

MEDIC

Metodologia Didattica e Innovazione Clinica – *Nuova Serie*
Methodology & Education for Clinical Innovation – New Series

Pubblicazione Quadrimestrale Internazionale
An International Four-monthly Publication

ISSN 1824-3991

Numero Speciale • Dicembre 2007/Aprile 2008
Special Issue • December 2007/April 2008

11. INVITO ALLA LETTURA
AN INVITATION TO READ

13. EDITORIALE
EDITORIAL

QUADERNO
NUOVE FRONTIERE DELLA RICERCA BIOMEDICA
RESEARCH HIGHLIGHTS IN BIOMEDICAL RESEARCH

CARDIOLOGY

15. Research Highlights on the Role of Statins in Invasive Cardiology
Recenti Traguardi sul Ruolo delle Statine nella Cardiologia Interventistica
ANNUNZIATA NUSCA, ROSETTA MELFI, G DI SCIASCIO

DIABETOLOGY

23. Highlights in Diabetologia 2007
Ultimi Aggiornamenti in Diabetologia 2007
P POZZILLI, CHIARA MORETTI

HAEMATOLOGY

27. Research Highlights on Molecular Targeted Therapies in Haematology. Part I: Compounds Targeting Chromosomal Translocation Products or Signalling Pathways
Ultimi Aggiornamenti sulla Ricerca In Terapie Molecolari in Ematologia. Parte 1°: Composti Sviluppate per Colpire Prodotti di Traslocazioni Cromosomiche o Vie di Trasduzione del Segnale
OM OLIMPIERI, VALENTINA SUMMA, G AVVISATI

NEUROIMAGING

41. Research Highlights in Neuroimaging
Ultimi Aggiornamenti sulla Ricerca in Neuroimaging
JM MELGARI, PM ROSSINI

OPHTHALMOLOGY

51. Research Highlights on Nerve Growth Factor Effects on Ocular Diseases
Ultimi Aggiornamenti della Ricerca sugli Effetti del "Nerve Growth Factor" nelle Patologie Oculari
A LAMBIASE, S BONINI

Segue in IV di copertina
Cont'd on the outside back cover





La rivista MEDIC *New Series*, Metodologia Didattica ed Innovazione Clinica si caratterizza per un approccio globale e unitario ai temi della Salute e della Formazione Bio-Medica. Essa intende proporsi come uno spazio di dialogo tra le cosiddette *due culture*, quella scientifica e quella umanistica, nello sforzo di offrire spunti di riflessione e di confronto alla luce di un neo-umanesimo medico che ha nella persona il suo punto di coesione e di equilibrio. Si tratta di una rivista scientifica multidisciplinare, che ospita revisioni della letteratura e lavori originali, nonché editoriali, lettere all'editore su argomenti di particolare interesse e recensioni di libri.

La rivista si propone di fornire un'occasione di confronto sul piano internazionale attraverso la pubblicazione di contributi attinenti alle seguenti sezioni: *Metodologia, Epidemiologia, Clinica e Ricerca di Base, Educazione Medica, Filosofia della Scienza, Sociologia della Salute ed Economia Sanitaria, Ingegneria Bio-Medica, Etica ed Antropologia, Storia della Medicina*.

Uno degli obiettivi prioritari della rivista è aprire un dibattito sui temi di maggiore rilievo scientifico in ambito bio-medico, affrontandoli sotto diverse angolature attraverso i contributi dei vari autori. MEDIC *New Series* vuole in tal modo offrire agli studiosi che si confrontano con le grandi questioni della salute e della malattia, della vita e della morte, del dolore e della sofferenza, uno scambio fecondo con colleghi di altre discipline, perché si giunga a una composizione del tema più ampia di quella consentita dall'esclusiva ottica della propria specialità.

Il dialogo tra le Scienze, per essere efficace e fruttuoso, deve essere prima di tutto un dialogo tra scienziati, capaci di analizzare la realtà anche con linguaggi diversi, per comprenderne aspetti che altrimenti resterebbero sottintesi o non sufficientemente elaborati e strutturati.

Ciascun manoscritto sottoposto per la pubblicazione verrà selezionato dai membri del Comitato Editoriale, in base alla tipologia di manoscritto e all'argomento contenuto, e sarà inviato dal responsabile della sezione specifica a due *referee* esperti che formuleranno un giudizio motivato. La decisione finale sull'accettazione del manoscritto verrà presa dal Comitato Editoriale, dopo aver conosciuto i pareri dei *referee*.

