologia fonte di notevole stato ansioso.

Riteniamo sia opportuna una maggiore sinergia con i Colleghi della radiologia per migliorare i tempi della sequenza repere metallico - intervento, favorendo quando possibile il repere cutaneo ecografico, del tutto atraumatico per la Paziente e posizionabile anche nei giorni precedenti all'intervento.

2 - Percorsi clinici per Chirurgia maggiore in regime di ricovero: Abbiamo potuto evidenziare la fattibilità di un percorso clinico negli interventi di chirurgia maggiore sulla mammella.

Abbiamo dimostrato una riduzione della degenza media di circa 2 gg rispetto ai casi controllo, anche se la dimissione precoce, in terza giornata postoperatoria, è stata possibile in una percentuale non ancora soddisfacente in entrambi i gruppi che hanno seguito i percorsi clinici (cl path: 23.5%, ci path2: 26.7%).

Un ulteriore affinamento della tecnica operatoria con l'uso delle nuove tecnologie potrebbe migliorare i problemi che hanno determinato una ritardata dimissione, in particolare ridurre ulteriormente il rischio emorragico e l'entità della linforrea. La precoce rimozione del drenaggio non è risultata comunque fondamentale; un maggiore coinvolgimento della Paziente nella gestione dei drenaggi ha favorito la dimissione precoce con drenaggio in situ.

Fondamentale è il coinvolgimento dei familiari, a nostro avviso-non ancora preparati in particolare con le Pazienti più anziane, dei medici di medicina generale, dei distretti e dei medici del territorio per gestire a domicilio le Pazienti che non necessitano più di ospedalizzazione, aumentando il gradimento delle stesse per questa scelta. A tale riguardo, dall'analisi della letteratura più recente, pur in realtà sanitarie diverse dalla nostra, sembrano aver dato ottimi risultati o programmi di chirurgia maggiore della mammella in regime di day surgery o di one day surgery, dove la Paziente, dimessa la sera stessa od il giorno seguente l'intervento, viene seguita a domicilio da un'equipe dedicata di infermieri e medici del territorio.

Percorsi clinici nella Colectomia laparoscopica

Il percorso clinico proposto per la videolaparocolectomia è stato applicato ad una popolazione non selezionata per età, rischio anestesilogico, complicanze pregresse ed in atto della colelitiasi, trattamento in urgenza o elezione. Nel 60% dei casi il percorso è stato sostanzialmente rispettato anche se solo nel 25% vi è stata stretta aderenza al protocollo iniziale. La varianza più frequentemente osservata è stata la durata della degenza, ma nel 32% della casistica essa è attribuibile a cause facilmente modificabili (inosservanza del percorso da parte dei medici, disturbi gestibili anche ambulatorialmente, alterazioni ematochimiche non rilevanti e parimenti gestibili anche non in regime di ricovero). Un totale di 68 (38%) pazienti ha presentato variazioni complessivamente motivate dallo stato clinico. Due di questi pazienti hanno sviluppato complicanze chirurgiche maggiori. Il tasso di complicanze è stato contenuto (4 pazienti, 2.2%) come pure il tasso di riospedalizzazione (fi.7%). Solo il 12.3% dei pazienti ha manifestato di non gradire il trattamento proposto. Durante la durata dello studio la degenza media per videolaparocolectomia si è ridotta da 3 a 2.66 giorni.

Nei 150 pazienti { 84,3%) operati per colelitiasi sintomatica semplice e adenomiomi o colesterolosi della colecisti la degenza media postoperatoria è stata di 2.44 giorni.

Indipendentemente dall'aderenza o meno al percorso clinico abbiamo calcolato un risparmio medio di Lit 227.276 per ciascun ricovero per VLC durante il periodo dello studio. L'introduzione del percorso clinico è stata una efficace misura di riduzione della spesa collegata alla degenza dopo VLC. Inoltre è stato un notevole stimolo a amplificare e standardizzare le procedure cliniche correlate all'intervento.

SINTESI RICERCA SANITARIA FINALIZZATA 833/02/98

Responsabile scientifico Guglielmi Rosa Bianca - Ente Proponente ULSS 6 di Vicenza.

“Approccio multidisciplinare alla diagnosi, terapia e follow up del paziente oncoematologico”.

E' in corso di elaborazione l'analisi e lo sviluppo del software per la gestione della scheda clinica-cartella unit illustrata ed allegata alla relazione in itinere sullo sviluppo del progetto finalizzato.

Il programma, sviluppato in ambiente Windows 2000, verrà installato presso le quattro stazioni di lavoro corrispondenti alle U.O. coinvolte nel percorso assistenziale multidisciplinare di diagnosi e cura del paziente affetto da linfoma: Ematologia, Anatomia Patologica, Radiologia e Radioterapia.

Tali stazioni sono state attrezzate con hardware che presenta i seguenti requisiti:

CPU Pentium III 500

RAM 128 Mb

HD min. 6 Gb

Scheda Video 8 Mb

Monitor colore 15"

Tastiera italiana e mouse su porta monidin

Almeno una porta seriale veloce

Modem analogico 56Kb, connesso ad una linea analogica commutata, destinata ai collegamenti tra le stazioni

Stampante

Il software in corso di elaborazione consentirà:

- A) l'inserimento, la modifica e la consultazione, secondo diversi criteri di ricerca, delle informazioni anagrafiche e cliniche dei pazienti, con riferimento ai dati semeiologici, laboratoristici, diagnostici e di trattamento previsti dalla scheda nelle sue diverse componenti.
- B) La predisposizione, per ogni stazione di lavoro, di un proprio archivio per la memorizzazione delle schede cliniche-cartelle unit.
- C) Possibilità di allineare gli archivi locali con un archivio di riferimento che raccoglierà e ridistribuirà le schede compilate a tutti gli archivi periferici, sfruttando le linee analogiche ed i modem in dotazione. La tecnologia utilizzata per l'allineamento degli archivi si basa su meccanismi di replicazione di database Microsoft.
- D) Flessibilità dello strumento tale da consentire le modifiche resesi via via necessarie dalle nuove conoscenze scientifiche acquisite in materia (definizione di nuovi standards, identificazione di nuovi fattori diagnostici e prognostici, adozione raccomandata di nuovi protocolli terapeutici, nuovi inquadramenti classificativi etc.)

Nell'attesa del completamento del software, il gruppo interdisciplinare ha già sperimentato l'utilità e la versatilità della cartella-unit prodotta, su 30 casi di pazienti affetti da linfoma di Hodgkin.

Ciò ha consentito di constatare in modo preliminare che:

- 1) L'utilizzo di una cartella-unit consente di avvalersi di una fonte di informazione unica, sufficientemente analitica ed allo stesso tempo sintetica, in grado di offrire una visione globale, multidisciplinare e facilmente accessibile del caso-paziente in esame.

- 2) L'utilizzo di una cartella-unit consente di effettuare retrospettivamente una ricerca di dati, secondo criteri e raggruppamenti prestabiliti, in modo più rapido e meno frammentario rispetto a ciò che si otterrebbe conducendo la ricerca su quattro fonti diverse.
- 3) L'utilizzo di una cartella-unit può evidenziare in modo più immediato ed efficace analogie e differenze di presentazione e comportamento clinico-biologico di una stessa patologia, intesa come istotipo oncologico.
- 4) La verifica di eventuali dati, altrimenti effettuabile per consultazione telefonica, con le ovvie limitazioni, o attendendo il recapito di referti scritti, appare più immediata e quindi più pertinente al suo utilizzo.
- 5) La conoscenza dei diversi aspetti del processo di diagnosi e cura del paziente affetto da (infornata), più propri delle diverse specialità che vi intervengono, viene facilitata, aumentando la possibilità di inquadramento globale del caso clinico in esame, rendendo ogni specialista più consapevole delle ricadute delle proprie scelte ed uniformando la metodologia del ragionamento clinico-diagnostico a standards previamente concordati.

L'attivazione informatica di questo strumento di gestione del paziente oncoematologico non farà che potenziare e rendere più agevole il raggiungimento degli outcomes assistenziali di efficacia ed efficienza attesi ed illustrati al momento della presentazione del progetto in esame.

SINTESI RICERCA SANITARIA FINALIZZATA 836/03/98

Responsabile scientifico Laverda Anna Maria - Ente Proponente Azienda Ospedaliera di Padova.

“Epilessia parziale farmaco resistente in età pediatrica: protocollo di studio dei pazienti destinati al trattamento chirurgico”.

L'accurata selezione dei pazienti pediatrici con epilessia parziale farmaco resistente destinati al trattamento neurochirurgico ottenuta con il protocollo di studio esemplificato in Tabella 4 (**Agli atti presso gli uffici della Segreteria Sanità e Sociale**), ha permesso di:

- anticipare rispetto al passato l'epoca di intervento, riducendo quindi la durata della malattia e le sue conseguenze;
- ridurre l'uso di tecniche di monitoraggio invasive con elettrodi intracerebrali;
- ottenere i migliori risultati della chirurgia, grazie all'esatta definizione della zona epilettogena tramite la congruenza dei dati anatomico-elettro-clinici.

Dalla nostra esperienza emerge la necessità che in Italia nascano altri Centri dedicati all'esecuzione di indagini invasive e trattamento chirurgico dell'epilessia, e che nei centri già esistenti dedicati alla cura dell'epilessia vengano potenziate le indagini prechirurgiche non invasive.

Protocollo diagnostico pre-chirurgico

Storia clinica dettagliata
 EEG intercritici (veglia, sonno)
 Neuroradiologia (TAC, RMN)
 Valutazione neuropsicologica



Monitoraggio VideoEEG prolungato
 RMN ad alta risoluzione



- ⇒ Intervento chirurgico
- ⇒ Indagini invasive prechirurgiche
- ⇒ Monitoraggio neuropsicologico (annuale per i prechirurgici, a 6, 12, 18, 24 mesi per i post-chirurgici).

SINTESI RICERCA SANITARIA FINALIZZATA 837/04/98**Responsabile scientifico Maluta Sergio - Ente Proponente Azienda Ospedaliera di Verona.****“Liposomi come veicoli di farmaci anti-tumorali in accoppiamento con l’ipertermia”.**

In terapia antiblastica la quantità di farmaco somministrato è un compromesso tra la tossicità del farmaco e la dose necessaria per ottenere l'effetto terapeutico.

Tra le varie modalità di somministrazione, la via liposomiale rappresenta il veicolo più versatile e meno tossico.

I liposomi possono servire per trasportare un'ampia gamma di agenti terapeutici compresi i farmaci tumorali. La ricerca è stata indirizzata alla formulazione di un sistema liposomiale termosensibile in grado di rilasciare farmaci antitumorali sotto sensibilizzazione del calore, in accoppiamento con trattamenti di ipertermia.

Sono stati confezionati dei liposomi stabili alla temperatura fisiologica e in grado di avere una prolungata permanenza nel circolo sanguigno e di veicolare il farmaco rilasciandolo solo in presenza di temperature elevate nell'ordine dei 42- 43,5 °C.

La ricerca ha dimostrato che la preparazione di tale substrato è possibile, in particolare se si utilizza un doppio strato lipidico e se si associa il polietilenglicolo che rende estremamente stabile il liposoma.

I liposomi in tal modo prodotti mostrano una transizione di fase collocata nel range delle temperature normalmente utilizzate in ipertermia oncologica e pertanto la metodica è in futuro utilizzabile in campo clinico.

L'incapsulamento del farmaco nella doppia membrana lipidica consente una eventuale introduzione di un secondo farmaco antiblastico idrosolubile da assorbire nel compartimento acquoso del liposoma.

SINTESI RICERCA SANITARIA FINALIZZATA 839/06/98**Responsabile scientifico Marcon Giulio - Ente Proponente ULSS 13 di Mirano.****“Dall’episodio di malattia al percorso di cura: come garantire, pianificare e remunerare la continuità delle cure”.**

La frattura di collo del femore rappresenta una patologia complessa, di interesse multidisciplinare, di alto costo e gravata da un’alta mortalità e disabilità; questa patologia ha un lungo iter prima della guarigione, iter in cui intervengono diverse strutture ospedaliere e territoriali

Gli outcomes negativi della frattura di femore sono molto pesanti: il 20% dei pazienti muore nel corso del ricovero, cifra che sale al 37% dopo un anno. Dato l’elevato costo sanitario e sociale della patologia si è affrontato il problema di come ridurre gli outcomes negativi ed incrementare quelli positivi.

Si è impostato un progetto (basato su di un’ampia ricerca della letteratura, su un’analisi epidemiologica mirata e su di una accurata analisi organizzativa delle fratture di femore del periodo 1997/1999) di valutazione dei possibili punti di miglioramento del percorso. Le ricerche hanno indicato punti critici da presidiare, che sono stati identificati nelle complicanze e nella durata di degenza

Quindi è stato formato un gruppo multidisciplinare che ha realizzato un progetto basato sulla reingegnerizzazione dell’organizzazione adottando la tecnica del “percorso critico” (tecnica ampiamente usata sia nell’industria manifatturiera che in ambito sanitario).

E’ stato impostato un sistema informativo che contiene i dati di tutti i pazienti e che permette ricerche ed analisi future

Il progetto ha fornito ottimi risultati riducendo del 44% la degenza prefrattura e del 49% la degenza postfrattura, del 64% i decubiti, del 72% le infezioni urinarie e le TVP, del 75% il delirio e del 23% la mortalità precoce.

I risultati sui decubiti, sulla TVP, sulle infezioni urinarie e sul delirio sono inferiori ai dati più bassi per la frattura di femore riportati in letteratura.

SINTESI RICERCA SANITARIA FINALIZZATA 841/04/98**Responsabile scientifico Marzaro Maurizio - Ente Proponente ULSS 9 di Treviso.**

“Biomateriali naturali (matrici acellulari) utilizzabili come sostituti di organo o come componenti di bioreattori”.

La ricerca si proponeva di ottenere un ampliamento della superficie intestinale con matrici acellulari omologhe.

Le matrici sviluppate nella nostra ricerca sono costituite da parte dell'organo di origine private del proprio patrimonio cellulare mediante opportuni trattamenti enzimatici.

In questo modo si ottiene una struttura a rete costituita dalle sole fibre del connettivo che mima perfettamente l'organo di origine, sia come dimensioni che come ultrastruttura.

Anche la consistenza dei pezzi così ottenuti li avvicina molto all'uso chirurgico dato che essi possono sostenere le normali manovre adatte alla ricostruzione di un tratto di intestino o di altri organi addominali (suture chirurgiche o altro). Di fatto ciò rende possibile l'uso di questi pezzi come un normale pezzo anatomico, ancorché privo di cellule.

La ricerca si basa sull'osservazione, scaturita da precedenti esperimenti (*Parnigotto et al, 2000*), che una matrice ottenuta con queste tecniche e anastomizzata con particolari attenzioni, può essere ripopolata da parte dell'ospite mediante il passaggio di vasi sanguigni e cellule dal punto di anastomosi, riformando i normali strati del tessuto.

