

## recensioni, commenti e segnalazioni

A cura di  
Federica Napolitani Cheyne



**CAUSE - EFFETTI IN MEDICINA.** Logica e strumenti di valutazione clinico-epidemiologica. Roberto Marchioli e Gianni Tognoni. Roma: Il Pensiero Scientifico Editore, 1995. 268 p. (I libri del Negri Sud). ISBN 88-7002-613-2. Lit 38.000.

Racconta Thornton Wilder, ne "Il ponte di San Luis Rey", che la marchesa di Montemayor, preoccupata per la notizia di un raffreddore che aveva colpito la figlia, scrisse in una lettera ".... Non vi sono dunque medici in Spagna? .... Ti invio nel pacchetto di oggi la gomma di certi alberi che le suore di San Tomás vendono di porta in porta. Se abbia qualche merito non so; provala ....".

Che questo fosse il modo normale dell'intervento medico, e che lo sia spesso ancora oggi, non stupisce se si considera la difficoltà con la quale sono stati accettati alcuni principi di una corretta valutazione dell'efficacia degli interventi medici. Come sarebbe stato possibile, altrimenti, riuscire a far approvare dapprima l'immissione in commercio e quindi far rimborsare dal servizio sanitario nazionale farmaci sconosciuti all'estero. Non si tratta solo di terapie come quelle basate sugli epatoprotettori o i cosiddetti "neurotrofici", si tratta anche di alcuni farmaci che avevano avuto un certo investimento nella ricerca preclinica, dai gangliosidi agli immunostimolanti.

E' proprio per comprendere l'importanza e favorire la diffusione dei principi della valutazione dell'efficacia che può essere di grande utilità il libro di Marchioli e Tognoni: *Cause-effetti in medicina*. E' un lavoro che si rivolge sia a coloro che sono coinvolti nella conduzione di indagini clinico-epidemiologiche, sia ai potenziali utilizzatori dei risultati degli studi. Ai "produttori" di dati, il libro non offre solo uno strumento per acquisire padronanza di quegli aspetti

metodologici, in primo luogo il disegno dello studio e l'analisi dei dati, dai quali soprattutto dipende l'affidabilità (validità) dei risultati. Vi è uno stimolo continuo a chiedersi "cosa è clinicamente rilevante e cosa non lo è" per la popolazione che potrebbe teoricamente beneficiare dei risultati degli studi. Agli utilizzatori degli studi, innanzitutto ai medici che sono chiamati a fondare il proprio lavoro sul *best available knowledge* e non tanto (o quanto meno non solo) sulla propria esperienza personale, vengono date le "istruzioni per l'uso"; "le regole sostanziali e gli strumenti formali per leggere, valutare l'affidabilità ed applicare i risultati degli studi". La presentazione di numerosi esempi modello presentati sotto forma di schede contribuisce senz'altro ad arricchire il valore del libro.

La tesi sostenuta dagli autori è semplice: la valutazione controllata (innanzitutto la sperimentazione clinica randomizzata ma anche gli studi epidemiologici non sperimentali) "è la *conditio sine qua non* della produzione responsabile della conoscenza in medicina". In questo contesto, una buona ipotesi di ricerca rappresenta solo la premessa, una giustificazione, per la conduzione di una sperimentazione clinica. Un esempio paradigmatico citato dagli autori è quello relativo alla sperimentazione di due farmaci antiaritmici (encainide e flecainide) nel post-infarto. L'ipotesi di lavoro era ben fondata: dato che nel post-infarto la principale causa di morte è rappresentata dalle aritmie, l'utilizzo di farmaci antiaritmici avrebbe potuto migliorare la prognosi dei pazienti infartuati. Paradossalmente, l'ipotesi era così ben fondata da sollevare quasi dei dubbi sull'eticità della sperimentazione. Il risultato fu che la sperimentazione dovette essere interrotta a causa di un rilevante eccesso di mortalità nel gruppo trattato con antiaritmici.

Le sperimentazioni cliniche randomizzate rappresentano il paradigma per la ricerca in medicina, e lo standard di riferimento per guidare la pratica medica, perché consentono di trovare la risposta più affidabile alla seguente domanda: l'intervento A è più efficace delle alternative disponibili, a parità di tutte le altre condizioni? Così, se per un determinato problema/patologia non sono ancora disponibili interventi terapeutici di provata efficacia, la sperimentazione clinica controllata di un nuovo intervento consente di valutarne l'efficacia assoluta. Se invece interventi efficaci sono già disponibili, attraverso le sperimentazioni cliniche è possibile valutare la cosiddetta efficacia relativa, e cioè se e quanto un nuovo intervento sia più (o meno) efficace delle alternative disponibili.

In particolare nel campo dei farmaci, sempre più spesso la valutazione dell'efficacia riguarderà proprio il confronto fra alternative terapeutiche. L'obiettivo è di individuare i farmaci dotati del miglior profilo beneficio/rischio; più efficaci, e/o più tollerabili (e cioè con meno effetti indesiderati), e/o che favoriscono una maggiore *compliance* da parte dei pazienti. I benefici per i cittadini sarebbero rilevanti. Il primo è che solo farmaci che rappresentano una reale innovazione rispetto alle alternative disponibili dovrebbero essere introdotti. Il secondo è che l'uso del placebo è eticamente inammissibile se sono disponibili alternative di provata efficacia. Si tratta, gli esempi non mancano, di due requisiti frequentemente violati.

Si sostiene, spesso, che i nuovi farmaci presentino comunque dei miglioramenti, sebbene limitati, e che una società sviluppata come la nostra avrebbe una sorta di dovere nel favorirne la diffusione in virtù delle loro qualità. Che, insomma, porre strette limitazioni all'introduzione di nuovi farmaci sia "roba da terzo mondo", mentre nei paesi sviluppati ci si deve poter permettere anche l'uso di farmaci che migliorano di poco la qualità della vita. E così, ogni volta che vengono introdotti nuovi farmaci si tende a favorirne l'uso da parte dei medici suggerendo l'idea che "nuovo è meglio".