The scientific journal MEDIC New Series, Methodology & Education for Clinical Innovation distinguishes itself for its global and harmonious approach to Healthcare and Biomedical education issues. It wishes to foster the dialogue between the so called two cultures, the scientific and the humanistic one, in its effort to offer occasions of reflection and of confrontation in the light of a medical neohumanism which sees in the human being its point of cohesion and balance. It is a multidisciplinary scientific journal publishing literature reviews, original papers, editorials, letters to the Editor on topics of special interest as well as book reviews.

The journal intends to set up a space of comparison at an international level through the publication of papers relevant to the following sections: Methodology, Epidemiology, Clinical Medicine and Basic Research, Medical Education, Philosophy of Science, Health Sociology and Health Economics, Biomedical Engineering, Ethics and Anthropology, Medical History.

The journal's most important objectives is that of opening a debate on subject-matters of great scientific importance in biomedicine, tackling them from different view points through the contribution of various authors. Thus MEDIC New Series wishes to offer to scholars dealing with important issues such as health and sickness, life and death, pain and suffering, the opportunity of having a debate with colleagues of other disciplines so to make such discussion wider than it would be possible from the view point of a single specialty.

To make the dialogue among Sciences effective and fruitful, first of all it has to be a dialogue among scientists capable of analysing reality by using different languages, so to understand aspects that otherwise would be left unsaid or not sufficiently studied and explained.

Each manuscript submitted to publication will be selected by the members of the Editorial Board, on the basis of its typology and on its topic. It will be then sent by the responsible of the specific section to two expert referees who will express a motivated judgement. The final decision on the manuscript acceptance will be taken by the Editorial Board after having read the referees' opinion.

Editor

Paolo Arullani, Roma

Associate Editors

Paola Binetti, Roma
 Michelangelo Pelaez, Roma
 Daniele Santini, Roma
 Albertina Torsoli, Parigi

Editorial Board

Maria Grazia Albano, Foggia
 Luciana Angeletti, Roma
 Dario Antiseri, Roma
 Massimo Baldini, Roma

Renzo Caprilli, Roma
 Lucio Capurso, Roma
 Michele Cicala, Roma
 Saverio Cristina, Roma
 Francesco D'Agostino, Roma
 Paolo Dario, Pisa
 Ferdinando di Orio, L'Aquila
 Pier Paolo Donati, Bologna
 Antonio Farulla, Roma
 Giovanni Federspil, Padova
 Luigi Frati, Roma
 Luigi Frudà, Roma
 Giuseppe Galli, Macerata

Enzo Grossi, Milano
 Renato Lauro, Roma
 Alessandro Liberati, Milano
 Luigi Marrelli, Roma
 Alessandro Martin, Padova
 Piero Micossi, Milano
 Almerico Novarini, Parma
 John Osborn, Roma
 Felice Petraglia, Siena
 Paolo Maria Rossini, Roma
 Cesare Scandellari, Padova
 Victor Tambone, Roma
 Luciano Vettore, Verona

Scientific Secretariat

Maria Teresa Russo, Roma
 Maria Dora Morgante, Roma

Scientific Coordinator

Ferdinando Dianzani, Roma

GRUPPO DI PRODUZIONE EDITORIALE/PUBLISHING STAFF

© CMP editore

I diritti di traduzione, di memorizzazione elettronica, di riproduzione e di adattamento totale o parziale con qualsiasi mezzo (compresi i microfilm e le copie fotostatiche) sono riservati per tutti i Paesi. La violazione di tali diritti è perseguibile a norma di legge per quanto previsto dal Codice Penale.

Direttore responsabile/Manager Michelangelo Pelaez Velasco; Produzione/Production Laura Caracciolo; Pubblicità/Advertising Francesca Usai; Abbonamenti/Subscription Elena Lieto; Stampa/Printed by Istituto Arti Grafiche Mengarelli, Roma

ABBONAMENTI E PUBBLICITÀ/SUBSCRIPTIONS & ADVERTISING

Abbonamenti per l'Anno 2008

Italia: privati, € 55; Istituti, Enti, Biblioteche, Ospedali, USL, € 95; Studenti, € 42.
Estero: € 109, \$ USA 117.