Il lavoro svolto ha potuto dimostrare che i presupposti della ricerca sono confermati, essendo le matrici da noi preparate ideali per essere usate come bioprotesi nel vivente. Dal momento, infatti, che queste possono essere ricavate da svariati organi, o idealmente possibile preparare ogni tipo di sostituto d'organo, in particolare per quanto attiene ad organi cavi, con una parte assolutamente simile per dimensioni e struttura.

(Quindi riteniamo possibile confermare, in un prossimo futuro, il principio della preparazione dei "pezzi di ricambio" su misura per ogni singolo paziente.

Crediamo, peraltro, che al momento la ricerca sia ad uno stadio precoce e necessiti di essere implementata con una parte di lavoro di laboratorio che ci consenta di rendere attive queste matrici con una adeguata coltura cellulare per facilitarne l'attecchimento nell'ospite.

MATERIALI E METODI**Matrice acellulare di stomaco e di intestino**

Nella prima fase della ricerca si è cercato di ottimizzare la metodica, precedentemente usata sia pur la valvola aortica che per le arterie di piccolo calibro, per rendere la matrice gastrica e intestinale acellulare. Si è proceduto a più cicli di congelamento-scongelo e a diversi trattamenti con acqua distillata, sodio deossicolato e Dnasi I.

L'avvenuta decellularizzazione della protesi è stata verificata mediante colorazioni istologiche.

Nella sperimentazione in vivo è stata utilizzata o la tonaca mucosa gastrica acellulare, opportunamente tubularizzata, in quanto l'intera parete risultava troppo spessa rispetto all'intestino del ricevente o la matrice intestinale acellulare.

Intervento chirurgico

Venticinque minuti prima dell'operazione, il maiale è stata premedicata con xylazina 0,2 mg/kg e f Ketamina. Lo stadio di anestesia chirurgica è stato mantenuto mediante somministrazione di ossigeno-protossido di azoto e fluotano attraverso un tubo tracheale. Si è proceduto all'isolamento di un'ansa del digiuno-ileo (circa 40 cm.) con il proprio meso e all'anastomosi dell'intestino a monte e a valle; nell'ansa così isolata s'inserisce una protesi tabulare di matrice acellulare gastrica ricavata dalla sola mucosa (m precedenza preparata a partire dalla parete gastrica intera di un maiale del peso di 13 kg) della lunghezza di 9 cm. e di diametro doppio rispetto all'intestino ricevente. L'ansa viene poi chiusa su se stessa in forma di ansa cieca e in essa, mediante borsa di tabacco, s'inserisce un catetere derivato per via sottocutanea sul dorso dell'animale per effettuare il lavaggio quotidiano e il drenaggio del contenuto intestinale nei giorni successivi all'intervento. Durante l'intervento e per altri 4 gg è stata somministrata ceftizoxima per via intramuscolare.

Nei primi 5 giorni si è somministrata e.v. soluzione glucosata (circa 250 ml), dal 6° giorno l'animale è stato alimentato per os con soluzione per nutrizione enterale, dall'8° giorno è stato nutrito con cibo semisolido costituito da soluzione di Meritene, mangime e acqua, e dal 10° giorno con mangime e Meritene in polvere.

I lavaggi dell'ansa intestinale sono iniziati il 6° giorno postoperatorio; al 1° lavaggio si è iniettati 50 ml di soluzione fisiologica, nei giorni successivi si è aumentato il volume fino a 200 ml.

Sono stati eseguiti 12 impianti.

Valutazione degli esiti degli impianti

Gli animali sono stati sacrificati mediante somministrazione di Tanax e.v. 1, 2 e 4 settimane dagli interventi. Gli impianti sono stati prelevati, fissati con tormalina neutra tamponata al 10% e inclusi in paraffina. Le sezioni, dello spessore di 5 µm, sono state colorate con ematossilina-eosina. Le osservazioni sono state effettuate con un microscopio Laborlux S (Leitz), dotato di una telecamera e connesso ad un personal computer.

ESITI DEGLI IMPIANTI DI MATRICE GASTRICA ACELLULARE NELL'INTESTINO DI MAIALE

A 1 settimana dall'intervento, l'innesto presentava, in prossimità delle anastomosi, un moderato infiltrato infiammatorio con formazione di neo vasi (figura 1: **Agli atti presso gli uffici della Segreteria Sanità e Sociale**).

Erano inoltre evidenti cellule di tipo fibroblastoidi. La zona centrale della matrice invece non appariva ripopolata da alcun tipo di cellule (figura 2: **Agli atti presso gli uffici della Segreteria Sanità e Sociale**).

Non si notavano segni di epitelizzazione nel versante luminale dell'innesto.

A 14 giorni dall'impianto la risposta infiammatoria regrediva in prossimità delle anastomosi (figura 3 **Agli atti presso gli uffici della Segreteria Sanità e Sociale**).

Inoltre si potevano osservare fibrocellule muscolari lisce, migrate dal tessuto del ricevente, e che cominciavano a mostrare una iniziale organizzazione (figura 4: **Agli atti presso gli uffici della Segreteria Sanità e Sociale**).

All'interno dell'innesto erano visibili un moderato infiltrato infiammatorio e numerose cellule fibroblastoidi (figura 5 **Agli atti presso gli uffici della Segreteria Sanità e Sociale**).

La superficie luminale dell'impianto non appariva ancora ricoperta da epitelio.

Abbiamo valutato come poco soddisfacenti i risultati ottenuti, in quanto evidenze sperimentali da noi in precedenza acquisite nel ratto (Parnigotto et al., 2000), avevano dimostrato una completa integrazione della matrice gastrica acellulare nell'intestino dopo circa due settimane dall'intervento.

La scelta di matrice gastrica nel ratto era stata imposta da una impossibilità di utilizzare matrice intestinale a causa della sua inadeguatezza all'uso chirurgico, in quanto troppo sottile.

In questo caso, invece, la matrice acellulare intestinale di maiale, oltre a possedere già una forma tubolare pronta per l'uso, mantiene uno spessore tale da permetterne l'utilizzo.

ESITI DEGLI IMPIANTI DI MATRICE INTESTINALE ACELLULARE NELL'INTESTINO DI MAIALE

Riteniamo che l'intestino di maiale, data la propria struttura e dimensione, rappresenti un materiale adatto a essere trattato per la formazione di una matrice omologa per la ricostruzione intestinale in questo animale da esperimento.

La sua consistenza, infatti, anche dopo ripetuti trattamenti enzimatici rimane valida e permette di effettuare una valida anastomosi con tecniche chirurgiche tradizionali anche se delicate.

La matrice di intestino ha rivelato anche una permeabilità tale da consentire un sufficiente passaggio di cellule e di vasi dai punti di anastomosi con l'intestino sano.

Infatti, a differenza di quello che si era osservato utilizzando la matrice gastrica, a 1 settimana dall'intervento l'intera protesi si presentava ripopolata da cellule fibroblastoidi ed era ovunque evidente una diffusa neovascolarizzazione (figure 6 e 7: **Agli atti presso gli uffici della Segreteria Sanità e Sociale**).

La risposta infiammatoria era presente, ma appariva di modesta entità. Tuttavia dopo 4 settimane dall'intervento la superficie luminale dell'impianto non risultava riepitelizzata e il suo interno non era stato colonizzato da cellule muscolari lisce.

In base a tali risultati, soltanto parzialmente soddisfacenti, riteniamo che la sola matrice acellulare non sia sufficiente per garantire una completa integrazione funzionale dell'impianto e che sia necessario l'utilizzo di matrici preventivamente ripopolate *in vitro* con cellule autologhe che siano adatte alla ricrescita tissutale.

SINTESI RICERCA SANITARIA FINALIZZATA 846/03/98

Responsabile scientifico Milanese Ornella - Ente Proponente Azienda Ospedaliera di Padova.

“Miocarditi in età pediatrica”.

Questa ricerca ha permesso di concentrare presso il Dipartimento di Pediatria dell'Università di Padova un numero elevato, data la relativa rarità della malattia, di bambini affetti da miocardite/cardiomiopatia dilatativa conclamata o focale. Questi pazienti provengono non solo dalla Regione Veneto, ma anche dal Trentino Alto Adige e Friuli Venezia Giulia. 4 pazienti provengono dalle Marche. Il database delle miocarditi consta così oggi di 66 nominativi inseriti (dal 1992 al 2001). Il progetto di ricerca, svolto nell'arco dei tre anni, si è avvalso sia di un'indagine retrospettiva rianalizzando i casi (31 pazienti) reclutati dal 1992 al 1998 sia di uno studio prospettico per i nuovi casi (35 pazienti).

Il protocollo delle miocarditi, elaborato al fine di fornire uno strumento di screening di tutte le possibili cause di disfunzione ventricolare sinistra acuta in età pediatrica è stato arricchito, rispetto a quanto descritto nei materiali e metodi del progetto di ricerca presentato, della determinazione di alcuni marker della flogosi quali l'Interleukina 6 e 8 ed il "Tumor Necrosis Factor α ", utilizzati come metodo non invasivo per individuare un'eventuale guarigione da un punto di vista flogistico. I nuovi casi reclutati nello studio che mostravano una significativa riduzione della funzionalità ventricolare sinistra (FE \leq 40%) sono stati sottoposti a biopsia endomiocardica: i frustoli prelevati (almeno 4) sono stati utilizzati non soltanto per una esatta caratterizzazione diagnostica ma anche per una specifica identificazione tissutale dell'agente infettivo. La ricerca di genoma virale è, invece stata effettuata solo nell'aspirato naso faringeo e nel sangue in 10 bambini, nei quali la compromissione miocardica non era così severa da porre a repentaglio la vita o si sospettava una miocardite focale per la nuova insorgenza di un'aritmia complessa.

I dati raccolti con questa ricerca hanno costituito oggetto di presentazione in 9 congressi nazionali ed internazionali

L'elaborazione dei dati dei primi 48 pazienti ha costituito inoltre l'oggetto di una pubblicazione scientifica, in corso di stampa su *Diagn. Mol. Pathol.*

Le conclusioni principali di questa pubblicazione sono che nella nostra serie di miocarditi/cardiomiopatie dilatative abbiamo potuto isolare il genoma virale nel 51% dei casi. Nelle miocarditi acute enterovirus (36% dei casi con PCR+) ed adenovirus (36%) erano i virus <più frequentemente isolati, mentre nelle cardiomiopatie dilatative l'enterovirus faceva la parte del leone comparando nel 72% dei casi con PCR +. Sulla base dei dati clinici (diametro telediastolico ventricolare sinistro, indici di pompa) e dell'esito finale, abbiamo potuto verificare come le miocarditi e cardiomiopatie dilatative con presenza di genoma virale nel miocardio abbiano una maggior compromissione della funzionalità ventricolare sinistra ed una prognosi complessiva peggiore. La persistenza di genoma virale in pazienti sottoposti a più di una biopsia, inoltre, individua casi a prognosi peggiore. In due casi, sottoposti a trapianto cardiaco, lo stesso virus (adenovirus in uno ed herpes virus in un altro) è stato ritrovato nel miocardio del cuore nativo e nel miocardio del cuore trapiantato, dimostrando così come una recidiva sia possibile dopo trapianto d'organo.

Non abbiamo potuto includere nella pubblicazione in oggetto, invece, alcune osservazioni che abbiamo fatto, che non hanno al momento un valore statistico data la relativa esiguità dei numeri raggiunti, ma che certamente ci aiutano e ci aiuteranno d'ora in poi nel trattamento dei pazienti con miocardite. Queste osservazioni sono che una diagnosi precoce molecolare, eseguita su biopsia endomiocardica, ma in certi casi anche solo su aspirato naso faringeo e sangue periferico, ci ha permesso di instaurare una terapia mirata nei casi in cui un adenovirus o un virus nel gruppo dei virus erpetici era presente: immunoglobuline ad alte dosi nel primo caso ed Acyclovir nel secondo. La nostra impressione è che nei casi trattati precocemente, anche se molto

compromessi alla prima osservazione, la malattia abbia avuto un decorso più benigno ed una percentuale di guarigione più elevata

Questa impressione potrà essere in futuro confermata, quando numeri statisticamente significativi potranno permetterci una elaborazione statistica. Un'altra osservazione, questa volta in negativo, è invece che la nostra esperienza dimostra come la prognosi di un paziente trapiantato per miocardite virale PCR + o comunque per cardiomiopatia dilatativa post miocarditica PCR + sia peggiore di quella degli altri cardiotrapiantati in età pediatrica. Infatti durante il periodo della ricerca oltre al decesso per recidiva di miocardite descritto nel lavoro pubblicato abbiamo avuto recidiva di miocardite in altri due pazienti sottoposti a trapianto cardiaco per miocardite/cardiomiopatia dilatativa PCR+ e tutti e due sono deceduti acutamente con presenza dello stesso virus nel miocardio del cuore trapiantato e con una forma di aterosclerosi accelerata associata ad un infiltrato flogistico di tipo miocarditico.

Questa osservazione va tenuta in considerazione nel dare indicazione a trapianto cardiaco in bambini con miocardite PCR +, ma soprattutto deve rendere molto attento il monitoraggio degli episodi di rigetto. Infatti l'istologia della flogosi da rigetto è indistinguibile da quella della flogosi da recidiva di miocardite acuta e sono necessarie analisi più sofisticate e soprattutto la ricerca del genoma virale mediante PCR o r-PCR per permettere di porre una diagnosi precisa ed instaurare una cura adeguata, che ovviamente non consiste nella classica terapia cortisonica e rinforzo della terapia immunosoppressiva, come si fa nel rigetto, ma piuttosto nel somministrare farmaci antivirali, ogniqualvolta sia possibile, evitando l'uso di cortisone che potrebbe invece favorire l'invasione virale.

SINTESI RICERCA SANITARIA FINALIZZATA 851/01/98

Responsabile scientifico Noventa Donatella - Ente Proponente ULSS 13 di Mirano.

“Efficacia dello screening cardiovascolare dell’atleta nel controllo del rischio cardiovascolare nella prevenzione della morte improvvisa durante lo sport”.

I nostri risultati si riferiscono a 2 gruppi di soggetti precedentemente dichiarati non idonei all’attività sportiva agonistica e, rispettivamente, il primo per la presenza di aritmie ventricolari (AIV), il secondo per il sospetto di cardiomiopatia ipertrofica che hanno volontariamente accettato di sottoporsi al protocollo previsto per la rivalutazione clinica.

Gruppo 1: Soggetti aritmici

Il primo gruppo era costituito da 50 soggetti, 46 maschi e 4 femmine di età media 27 ± 14.5 anni. Di questi 45 (90%) al momento della non idoneità, risultavano affetti da AV complesse e 5 (10%) da battiti ectopici ventricolari isolati ma frequenti.

Gruppo 1a: Soggetti giudicati non idonei per AV non complesse

La rivalutazione clinica è stata accettata da 5 soggetti: in 4 le ectopie ventricolari erano scomparse o si erano notevolmente ridotte tanto da rendere possibile l'idoneità alla pratica sportiva agonistica, mentre un soggetto, per la persistenza di un elevato numero di extrasistoli, non soddisfaceva i criteri di idoneità. I tre soggetti che avevano rifiutato il follow-up clinico, contattati telefonicamente, avevano dichiarato di essere asintomatici.