Peccato che anche l'ipotesi della presenza di un beneficio limitato possa essere valutata in una sperimentazione controllata. Certo, una sperimentazione interessata a mettere in evidenza lievi differenze potrebbe avere problemi di potenza (intesa come probabilità di mettere in evidenza una differenza fra trattamenti quando questa differenza esiste veramente), cioè potrebbe produrre un risultato falso negativo. E per superare i problemi di potenza si deve aumentare la numerosità del campione, programmando studi di maggiori dimensioni (il che ovviamente comporta un incremento dei costi legati alla sperimentazione).

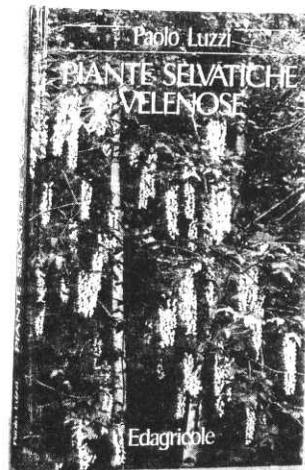
Capita anche, però, che gli studi vengano programmati con una potenza insufficiente, come nel caso di numerose sperimentazioni dei cosiddetti farmaci *me-too* (cioè di farmaci sovrapponibili ad altri già in commercio tranne che per lievi, e come suggerisce il nome irrilevanti, modificazioni della struttura chimica). Se la potenza è insufficiente, anche differenze sfavorevoli al nuovo trattamento risulteranno statisticamente "non significative". Il passaggio successivo è solo quello di presentare l'assenza di differenze statisticamente significative come assenza di differenze *tout-court*, o come equivalenza fra i trattamenti. Questi e altri "errori metodologici più comuni" sono esposti con chiarezza anche per un pubblico "non iniziato" in un apposito capitolo.

Due altri capitoli, uno sulla meta-analisi e l'altro sulle *consensus conference*, rappresentano una apprezzabile novità per un libro di epidemiologia scritto da autori italiani. L'idea sulla quale si basa la meta-analisi è intuitivamente semplice: tutta la conoscenza può essere vista come un'analisi cumulativa dei singoli pezzi di conoscenza precedente. Nella effettuazione e nell'uso della meta-analisi ci sono, come ricordano gli autori, "gioie e dolori". La giustificazione della meta-analisi riguarda principalmente la "possibilità di ottenere stime statisticamente

e clinicamente più affidabili (perché basate su popolazioni più ampie) e di esplorare l'efficacia degli interventi in sottogruppi di pazienti per i quali mancano spesso informazioni di studi *ad hoc*". Il limite principale è che la meta-analisi, così come le altre tecniche statistiche, non può certo correggere le sperimentazioni cliniche condotte in maniera inaffidabile.

Le *consensus conference* si propongono, invece, di migliorare il trasferimento delle conoscenze nella pratica clinica, con lo scopo di promuovere la qualità delle cure. Si tratta di uno strumento che può essere di grande utilità per guidare la pratica medica se le raccomandazioni sono basate su valide ricerche epidemiologiche. Si tratta ancora di uno strumento utile quando la ricerca di consenso è mirata ad individuare le questioni ancora aperte o veramente controverse che richiedono ulteriori ricerche. Non sono, però, da sottovalutare i casi, come ammoniscono gli autori del volume, nei quali, o per gli obiettivi promozionali degli sponsor o per quelli autonomi degli stessi esperti partecipanti, tali conferenze finiscono nella categoria del "consenso-nonsense".

Giuseppe Traversa  
Istituto Superiore di Sanità  
Roma



### PIANTE SELVATICHE VELENOSE.

Paolo Luzzi,  
Bologna: Edagricole, 1995.  
222 p. Lit 35.000.  
ISBN 88-206-3815-0.

Alcuni mesi orsono, il periodico *Medico e bambino: Rivista di formazione e di aggiornamento professionale del pediatra e del medico di base*, realizzato in collaborazione con l'Associazione Culturale Pediatri, discuteva di un caso-tipo di avvelenamento di un bambino, brillantemente e rapidamente risolto dal "fiuto" botanico del pediatra "tossicologo". Ricostruita prontamente l'anamnesi di cosa fosse stato ingerito dal giovanissimo paziente, il medico intuiva trattarsi dei semi "picchiettati" del ricino, pianta eminentemente mediterranea, altamente tossica, e la sua identificazione indirizzava rapidamente una terapia d'urgenza.

Perché fra le quattromila specie da cui è composta, la flora italiana annovera ben settanta piante definite tossiche o non di rado apertamente velenose, di cui alcune dal nome comune che

ne cela completamente la pericolosità, come la comunissima Angelica, il Botton d'oro o la Belladonna; e magari proprio queste stesse specie vegetali sono considerate piante medicinali. Anzi è auspicabile che, anche oggi accada come per il passato, quando proprio da questi principi farmacologicamente attivi, a dosaggio e regimi di somministrazione adeguati, sono venuti alcuni dei farmaci attualmente di maggior uso. E' ancora più auspicabile che un processo storico analogo investa la flora del Sud del mondo, largamente inesplorata, per tipologia di specie come per potenzialità terapeutica.

Ma questo non è stato certo un caso isolato, dato che la separazione fra quanto è benefico e quanto è malefico è talora sottile, e basta esagerare nel dosaggio o utilizzare l'organo sbagliato di una pianta (foglie anziché radici o prodotti floreali) per trasformare una "pozione" da panacea a veleno.

Il numero crescente di apprendisti di erboristeria, di chi fa giardinaggio in un luogo frequentato da bambini, o più in generale la massificazione del turismo in zone la cui flora non è tradizionalmente nota, vanno aumentando non di poco i rischi per la salute dell'uomo. E se in libreria ormai abbondano testi su piante medicinali, da reddito o ornamentali, pochi sono i volumi in grado di mettere in guardia tanto il pubblico generale, quanto il personale tecnico afferente al SSN, nei confronti dei rischi di prodotti naturali. Cicuta (una sorta di prezzemolo estremamente comune in Italia), stramonio, mandragora, dulcamara e aconito, tutte piante la cui ingestione può diventare a volte fatale. Molte altre specie floreali (per esempio l'Asfodelo o il più comune oleandro), causano bruciori o ulcerazioni a chi ne strappa il fusto e ne ingerisce l'essudato, come a chi, con le mani contaminate, tocchi parti sensibili del corpo quali occhio o labbra.