L'abbonamento decorre dal gennaio al dicembre. In caso di disdetta dell'abbandono è gradita una tempestiva comunicazione scritta. Per i fascicoli eventualmente non ricevuti l'abbonato potrà fare richiesta all'Editore. Se la richiesta sarà tempestiva, il fascicolo duplicato sarà fornito gratuitamente; altrimenti verrà addebitato in contro-assegno (prezzo del fascicolo separato più spese postali).

Pagamento: per abbonamenti arretrati e fascicoli arretrati sono validi i prezzi dell'anno corrente. Le richieste ed i versamenti debbono essere effettuati a: Critical Medicine Publishing srl - Ufficio Abbonamenti - Via G. Squarcina, 3 - 00143 Roma. Tel. 06.519511 r.a. - Fax 06. 5033071. Se si desidera la fattura, si dovrà farne richiesta al momento dell'ordine di abbonamento. Questo sarà attivato dopo il saldo della fattura. Si può richiedere una ricevuta-quietanza all'atto della sottoscrizione e del saldo dell'abbonamento allegando l'importo di € 5 per bollo e spese. Non saranno evase richieste di ricevute o fatture successive al momento dell'ordinativo. L'IVA è compresa nel prezzo di abbonamento (art. 74/C DPR 633/72).

L'Editore garantisce la massima riservatezza dei dati forniti dagli abbonati e la possibilità di richiederne gratuitamente la rettifica o la cancellazione scrivendo a: Critical Medicine Publishing srl - Ufficio Abbonamenti - Via G. Squarcina, 3 - 00143 Roma. Le informazioni custodite nell'archivio elettronico dell'Editore verranno utilizzate al solo scopo di inviare agli abbonati vantaggiose proposte commerciali (D.lgs. 196/03 tutela dati personali).

Inserzioni pubblicitarie

Le richieste vanno indirizzate a: Critical Medicine Publishing srl - Produzione - Via G. Squarcina, 3 - 00143 Roma. Tel. 06.519511 r.a. - Fax 06.5033071. - E-mail: info@cmpedizioni.it - www.cmpedizioni.it

Subscriptions for 2008

Italy: Individual, € 55. Institutions, Libraries, Hospitals, USL, € 95. Students, € 42.
All other countries: € 109, \$ USA 117.

Subscriptions are effective from January to December. Change of address notification must be received at least one month before publication of the next issue. A subscription cancellation must be notified to the publisher in advance. In the event that an issue is not received, please notify the publisher; if the request is timely, the duplicate issue will be provided free; otherwise the issue and the postal charges must be paid.

Payment: current prices are in effect for back subscriptions and back issue. Subscription request and payment should be sent to: Critical Medicine Publishing srl - Ufficio Abbonamenti - Via G. Squarcina, 3 - 00143 Roma. Tel. 06.519511 r.a. - Fax 06.5033071. Invoiced must be requested with the subscription order. Subscription will begin after payment has been received. If you would like a receipt for payment, please enclose an additional US \$ 5.0. Receipts for payment and invoiced requested after the subscription order cannot be fulfilled. The price of subscription is inclusive of VAT (item 74/C DPR 633/72).

Advertising

Advertising should be sent to: Critical Medicine Publishing srl - Produzione - Via G. Squarcina, 3 - 00143 Roma. Tel. 06.519511 r.a. - Fax 06.5033071 - E-mail: info@cmpedizioni.it - www.cmpedizioni.it

Proctite ulcerosa

PROCTASACOL[®]

MESALAZINA

**La nostra efficacia
ha una nuova forma**

500mg

GEL RETTALE



PROCTASACOL[®]
**nato
per dare
risultati**



Titolare AIC Giuliani S.p.A.
Concessionario esclusivo per la vendita
in Italia Bracco S.p.A.

GIULIANI

PROCTASACOL[®]

MESALAZINA

Riassunto delle caratteristiche del prodotto

1. DENOMINAZIONE DELLA SPECIALITÀ MEDICINALE. PROCTASACOL 500 mg gel rettale.

2. COMPOSIZIONE QUALITATIVA E QUANTITATIVA. Un contenitore monodose contiene: *Principio attivo:* acido 5-aminosalicilico (mesalazina) 500 mg. Per gli eccipienti v. par. 6.1.