Gruppo 1b: Soggetti giudicati non idonei per AV complesse

Di questo gruppo, composto da 61 soggetti, si è potuto effettuare una completa rivalutazione clinica in 45. Per 26 di essi, in cui è stata riscontrata una significativa riduzione o scomparsa delle aritmie ed è stata confermata l'assenza di una cardiopatia strutturale, è stata possibile la riammissione alla pratica dello sport agonistico. In altri 2 soggetti in cui veniva documentata una significativa riduzione delle aritmie, è stato comunque riconfermato il giudizio di non idoneità, ma non per cause aritmiche (ipertensione arteriosa). 12 soggetti, nonostante risultassero ancora affetti da AV complesse non compatibili con la concessione dell'idoneità agonistica, non avevano mai lamentato sintomi riferibili a patologie cardiovascolari e alla rivalutazione clinica risultarono esenti da cardiopatia. Nei rimanenti 5 soggetti la rivalutazione clinica ha condotto ad una diagnosi di cardiopatia: in 4 casi sono state dimostrate anomalie strutturali fortemente suggestive di cardiopatia aritmogena del ventricolo destro (MAVD), 2 di questi già evidenziabili all'ecocardiogramma, e gli altri 2 alla

RMN. In 1 caso si è ricorso all'indagine genetica per la segnalazione di un episodio sincopale in un soggetto con familiarità per morte improvvisa giovanile che ha portato alla diagnosi di ARVD2, da mutazione del gene per il recettore cardiaco rianodinico.

Tra i 61 soggetti non idonei per AV complesse alla visita di base, vanno segnalati i 2 casi di morte improvvisa. Il primo caso si riferisce a un uomo di 54 anni, ritenuto non idoneo allo sport agonistico quattro anni prima per la presenza di AV complesse da sforzo, che morì improvvisamente durante una gara podistica. In questo soggetto l'autopsia rivelò un infarto miocardico causato da trombosi su placca della coronaria destra. Il secondo caso di morte improvvisa riguarda una giovane donna ritenuta non idonea allo sport agonistico a 24 anni per la presenza di aritmie ventricolari maggiori per le quali, pur in assenza di una cardiopatia strutturale alle indagini di imaging, era stata prescritta una terapia antiaritmica. La giovane donna rifiutò la terapia e morì improvvisamente a riposo 7 anni dopo. L'autopsia consentì di porre diagnosi di forma segmentaria di MAVD.

Gruppo 2: Soggetti con sospetta cardiomiopatia ipertrofica

Il secondo gruppo era costituito da 3 soggetti maschi di età media 21 ± 4 anni non idonei alla prima visita di idoneità per sospetta cardiomiopatia ipertrofica (CMI). Solo ad 1 dei 3 soggetti era stata posta, alla prima visita di idoneità sportiva, una diagnosi ecocardiografica di sospetta cardiomiopatia ipertrofica ostruttiva in fase iniziale. Gli altri 2 soggetti presentavano delle alterazioni elettrocardiografiche (T negative in sede infero-laterale) suggestive di tali patologie in assenza di alterazioni strutturali cardiache. Tutti i 3 soggetti erano asintomatici sia a riposo che durante e dopo sforzo e al momento della rivalutazione clinica continuavano, nonostante la non idoneità, a praticare dello sport (calcio, spinning e body building) con un impegno di 6 ore settimanali presso strutture sportive che non richiedevano alcun certificato medico.

La nostra rivalutazione clinica è avvenuta 2 anni dopo la non idoneità per il primo soggetto, 7 anni dopo per il secondo e 3 anni dopo per il terzo.

Al momento della rivalutazione 2 soggetti presentavano alterazioni elettrocardiografiche (T negative in sede infero-laterale) suggestive di CMI ed un quadro ecocardiografico compatibile con cardiomiopatia ipertrofica apicale. Il terzo soggetto presentava un elettrocardiogramma normale e, all'ecocardiogramma, era presente una lieve ipertrofia dei muscoli papillari, specie del laterale ed uno spessore del setto interventricolare borderline (12 mm). Per verificare se questo quadro di ipertrofia dubbia potesse dipendere dall'allenamento, quest'ultimo soggetto è stato sottoposto a 6 mesi di detraining ed è stato successivamente rivalutato. L'ecocardiogramma dopo detraining si dimostrò sostanzialmente invariato.

La risonanza magnetica cardiaca ha confermato nei primi 2 atleti una cardiomiopatia ipertrofica apicale mentre nel terzo soggetto ha evidenziato una modesta ipertrofia miocardica biventricolare compatibile con un quadro di "cuore d'atleta".

A tutti e 3 i soggetti è stata sconsigliata l'attività sportiva.

Discussione:

Gruppo soggetti aritmici

Aritmie ventricolari sono state descritte circa nell'1% di una popolazione clinicamente normale quando registrate all'elettrocardiogramma di superficie e nel 40-75% quando la registrazione avvenga in corso di ECG dinamico di 24 o 48 ore.

Non è ancora chiaro il significato clinico a lungo termine di aritmie ventricolari in atleti con cuore apparentemente sano, anche se dai pochi dati presenti in letteratura sembra che questo reperto rappresenti una condizione benigna.

Nella nostra casistica le AV non complesse, per quanto frequenti, non sono risultate correlate con l'insorgenza di una cardiopatia. Questo dato è in accordo con quanto già descritto in letteratura e ci consente di concludere che la presenza di tali aritmie, posto che non vi sia una cardiopatia dimostrabile ad uno screening cardiologico di secondo livello, si associa ad una buona prognosi.

Nei soggetti con aritmie ventricolari complesse il giudizio, sia clinico che relativo alla idoneità, deve invece, a nostro avviso, essere prudente. Infatti, in una percentuale non trascurabile (15%) di questi soggetti, asintomatici e con visita basale negativa, la rivalutazione clinica e strumentale ha consentito di evidenziare alterazioni strutturali o genetiche compatibili con una cardiopatia aritmogena potenzialmente minacciosa, e in par-

ticolare di una MAVD (6 soggetti su 7). La MAVD risulta essere la più frequente causa di morte improvvisa in una popolazione di giovani atleti del Veneto. Tra i giovani affetti da tale patologia, coloro che praticano sport a livello agonistico hanno un rischio molto maggiore di morire improvvisamente in quanto è noto che l'attività sportiva agisce in questi soggetti come "trigger" di aritmie minacciose. Poiché la prevenzione della morte improvvisa negli atleti affetti da MAVD non è ancora totalmente efficace² riteniamo sia importante non sottovalutare il riscontro allo screening pre-agonistico di AV complesse che, da quanto emerge dai nostri dati, sono risultate essere il marker più precoce, anche se certamente non specifico, di tale cardiopatia. E' noto che nella MAVD le aritmie ventricolari e la morte improvvisa mostrano un picco d'insorgenza nell'intervallo d'età compreso tra i 16 e i 35 anni¹. In effetti, anche l'età media dei nostri pazienti affetti da MAVD (17 anni) rientra in questo range. E' possibile perciò che l'età di insorgenza delle aritmie ventricolari complesse possa rappresentare un ulteriore elemento clinico suggestivo di una diagnosi di MAVD.

Una considerazione a parte merita il secondo caso di morte improvvisa, riguardante un uomo di 54 anni il cui decesso fu determinato da una cardiopatia coronarica. Se si considera che questa patologia è la più frequente causa di morte improvvisa negli atleti di età superiore ai 35 anni e che Kennedy in un gruppo di soggetti affetti da AV semplici e complesse in assenza di una cardiopatia dimostrabile riscontrò ad un'indagine invasiva una severa patologia coronarica nel 19% dei casi, riteniamo sia consigliabile una maggiore aggressività nel ricercare una coronaropatia in presenza di AV complesse in tale fascia d'età.

Dai dati in nostro possesso non emerge alcun elemento che consenta di predire quale possa essere l'evoluzione clinica dei soggetti con riscontro di AV complesse a uno screening di base. Infatti, sia nei soggetti che sono stati riammessi alla pratica dello sport agonistico per una drastica riduzione delle aritmie, che in quelli nei quali le AV si sono mantenute nel tempo, che in quelli che hanno poi sviluppato una cardiopatia strutturale, la frequenza delle aritmie, la loro complessità e il loro rapporto con lo sforzo non erano significativamente differenti. L'unico dato significativo è risultato essere l'anamnesi familiare, che risultava positiva per morte improvvisa in 2 dei 7 soggetti riscontrati affetti da cardiopatia nel follow-up.

Gruppo soggetti con cardiomiopatia ipertrofica

La cardiomiopatia ipertrofica è stata riscontrata all'autopsia in molti dei giovani atleti morti improvvisamente durante sport. Studi Americani indicano la CMI come la più frequente causa di arresto cardiaco in giovani atleti agonisti (>30%). Studi Italiani dimostrano invece che la CMI è raramente causa di morte improvvisa nei giovani atleti agonisti ed attribuiscono questa significativa riduzione di mortalità all'efficacia dello screening pre-partecipazione all'attività sportiva agonistica che, dal 1982, viene obbligatoriamente effettuato in Italia e che include, tra gli altri, un elettrocardiogramma a riposo e dopo sforzo. Per questi Autori l'efficacia dello screening pre-partecipazione è da attribuire all'alta sensibilità e specificità dell'elettrocardiogramma a 12 derivazioni per la diagnosi di queste patologie e alla raccolta di un'anamnesi familiare positiva per CMI e morte improvvisa giovanile che può generare un sospetto clinico nel medico visitatore e far sì che egli richieda ulteriori e più sofisticati esami quali ecocardiogramma ed eventuale risonanza magnetica nucleare.

La nostra esperienza conferma quanto riportato da questi studi. In tutti e 3 i casi sono state le alterazioni elettrocardiografiche: aumento marcato dei voltaggi e onde T negative riscontrate allo screening di base ad indurre i medici a sospettare la cardiomiopatia ipertrofica e a richiedere un ecocardiogramma che, in 1 solo dei casi, ha confermato immediatamente tale sospetto.

I nostri dati, come già riportato da altri Autori, evidenziano che le alterazioni elettrocardiografiche possono comparire prima delle alterazioni ecocardiografiche di ipertrofia ventricolare sinistra. L'atleta che alla prima visita di idoneità presentava un elettrocardiogramma suggestivo di cardiomiopatia ma un ecocardiogramma ancora nei limiti di norma, alcuni anni dopo ha evidenziato una modifica del quadro ecocardiografico compatibile con cardiomiopatia ipertrofica apicale, confermata successivamente anche dalla RMN.

Solo 1 degli atleti che al momento della non idoneità presentava alterazioni elettrocardiografiche suggestive per CMI, al momento della rivalutazione clinica, aveva un elettrocardiogramma normale. Il quadro ecografico di questo atleta evidenziava una lieve ipertrofia dei muscoli papillari, specie del laterale ed uno spessore del setto interventricolare borderline (12 mm). La RMN, eseguita successivamente, deponeva per una modesta ipertrofia miocardica biventricolare compatibile con un quadro di "cuore d'atleta".

Nonostante la normalizzazione dell'elettrocardiogramma e la diagnosi di "cuore d'atleta" della RMN, a questo soggetto non è stata concessa l'idoneità alla pratica sportiva agonistica. Egli è stato inserito in un programma di follow up per un continuo monitoraggio della sua situazione clinica, anche in considerazione di quanto segnalato da alcuni Autori che ritengono l'ipertrofia isolata dei muscoli papillari una forma iniziale di cardiomiopatia ipertrofica.

SINTESI RICERCA SANITARIA FINALIZZATA 855/06/98

Responsabile scientifico Pascotto Pietro - Ente Proponente ULSS 13 di Mirano.

“PTCA primaria nell'infarto miocardico acuto: eseguibilità, efficacia e costi in un laboratorio di emodinamica di una struttura cardiologia periferica”.

L'Angioplastica coronarica primaria è una valida strategia di ripercussione nel trattamento dell'infarto miocardico acuto, e, rispetto alla terapia fibrinolitica, ha dimostrato in trials randomizzati una maggiore efficacia in termini di pervietà del vaso e una riduzione della mortalità, sia a breve, che a lungo termine. L'utilizzo degli stent coronarici ha conferito a tale strategia di ripercussione un ulteriore vantaggio terapeutico, garantendo un miglior risultato angiografico e clinico.

Ciononostante, esiste ancora una considerevole discrepanza tra la pervietà vasale, sia essa ottenuta mediante trattamento fibrinolitico o mediante approccio meccanico, ed il salvataggio dell'area di miocardio a rischio.

Questa situazione, caratterizzata dalla ricanalizzazione ottimale del vaso epicardico, in assenza di ripercussione tissutale è stata descritta in circa un terzo dei pazienti sottoposti a terapia ripercussiva. Questo fenomeno è riconducibile ad una serie di alterazioni anatomico-funzionali che possono realizzarsi al livello del microcircolo coronarico, quali la liberazione di sostanze vasocostrittrici, la microembolizzazione dalla lesione responsabile di materiale trombotico ed aterosclerotico, il vasospasmo microvascolare, la risposta infiammatoria locale ed il danno da ripercussione.

L'embolizzazione distale può condurre all'occlusione distale del vaso responsabile, all'occlusione di vasi collaterali o all'ostruzione del microcircolo coronarico.

In questo lavoro abbiamo valutato l'affidabilità e le possibilità applicative di un nuovo sistema di trombectomia coronarica, e la sua efficacia in termini di rimozione del trombo, di flusso coronarico, e di ripercussione miocardica.

La tromboaspirazione è stata eseguita in 45 pazienti sottoposti ad angioplastica primaria durante infarto miocardico acuto, in presenza di evidenza angiografica di trombosi intraluminale.

In questi pazienti è stata valutato il flusso coronarico e la ripercussione miocardica secondo criteri angiografici ed elettrocardiografici.

La rimozione del trombo è stata eseguita mediante l'utilizzo del catetere X-Sizer (EndiCOR Medical Inc. San Clemente, CA. USA). Il sistema è costituito da un catetere a doppio lume "over-the-wire", munito all'estremità distale di una lama rotante conformata ad elica. La lama distale è in grado di ruotare alla velocità di 2100 giri al minuto, attivata da un motore a batteria di dimensioni estremamente contenute. Il materiale intracoronarico, frammentato, viene aspirato in un lume interno collegato, attraverso un filtro di raccolta, ad un sistema sottovuoto di 250 ml. L'aspirazione viene eseguita mediante un avanzamento lento del catetere attivato, attraverso la lesione coronarica.

In questo studio i cateteri utilizzati avevano diametri di 4.5 o 6 French, compatibili con cateteri guida 6 e 8 Fr. rispettivamente.

Al termine della tromboaspirazione, la procedura veniva completata da angioplastica e/o stentino coronario. In 42 di 45 pazienti sottoposti alla procedura (95.5%) il sistema di tromboaspirazione è stato efficacemente posizionato ed attivato sulla lesione bersaglio. Dopo la aspirazione si è osservata la completa rimozione del trombo in 33 pazienti (73.3%), in 7 (15.5%) essa è stata parziale. Dopo angioplastica e/o stenting coronarico la stenosi media si è ridotta dal 92.6% al 8.0%. A fine procedura è stato osservato un flusso coronarico di grado ottimale nel 90% dei casi, la ripercussione miocardica era di grado ottimale nel 60% dei casi.