Anche specie vegetali che per le feste natalizie entrano in tante case italiane, agrifoglio, vischio e stella di Natale, producono bacche tali da provocare rischi gastrointestinali o che modificano sostanzialmente il ritmo cardiaco e lattice irritante pelle, occhi e stomaco (questo, ovviamente è un adattamento contro i predatori erbivori). E se un adulto difficilmente ingerirebbe bulbi di ciclamino, fiori di anemone, peonia e ginestra, bacche di edera, o foglie di oleandro, ligustro e rododendro, capita invece che un bambino di pochi anni talora li ingerisca a casa, come nel parco cittadino o in vacanza, con rischi non indifferenti.

Specie "tossiche" si nascondono anche fra le piante da orto (sambuco, senape, ruta e il succitatio ricino), fra le piante d'appartamento e da giardino, ma anche fra erbe spontanee comuni nei parchi cittadini, come l'erba morella o la fitolacca.

Il testo è utile per prevenzione, indicazioni specifiche del medico di base, e soprattutto del pediatra, ma anche delle autorità sanitarie locali nelle zone ad alto flusso turistico che si trovano ad affrontare problemi sanitari talora non indifferenti. E va considerato con attenzione che, nelle zone a pascolo intensivo, vanno aumentando in parecchie regioni italiane le specie velenose o tossiche per il bestiame. A causa infatti del *grazing* spesso eccessivo, le specie velenose o tossiche vanno

massicciamente affermandosi (assieme a quelle provviste di aculei) nelle comunità vegetali dei vari ecosistemi italiani. E' dunque auspicabile che il pediatra, il medico di base, le autorità sanitarie locali, e magari qualche ufficio turistico sensibile a prevenire questo tipo di infortuni, trovino il tempo per dare un'occhiata a questo utile prodotto editoriale, che, grazie alle tante illustrazioni e descrizioni, rende immediata la corretta identificazione delle specie vegetali velenose. Questo fruibile manuale per il riconoscimento delle piante pericolose di Paolo Luzzi fornisce sufficienti indicazioni per riconoscere specie vegetali a rischio ed include l'elenco dei principali centri antiveleni disponibili a livello nazionale.

Enrico Alleva  
Istituto Superiore di Sanità  
Roma

**WILDLIFE HUSBANDRY AND DISEASES.** Paris: Office International des Epizooties, 1996. 368 p. (*Revue scientifique et technique* 15(1): March 1996). ISSN 0253-1933, ISBN 92-9044-400-2. U\$ 54.

In inglese, francese, spagnolo.

Il primo numero del volume 15 della *Revue scientifique et technique* dell'Office International des Epizooties (OIE), è a carattere monografico ed è completamente dedicato all'allevamento e alla patologia degli animali selvatici.

Esso contiene una raccolta di articoli di diversi studiosi dell'argomento a cura di M.E. Fowler.

Come è detto nella prefazione al volume "La pubblicazione non vuole essere un trattato sulla patologia degli animali confinati nei parchi zoologici ma piuttosto descrivere le pratiche di allevamento correntemente impiegate per diversi gruppi di animali selvatici tenuti in cattività, e l'influenza che tali pratiche possono avere nell'impedire o favorire la comparsa di malattie infettive e parassitarie in attività, descrivere in dettaglio alcune di tali malattie sottolineando il loro potenziale aspetto di zoonosi".

La prima parte del volume è dedicata a particolari gruppi di animali e alle loro patologie. Vengono trattati rettili e anfibi, uccelli volatori ed uccelli corridori (struzzi, emù e nandù), piccoli carnivori mustelidi, canidi e felidi, suini selvatici e pecore, camelidi, cervidi. Ampie tabelle presentano le principali malattie batteriche, virali, protozoarie e parassitarie che possono colpire tali gruppi animali.

La seconda parte descrive i protocolli di quarantena e di medicina preventiva per rettili, uccelli e mammiferi degli zoo, i metodi di allevamento di animali in cattività destinati al ripopolamento di parchi, i metodi di allevamento per cervi e bisonti tenuti in grandi *ranches* e infine l'allevamento e la cura di animali in park safari e in grandi negozi di vendita.

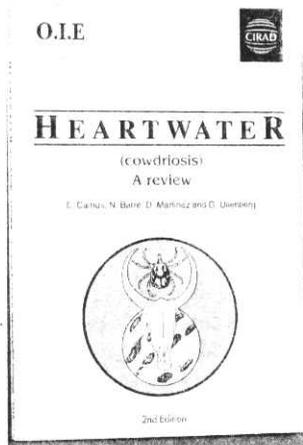
La terza parte tratta i modelli di allevamento propri di certe zone geografiche, quali l'Africa australe, il Nord America, il Sud America, l'Australia e la Nuova Zelanda, Europa e Asia.

Infine uno specifico articolo tratta della validità dei test di laboratorio per la diagnosi di malattia in animali selvatici, mutuati dai metodi di diagnosi in uso per gli animali domestici. Questa importante opera monografica fa il punto sui differenti problemi di patologia degli animali selvatici tenuti o allevati in cattività e fornisce risposte a diverse questioni riguardanti la prevenzione della malattia, l'epidemiologia, il trasporto degli animali selvatici, il controllo dei parchi nazionali e zoologici e la loro gestione.

Ciascun articolo (18 in tutto) è corredato da una bibliografia essenziale.

Un'ampia introduzione ed una conclusione di M.E. Fowler aprono e chiudono rispettivamente questa ottima raccolta monografica e questo numero speciale della rivista dell'OIE.

Glauco Piccininno  
Istituto Superiore di Sanità  
Roma



### HEARTWATER (COWDRIOSIS).

A review.

E. Camus, N. Barré, D. Martínez e G. Uilenberg.  
Paris: Office International des Epizooties, 1996.  
2. ed. 177 p.  
ISBN 92-9044-376-6.

La presente rassegna si propone di fare il punto sullo stato della ricerca e definire alcuni aspetti da sviluppare per il futuro nell'ambito di questa importante malattia infettiva che colpisce ruminanti domestici e selvatici. La cowdriosis o idropericardite infettiva è caratterizzata da febbre elevata, interessamento del sistema nervoso, idropericardio e gastroenterite acuta ed è causata da una rickettsia, *Cowdria ruminantium*, trasmessa da zecche del genere *Amblyomma*.