3. FORMA FARMACEUTICA. Gel rettale. **4. INFORMAZIONI CLINICHE.** **4.1 Indicazioni terapeutiche.** Proctiti ulcerose, morbo di Crohn, flogosi idiopatiche intestinali acute e croniche a localizzazione anorettale e perianale. Trattamento delle fasi attive e prevenzione delle recidive. Nella fase attiva di grado severo è consigliabile l'associazione con trattamento cortisonico.

4.2 Posologia e modo di somministrazione. Nella fase attiva della malattia, la dose media giornaliera per adulti è di 1,5 g di mesalazina, pari a 3 contenitori monodose di gel, salvo diverso giudizio del medico. Il prodotto va applicato con alvo libero da feci. Per bambini sopra i due anni di età le dosi sono proporzionalmente ridotte, secondo prescrizione medica. La durata del trattamento, nella fase attiva, è di 4-6 settimane. Durante la remissione, che richiede una cura di mantenimento di lunga durata per prevenire le recidive, la frequenza ed il dosaggio saranno determinati dal medico.

4.3 Controindicazioni. Ipersensibilità verso i componenti o altre sostanze strettamente correlate dal punto di vista chimico; in particolare verso i salicilati. Pazienti con insufficienza renale conclamata. Nefropatie gravi. Preesistenti ulcere gastriche o duodenali. Il prodotto non va somministrato a pazienti con diatesi emorragica. Bambini di età inferiore ai due anni. Generalmente controindicato in gravidanza; controindicato nelle ultime settimane di gestazione e durante l'allattamento (vedere par. 4.6).

4.4 Speciali avvertenze e precauzioni per l'uso. Recidive della sintomatologia obiettiva e soggettiva possono verificarsi sia dopo la sospensione del trattamento che durante un trattamento di mantenimento inadeguato. Nei pazienti con ridotta funzionalità renale ed epatica, il prodotto va usato con cautela per le sue caratteristiche cinetiche e metaboliche. La funzione renale deve essere scrupolosamente monitorizzata nel corso del trattamento, specialmente nei pazienti con precedenti patologie renali. Se ne eviterà invece l'uso in quelli con conclamata insufficienza renale. Prima di iniziare il trattamento, il paziente deve essere sottoposto alle indagini cliniche necessarie per precisare la diagnosi e le indicazioni terapeutiche. Nei pazienti in trattamento con ipoglicemizzanti orali, diuretici, cumarinici e corticosteroidi il prodotto va usato con cautela. In pediatria il farmaco va somministrato solo in caso di effettiva necessità e sotto controllo medico. L'uso prolungato del prodotto può dare origine a fenomeni di sensibilizzazione. L'eventuale comparsa di reazioni di ipersensibilità comporta l'immediata interruzione del trattamento. Nelle fasi attive di grado severo, può essere consigliabile associare un trattamento cortisonico per via sistemica. Il prodotto contiene para-idrossi-benzoati che possono causare reazioni allergiche generalmente di tipo ritardato.

4.5 Interazioni con altri medicinali e altre forme di interazione. Può essere potenziato l'effetto ipoglicemizzante delle solfaniluree. Non si possono escludere interazioni con cumarinici, metotressato, probenecid, sulfonpirazone, spironolattone, furosemide, e rifampicina. È possibile il potenziamento di effetti indesiderati dei corticosteroidi a livello gastrico.

4.6 Gravidanza ed allattamento. In caso di gravidanza accertata o presunta, somministrare solo in caso di effettiva necessità e sotto stretto controllo medico. Comunque l'uso del prodotto andrà evitato nelle ultime settimane di gravidanza e durante l'allattamento.

4.7 Effetti sulla capacità di guidare e di usare macchinari. Il farmaco non riduce la concentrazione né provoca sonnolenza nei pazienti in trattamento.

4.8 Effetti indesiderati. Sono stati segnalati disturbi gastrointestinali (nausea, epigastralgia, diarrea e dolori addominali) e cefalea.