In 26 (57.7%) dei casi vi era evidenza macroscopica di materiale raccolto nei filtri. L'analisi istopatologica eseguita, ha mostrato la presenza di fibrina, aggregati piastrinici, macrofagi e materiale amorfo.

Le complicanze osservate sono state: embolizzazione distale, responsabile di occlusione di rami periferici in 2 (4.4%) casi. In 5 pazienti (11.1%) si sono osservate 5 dissezioni coronariche di tipo $\geq C$.

Durante la fase ospedaliera 1 paziente (2.2%) è deceduto per insufficienza cardiaca refrattaria secondaria ad infarto esteso. In 1 paziente (2.2%) si è osservato reinfarto per occlusione subcuta di stent. Due pazienti (4.4%) hanno accusato angina ricorrente. Sette pazienti (15.5%) hanno sviluppato segni e/o sintomi di insufficienza cardiaca. Non si sono verificati sanguinamenti maggiori. Gli inibitori delle glicoproteine IIb/IIIa sono stati utilizzati nel 30% dei casi.

In questo studio percentuale di casi in cui si è ottenuto un flusso TIMI-3 finale è ampiamente paragonabile a quella osservata nei più ampi studi condotti sull'angioplastica diretta, mentre la percentuale di casi in cui si è registrato un Myocardial Blush grade ottimale (MBG-3) e la risoluzione del tratto ST è stata considerevolmente più elevata.

In questo studio preliminare la trombectomia coronarica durante angioplastica diretta in corso di infarto miocardico acuto sembra efficace e sicura. In alta percentuale di casi si sono ottenuti gradi ottimali di flusso coronarico e di riperfusione miocardica. Il ruolo di questi nuovi strumenti meccanici nel trattamento dell'infarto miocardico acuto necessita di ulteriori e più ampi studi.

Metodi

Nel periodo compreso tra Febbraio 2000 ed Aprile 2001, 45 pazienti consecutivi sottoposti ad angioplastica primaria in corso di infarto miocardico acuto sono stati trattati con tale sistema di trombectomia.

I criteri di inclusione erano: la presenza di dolore anginoso persistente da almeno 20 minuti, ed insorto da meno di 12 ore, in presenza di sopraslivellamento del tratto ST ≥ 1 mm in due o più derivazioni periferiche, o ≥ 2 mm in due o più derivazioni precordiali all'elettrocardiogramma 12-derivazioni; il sottoslivellamento del tratto ST nelle derivazioni V1-V4 è stato considerato quale segno elettrocardiografico di lesione transmurale della parete posteriore; l'evidenza angiografica di lesione contenente trombo; i pazienti in IV classe Killip o di età superiore a 75 anni non stati esclusi dallo studio.

La rimozione del trombo è stata eseguita mediante l'utilizzo del catetere X-Sizer (EndiCOR Medical Inc. San Clemente, CA. USA). Il sistema è costituito da un catetere a doppio lume "over-the-wire", munito all'estremità distale di una lama rotante conformata ad elica. La lama distale è in grado di ruotare alla velocità di 2100 giri al minuto, attivata da un motore a batteria di dimensioni estremamente contenute. Il materiale intracoronarico, frammentato, viene aspirato in un lume interno collegato, attraverso un filtro di raccolta, ad un sistema sottovuoto di 250 ml. L'aspirazione viene eseguita mediante un avanzamento lento del catetere attivato, attraverso la lesione coronarica. In questo studio i cateteri utilizzati avevano diametri di 4.5 o 6 French, compatibili con cateteri guida 6 e 8 Fr. rispettivamente. Al termine della tromboaspirazione, la procedura veniva completata da angioplastica e/o stenting coronarico, con tecnica standard.

Tutti i pazienti ricevevano Acido Acetilsalicilico, 500 mg in bolo ev, ed Eparina, 100 UI/Kg in bolo ev seguiti da eventuali boli aggiuntivi al fine di mantenere l'Activated Clotting Time intorno ai 300 secondi per l'intera durata della procedura. La somministrazione di nitrati, beta-bloccanti, antiaritmici, ed amine inotrope, era effettuata sulla base del quadro clinico ed emodinamico.

Successivamente l'eparina veniva somministrata in infusione continua per almeno 48 ore; l'aspirina veniva continuata alla dose di 150-225 mg/die indefinitamente; i pazienti in cui veniva posizionato uno o più stent ricevevano doppio regime antiaggregante: ticlopidina alla dose di 500 mg/die per 1 mese, in aggiunta ad aspirina.

Il posizionamento, in tutti i casi percutaneo, del Contropulsatore aortico è stato eseguito, durante la procedura, in presenza di persistente instabilità emodinamica.

Sulle immagini acquisite mediante tecnica digitale Philips Integris II, è stata eseguita la valutazione del grado di flusso TIMI e del grado di Blush preintervento, dopo tromboaspirazione ed a fine procedura. Quest'ultimo è stato valutato durante la fase venosa dell'angiografia coronarica, in una o più proiezioni, preferendo quelle che meglio permettevano la visualizzazione della regione infartuata, senza sovrapposizione delle regioni non colpite dall'evento ischemico. Il "Myocardial Blush grade" è stato definito nel seguente modo: grado 0 assenza di contrasto di parete nella regione infartuale; grado 1 presenza di una minima densità di contrasto nella regione infartuale; grado 2 moderata intensità di contrasto, ma con un grado di opacizzazione di parete sensibilmente inferiore a quello delle regioni non infartuali; grado 3 ottimale densità di contrasto nell'ambito della regione infartuale ed almeno paragonabile a quello delle zone non infartuali.

Dal confronto degli elettrocardiogrammi pre e postprocedurali, in ciascun paziente, il sopraslivellamento del tratto ST è stato classificato come: normalizzato, se si osservava la completa regressione del sopraslivella-

mento; migliorato, in caso di regressione del 50% o più del del sopraslivellamento iniziale; invariato, in caso di persistenza del sopraslivellamento ST di un valore >50% di quello iniziale.

Il materiale raccolto mediante aspirazione è stato sottoposto ad analisi istologica.

Durante la fase ospedaliera sono stati registrati, inoltre, tutti gli eventi clinici, con particolare riguardo alla morte, cardiovascolare e da altre cause, al reinfarto non fatale, all'angina precoce postinfartuale ed agli eventi aritmici.

Al follow-up di 3 mesi i pazienti sono stati rivalutati mediante esame clinico ed ecocardiogramma.

L'analisi statistica è stata eseguita con programma SAS versione 8.01. le variabili continue sono espresse come media + deviazione standard, e sono state confrontate mediante Wilcoxon test. Le variabili categoriche sono espresse come percentuali, e sono state analizzate mediante test di Fisher. Un valore di $p \geq 0.05$ è stato interpretato come significativo.

RISULTATI

Le caratteristiche cliniche ed angiografiche dei pazienti studiati sono elencate in tabella I.

TABELLA 1: Caratteristiche dei pazienti e procedurali.

	n	%
Età (anni)	61,7±10,6	
Maschi	37	82,2
Paz. con pregresso IMA	8	17,8
Paz. con by-pass	3	6,7
IMA anteriore	21	46,7
Classe Killip ≥2	20	44,4
Malattia ≥2 vasi coronarici	20	44,4
Arteria correlata all'IMA:		
- tronco comune	2	4,4
- ramo discendente anteriore	20	44,4
- ramo circonflesso	6	13,3
- coronaria destra	15	33,3
- by-pass venoso	2	4,4
Frazione d'eiezione ventr. Sinistra	47,1±9,1	
Flusso TIMI basale ≥2	7	15,5
Flusso collaterale (Rentrop ≥2)	5	11,1
Posizionamento di stent	40	88,9
Pressione di rilascio stent (atm)	15,0±3,5	
Rapporto palloncino/vaso	1,1±0,8	

Il dispositivo utilizzato per la trombectomia è stato avanzato ed attivato al livello della lesione bersaglio in 42 di 45 lesioni (95%) affrontate. Infatti, in 2 casi (4.4%) non è stato possibile raggiungere la lesione bersaglio, a causa dell'elevata tortuosità nel tratto prossimale del vaso trattato, in altri 2 casi (4.4%) il catetere non ha attraversato una stenosi molto serrata. I risultati procedurali sono mostrati nella tabella II.

Tabella 2: Risultati

	Pre-trombectomia	Post-trombectomia
Finale		
Grado del trombo (range)	3,31±1,41	0,58±1,12
Diametro della stenosi	92,6±9,9	64,0±19,6
8,0±11,10		
Diametro di riferimento (mm)	3,25±0,47	3,31±0,48
3,29±0,46		

Diametro vasale minimo (mm)	0,3±0,4	1,20±0,75	
3,10±0,48			
Flusso TIMI	1,49±1,31	2,60±0,86	2,89±0,38
Grado di Blush miocardio	1,04±1,13	1,96±1,15	2,27±1,01
Embolizzazione distale	-	2 (4,4%)	2
(4,4%)			
Occlusione rami collaterali	-	0	0
Dissezioni tipo ≥ C	-	5 (11,1%)	0

In 26 (57.7%) dei casi vi era evidenza macroscopica di materiale raccolto nei filtri. L'analisi istopatologica eseguita, ha mostrato la presenza di fibrina, aggregati piastrinici, macrofagi e materiale amorfo.

Le complicanze osservate sono state: embolizzazione distale, responsabile di occlusione di rami periferici in 2 (4.4%) casi. In 5 pazienti (11.1%) si sono osservate 5 dissezioni coronariche di tipo $\geq C$. In tutti i casi queste dissezioni sono state efficacemente trattate con stent. Occlusione di diramazioni maggiori, o perforazioni coronariche non sono state osservate. In un paziente, in cui il catetere non è stato utilizzato a causa dell'inefficace tentativo di avanzamento, si è verificato un fenomeno di no-reflow dopo la sovradilatazione dello stent.

Durante la fase ospedaliera 1 paziente (2.2%) è deceduto per insufficienza cardiaca refrattaria secondaria ad infarto esteso. In 1 paziente (2.2%) si è osservato reinfarto per occlusione subcuta di stent. Due pazienti (4.4%) hanno accusato angina ricorrente. Sette pazienti (15.5%) hanno sviluppato segni e/o sintomi di insufficienza cardiaca. Non si sono verificati sanguinamenti maggiori. Gli inibitori delle glicoproteine IIb/IIIa sono stati utilizzati nel 30% dei casi.

Paragonando i dati clinici e procedurali osservati nei pazienti sottoposti a trombectomia efficace (n=37) e quelli osservati nei pazienti in cui la trombectomia è stata inefficace (n=8), è evidente come, mentre le caratteristiche di base di questi due gruppi appaiono simili, il grado di flusso coronarico, il grado di Blush e le percentuali di risoluzione del sopraslivellamento ST siano significativamente diverse nei due gruppi (p=0.01; p=0.02; p=0.03, rispettivamente).

Obiettivi conseguiti e ricadute per il Servizio sanitario regionale

L'utilizzo di questo nuovo device per tromboaspirazione è stato efficace e sicuro in un'alta percentuale di casi. La complicanza più comune è stata la dissezione coronarica localizzata, efficacemente coperta da stent. Non si sono avute perforazioni coronariche. In 2 (4.4%) casi si sono osservati casi di embolizzazione distale, responsabili di occlusioni di collaterali di piccole dimensioni. La percentuale di embolizzazione distale riportata in due precedenti studi (14,15) è stata più elevata di quella osservata nel nostro studio. Approcci alternativi usati con successo nelle procedure di rivascularizzazione di graft venosi e posizionamento di stent carotidi (6) sono rappresentati da sistemi a palloncino occlusivo o mediante filtro distale, ma anche tali strumenti non evitano il rischio di dislocazione trombotica durante il passaggio del filo guida. Un approccio combinato costituito da tromboaspirazione e protezione distale potrebbe ridurre ulteriormente il rischio di embolizzazione distale.

L'efficacia dell'aspirazione del trombo è stata documentata dalla riduzione del trombo valutata angiograficamente, e dalla presenza di materiale trombotico nel filtro di aspirazione. Queste osservazioni non conducono a conclusioni definitive riguardo alla quantità di trombo effettivamente rimosso. Inoltre, il grado di flusso epicardico e di flusso miocardico postprocedurali ottenuti contrastano l'ipotesi di una micro e macro-embolizzazioni rilevanti. Nello studio condotto l'evidenza angiografica di trombosi è stata significativamente ridotta in circa il 90% delle lesioni trattate, percentuale considerevolmente più elevata quando paragonata al 68% ottenuta in 115 pazienti trattati con differenti device (16). Questa apparente maggiore efficacia è verosimilmente attribuibile alla combinazione di due meccanismi, la frammentazione e l'aspirazione, utilizzati da questo device, rispetto alla semplice aspirazione utilizzata da altri sistemi. (15-18).

Il grado di flusso TIMI, il Myocardial Blush grade e la risoluzione del segmento ST sono fattori indipendenti di mortalità nei pazienti affetti da infarto miocardico acuto (12, 18, 19). In questo studio la percentuale di casi in cui si è ottenuto un flusso TIMI-3 finale è ampiamente paragonabile a quella osservata nei più ampi studi condotti sull'angioplastica diretta, mentre la percentuale di casi in cui si è registrato un Myocardial Blush

grade ottimale (MBG-3) e la risoluzione del tratto ST è stata considerevolmente più elevata (12, 13, 19). Paragonando questi dati con quelli emersi dagli studi nei quali all'angioplastica coronarica o alla trombolisi sono state aggiunte l'utilizzo degli inibitori del recettore piastrinico IIb/IIIa, emergono risultati paragonabili (9,21). Il ruolo di strumenti meccanici atti ad aumentare l'efficacia della riperfusione miocardica durante angioplastica diretta, in aggiunta o in confronto alla terapia farmacologica necessita di ulteriori valutazioni (7,21).

Conclusioni

In questo studio preliminare la trombectomia coronarica durante angioplastica diretta in corso di infarto miocardico acuto sembra efficace e sicura. In alta percentuale di casi si sono ottenuti gradi ottimali di flusso coronarico e di riperfusione miocardica. Il ruolo di questi nuovi strumenti meccanici nel trattamento dell'infarto miocardico acuto necessita di ulteriori e più ampi studi.

SINTESI RICERCA SANITARIA FINALIZZATA 857/02/98

Responsabile scientifico Piermarocchi Stefano - Ente Proponente Azienda Ospedaliera di Padova.

“La malattia di Von Hippel – Lindau nella Regione Veneto”.