Fino agli anni '60 la malattia è stata studiata soltanto in Sud Africa dove è molto diffusa ma successivamente essa è stata evidenziata in molti altri paesi. In Africa essa assume una particolare importanza economica perché incide sulla qualità e sulle performances degli animali d'allevamento destinati all'esportazione. La cowdriosis è primariamente una malattia africana, ma la sua diffusione all'isola di Guadalupe, e ad altre isole ha sollevato il problema di un possibile coinvolgimento anche delle Americhe.

Tutti i ruminanti domestici e selvatici possono essere infettati ed i selvatici nelle regioni endemiche agiscono come serbatoi dell'infezione. La morfologia e la classificazione dell'agente infettante sono ben noti come pure la sua localizzazione negli organi degli animali infetti e nel sangue (soprattutto nei neutrofili); tuttavia il ciclo completo fra ospite e vettore non è ancora del tutto chiaro. Le rickettsie si localizzano nelle ghiandole salivari delle zecche ma non tutte sono in grado di trasmettere l'infezione. La percentuale d'infezione è molto bassa in Guadalupe (1%) mentre è molto alta nello Zimbabwe (fino al 36%).

Molti aspetti riguardanti l'epizootologia devono essere ancora chiariti, in particolare la fonte d'infezione delle zecche, il ciclo infettivo di *Cowdria* in questi artropodi, l'esistenza o meno di un rapporto specifico fra ceppi di *Cowdria* e ceppi di *Amblyomma*, la resistenza alla malattia in bovini indigeni africani e in zebù, nonché in piccoli ruminanti indigeni ed ovicapriini, il meccanismo della reazione immunitaria, l'esistenza o meno di serbatoi d'infezione diversi dai ruminanti quali alcune tortore, lepri, roditori, ecc., la relazione tassonomica tra *Cowdria* e *Ehrlichia* e le possibili cross-reazioni fra questi due generi.

La sintomatologia clinica della cowdriosis è nota da lungo tempo, tuttavia resta da chiarire il significato delle forme miti e subacute della malattia, che secondo alcuni autori sarebbero presenti in bovini indigeni selvatici, in soggetti parzialmente immunizzati e in femmine molto giovani. Questi animali presentano febbre e diarrea ma guariscono in pochi giorni spontaneamente. Oltre che in Sud Africa e nell'isola di Guadalupe, la malattia è diffusa nelle isole di Antigua, Zanzibar, Comore e Mascarene.

La mortalità si registra soprattutto nel bestiame importato e nelle razze geneticamente selezionate mentre è rara nel bestiame indigeno.

Le lesioni anatomoistopatologiche più frequenti sono rappresentate da idropericardio, idrotorace, edema polmonare e grave enterite catarrale dell'intestino. A livello microscopico si osservano gruppi di rickettsie all'interno di cellule endoteliali.

Vi è anemia accompagnata da leucopenia ed eosinopenia. La patogenesi della cowdriosis presenta ancora molti punti oscuri. Ad esempio non si conosce il ruolo delle tossine né quello del complemento e delle amine vasoattive che si liberano nell'infiammazione.

Test sierologici si sono resi disponibili solo nell'ultimo decennio. E' stata messa a punto una immunofluorescenza indiretta, una ELISA competitiva e una ELISA indiretta. Sono state osservate cross-reazioni con alcune specie di *Ehrlichia* (*E. canis*, *E. ovina*, *E. bovis*).

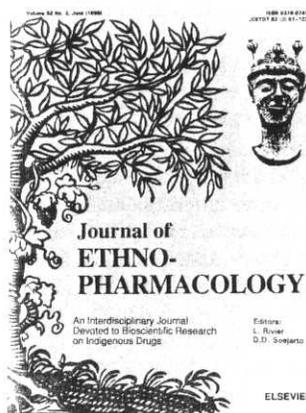
La diagnosi di cowdriosis *post mortem* è basata sul reperto di *Cowdria* nel cervello, di difficile attuazione per la labilità del microorganismo.

Per la terapia della malattia risultano molto attive le tetracicline a lento rilascio (doxyciclina) se somministrate in tempo. Purtroppo non è sempre difficile intervenire tempestivamente.

## recensioni, commenti e segnalazioni

La profilassi della cowdriosis consiste nel controllo dei vettori mediante acaricidi e nell'immunizzazione attiva degli animali con diverse modalità. La più antica e ancora usata consiste nel trattare gli animali con sangue di pecora infettata o con estratto di zecche infette. Tuttavia tale tecnica è da considerarsi superata. Si stanno mettendo a punto ceppi attenuati di *Cowdria* mediante passaggi su colture cellulari e molto recentemente è stata ottenuta una buona protezione in capre con corpi elementari di *Cowdria* inattivati. Sono allo studio vaccini analoghi anche per grossi animali.

Glauco Piccininno  
Istituto Superiore di Sanità  
Roma



**JOURNAL OF ETHNO-  
PHARMACOLOGY.**  
An interdisciplinary  
journal devoted to bio-  
scientific research on  
indigenous drugs.  
Elsevier Science,  
Ireland Ltd. Mensile.  
ISSN 0378-8741

Con l'occasione della recensione del Prof. Jervis sul libro "Principi di etnopsicoanalisi" (vedi *Ann. Ist. Super. Sanità*, vol. 32, n. 2 (1996), pag. 311-312) e di quella a firma del sottoscritto sul volume *Piante selvatiche velenose* (in questo fascicolo), faccio presente che è disponibile sul mercato internazionale la rivista *Journal of Ethno-pharmacology, an Interdisciplinary Journal devoted to bioscientific research on indigenous drugs*, pubblicata dalla nota casa editrice scientifica internazionale Elsevier che tratta dei temi quali le proprietà antimicrobiche del pepe cileno e del relativo uso nella medicina Maja, utilizzo della erboristeria tradizionale presso le popolazioni di lingua Anthapaskan nella Columbia Britannica, o delle piante medicinali utilizzate dagli Zulu e che funzionano come inibitori della sintesi di prostaglandine. Del comitato editoriale, oltre ai principali etno-farmacologi europei e statunitensi, faceva anche parte il Prof. Giovan Battista Marini-Bettòlo, già direttore dell'Istituto Superiore di Sanità e recentemente deceduto.