Il prodotto può essere raramente associato ad una sindrome da intolleranza acuta, caratterizzata da crampi, dolore addominale, diarrea ematica e, occasionalmente, febbre, cefalea, prurito ed eruzioni cutanee, che richiede la sospensione del trattamento. Esistono inoltre segnalazioni di leucopenia, neutropenia, trombocitopenia, pancreatite, epatite, nefrite interstiziale, sindrome nefrosica e insufficienza renale. Raramente possono verificarsi reazioni di ipersensibilità (ad esempio reazioni cutanee, febbre); in tal caso occorre interrompere immediatamente il trattamento. **4.9 Sovradosaggio.** Non sono ipotizzabili casi di sovradosaggio a seguito della somministrazione rettale. **5 PROPRIETÀ FARMACOLOGICHE. Proprietà farmacodinamiche. Antinfiammatori non steroidei intestinali.** L'acido 5-aminosalicilico (5-ASA o mesalazina), principio attivo di PROCTASACOL, è la frazione attiva della salicilazosulfapiridina, farmaco di impiego consolidato in queste forme cliniche. Il 5-ASA è dotato di un effetto antinfiammatorio topico sui tratti della mucosa intestinale interessati dalle lesioni. La sua presenza nel lume intestinale inibisce la biosintesi dei derivati dell'acido arachidonico (prostaglandina E2, leucotrieni) i cui livelli nella mucosa rettale di soggetti con colite ulcerosa in fase di riacutizzazione risultano elevati rispetto alla norma. La mancanza della frazione sulfapiridinica, cui sono attribuiti gli effetti indesiderati della salicilazosulfapiridina, spiega come il 5-ASA possa essere più tollerato rispetto alla salicilazosulfapiridina. Il 5-ASA contenuto nelle compresse viene rilasciato a livello dell'ileo terminale e del colon, assicurando l'effetto antinfiammatorio topico sulle lesioni localizzate lungo tale tratto. La forma farmaceutica clismi determina un pronto ed efficace effetto locale antinfiammatorio sulle lesioni localizzate lungo il tratto terminale dell'intestino. **5.2 Proprietà farmacocinetiche.** La forma farmaceutica compresse rivestite ha la caratteristica di disintegrare il rivestimento a pH superiore a 6: questa caratteristica consente alla compressa di attraversare intatta lo stomaco e di rendere disponibile il principio attivo in corrispondenza dell'ileo terminale e del colon dove esplica la sua azione a livello topico. L'assorbimento del 5-ASA è di modesta entità: la sostanza viene quasi totalmente eliminata con le feci. Il 5-ASA somministrato in clismi per via rettale presenta un assorbimento sistemico molto scarso ed esplica la sua azione a livello locale. **5.3 Dati preclinici di sicurezza.** Le DL₅₀ dopo somministrazione orale risultano: topo maschio = 1287 mg/Kg; ratto maschio = 4496 mg/Kg; topo femmina = 1052 mg/Kg; ratto femmina = 2071 mg/Kg. Le DL₅₀ dopo somministrazione endovenosa risultano: topo >3000 mg/Kg; ratto >2000 mg/Kg. Ben tollerati risultano i seguenti trattamenti cronici per via orale: ratto alla dose di 200 mg/Kg/die; cane alla dose di 120 mg/Kg/die. Il 5-ASA non presenta attività mutagena. **6. INFORMAZIONI FARMACEUTICHE. 6.1 Lista degli eccipienti.** Glicerina, trietanolanmina, carbossipolimetilene, metile p-idrossibenzoato, propile p-idrossibenzoato, acqua depurata. **6.2 Incompatibilità.** Nessuna. **6.3 Validità.** 2 anni. **6.4 Speciali precauzioni per la conservazione.** Evitare la diretta esposizione alla luce ed a fonti di calore. **Natura e capacità del contenitore.** Contenitore monodose "a soffiutto" in polietilene a bassa densità, con tappo-cannula per somministrazione rettale munito di copricannula (sigillo di garanzia) in polietilene a bassa densità. Confezione da 20 contenitori monodose da 500 mg. **6.6 Istruzioni per l'uso.** Per l'applicazione, seguire le seguenti istruzioni: 1- Liberare la cannula rettale dal copricannula (sigillo di garanzia). 2- Introdurre nell'ano la cannula per tutta la sua lunghezza. 3- Mantenendo il contenitore a soffiutto con due dita sopra la prima aletta, premere sul fondo del flacone per far defluire il gel. Spalmare intorno all'area perianale. **7. TITOLARE DELL'AUTORIZZAZIONE ALL'IMMISSIONE IN COMMERCIO.** GIULIANI S.p.A. via Palagi 2, 20129 Milano. **8. NUMERO DELL'AUTORIZZAZIONE ALL'IMMISSIONE IN COMMERCIO.** PROCTASACOL 500 mg gel rettale - 20 contenitori monodose AIC n. 035509013. **9. DATA DI PRIMA AUTORIZZAZIONE / RINNOVO DELL'AUTORIZZAZIONE.** 16/09/2004. **10. DATA DI REVISIONE DEL TESTO.** Luglio 2006.