Introduzione

La sindrome di Von Hippel-Lindau (VHL) è una rara malattia neoplastica familiare a carattere autosomico dominante a penetranza incompleta. Dal punto di vista clinico è caratterizzata da un coinvolgimento multi-sistemico con diffusione di lesioni tumorali di natura vascolare (amartomi), prevalentemente localizzati a carico del sistema nervoso centrale e apparato visivo (angioma cerebellare e retinico, rispettivamente), surrene e rene (feocromocitoma e carcinoma a cellule chiare del rene). I criteri diagnostici si basano sulle caratteristiche cliniche della malattia, sulla presenza o meno di familiarità, sulla primitiva localizzazione cerebrale o retinica delle lesioni tumorali, e sulla espressione di altre manifestazioni neoplastiche disseminate. L'età di insorgenza risulta variabile (seconda - terza decade di vita) e dipende dalle modalità di espressione, dalla presenza di una predisposizione familiare e dalla capacità e tempestività nel riconoscere ed identificare i sintomi della stessa.

L'età media di sopravvivenza è di 49 anni e la più comune causa di decesso è rappresentata da complicanze cerebrali da emangioblastomi (53%) o da metastasi da carcinoma renale (32%). Gli angiomi retinici (RCH) possono essere presenti sin dalla nascita ma spesso vengono diagnosticati tra la seconda - terza decade di vita. Le dimensioni di tali lesioni risultano alquanto variabili potendosi riscontrare anche neoformazioni molto piccole di circa 0,5 mm di diametro, spesso localizzate in periferia. Alla fine circa il 40-60% dei pazienti con malattia di Von Hippel-Lindau sviluppa uno o più amartomi retinici. Il rischio di sindrome di VHL in pazienti sintomatici con angiomi retinici multipli è di circa 85%. Per soggetti che presentano invece un angioma retinico isolato rilevato oftalmoscopicamente, senza altre manifestazioni cliniche di malattia, il rischio di Von Hippel-Lindau è stato stimato essere del 30%. Le manifestazioni oculari spesso sono le prime ad essere riscontrate, talvolta durante una normale visita oculistica di routine. Per tale motivo l'Oculista viene considerato come colui che per primo è chiamato a individuare, diagnosticare e gestire i pazienti affetti da VHL.

Pazienti e metodi

Durante il periodo della ricerca in oggetto è stato analizzato il seguente campione: 118 famiglie per un numero complessivo di 274 pazienti consecutivi afferenti al centro per lo screening e la diagnosi di malattia di VHL dell'Università di Padova di cui il Servizio di Fluorangiografia e Laserterapia del Dipartimento di Oftalmologia ne rappresenta il centro di raccolta per la valutazione oculistica. Di questi 86 presentavano diagnosi sospetta/certa di VHL. Un esame oftalmoscopico completo è stato eseguito in tutti i pazienti, mentre l'angiografia retinica con fluoresceina e verde di indocianina è stata effettuata solo in soggetti con lesione retiniche clinicamente severe. In tutti i pazienti è stata eseguita una visita internistica e una analisi molecolare per il gene VHL sul DNA genomico presso il Servizio di Biologia Molecolare del Dipartimento di Pediatria

dell'Università di Padova. Inoltre ripetuti controlli oculistici periodici sono stati condotti secondo un protocollo di screening che prevedeva visite oftalmoscopiche ed eventuale fluorangiografia differenziate sia per età, ogni 6 mesi per i soggetti di età compresa tra gli 11 e 19 anni e ogni 12 mesi per i soggetti di età superiore a 20 anni, sia sulla base delle caratteristiche oftalmoscopiche delle lesioni stesse.

Durante lo stesso periodo di studio sono stati inoltre contattati e coinvolti alcuni Centri Ospedalieri della regione Veneto. Tale collaborazione ha avuto lo scopo di sensibilizzare e coinvolgere in tali strutture sia l'oftalmologo sia altri specialisti quali neuroradiologo, neurologo, urologo. Un adeguato approccio multidisciplinare alla malattia è infatti fondamentale ai fini di una corretta diagnosi e per una buona gestione del paziente. I centri Ospedalieri contattati sono stati:

1. Ospedale Civile "San Bortolo", Vicenza; Oculista di riferimento: Dott. M. Pedrotti
2. Ospedale "S. Maria della Misericordia", Rovigo; Oculista di riferimento: Prof U. Merlin
3. Ospedale "S. Martino", Belluno; Oculista di riferimento: Dott. M. Zemella
4. Ospedale Maggiore Geriatrico, Verona; Oculista di riferimento: Dott.ssa A. Bonora
5. Ospedale Centrale "Ca' Fondello", Treviso; Oculista di riferimento: Dott. G. Scarpa.

Alcuni di questi Centri hanno collaborato nella organizzazione di un servizio di assistenza e di supporto per i malati di VHL.

Risultati

In 33 di 274 pazienti è stata riscontrata la presenza di angiomi retinici multipli e/o isolati (12%). Il numero di pazienti con mutazioni accertata per il gene VHL (inserzioni, delezioni, missense e non sense mutation, mosaicism) è stato di 74 soggetti (27%). Il numero complessivo di angiomi retinici riscontrati in pazienti con diagnosi molecolare di VHL era di 65 per 42 occhi di 21 pazienti (28.3%).

RCH multipli sono stati osservati in 13 di 21 pazienti con diagnosi di VHL (61%); 15 pazienti presentavano una neoformazione angiomatosa localizzata nella periferia retinica (71%). In 8 soggetti il coinvolgimento era bilaterale (38%). In un paziente l'oftalmoscopia ha evidenziato una neoformazione angiomatosa nel settore temporale inferiore dell'occhio destro con piccole lesioni bianco-grigiastre retiniche profonde diffuse al polo posteriore in entrambi gli occhi caratterizzate angiograficamente da un effetto finestra durante i tempi iniziali dell'angiogramma. L'osservazione oftalmoscopica dell'emangioma (0 <1.5mm di diametro; 43 RCH di 65; 66%) è stata adottata in 13 pazienti; la fotocoagulazione e/o crioterapia della lesione è stata eseguita in 5 pazienti (0 2.8mm; 12 RCH di 65; 18%) e in 2 soggetti (0 3.5mm; 6 RCH di 65; 9%) rispettivamente. Un paziente è stato sottoposto ad intervento di vitrectomia e crioterapia per RCH multipli (0 >3.5mm; 4 RCH di 65; 6%) complicati da distacco di retina e foro maculare.

Discussione

L'emangioma capillare retinico in corso di sindrome di Von Hippel-Lindau si presenta frequentemente come un tumore solitario; inoltre più della metà dei casi possono avere angiomi retinici a localizzazione multipla e/o bilaterale. La localizzazione retinica insieme a quella cerebrale ne rappresenta la forma di più frequente riscontro. La frequenza dell'associazione tra emangioblastomi retinici e del SNC in corso di VHL non è stata ancora completamente definita. Nel suo studio originale, Lindau aveva definito tale associazione di circa il 25% dei pazienti. Tuttavia stime più recenti indicano che l'associazione si osserva in una proporzione inferiore. Quale la frequenza degli emangiomi retinici in pazienti affetti da VHL?; nella nostra casistica è stato osservato che dei 74 pazienti portatori di mutazioni per il gene VHL, 21 evidenziavano oftalmoscopicamente angiomi retinici con una incidenza pari al 28.3%. Queste neoformazioni esordiscono come una raccolta focale di capillari che può accrescersi sino a diventare un tumore glioglobulare bluastro le cui dimensioni possono superare anche i 4.5 - 5 mm di diametro. Clinicamente risultano composte da una arteria afferente, dilata e tortuosa, diretta dal disco ottico alla massa tumorale, dalla quale si diparte una vena efferente di caratteristiche simili, diretta verso la papilla. Sebbene la storia naturale della malattia sia variabile, la prognosi visiva è considerata infausta, soprattutto negli occhi con lesioni di grosse dimensioni, anche se sono occasionalmente stati riscontrati dei casi con regressione spontanea della lesione.

Quale quindi il ruolo dell'Oftalmologo? Risulta indispensabile e prioritaria la figura di quest'ultimo data la frequenza e la precocità della localizzazione retinica della malattia. Spesso infatti l'Oculista è chiamato a

diagnosticare precocemente, gestire tempestivamente il malato di VHL. Tutto ciò presuppone anche e soprattutto una collaborazione multidisciplinare che possa consentire un adeguato controllo e una corretta valutazione del paziente. La malattia di VHL dal momento della diagnosi si presenta e deve essere intesa come una patologia multisistemica in cui diviene indispensabile la coordinazione e la collaborazione tra i vari specialisti. La precoce individuazione di soggetti portatori dell'alterazione genetica può conseguentemente migliorare le possibilità di diagnosi precoce di formazioni tumorali che altrimenti solo tardivamente verrebbero evidenziate.

La realizzazione di una rete plurispecialistica informativa, tramite la coordinazione di alcuni centri Ospedalieri di eccellenza in seno alla Regione Veneto, ha consentito una migliore e tempestiva gestione del paziente VHL. Nella realizzazione di tale collaborazione, una figura preponderante è stata rivestita dall'Oculista, che il più delle volte ha coordinato i vari specialisti con il centro di riferimento.

In ambito oftalmologico assume così una importanza notevole la possibilità di effettuare una screening oculistico in tutti i pazienti affetti o con sospetta diagnosi di VHL. In tal senso inoltre l'esecuzione di esami angiografici è risultato utile sia nello studio della vascolarizzazione intratumorale sia nella diagnosi/localizzazione di lesioni retiniche periferiche di piccole dimensioni e nella gestione terapeutica della lesione stessa. L'aspetto oftalmoscopico infatti si presenta alquanto variabile per dimensioni, attività clinica e angiografica e per la presenza di eventuali complicanze. In alcuni casi selezionati la semplice osservazione della lesione tumorale si è dimostrata sufficiente nel prevenire la comparsa di complicanze retiniche. Tuttavia, le dimensioni, la localizzazione e la presenza di lesioni retiniche associate influenzano il tipo di approccio terapeutico.

In conclusione uno screening per alterazioni asintomatiche a livello oculare, del SNC e addominale in pazienti con sospetta e/o certa diagnosi di VHL è indispensabile per fornire un adeguato indirizzo terapeutico e una adeguata consulenza genetica. Analogamente è opportuno che anche i membri a rischio della famiglia si sottopongano a controlli sia oftalmoscopici che internistici periodici, al fine di individuare eventuali neoformazioni tumorali tipiche della Von Hippel Lindau.

Sintesi Ricerca Sanitaria Finalizzata 858/03/98

Responsabile scientifico Pinelli Leonardo - Ente Proponente Università di Verona.

“Identificazione delle mutazioni genetiche responsabili di una forma rara di diabete mellito non-insulino dipendente con insorgenza in età pediatrica: il mody”.

Sono state allestite le metodiche di laboratorio per eseguire l'analisi genetica molecolare dei geni della Glucochinasi e dell' HNF1 α , le cui mutazioni sono responsabili rispettivamente del MODY 2 e del MODY 3. È stato messo a punto un metodo semplice ed efficiente per estrarre il DNA genomico da campioni di sangue. Sono state, inoltre, ottimizzate le condizioni per le amplificazioni mediante PCR (*polymerase chain reaction*) dei 12 esoni della Glucochinasi e dei 10 esoni e del promotore dell' HNF1 α .

Sono stati selezionati alcuni soggetti, appartenenti a tre famiglie, con sospetta diagnosi clinica di MODY e sono stati sottoposti ad una serie di analisi di laboratorio: glicemia a digiuno (almeno due determinazioni), carico orale di glucosio con determinazione dell'insulinemia, emoglobina glicosilata, peptide C basale, autoanticorpi organo specifici (ICA, anti GAD, anti IA2 e anti insulina) e tipizzazione genomica HLA-DQA1 e -DQB1. L'analisi degli autoanticorpi e la tipizzazione HLA sono necessari per escludere la possibile diagnosi di diabete di tipo 1. In due famiglie (famiglia C e Famiglia V) alcuni soggetti presentavano diagnosi di sospetto MODY 2, mentre nella famiglia G vi erano dei sospetti MODY 3.

È stato disegnato l'albero genealogico delle 3 famiglie e, per poter procedere con l'analisi genetica, è stato estratto il DNA dei componenti familiari, comprendendo, ove possibile, tre generazioni: famiglia C = 8 soggetti, famiglia V = 5 soggetti, famiglia G = 8 soggetti.

La ricerca di mutazioni nei geni codificanti la Glucochinasi e l'HNF1 α è stata effettuata mediante gel elettroforesi a gradiente di denaturanti (DGGE) e sequenza del prodotto di reazione a catena della polimerasi (PCR). Sono stati analizzati i soggetti con sospetto MODY appartenenti alle famiglie C e V e sono state evidenziate le seguenti mutazioni.

Nei soggetti con sospetto MODY 2 della famiglia C è risultata la presenza, in forma eterozigote, della mutazione Leucina (CTG, codone 243, sequenza normale) → Prolina (CCG; mutante) (L243P) nel gene della Glucochinasi. Questa mutazione non è mai stata descritta e pubblicata.

Nei soggetti con sospetto MODY 2 della famiglia V è risultata la presenza, in forma eterozigote, della mutazione Arginina (CGC, codone 250, sequenza normale) → Prolina (CCG; mutante) (R250P) nel gene della Glucochinasi. Anche questa mutazione non è mai stata descritta e pubblicata.

L'analisi degli esoni dell'HNF1 α nei soggetti con sospetto MODY 3 della famiglia G, invece, non ha evidenziato alcuna mutazione.

Conclusioni

Il MODY è una forma rara di diabete in cui le informazioni fornite dalla genetica molecolare danno un aiuto importante al trattamento clinico della malattia. Infatti, nei casi di MODY la certezza diagnostica data dalla genetica molecolare aiuta nel predire la prognosi ed il decorso clinico del diabete. I pazienti con mutazioni nel gene della Glucochinasi (MODY 2) hanno una stabile e modesta disfunzione delle cellule beta pancreatiche e generalmente non richiedono trattamento, ma soltanto controlli sporadici ad eccezione dell'eventualità di una gravidanza. Al contrario, i pazienti con mutazioni nel gene del HNF1 α (MODY 3) vanno incontro quasi sempre ad un progressivo deterioramento della funzione beta cellulare e si rende necessario iniziare precocemente una terapia insulinica perché la malattia progredisce piuttosto rapidamente e c'è un'alta incidenza di complicanze microvascolari.

Attualmente è possibile utilizzare test genetici basati sull'analisi delle mutazioni per predire accuratamente se un parente di primo grado di un paziente svilupperà un MODY in futuro. Per i figli dei pazienti affetti da MODY potrebbe essere estremamente utile sapere se hanno ereditato o meno la mutazione, specialmente se hanno raggiunto l'età di 25 anni e sono apparentemente sani. Nel caso in cui non abbiano la mutazione, il rischio di sviluppare il diabete sarebbe lo stesso di quello della popolazione generale e quindi non sarebbe più necessario controllare con una certa frequenza i valori glicemici.

Il MODY è una forma rara di diabete in cui le informazioni fornite dalla genetica molecolare danno un aiuto importante al trattamento clinico della malattia. L'analisi genetica molecolare offre notevoli vantaggi per i familiari sani, ma a rischio di sviluppare il diabete. La terapia genica attualmente è una prospettiva ancora molto lontana, tuttavia, un possibile intervento di prevenzione, attuabile immediatamente dopo aver fatto una diagnosi certa con l'analisi genetica, è quello di ritardare il più possibile lo sviluppo dell'iperglicemia mediante un'alimentazione appropriata, l'esercizio fisico ed, eventualmente, un trattamento farmacologico per aumentare la sensibilità all'insulina.