Enrico Alleva  
Istituto Superiore di Sanità  
Roma



**CORREGGERE  
IL CODICE.**  
Le nuove terapie geniche.  
Larry Thompson.  
Milano: Garzanti Editore,  
1996. 441 p.  
ISBN 88-11-59470-7.  
Lit 45.000.

La terapia genica rappresenta uno degli approcci più innovativi ed affascinanti della medicina moderna. Come è stato scritto su un muro di un laboratorio di ematologia molecolare del Centro clinico dei National Institutes of Health degli Stati Uniti, rappresenta "un piccolo passo per un gene ma è un progresso gigantesco per l'umanità". Lo sviluppo delle tecniche di biologia molecolare e in particolare di quelle d'ingegneria genetica hanno consentito di realizzare quello che fino ad alcuni anni addietro poteva essere considerato solo un sogno, cioè la possibilità di correggere o modificare l'espressione genica di una cellula a fini terapeutici.

*Correggere il codice* di Larry Thompson consente di ricostruire le tappe essenziali che hanno consentito alla ricerca biomedica di realizzare questo obiettivo fondamentale. E' bene tuttavia precisare che siamo solo agli inizi della terapia genica e che molti progressi devono essere ancora realizzati onde consentire l'applicazione della terapia genica a vari settori della ricerca biomedica. Va anche detto che la terapia genica somatica possiede un potenziale davvero considerevole, ma forse le aspettative formulate da alcuni ambienti scientifici e da alcuni settori dell'opinione pubblica sono eccessive rispetto allo sviluppo tecnologico attuale e alle possibilità di applicazione a breve termine con speranze concrete di successo terapeutico.

Il libro di Thompson ha il merito di raccontare la storia degli scienziati che hanno maggiormente contribuito allo sviluppo della terapia genica, partendo da quelli che hanno consentito lo sviluppo di conoscenze di base realizzate senza alcun fine pratico, per finire a quelli che hanno formulato il concetto della terapia genica ed hanno poi trovato la via per applicarlo. Il libro è centrato sul racconto delle varie conquiste che hanno permesso progressivamente di potere realizzare la terapia genica dell'immunodeficienza causata dal deficit dell'enzima adnina deaminasi (ADA). Tale scelta non è casuale in quanto questo rappresenta il primo esempio di applicazione della terapia genica nell'uomo a scopo clinico condotto sia negli Stati Uniti che in Italia ma anche perché intorno a questa prima applicazione è sorto un intenso dibattito scientifico sull'importanza, i limiti e il ruolo della terapia

genica nella ricerca biomedica attuale. Si è anche avvertita nella comunità scientifica l'assoluta necessità di regolamentare nei vari paesi le applicazioni possibili della terapia genica ed in tal senso è stata recepita da tutti i paesi l'indicazione a limitare la terapia genica alla sola terapia genica somatica, mettendo al bando la terapia genica sulla linea germinale.

Prima di addentrarsi in una breve analisi del racconto delle tappe essenziali dello sviluppo della terapia genica è bene definire alcuni concetti di base. La terapia genica si basa sul trasferimento di un gene a cellule umane; il trasferimento di geni implica che il gene da trasferire sia inserito in un vettore d'espressione che comprende sia il gene (o i geni) in questione che le sequenze geniche responsabili del controllo dell'espressione del gene stesso. Il trasferimento genico può essere effettuato *ex vivo* o *in vivo*: i) nella prima procedura il gene viene trasferito *in vitro* nelle cellule, successivamente, le cellule (in genere si tratta di cellule autologhe) modificate ("transdotte") vengono infuse nel paziente; ii) nella seconda procedura il trasferimento genico viene effettuato *in vivo* in quanto il vettore d'espressione genica è trasferito nelle cellule *in vivo*. La scelta della modalità di trasferimento genico (*ex vivo* o *in vivo*) da adottare in uno studio clinico sperimentale così come il tipo di vettore genico utilizzato sono in larga misura dipendenti dall'obiettivo clinico della terapia genica. Finora tre tipi diversi di vettori genici sono stati utilizzati: i) retrovirus; ii) adenovirus; iii) complessi plasmido-liposomici; tutti e tre questi differenti tipi di vettori consentono il trasferimento dell'informazione genetica e ciascuno di essi presenta vantaggi e inconvenienti [1]. I vettori retrovirali sono costruiti utilizzando retrovirus ricombinanti, deficienti nella capacità replicativa che sono in grado di trasferire in maniera stabile (l'informazione genetica contenuta nel retrovirus si integra in maniera stabile nel genoma della cellula ospite) l'informazione genetica in qualsiasi tipo di cellula; i vettori retrovirali infettano solo cellule in attiva proliferazione e sono stati utilizzati in studi clinici di terapia genica *ex vivo*. Il maggiore rischio legato all'impiego di questo tipo di vettore consiste nella cosiddetta "mutagenesi inserzionale", cioè l'induzione di eventi mutageni dovuti al sito d'inserzione del retrovirus nel genoma della cellula ospite.

I vettori a base di adenovirus sono privi dei geni E1A e E1B essenziali per la replicazione virale e penetrano nelle cellule quiescenti e proliferanti attraverso l'interazione con recettori specifici o con integrine di membrana e poiché possono essere prodotti fino a un titolo molto elevato trovano applicazioni potenzialmente utili negli studi clinici di trasferimento genico *in vivo*; l'informazione genetica trasferita tramite adenovirus rimane epicromosomica. Questo tipo di vettori presenta il vantaggio rispetto ai vettori retrovirali di non alterare in maniera stabile il fenotipo della cellula ospite e di non originare rischi di mutagenesi inserzionale, ma ha l'inconveniente d'indurre reazioni infiammatorie e immunologiche. E' evidente che questo tipo di vettore deve essere somministrato periodicamente al fine di mantenere un'espressione genica persistente nel tempo. I vettori adenovirali sono stati utilizzati solo in studi

clinici di terapia genica con trasferimento genico *in vivo*. Il terzo tipo di vettore, cioè quello basato su complessi plasmidico-liposomici, presenta parecchi vantaggi teorici rispetto agli altri due tipi di vettori, pur con il grosso inconveniente di una scarsa efficienza di trasformazione, richiedendo la presenza di un elevato numero di plasmidi per consentire il trasferimento del materiale genetico nella cellula. Questo tipo di vettore è stato utilizzato solo in studi di trasferimento genico *in vivo*. Infine, va segnalato che gli studi di terapia genica finora condotti sono stati realizzati con due finalità diverse che sono rappresentate da: i) marcatura genetica delle cellule allo scopo di poterne studiare il destino dopo inoculo *in vivo*; ii) correzione di difetti genetici presenti nelle cellule o induzione, o potenziamento dell'espressione di un gene in un tipo cellulare. Gli studi di cui al punto ii) sono quelli che rivestono maggiore interesse in quanto si prefiggono finalità prettamente terapeutiche.