SINTESI RICERCA SANITARIA FINALIZZATA 859/04/98

Responsabile scientifico Polesel Elvio - Ente Proponente ULSS 12 Veneziana.

“Biomateriali naturali (matrici acellulari) utilizzabili come sostituti di organo o come componenti di bioreattori”.

Il metodo di Meezan modificato permette di ottenere una completa acellularizzazione dei condotti vascolari e valvolari ottenendo in tale modo una matrice non denaturata. Abbiamo osservato che, aumentando lo spessore del tessuto, devono essere prolungati i tempi di incubazione per ottenere una completa decellularizzazione. Inoltre lo spessore maggiore della porzione muscolare ed aortica del condotto valvolare hanno reso necessario il ricorso a più cicli di trattamento. Il lembo valvolare più sottile, infatti, diventa acellulare già con tre cicli.

Per ottenere una bioprotesi ideale il processo di decellularizzazione è importante per almeno due motivi:

- Il patrimonio cellulare valvolare fissato va incontro a lisi e subisce un processo di calcificazione distrofica che causa degenerazione della bioprotesi e quindi ne limita la durata.
- La preventiva decellularizzazione è condizione necessaria per il successivo ripopolamento della protesi con cellule vitali del ricevente.

Secondo diversi autori, la presenza nelle protesi di cellule endoteliali vitali oltre ad aumentarne la forza meccanica, previene l'insorgenza di infezioni, la formazione di trombi e la calcificazione dei lembi.

Le ricerche effettuate precedentemente dal nostro gruppo hanno testato l'emodinamica, mediante un simulatore di circolo sistemico VIVITRO, dei condotti valvolari decellularizzati; da tali studi è emerso che il comportamento dei lembi delle radici aortiche trattate era sovrapponibile a quello di condotti non trattati di pari diametro. In questa fase preliminare è stato inoltre effettuato l'impianto di queste radici aortiche porcine nell'aorta toracica discendente di giovani pecore. Dopo un mese dall'impianto si ha già un'iniziale integrazione della bioprotesi nell'organismo ospite: infatti, si può osservare una migrazione di cellule endoteliali, che formano un monostrato continuo nel lume dell'intima, di miofibroblasti nella tonaca media ed avventizia, e la formazione di vara vasorum. Dopo cinque mesi lo xenograft risultava innervato ed ulteriormente vascolarizzato.

Alla luce di questi risultati abbiamo deciso di effettuare impianti di condotti valvolari e vascolari resi acellulari senza effettuare un ripopolamento in vitro, permettendo così il ripopolamento da parte dell'organismo ricevente.

Analizzando i risultati ottenuti con i condotti vascolari possiamo notare una notevole differenza rispetto a quelli ottenuti mediante l'impianto di protesi valvolari nell'aorta toracica.

L'elevata incidenza di trombosi e la quasi totale assenza di ripopolamento nel gruppo delle arterie femorali porcine a differenza del gruppo aortico può essere solo in parte giustificata dal piccolo calibro di tali condotti (4-5 mm): è infatti noto che la trombogenicità di una protesi vascolare è inversamente proporzionale al suo calibro.

Il fatto che le due protesi rimaste pervie mostrino la quasi assenza di ripopolamento indica la necessità di ricellularizzare in vitro tali condotti; sono comunque necessari ulteriori studi per confermare questa ipotesi.

SINTESI RICERCA SANITARIA FINALIZZATA 860/01/98

Responsabile scientifico Ponchia Andrea - Ente Proponente Azienda Ospedaliera di Padova.

“Rischio cardiovascolare durante attività fisica in montagna”.

La ricerca ha analizzato:

1. le caratteristiche della popolazione praticante un'attività fisica (ludico-ricreativa, sportiva o professionale) nella montagna veneta con particolare riferimento al profilo socio-economico dei soggetti, alle tipologie delle attività praticate ed al quadro ambientale;
2. il rischio cardiovascolare in questa popolazione in termini di eventi maggiori, quali: morte improvvisa, morte improvvisa abortita, infarto miocardico, scompenso acuto di cuore, ictus cerebrali;
3. la ricerca di eventuali correlazioni statistiche tra caratteri individuali, ambientali o relativi alla tipologia di esercizio fisico e rischio cardiovascolare.

Oltre al dato assoluto di quasi 19 milioni di giornate trascorse in un anno dai frequentatori nella montagna veneta, con 12.5 milioni di uscite sul territorio tra estate ed inverno, i dati analizzati hanno posto in risalto come la popolazione dei frequentatori delle aree montane sia estremamente composita, così come assai variegate sono le attività svolte.

Il rischio di andare incontro ad un evento cardiovascolare durante un'attività fisica in montagna è molto basso (un evento cardiovascolare per milione di uscite in montagna, ha particolare una morte improvvisa ogni 1.5-2.1 milioni ed un infarto miocardico ogni 5.6-7.3 milioni di uscite in montagna.) e sostanzialmente limitato a soggetti di sesso maschile al di sopra dei 40 anni, in particolare se non svolgono regolarmente un'attività sportiva. In questi soggetti il rischio appare associato all'attività fisica, anche se leggera, ma è indipendente dall'altitudine e scarsamente correlato anche ad altri fattori ambientali tipici della montagna, quali la bassa temperatura e le difficoltà del terreno.

L'ambiente montano, pertanto, non sembra rappresentare un rischio aggiuntivo per gli eventi cardiovascolari; ciò nonostante un'accurata valutazione clinica e funzionale ed un'adeguata preparazione fisica sono raccomandati per i soggetti sopra i 40 anni, specie se sedentari, che desiderano svolgere un'attività fisica in montagna.

SINTESI RICERCA FINALIZZATA 861/05/98

Responsabile scientifico Rinolfi Anna Maria - Ente Proponente ULSS di 18 Rovigo.**“Valutazione della qualità partecipata dai cittadini dell’Azienda dell’ULSS 18 di Rovigo”.**

La popolazione esaminata è costituita prevalentemente da persone di sesso femminile, di età media pari a 55 anni e in possesso di un titolo di studio molto basso.

La maggior parte degli intervistati è composto da pensionati e casalinghe. Pochissimi “imprenditori/liberi professionisti” e, rarissimi i “dirigenti”. La base lavorativa è costituita da operai e impiegati. Si delinea un bacino d’utenza inserito in ambiente rurale, con elementi che richiamano le stratificazioni sociali più deboli, sia per quanto riguarda lo status, che negli aspetti culturali.

Sono stati intervistati 719 soggetti, che costituiscono un campione rappresentativo degli utenti che si rivolgono annualmente ai servizi sanitari dell’Ospedale “San Luca” di Trecenta, in provincia di Rovigo, nel ruolo di pazienti esterni che effettuano visite specialistiche o prestazioni diagnostiche.

I dati prodotti da questa ricerca sulla qualità percepita dagli utenti dimostrano innanzitutto che, dal un punto di vista della soddisfazione generale dell’utenza, i pazienti sono pienamente contenti delle prestazioni ottenute negli ambulatori e nei servizi diagnostici. Essi, infatti, affermano (all’inizio dell’intervista e lo confermano alla fine del questionario) una esplicita e convinta soddisfazione per la qualità del servizio di cui hanno usufruito. I punteggi medi sono molto alti e la frequenza delle risposte con punteggi alti supera il 90% degli intervistati.

Sono stati analizzati i singoli passi compiuti dall’utente per svolgere il proprio esame o visita: dalla decisione di ricorrere a quella visita/esame, ai momenti e alle modalità di approccio alla struttura; dalle informazioni sulla struttura ospedaliera, allo stato d’animo che lo accompagna durante l’esecuzione della prestazione; dal rapporto con il proprio medico curante, all’interazione con il personale infermieristico, medico e di front-line della struttura ospedaliera.

Seguendo idealmente l’esperienza dell’utente, alla luce dei risultati emersi dall’indagine, si possono tracciare le più significative considerazioni che scaturiscono da questa indagine e che possono costituire la base di approfondimenti teorici ulteriori.

La decisione di ricorrere alla visita

Sicuramente gli utenti decidono di ricorrere alla prestazione su consiglio del medico, sia esso di Famiglia oppure lo Specialista: le due percentuali non si discostano troppo tra loro (rispettivamente 44% e 39%).

E’ molto interessante sottolineare la percentuale non trascurabile (8,7%) di coloro che decidono, invece, di effettuare visite/esami di propria iniziativa. Occorre precisare che la domanda in questione era molto esplicita: si chiedeva se il soggetto fosse spinto da sintomi specifici o se avesse deciso di fare l’esame/visita a scopo preventivo, secondo una decisione assunta sulla base delle sue personali convinzioni.

Si può ritenere che una percentuale così elevata in un ambiente socio-culturale relativamente basso, possa essere ancora più consistente in contesti ambientali più evoluti, a causa dell’aumento dell’autonomia di decisione, la quale sappiamo essere, tra l’altro, influenzata dalle opinioni correnti veicolate dai mass media, ma non sempre corrette scientificamente: infatti, di questi soggetti, il 7.4% non possiede alcun titolo di studio o la sola licenza elementare, mentre il 20% è laureato.

Rapportando il dato di coloro che decidono di rivolgersi alla struttura ospedaliera di propria iniziativa con le risposte del Medico di Medicina Generale, fornite a tale proposito, notiamo come molte delle prestazioni si potrebbero evitare, in quanto ritenute “indotte”: infatti oltre il 35% dei medici afferma che i propri pazienti insistono “sempre” o “spesso” per ottenere prescrizioni di cui hanno sentito parlare, mentre un non trascurabile 47%, pur evidenziandolo come problema, giudica la frequenza più rara.

E’ forse questa una delle risposte più significative della ricerca, che dimostra come una ragguardevole parte delle visite/esami sono “inopportune”, perché non derivanti da precise condizioni oggettivamente sostenibili.

Gli aspetti esterni della struttura

L’accesso alla prenotazione avviene tramite il Centro Unico di Prenotazione, di recente potenziato e innovato nel sistema informatico e con flessibilità di accessi. La facoltà di prenotare tramite le farmacie del territorio è

utilizzata da pochissimi utenti (1,9%). E' probabile che tale opportunità non sia conosciuta, oppure che le farmacie non offrano ai propri clienti la possibilità di effettuare le prenotazioni in loco, senza oneri e senza spostamenti. Sappiamo che l'Azienda ha diffuso con mezzi specifici la divulgazione di tale informazione (manifesti, sito internet ed elenco telefonico). E' tuttavia ipotizzabile che le persone preferiscano effettuare personalmente la prenotazione per ragioni di riservatezza.

Molto soddisfacente appare il sistema CUP ed anche il rapporto con il personale front-line che esegue la prenotazione: in questo caso da rilevare che solo il 9,1% manifesta una scarsa o per nulla soddisfacente relazione con il personale addetto.

Altri aspetti esteriori della struttura sono risultati funzionali e adeguati, tranne il parcheggio, che ha ricevuto una percentuale non trascurabile di risposte non totalmente positive.

I tempi d'attesa

Per quanto riguarda i tempi d'attesa la percentuale di insoddisfazione è abbastanza contenuta e si riscontra soprattutto in pazienti con un titolo di studio più elevato. In particolare l'attesa da 1 a 30 giorni è stata considerata dalla maggioranza degli intervistati, soddisfacente o molto soddisfacente.

Solo il 47% di coloro che hanno atteso oltre un mese (compresa la modalità "oltre tre mesi") si è dichiarata "poco" o "per nulla soddisfatto". In generale si è potuto verificare che il livello di informazione dell'utenza sulla possibilità di inoltrare un reclamo all'azienda sanitaria è piuttosto scarso, soprattutto perché la maggior parte del campione è costituito da persone anziane.

Rapporti con il personale

Rilevante la soddisfazione nei confronti del personale medico e non, forse a causa di una convenzionale accondiscendenza nei confronti degli intervistatori incaricati dall'azienda; anche in questo caso è evidente il legame tra il grado d'istruzione e quello di soddisfazione: al crescere del primo diminuisce il secondo.

Da parte degli operatori, a tale proposito, confrontando i dati delle risposte sull'argomento, si osserva che complessivamente il 70% di essi ritiene che, anzitutto, gli utenti "chiedono molto e quindi occorre tenerli cortesemente a freno". Tale responso fa pensare che, di fronte ad un'utenza "esigente" gli operatori, essendo ben coscienti, riescono a dare risposte comunque adeguate agli utenti, dato che i medesimi sono soddisfatti del rapporto con il personale.

Sul problema del linguaggio specialistico, ossia se questo impedisca la chiarezza della comunicazione, il 50% degli operatori ha sottolineato il proprio sforzo nell'utilizzare un linguaggio comprensibile agli utenti: solo gli addetti allo sportello incontrano maggiori difficoltà relativamente all'espressione linguistica di tipo specialistico.

È comunque da sottolineare che oltre il 50% del personale ritiene che l'utenza faccia fatica a capire i tempi e la complessità del lavoro di chi opera in Sanità.

Il clima interno

Molteplici gli spunti provenienti dalla ricerca su questo argomento.

Mentre l'ambiente fisico di lavoro è ritenuto soddisfacente dal 62% degli operatori intervistati, la soddisfazione legata alla corrispondenza tra le mansioni affidate e le potenzialità professionali riguarda solo il 50% del personale: il personale di sportello è il più insoddisfatto; al contrario, solo un 53% di medici ritiene di non svolgere mansioni in linea con le potenzialità professionali possedute.

Anche sul versante dell'aggiornamento della propria formazione il grado di insoddisfazione è elevato.

Tale risultato sembra difficile da capire: è noto e tangibile il fatto che in questi ultimi anni il personale ha frequentato corsi di formazione, sia professionali che di management, in maniera costante e "a tappeto" per tutte le categorie di personale. Tale insoddisfazione, perciò, non sembra essere giustificabile; probabilmente è da attribuire ad atteggiamenti di contrapposizione di carattere generale.

L'insoddisfazione riguarda anche la possibilità di sviluppo di carriera nel Servizio.

Sul piano della compatibilità degli orari di lavoro con le esigenze della propria vita privata, rileviamo dati di soddisfazione: oltre il 56% del complesso degli operatori, anche se, sensibilmente più insoddisfatti sono i medici, per i quali la percentuale di soddisfatti scende al 37%.

Nei rapporti tra operatori si sottolinea come gli ambienti interni possano considerarsi altamente positivi, con l'eccezione dei tecnici che sembrano essere meno soddisfatti dei loro colleghi medici, infermieri e sportellisti sulla "disponibilità a dare una mano, quando necessario".

Per quanto riguarda il rapporto con la dirigenza del servizio, risulta che solo la metà degli operatori pensa di essere tenuto al corrente dei programmi di lavoro, mentre la restante parte considera che ciò avvenga solo a volte. Anche per questa tematica i tecnici sono in evidente disaccordo con l'affermazione "essere sempre tenuto al corrente dei programmi di lavoro del Servizio", per una percentuale non irrilevante del 37%.

Nei rapporti con i Dirigenti la situazione si rivela decisamente buona, dato che per la maggior parte dei casi vi è un'attestazione di correttezza di relazione interpersonale, sempre con l'eccezione del personale tecnico, che rivela una situazione problematica.

Sia il coinvolgimento nella programmazione delle attività del Servizio sia l'efficienza organizzativa soddisfa la maggior parte degli operatori, ma ancora una volta si segnala che il personale tecnico si differenzia dagli altri operatori, esprimendo una maggiore insoddisfazione.

L'efficienza organizzativa soddisfa la maggior parte degli operatori.

Una particolare risposta – non chiara e che si presta a più interpretazioni - è quella legata alla domanda sulle relazioni con gli altri Servizi: una quota elevata di incerti (31%) fa pensare a qualche tipo di problematica.

Lo stato d'animo degli utenti

Secondo le risposte fornite dagli utenti, il 63% di essi affronta l'esame/visita con fiducia, mentre il 34% è preoccupato ed ansioso e il 3% sostiene di aver paura (più alto il grado di istruzione > la fiducia).

Il dato relativo alla presenza di ansia trova conferma nelle analoghe domande rivolte agli operatori, in particolare il 33% di essi ha rilevato situazioni di ansia negli utenti "sempre" o "spesso"; il 52% le ha rilevate "a volte". In una buona percentuale di casi, gli operatori si sono sentiti coinvolti emotivamente in queste situazioni.

Medici di Medicina Generale

Hanno aderito all'intervista il 98% dei MMG del Distretto 2, di Badia Polesine, bacino d'utenza della nostra indagine.

I medici, tra i quali predomina il sesso maschile, hanno un'età media di 47 anni. Il 69% possiede una specializzazione post-laurea.

I Medici di Famiglia dell'Alto Polesine svolgono attività "in gruppo" in un'alta percentuale: questo potrebbe indicare che essi la considerano uno strumento per migliorare la propria singola azione nell'espletamento del compito assistenziale della popolazione, oltre a valutare positivamente i vantaggi che essa offre, dal punto di vista organizzativo.

Sulla base dei risultati emersi dall'analisi multivariata, si può concludere che la soddisfazione generale degli utenti è influenzata innanzitutto dalla soddisfazione nei confronti del personale ospedaliero, seguita dalla soddisfazione per l'igiene, sia della struttura che del personale. Un peso minore, e meno significativo da un punto di vista statistico, hanno, nell'ordine, la soddisfazione riguardo i tempi d'attesa, quella sugli aspetti esteriori dell'ospedale e infine quella per il sistema CUP.

SINTESI RICERCA SANITARIA FINALIZZATA 862/04/98

Responsabile scientifico Rocco Francesco -Ente Proponente ULSS 9 di Treviso.

"Biomateriali naturali (matrici acellulari) utilizzabili come sostituti di organo o come componenti di bioreattori".

Obiettivo di questo progetto di ricerca era la valutazione del comportamento biologico ed emodinamico della matrice acellulare di condotto valvolato aortico porcino come sostituto del tronco dell'arteria e della valvola polmonare. Dalle nostre precedenti ricerche sanitarie finalizzate in questo campo era emerso quanto segue:

- a) è possibile ottenere matrici acellulari di condotto valvolato aortico porcino (MACVP) utilizzando il metodo di Meezan modificato;
- b) il rivestimento con tri o eptapeptidi con funzione di "signalling" facilita la riendolizzazione delle MACVP con cellule omologhe
- e) l'analisi emodinamica "*in vitro*" con pulse duplicator ha evidenziato che le MACVP presentano, per tutti i parametri esplorati, un profilo emodinamico sovrapponibile a quello di condotti porcini non trattati ad eccezione di un modesto aumento della compliance
- d) le MACVP impiantate in posizione eterotopica, come sostituti dell'aorta toracica di pecora, e quindi sottoposte a condizioni emodinamiche di elevato flusso ed elevate pressioni di esercizio, hanno presentato risultati contrastanti: se in alcune pecore si è osservata una perfetta ripopolazione "*in situ*" da parte di cellule dell'animale ricevente (cellule endoteliali e muscolari lisce e fibroblasti) in altre vi è stata una intensa risposta infiammatoria "da corpo estraneo", ad opera soprattutto di miofibroblasti, con progressiva compressione e ostruzione della protesi. Inoltre poiché i lembi della valvola aortica rimanevano costantemente in posizione aperta non si sono potute ricavare informazioni sul funzionamento a breve-medio termine di questi ultimi.

Considerata, inoltre, l'importanza che i condotti valvolati inseriti nella circolazione polmonare rivestono nel trattamento chirurgico in età pediatrica di numerose cardiopatie congenite, l'impianto di MACVP come sostituti del tronco dell'arteria e della valvola polmonare nella pecora permette di valutare in condizioni emodinamiche caratterizzate da elevati flussi e basse pressioni d'esercizio:

- 1) il comportamento dei lembi valvolari sottoposti al movimento fisiologico di apertura e chiusura
- 2) l'eventuale estensione e la velocità di ripopolamento autologo delle MACVP da parte delle cellule del ricevente (cellule endoteliali e muscolari lisce e fibroblasti)
- 3) presenza di reazioni infiammatorie "da corpo estraneo".

La sopravvivenza di tre pecore sottoposte ad un intervento di chirurgia sperimentale che prevede l'utilizzo della circolazione extracorporea rappresenta indubbiamente un risultato degno di nota. Le pecore infatti sono ritenute nelle norme adottate della FDA, per approvare l'introduzione in ambito clinico di nuove protesi valvolari cardiache, gli animali di riferimento per l'espletamento della fase sperimentale di impianto e di valutazione preclinica a medio e lungo termine delle stesse. Purtroppo, da un lato la fragilità degli animali legata alla loro suscettibilità a contrarre infezioni polmonari, con insorgenza di gravi sindrome da insufficienza respiratoria acuta dopo la semplice intubazione oro-tracheale per poche ore, dall'altro la limitata esperienza nella gestione pre, intra e postoperatoria legata all'utilizzo della circolazione extracorporea nella chirurgia sperimentale su grandi animali nelle realtà regionali e nazionali, hanno imposto alla presente RSF un notevole aumento di problemi e di carico lavoro. La prima parte della ricerca è stata quindi totalmente dedicata alla standardizzazione ed alla messa a punto delle tecniche anestesologiche, chirurgiche, di conduzione della circolazione extracorporea, di gestione dell'animale nel pre e nel postoperatorio. Grazie al fondamentale lavoro del personale dell'Istituto di Patologia Chirurgica Veterinaria della Facoltà di Veterinaria dell'Università degli Studi di Padova diretto dal Prof. Busetto, e dei Tecnici di Circolazione Extracorporea dell'U.O. di Cardiocirurgia di Treviso, e con la consulenza degli Anestesisti del 2^A Servizio di Anestesia e Rianimazione di Treviso, al termine della RSF è stato possibile stabilire un modello operativo che potrà essere il punto di partenza per altre eventuali ricerche sperimentali su pecora che richiedano l'utilizzo della circolazione extracorporea. Per quanto attiene la valutazione del comportamento emodinamico e biologico delle MACVP alcune considerazioni emergono dalla presente RSF:

- 1) il soddisfacente comportamento emodinamico delle MACVP, documentato sia dai nostri studi "*in vitro*" sia da autorevoli riscontri in letteratura, viene qui confermato. Si tratta ovviamente di una valutazione con valore limitato, sia perché l'intervallo dell'osservazione è di un mese sia perché si tratta di un rilievo clinico ed anatomo-patologico non documentato strumentalmente (con ecocardiogramma e doppler o indagine emodinamica)
- 2) la ripopolazione con cellule dell'ospite eterologo è veloce e completa tanto da rendere all'esame con SEM impossibile distinguere l'endotelio che ricopriva il MACVP da quello che ricopriva le pareti dell'arteria polmonare distale alla protesi 31 combinando questo rilievo con quanto emerso dai nostri precedenti e

concomitanti studi relativi all'impianto di matrici acellulari eterologhe in condizioni di flusso turbolento e veloce con elevate pressioni (arteria carotide) o di flusso elevato ma non turbolento con elevate pressioni (aorta toracica), possiamo affermare che la ripopolazione "in situ" è un evento che dipende da una complessa catena di fattori, per ora non sufficientemente indagati, ma che possiamo solo ipotizzare, quali tipo di stress emodinamico, morfologia del polso pressorio e posizione anatomica

- 4) non vi è stata nessuna reazione infiammatoria da "corpo estranea" di tipo miofibroblastico da parte del ricevente diversamente da quello che avveniva quando le MACVP venivano impiantate in aorta toracica, suggerendo che le cause e la predittività di queste reazioni non sono al momento note (posizione anatomica?, funzione?)
- 5) i rilievi di una modesta diradazione della matrice e un accenno di slaminamento della parete (vedi fig. 2 – **Agli atti presso gli uffici della Segreteria Sanità e Sociale**), da noi segnalati per la prima volta in letteratura, possono giustificare l'evoluzione verso la formazione di pseudoaneurismi, riscontrata in alcuni casi di utilizzo di matrici acellulari omologhe di condotti valvolati aortici impiantati nella circolazione polmonare in pazienti pediatriche. Purtroppo in qualche caso si è avuto il decesso dei pazienti, da rottura dello pseudoaneurisma, e pertanto la sperimentazione clinica di questi omoinnesti acellularizzati, iniziata, come da noi già segnalato, prematuramente, è stata immediatamente sospesa e le protesi sono state ritirate a cura della ditta che le aveva prodotte.

In conclusione riteniamo che le MACVP costituiscano un'ottima base di partenza per la creazione di valvole e condotti valvolati da utilizzare come sostituti protesici nella terapia chirurgica delle valvulopatie aortiche e nelle ricostruzioni nel campo delle cardiopatie congenite complesse. Tuttavia rimane di fondamentale importanza la ripopolazione "in vitro" con cellule autologhe del ricevente per mantenere nel tempo l'integrità strutturale delle matrici acellulari, prevenendo così la formazione di pseudoaneurismi e rottura delle stesse, assicurare in ogni condizione di flusso e pressione la presenza di uno stato endoteliale continuo, e prevenire eventuali reazioni infiammatorie "da corpo estraneo". Pertanto riteniamo che il prosieguo della ricerca nel campo delle matrici acellulari come sostituti di organi o come parte di bioreattori debba continuare tenendo conto dei risultati ottenuti al termine di questa RSF.

SINTESI RICERCA SANITARIA FINALIZZATA 864/06/98

Responsabile scientifico Salar Giuseppe - Ente Proponente Università di Padova.

“Mielopatia cervicale e radicolopatia lombare da malattia degenerativa del rachide: aspetti clinici, chirurgici, riabilitativi e sociali in relazione all'impiego di nuovi mezzi di sintesi per la stabilizzazione del rachide”.

Risultati

A distanza di 1 mese dall'intervento chirurgico i pazienti riferivano il progressivo miglioramento neurologico con residue algie lombari a livello trattato. Il controllo rx confermava la stabilizzazione e l'osteosintesi.

Ai 2 controlli successivi sono stati documentati (come nel primo periodo) il progressivo recupero dei deficit neurologici e la scomparsa del quadro algico per 19 pazienti mentre per gli altri 4 pazienti è stato necessario integrare con cicli di terapia antinfiammatoria e miorelassante.

I controlli rx con proiezioni dinamiche eseguiti a distanza di 6 mesi hanno confermato la stabilizzazione e la sintesi tra sistema ed osso vertebrale.

Conclusioni

Questa lunga ricerca retrospettiva eseguita presso il ns istituto ci porta a concludere che l'atteggiamento chirurgico usato in queste serie di pazienti, sia a livello cervicale che lombare, è congruo e corretto per questo tipo di patologie, altamente corretto per questo tipo di patologie altamente invalidanti se lasciate alla loro storia naturale.

Tali conclusioni sono sostenute dall'osservazione che in tutti i nostri pazienti vi sono stati dei miglioramenti tangibili sia sul piano sensitivo che motorio con 'restitutio' ad una vita di relazione in ogni caso migliore rispetto al preoperatorio e con assenza di complicanze imputabili alla pratica chirurgica.

SINTESI RICERCA SANITARIA FINALIZZATA 870/04/98**Responsabile scientifico Stella Mario - Ente Proponente ULSS 6 di Vicenza.****“Valutazione dell’instabilità microsatellitare nelle neoplasie solide umane: correlazione con la sensibilità alla chemioterapia”.****INSTABILITA' DEI MICROSATELLITI**

E' stata riscontrata MSI (Instabilità dei Microsatelliti) nel DNA estratto da plasma di due pazienti per un unico marcatore (locus D9S157). La forma neoplastica di questi pazienti tuttavia non può essere definita come fenotipo RER+, in quanto la presenza di instabilità per un unico marcatore non è sufficiente ad attribuire fenotipo RER+ (R. Boland et al., Cancer Res 58:5248-5257,1998).

Recentemente F.Couplet et al.,(Cancer Res 60,707-711, 2000) in uno studio su 117 casi, pur non negando l'esistenza di DNA tumorale nel plasma, hanno sollevato numerosi interrogativi sulla reale dimostrabilità di LOH/MSI per lo meno in pazienti con neoplasia della testa-collo legata a possibili artefatti PCR correlati, dipendenti verosimilmente dalla diluizione del DNA tumorale nel DNA normale. Pertanto l'analisi del DNA plasmatico deve essere considerata come una metodica ancora ampiamente sperimentale, la cui utilità clinica nella diagnosi e nel monitoraggio di queste neoplasie rimane al momento incerta.

Vari studi nelle neoplasie del distretto testa-collo hanno stimato una frequenza di MSI compresa tra 1.5 e 5 % (K. Matsuura et al., Anticancer Res 18: 453-458, 1998; H. Blons, Int J Cancer 84: 410-415, 1999). Il mancato riscontro di fenotipo RER+ nella nostra casistica costituita da 40 pazienti, concorda pertanto con i valori più bassi riportati dalla letteratura.

PERDITA DI ETEROZIGOSITA'

Viene confermata la frequente presenza (8 biopsie su 33 analizzate = 24%) di perdita di eterozigosità (LOH) conseguente a delezioni a livello del braccio corto del cromosoma 3 in questo tipo di neoplasie.

Il riscontro di LOH con distribuzione eterogenea nei diversi campioni del paziente 9-DG è verosimilmente in relazione alla presenza di più cloni neoplastici con caratteristiche genetiche diverse e correlate probabilmente all'aggressività clinica e alla non responsività al trattamento.

In particolare è stata evidenziata LOH in 7 su 17 pazienti della seconda serie (40%) .

Pur nella esiguità dei numeri abbiamo raccolto e confrontato le caratteristiche dei due gruppi.(vedi Tabella).

Tabella CARATTERISTICHE CLINICHE

CARATTERISTICHE	TOTALE GRUPPO 17 PZ.	LOH 7 PZ
STADIO I	1	0
STADIO II	7	3
STADIO III	5	2
STADIO IV	4	2
RADIOTERAPIA	14/17	5/7
CHEMIOTERAPIA	2/17	0/7
DECEDUTI	3/17	2/7

SINTESI RICERCA SANITARIA FINALIZZATA 875/05/98**Responsabile scientifico Vecchiato Tiziano - Ente Proponente Fondazione Zancan Padova.**

“Organizzazione e valutazione dell’efficacia e dell’efficienza con particolare riferimento all’organizzazione, controllo e valutazione delle attività erogate nei servizi Socio-Sanitari distrettuali”.