Il libro di Thompson ci racconta come si è evoluto nel tempo questo bagaglio di conoscenze, partendo dagli esperimenti che hanno contribuito a mostrare come sono costituiti i geni delle cellule eucariotiche e come possono essere clonati e poi continuando il racconto su tutta quella complessa serie di studi rivolta allo sviluppo di metodologie che consentono di poter transfettare un gene clonato in una cellula ospite e ottenerne un certo grado d'espressione. Molti dei progressi realizzati in questo processo di conoscenze sono dovuti a ricercatori che hanno rivolto la loro attenzione allo studio dei meccanismi di base che regolano l'espressione dei geni, senza avere alcun interesse immediato per applicazioni pratiche derivanti da tali ricerche. Ma il ricercatore che meglio di altri ha saputo compendiare un interesse sia per gli studi di base che per le applicazioni pratiche derivanti dagli studi sull'espressione genica dopo transfezione è senz'altro French Anderson (Norris Cancer Center, University of Southern California, School of Medicine, Los Angeles, USA). La carriera di questo scienziato viene descritta in maniera appassionata nel libro di Thompson, ponendo particolare enfasi sulle difficoltà (sia scientifiche che politiche) che ogni volta egli ha dovuto affrontare fino ad ottenere l'approvazione definitiva da parte del Comitato consultivo sul DNA ricombinante (RAC) dei National Institutes of Health. In tal senso basti pensare che nel 1984 Anderson pubblicò sulla rivista *Science* [2] un articolo intitolato "Prospettive per una terapia genica umana" nel quale venivano descritti i vettori da utilizzare per ottenere il trasferimento genico in cellule eucariotiche di mammifero, dimostrando che i vettori retrovirali rappresentano in tale ambito la migliore metodologia disponibile e, grazie ad una serie di accorgimenti nella costruzione del vettore, si poteva anche ovviare al pericolo d'infezioni. In quest'articolo Anderson indicava pure con chiarezza che il candidato prioritario per studi pionieristici di terapia genica era rappresentato dalla sindrome d'immunodeficienza ereditaria causata da un deficit di enzima ADA (in questa malattia si accumula adenosina e 2'-deoniadenosina nei linfociti producendo effetti tossici su tali cellule e quindi determinando lo sviluppo di una grave sindrome da immunodeficienza, caratterizzata dall'insorgere di gravi infezioni) e questo per una serie di ragioni: i) la terapia genica

poteva essere realizzata su cellule del sangue (linfociti) e su cellule midollari, cioè su elementi cellulari facilmente ottenibili e transfettabili; inoltre, studi precedenti avevano indicato che il trapianto di midollo isto-compatibile da donatore sano in un bambino ADA<sup>-</sup> era in grado di fare regredire l'immunodeficienza; ii) anche l'ottenimento di livelli bassi di espressione dell'enzima ADA dopo trasfezione avrebbe potuto consentire una buona sopravvivenza dei linfociti transfettati e in particolare questi ultimi avrebbero dovuto avere un vantaggio selettivo rispetto a quelli ADA<sup>-</sup>: in pratica i linfociti dei pazienti transfettati con il gene ADA avrebbero dovuto avere un'emivita normale dopo inoculo *in vivo*, mentre i linfociti ADA<sup>-</sup> vanno incontro a morte precoce.

Ma ancora molti elementi mancavano ad Anderson per poter pensare di passare alla sperimentazione sull'uomo: "bisogna prima dimostrare in studi su animali che il nuovo gene può essere inserito nelle cellule bersaglio, e che in esse permane per un tempo sufficiente da esercitare i suoi effetti; che il nuovo gene viene espresso dalle cellule bersaglio a livelli appropriati; infine, che il nuovo gene non danneggia le cellule e, per estensione, l'animale" [2]. Nel periodo di tempo che va dal 1984 al 1990 Anderson, grazie ad un intuito scientifico non comune e a una serie di collaborazioni scientifiche ottimali riusciva a realizzare tutto ciò che gli mancava per poter proporre un primo esperimento di terapia genica: a) nel 1984 Kantoff, Gilboa e Anderson riuscirono a costruire un vettore retrovirale (SAX) contenente il gene ADA umano; b) nel 1985 Blease e Anderson riuscirono a stabilire numerose linee cellulari di T e B linfociti da bambini ADA<sup>-</sup> e nel 1986 Kohn e Blease riuscirono a ripristinare normali livelli di gene ADA in tali cellule dopo trasfezione con il vettore retrovirale di cui sopra (le cellule transfettate con il gene ADA erano in grado di sopravvivere quando veniva aggiunta adenosina nel terreno di coltura) [3]; c) nel 1985-1988 Blease, O'Reilly e Anderson realizzarono una serie di esperimenti di trasferimento del gene ADA umano su cellule di midollo di scimmia che venivano poi reinoculate *in vivo* nello stesso animale sottoposto ad una dose letale di radiazioni al fine di distruggere il midollo: tuttavia, questi esperimenti dimostrarono che il gene ADA viene trasferito nelle cellule di midollo di scimmia solo con un'efficienza molto bassa e questi bassi livelli tendevano poi a svanire dopo pochi mesi dal trapianto *in vivo* delle cellule midollari; d) nel 1987 Culver, Blaese e Anderson, viste le difficoltà di trasferire il gene ADA nelle cellule di midollo e in particolare nei progenitori emopoietici totipotenti, cioè in quelle cellule che assicurano lo sviluppo e il mantenimento di tutte le cellule del sangue, rivolsero la propria attenzione al trasferimento del gene ADA nei linfociti T: linfociti T di scimmia potevano essere transfettati con il gene ADA e conservavano dopo reinoculo *in vivo* per più di due anni livelli significativi di espressione del gene ADA; e) nel dicembre 1988 Culver, Blaese e Anderson ottennero l'approvazione da parte del Comitato consultivo sul DNA ricombinante di potere effettuare in collaborazione con Steven Rosenberg (National Cancer Institute, Bethesda, USA) il primo esperimento di terapia genica consistente nell'introdurre in linfociti T infiltranti il