La ricerca si è mossa dalla constatazione che una efficace e sistematica valutazione dei servizi sociali e sanitari non può non tener conto dei principali fattori che attualmente influenzano la sua applicazione e il suo sviluppo in particolare:

- i crescenti tagli alla spesa,
- la diffusa domanda di qualità,
- le diverse responsabilità in gioco (ULSS, enti locali, altri soggetti pubblici e privati),
- le conseguenti esigenze di controllo (istituzionale e sociale) sul loro funzionamento,
- la necessità di garantire alle fasce più deboli una adeguata protezione e tutela, in attuazione dei livelli essenziali di assistenza
- la necessità di documentare la loro produttività in termini di efficienza e soprattutto di efficacia.

Per affrontare questi problemi è necessario superare resistenze di varia natura. Non sempre infatti la valutazione è vista come conveniente quando, ad esempio, i soggetti interessati temono il maggiore controllo che essa può garantire sia sul versante interno (gestionale) sia sul versante esterno (sociale), coinvolgendo gli operatori sanitari e sociali in modo tale che essi possano meglio valutare il loro lavoro, coinvolgendo le persone utenti dei servizi nel giudizio di efficacia delle prestazioni e dei loro risultati.

A partire da queste premesse la ricerca ha approfondito i risultati emersi dall’analisi effettuata nelle due Aziende ULSS di riferimento: l’Azienda ULSS 15 Cittadella-Camposampiero e l’Azienda ULSS 17 Conselve-Este-Monselice-Montagnana. In particolare, l’analisi nelle due Aziende si è differenziata con riferimento alle:

- attività svolte dal settore servizi sociali dell’Azienda ULSS 15 (anno 1999)
- attività svolte dai consultori familiari dell’Azienda ULSS 17 (anno 1999).

Relativamente all’Azienda ULSS 15, sono state analizzate le seguenti attività

- nell’area materno-infantile (consultori familiari, formazione territoriale, animazione in pediatria, informagiovani, psicologia e riabilitazione per l’età evolutiva),
- nell’area handicap (informahandicap, integrazione sociale e scolastica, inserimento lavorativo, centri educativi occupazionali diurni, strutture residenziali),
- nell’area anziani (unità operativa distrettuale, servizio sociale professionale, assistenza domiciliare),
- nell’area delle tossicodipendenze.

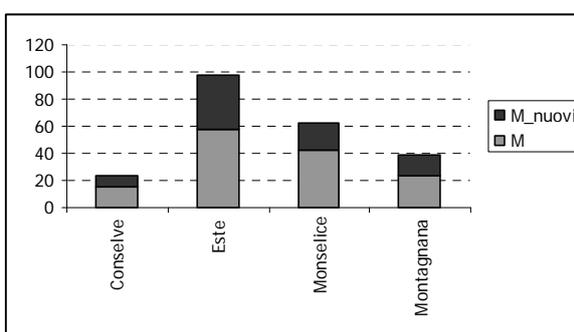
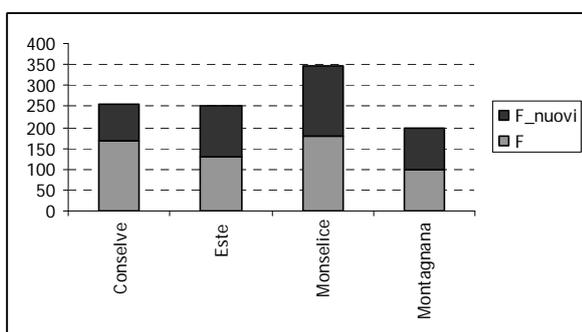
La successiva tabella esemplifica un tipo di output relativo alla mappa dei servizi per anziani disponibili, per comune e per distretto.

Comune	Popolazione >65 anni al 31.12.1999	Servizio sociale pro-	Assistenza domiciliare	Assistenza domiciliare	Telecontrollo telesoc-	Casa di riposo	RSA	Centro diurno	Ass. Econ. per rette	Sostegno economico	Attività motoria	Soggiorni climatici	Residenza abitativa
Campodarsego	1.518							●	●		●		
Vigodarzere	1.505	●	●	●	●				●				
Vigonza	2.524	●	●	●	●			●	●		●		●
Villanova di Camposampiero	656								●				
Totale Distretto 1	6.203												
Campodoro	283								●				
Campo S. Martino	778						●	●	●				
Carmignano di Brenta	1.140	●	●	●	●	●			●		●		
Curtarolo	900								●		●		
Gazzo	507								●		●		
Grantorto	555								●				
Piazzola sul Brenta	1.796	●	●	●	●				●				
San Pietro in Gù	605								●		●		●
Villafranca Padovana	1.070								●		●		
Totale Distretto 2	7.634												
Cittadella	2.834	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●		●
Fontaniva	1.087								●		●		
Galliera Veneta	973					●			●		●		●
San Giorgio in Bosco	826								●		●		
San Martino di Lupari	1.631	●	●	●	●				●		●		
Tombolo	1.062								●		●		
Totale Distretto 3	8.413												
Borgoricco	937								●				
Camposampiero	1.507	●	●	●	●	●	●	●	●		●		●
Loreggia	615								●				
Massanzago	471								●				
Piombino Dese	1.161								●				
San Giorgio delle Pertiche	1.086								●				●
Santa Giustina in Colle	811								●		●		
Trebaseleghe	1.387	●	●	●	●	●		●	●				
Villa del Conte	629								●		●		
Totale Distretto 4	8.604												
Totale Ulss 15	30.854												

L'analisi della Azienda ULSS 17 ha fatto riferimento all'attività dei consultori familiari con riferimento alla tipologia di prestazioni, agli utenti, alla casistica e alla tipologia di invio al servizio, alla tipologia di prestazioni. La tabella successiva esemplifica un tipo di output relativo al numero di utenti di casi visti nei primi nove mesi del 1999 suddivisi per distretto.

Distretto	Utenti in carico				Di cui nuovi (*)			
	ni	F	M	T	ni	F	M	T
Conselve	-	255	23	278	-	87	8	95
Este	-	253	98	351	-	125	40	165
Monselice	1	345	62	408	1	166	20	187
Montagnana	-	197	39	236	-	99	16	115
Totale residenti Ulss 17	1	1.050	222	1.273	1	477	84	562
Extra Ulss	1	36	9	46	-	1	2	3
Totale complessivo	2	1.087	234	1.323	1	478	86	565

ni: non indicato - (*) per nuovi utenti si intende utenti entrati in carico nei primi 9 mesi del 1999.



Tenendo conto delle basi conoscitive raccolte, la ricerca propone spunti di riflessione sulle funzioni e le strategie distrettuali e indica come affrontare i problemi tramite una specifica formazione. In particolare sono state proposte quattro schede di sintesi per la progettazione formativa:

1. I problemi da affrontare

- il difficile rapporto tra distretto e ospedale,
- le difficoltà di posizionamento del medico di medicina generale,
- i rapporti con il dipartimento di prevenzione,
- le rigidità organizzative,
- la scarsa circolazione delle informazioni,
- le difficoltà di classificazione e monitoraggio dei processi assistenziali,
- i problemi di equità nell'accesso ai servizi,
- la definizione del profilo distrettuale,
- la difficile combinazione dei fattori produttivi interni ed esterni,
- la insufficiente capacità di valutazione multidimensionale dei bisogni,
- la predominanza del lavoro per prestazioni a scapito del lavoro per progetti,
- la scarsa propensione a valutare i risultati di salute,
- le difficoltà nel promuovere e realizzare l'integrazione sociosanitaria.

2. Le funzioni distrettuali

- l'assistenza specialistica ambulatoriale;
- le attività o servizi per la prevenzione e la cura delle tossicodipendenze;
- le attività o servizi consultoriali per la tutela della salute dell'infanzia, della donna e della famiglia;
- le attività o servizi rivolti a disabili ed anziani;
- le attività o servizi di assistenza domiciliare integrata;
- le attività o servizi per le patologie da HIV e per le patologie in fase terminale.

3. Il governo dei processi assistenziali

- la valutazione dei bisogni e delle priorità
- la definizione dei processi assistenziali
- la loro valutazione economica
- livelli di assistenza e forme di finanziamento dei processi assistenziali
- la elaborazione dei piani e dei programmi
- la valutazione dei risultati di salute

4. Le funzioni strategiche

- la definizione delle strategie aziendali,
- la definizione degli obiettivi di salute,
- la allocazione delle risorse,
- la qualificazione dei rapporti con i dipartimenti e i servizi aziendali,
- la definizione del programma delle attività territoriali,
- l'integrazione sociosanitaria
- l'integrazione con le attività ospedaliere,
- l'organizzazione della continuità assistenziale,
- i rapporti con le amministrazioni locali.

Un ulteriore approfondimento realizzato è specificamente mirato sul tema dell'integrazione sociosanitaria e sulla gestione qualitativa dell'offerta distrettuale, con riferimento a questioni quali:

- l'accessibilità alle prestazioni e ai servizi (orari, unitarietà dell'accesso, prenotazioni, trasparenza nella liste di attesa);
- l'accoglienza della domanda, l'orientamento e, quando necessario, l'accompagnamento, con particolare riferimento ai soggetti deboli;
- la valutazione integrata del bisogno e la predisposizione e la gestione di progetti personalizzati di assistenza;
- la continuità assistenziale: interna all'offerta distrettuale e tra distretto e produttori accreditati pubblici e privati;
- gli investimenti per la creazione di una rete di opzioni assistenziali alternative ai ricoveri, conferendo priorità alla qualificazione delle cure domiciliari in modo tale che possano configurarsi a diversi gradi di complessità;
- l'integrazione dei medici di medicina generale e dei pediatri di libera scelta nell'organizzazione distrettuale.

La ricerca si è conclusa con schede di posizionamento delle Aziende ULSS 15 e 17 rispetto alle altre ULSS del Veneto. Di seguito se ne riporta una tabella esemplificativa.

Ulss	Pop. 1999	CSM	Ambu.	CD	DHT	Com. Alloggio	CTRP attiva	CTRP manten.	SPDC	DHO
1	130.347	43.293	10.823	32.470		64.940	64.940		64.940	
2	81.006	81.168	16.234	27.056	81.168	81.168	27.056		81.168	81.168
3	162.956	82.005	32.802	82.005	82.005	164.009	164.009		164.009	164.009
4	170.501	86.023	28.674	172.045	86.023	86.023	86.023	43.011	172.045	172.045
5	162.026	81.801	40.900	81.801	54.534	81.801		81.801	163.601	163.601
6	285.044	95.900	57.540	143.850	287.700	47.950	287.700	95.900	95.900	143.850
7	199.065	200.558	66.853	66.853	200.558	100.279	100.279		200.558	66.853
8	218.649	110.614	36.871	221.228	221.228		221.228	221.228	221.228	110.614
9	358.415	90.567	32.934	90.567		362.269	181.135	120.756	120.756	120.756
10	196.007	98.359	98.359	98.359	98.359	196.717	98.359		98.359	196.717
12	310.535	154.238	77.119	77.119	308.475	38.559	154.238	154.238	154.238	308.475
13	237.019	119.148	119.148				119.148		238.296	238.296
14	128.801	128.847	42.949						128.847	128.847

15	216.616	109.369	109.369	218.738	109.369	109.369			109.369	109.369
16	390.655	98.150	56.086	65.433	196.300	56.086	130.867	98.150	130.867	98.150
17	177.838	88.997	44.498	177.993			177.993		88.997	
18	171.337	85.483	13.151	85.483		85.483		56.988	85.483	85.483
19	75.272	75.062	37.531	75.062		75.062			75.062	
20	413.102	103.839	29.668			103.839	103.839	138.452	103.839	103.839
21	162.844	163.223	23.318	54.408					163.223	163.223
22	239.525	80.994	20.249	80.994	121.492	121.492	242.983	242.983	121.492	121.492
Totale	4.487.560									
Media	213.693	98.081	34.975	100.260	225.286	102.539	155.576	173.527	121.938	136.719

Fonte: Nostra elaborazione su dati dalla Relazione 98-99 della Regione Veneto

SINTESI RICERCA SANITARIA FINALIZZATA 877/04/98

Responsabile scientifico Visonà Adriana - Ente Proponente ULSS 8 di Castelfranco Veneto.

“Terapia fotodinamica mirata per il trattamento della ristenosi dopo angioplastica con nuovi sistemi di rilascio loco regionale”.

La terapia fotodinamica (PDT) è una tecnica fotochimica sperimentale, ampiamente studiata per la terapia del cancro, nuovo e promettente approccio per la prevenzione dello sviluppo della iperplasia miointimale (IMI) dopo angioplastica. Consiste nell'attivazione, mediante sorgenti di luce laser di determinata lunghezza d'onda, di una sostanza fotosensibilizzante di per sé inerte rilasciata con innovativo sistema di rilascio loco-regionale, il channel balloon. La sostanza fotosensibilizzante utilizzata, la Zinco-Ftalocianina, è rapidamente captata dalle cellule in rapida proliferazione della parete vascolare, quali le cellule muscolari lisce della tonaca muscolare. L'assorbimento della luce da parte di questa sostanza, determina la liberazione di radicali dell'ossigeno, quali l'anione superossido, e di ossigeno singoletto. Si tratta di specie reattive dell'ossigeno che determinano danno cellulare attraverso perossidazione delle membrane lipidiche, ossidazione delle proteine di struttura e funzionali, interazione con il materiale genetico, DNA e RNA.

Lo studio si proponeva di valutare l'efficacia della PDT nella prevenzione della IMI, fenomeno che caratterizza la ristenosi dopo angioplastica.

Gli esperimenti sono stati condotti su modello animale di coniglio New Zealand, in cui veniva indotta la lesione con catetere da embolectomia 2F Fogarty. Dopo rilascio locale della sostanza fotosensibilizzante (Zn II- Ftalocianina) con Channel Balloon e successiva attivazione della stessa con luce laser a 765 nm, gli animali sono stati sacrificati a 7, 14, 21 e 28 giorni.

Gli animali sottoposti a PDT (gruppo trattati) mostrano significativa riduzione della IMI rispetto al gruppo in cui non si è eseguita la PDT (gruppo controllo). La quantificazione della proliferazione miointimale è stata eseguita morfometricamente utilizzando un sistema di analisi computerizzato. La membrana elastica interna (LEI) e il lume (L) sono stati delineati manualmente permettendo la successiva misurazione automatica delle aree.

L'IMI viene espressa come rapporto % LEI-L/LEI.

A 7 giorni dal danno non si è osservata IMI nei conigli trattati, mentre nei controlli si è documentata una riduzione del lume, con valore di IMI del $13.24 \pm 3.09\%$. A 14, 21 e 28 giorni continua l'andamento del ridotto sviluppo della IMI nei trattati rispetto ai controlli.