tumore (TIL) di pazienti affetti da melanoma o carcinoma renale un gene di resistenza (neo) allo scopo di poter seguire *in vivo* il destino di queste cellule dopo reinoculo nei pazienti: questo esperimento non fu coronato da alcun particolare successo, ma aveva l'importanza di aprire la strada alla sperimentazione genica sull'uomo e mostrava anche che essa era ben tollerata e presentava rischi biologici ridotti al minimo; f) nel giugno 1990 Anderson e collaboratori ottennero dal Comitato consultivo sul DNA ricombinante l'approvazione per eseguire i primi esperimenti clinici di terapia genica in bambini affetti da immunodeficienza da deficit di ADA: su tale decisione favorevole giocò un ruolo importante una scoperta realizzata nel frattempo da un gruppo di ricercatori italiani guidati da C. Bordignon e F. Mavilio che dimostrarono che era possibile dotare i topi SCID di un sistema immunitario umano con deficit di ADA, e quindi correggerlo trasferendo il gene ADA nei linfociti [4]; g) alla fine del 1990 veniva realizzato il primo vero esperimento di terapia genica su un essere umano, consistente nell'inoculo di linfociti T autologhi transdotti con il gene ADA normale ad una bambina di 5 anni affetta da immunodeficienza da deficit di ADA. Citando alla lettera Thompson si può commentare l'evento dicendo che "si trattava di una vittoria sociale e culturale, oltre che tecnologica. La scienza aveva attraversato un confine teorico; la ricerca per la prima volta nella storia, aveva modificato il corredo genetico di un essere umano". Nel 1995 l'equipe di Anderson e Blaese riportava i risultati della terapia genica effettuata su due bambini affetti da immunodeficienza da deficit di ADA e basata su infusioni ripetute di linfociti T autologhi transdotti con il gene ADA [5]. I trattamenti di terapia genica sono stati effettuati durante i primi due anni e hanno avuto come effetto una progressiva normalizzazione del numero dei linfociti T circolanti e di vari test di reattività immunologica; a distanza di tre anni dalla fine della terapia genica venivano ancora riscontrati in circolo linfociti con il vettore genico integrato e con significativa espressione del gene ADA.

A distanza di alcuni mesi anche un'equipe di ricercatori italiani guidata da Bordignon e Mavilio riusciva nell'impresa di realizzare una correzione genetica del deficit di ADA [6]. Utilizzando il vettore SAX sviluppato da Gilboa, Bordignon aveva dimostrato che era possibile transfettare con buona efficienza il gene ADA nelle cellule di midollo osseo prelevate a partire da un paziente affetto da immunodeficienza da carenza di ADA [7]. L'approccio seguito da questi scienziati italiani era complementare e quindi originale rispetto a quello utilizzato dai loro colleghi americani: innanzitutto essi avevano realizzato due vettori retrovirali identici in tutto tranne per una piccola mutazione irrilevante da un punto di vista biologico e facilmente identificabile con un adeguato test di biologia molecolare; uno dei due vettori veniva utilizzato per trasferire il gene ADA nelle cellule del midollo osseo e l'altro per i linfociti e ovviamente le due popolazioni transdotte venivano contemporaneamente trasfuse nel paziente. Due bambini affetti da immunodeficienza da deficit di ADA sono stati trattati con questo protocollo di

terapia genica che ha prodotto un progressivo ripristino di una quasi normale immunità cellulare e umorale. L'analisi dell'espressione dei due vettori utilizzati per la terapia genica ha mostrato che dapprima sono entrati in azione i linfociti T transdotti e poi, a distanza di tempo, sono comparsi elementi cellulari (linfociti, granulociti e globuli rossi) prodotti verosimilmente a partire dalla frazione di cellule staminali midollari transdotte col gene ADA. Questa seconda osservazione fa ritenere che possa essere stata realizzata una correzione duratura nel tempo del deficit di ADA a livello delle cellule staminali totipotenti.

Dopo questo primo tentativo di terapia genica, che ci viene raccontato in maniera così dettagliata e appassionata da Thompson, molti altri studi di terapia genica sono stati approvati e sono in corso di realizzazione in vari paesi del mondo e la terapia genica è divenuta un settore della ricerca biomedica consolidato e in rapida espansione. Nello spazio di tempo intercorso fra questi primi studi di terapia genica al fine di correggere il deficit di ADA, la terapia genica ha conosciuto uno sviluppo prodigioso in tutto il mondo e studi di questo tipo sono stati proposti in disparati settori della medicina che vanno dalla cura delle malattie genetiche, alla terapia delle neoplasie maligne, dell'AIDS e delle malattie cardiovascolari. I vettori retrovirali sono oggi aumentati di numero e di efficienza e sono allo studio anche vettori di "ultima generazione" in grado di trasferire materiale genico in popolazioni cellulari quiescenti e non solo in quelle proliferanti come i vettori retrovirali precedenti [8]. Anche sul fronte dei vettori adenovirali ci sono interessanti novità, in quanto è stato possibile ottenere l'integrazione stabile del gene contenuto nel vettore adenovirale facendo ricorso a un vettore replicazione-defettivo che contiene il gene da trasferire sotto il controllo di un promotore nel quale viene integrato un segnale di localizzazione nucleare [9].

I possibili rischi biologici derivanti dall'integrazione del DNA estraneo contenuto nel vettore d'espressione genica nel DNA delle cellule somatiche sono stati ridimensionati, anche se solo l'analisi di gruppi sperimentali più ampi consentirà di avere una dimensione precisa di questo evento.

Infine, gli organismi di controllo degli studi di terapia genica istituiti nei vari paesi sono giunti alla conclusione che la terapia genica debba ormai essere annoverata fra le altre forme di terapia esistenti nella medicina e che nuovi studi sperimentali di terapia genica possano e debbano essere autorizzati qualora esistano le condizioni idonee, intendendo per tali cioè studi sperimentali adeguati sul vettore genico, sull'efficacia del trasferimento genico, sull'utilità del trasferimento genico a fini terapeutici, su modelli animali idonei alla valutazione dell'efficacia del modello di trasferimento genico. E forse, il merito principale del libro di Thompson consiste nell'averci fatto rivivere lo struggente dibattito che ha animato la comunità scientifica prima di arrivare ad autorizzare i primi studi di terapia genica. Alla fine però oggi ci sembra chiaro che la scienza abbia superato una nuova frontiera, e che l'uomo possa cercare di porre rimedio alla natura anche quando essa è difettosa nei suoi meccanismi più delicati, cioè nel patrimonio genetico.

#### BIBLIOGRAFIA

1. CRYSTAL, R.G. 1995. Transfer of genes to humans: early lessons and obstacles to success. *Science* **270**: 404-410.
2. ANDERSON, W.F. 1984. Prospects for human gene therapy. *Science* **266**: 401-409.
3. KANTOFF, P.W. *et al.* 1986. Correction of adenosine deaminase deficiency in human T and B cells using retroviral-mediated gene transfer. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **83**: 6563-6567.
4. FERRARI, G. *et al.* 1991. An *in vivo* model of somatic cell gene therapy for human severe combined immunodeficiency. *Science* **251**: 1363-1366.
5. BLAESE, R.M. *et al.* T lymphocyte-directed gene therapy for ADA<sup>-</sup> SCID: initial trial results after 4 years. *Science* **270**: 475-480.
6. BORDIGNON, C. *et al.* 1995. Gene therapy in peripheral blood lymphocytes and bone marrow for ADA<sup>-</sup> immunodeficient patients. *Science* **270**: 470-475.
7. BORDIGNON, C. *et al.* 1989. Retroviral vector-mediated high-efficiency expression of adenosine deaminase (ADA) in hemopoietic long-term cultures of ADA<sup>-</sup> deficient marrow cell. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **86**: 6748-6752.
8. NALDINI, L. *et al.* 1996. *In vivo* gene delivery and stable transduction of nondividing cells by a lentiviral vector. *Science* **272**: 263-267.
9. TSUKUI, T. *et al.* 1996. Transgenesis by adenovirus-mediated gene transfer into mouse zone-free eggs. *Nature Biotechnology* **14**: 982-985.

Ugo Testa  
Istituto Superiore di Sanità  
Roma



**ATTENZIONE.**  
Rivista WWF per  
l'ambiente e il territorio.  
Milano: Edizioni Ambiente.  
Trimestrale.  
n. 0 (ottobre 1995).

All'inizio del 1996, subito dopo l'uscita del "numero zero" (ottobre 1995), è ufficialmente nata *Attenzione*, la rivista trimestrale del "WWF Fondo Mondiale per la Natura" (Associazione Italiana per il World Wildlife Fund) per l'ambiente e il territorio.

Essa risponde alla necessità, che in forma sempre più crescente si è andata manifestando all'interno dell'Associazione negli ultimi anni, di pubblicare una rivista che affronti in modo

## recensioni, commenti e segnalazioni

ampio e articolato i problemi del territorio e dell'ambiente, illustrando nel contempo le attività da essa svolte così come le nuove riflessioni e proposte operative.

Nella sua ormai lunga attività a difesa dell'ambiente, l'Associazione ha sempre dovuto affrontare tematiche relative alla pianificazione territoriale, ai programmi urbanistici, ai modelli economici necessari per un adeguato sviluppo portando avanti importanti battaglie anche in campo legislativo. Un'attività di così grande importanza ed impegno deve poter coinvolgere anche il mondo politico, imprenditoriale e culturale; era pertanto necessario trovare in una rivista uno spazio editoriale idoneo nel quale poter attuare un confronto su tematiche di notevole importanza per tutto il paese.

Il nome della rivista non è stato scelto a caso: esso rispecchia l'attitudine del WWF ad affrontare le grandi e piccole tematiche ambientali con particolare cura e rispetto, manifestando una grande sensibilità ecologica e sociale. Le prime due lettere della testata "at" sono evidenziate per richiamare le parole "ambiente e territorio", che rappresentano i due argomenti ai quali la rivista intende dedicare particolare riguardo e impegno.

La rivista contiene di norma, nella prima parte, una serie di articoli su temi di particolare rilevanza, dai quali possono essere tratti spunti per ulteriori discussioni e approfondimenti; la rubrica "il punto" su argomenti presentati dalle delegazioni regionali del WWF; un "dossier", dedicato ad uno specifico

argomento per il quale è richiesto uno spazio editoriale maggiore, e collocato nelle pagine centrali della rivista con la possibilità di essere facilmente staccato da essa; ed altre rubriche più brevi, come quelle denominate "il territorio", "l'agricoltura", "stili di vita", "biologia della conservazione", "la scuola" (quest'ultima relativa all'attività di formazione svolta dalla scuola "A&T" del WWF), "energia e clima".

Da un'analisi del numero "zero" della rivista, gli articoli pubblicati sono tutti di estremo interesse. In particolare, tra essi, si cita quello relativo al dibattito, sempre aperto, tra ottimisti e catastrofisti con riferimento alle questioni ambientali; ed un altro che affronta lo scottante tema, di particolare attualità nel nostro paese, dell'attribuzione delle competenze istituzionali in tema d'ambiente.

Nella parte finale di *Attenzione* è inoltre pubblicata *Verde lex*, già rivista dall'aprile 1991, a cura dell'Ufficio legale del WWF Italia. Pur mantenendo le sue caratteristiche e i suoi contenuti, che ne hanno fatto, fin dalla sua prima apparizione, un valido strumento di aggiornamento legislativo e giurisprudenziale in materia ambientale, *Verde lex* trova ora una nuova collocazione editoriale, che potrà permetterle di diventare uno strumento di lavoro e di conoscenza ancora più ampio e vario.

Anna Maria Rossi Mazza  
Istituto Superiore di Sanità  
Roma