LIFE FROM INSIDE

Titolare AIC Giuliani S.p.A.
Concessionario esclusivo per la vendita in Italia Bracco S.p.A.



Antrolin[®]
nifedipina+lidocaina



Mis. S.p.A. in data 13 ottobre 2004.

**La soluzione
con una marcia in più**



Il primo trattamento etiologico delle patologie proctologiche.
PRESCRIBILE CLASSE C

ANTROLIN[®]
ATC: C05AX
NIFEDIPINA 0,3% + LIDOCAINA 1,5%



Antrolin®

C05AX
nifedipina+lidocaina

Riassunto delle caratteristiche del prodotto

1. DENOMINAZIONE DEL MEDICINALE: ANTROLIN 0.3% + 1.5% crema rettale. **2. COMPOSIZIONE QUALITATIVA E QUANTITATIVA;** 100 g di crema contengono: Principi attivi: Nifedipina, 0.3 g, Lidocaina cloridrato, 1.5 g. Per gli eccipienti vedere 6.1. **3. FORMA FARMACEUTICA:** crema rettale. **4. INFORMAZIONI CLINICHE.** **4.1 Indicazioni terapeutiche:** trattamento della ragade anale e proctalgie in genere associate ad ipertono sfinterico anale. **4.2 Dose, modo e tempo di somministrazione:** per applicazioni endorettali e perianali. Applicare la crema 2 volte al giorno per almeno tre settimane (vedere la Sezione 4.6). **4.3 Controindicazioni:** ipersensibilità ai principi attivi ed in particolare verso la lidocaina (e gli altri anestetici locali ad analogo struttura di tipo amidico) o ad uno qualsiasi degli eccipienti. Gravidanza, accertata o presunta, ed allattamento (vedere la Sezione 4.6). Gravi stati ipotensivi e di insufficienza tipica del medicinale in dosi eccessive e/o per prolungati periodi di tempo può dare origine a fenomeni di sensibilizzazione e reazioni locali di ipertemia e sanguinamento, che comportano alla sospensione del trattamento. Nel corso della sperimentazione clinica non sono stati riportati effetti indesiderati conseguenti ad un possibile assorbimento sistemico del farmaco. ANTROLIN crema rettale deve comunque essere usata con estrema cautela nei pazienti che abbiano mucose gravemente danneggiate e flogose nella regione da trattare, in quanto, in tali situazioni si potrebbe verificare un eccessivo assorbimento dei principi attivi. Il medicinale, inoltre, deve essere impiegato con cautela nei pazienti diabetici o in quelli con grave insufficienza epatica e/o renale. Il trattamento con ANTROLIN crema rettale deve essere effettuato sotto controllo del medico nei pazienti molto anziani, come pure in quelli di età inferiore ai 18 anni e nei pazienti in trattamento con farmaci beta-bloccanti o antipertensivi. Si consiglia di controllare la pressione arteriosa all'inizio e periodicamente durante il trattamento. In caso di insuccesso della terapia (assenza di miglioramento o peggioramento della sintomatologia), è necessario sospendere il trattamento e consultare il Medico per altri provvedimenti. **Attenzione:** ANTROLIN crema rettale contiene metile p-idrossibenzoato sodico e propile p-idrossibenzoato che possono causare reazioni allergiche, anche ritardate. Inoltre, ANTROLIN crema rettale contiene glicole propilenico e alcool cetostearylco che possono causare reazioni locali della cute (ad esempio dermatite da contatto). **TENERE IL MEDICINALE FUORI DALLA PORTATA E DALLA VISTA DEI BAMBINI.** **4.5 Interazioni con altri medicinali:** per la presenza della nifedipina, l'effetto di farmaci antipertensivi potrebbe essere potenziato dall'uso di ANTROLIN crema rettale. Il propranololo prolunga l'emivita plasmatica della lidocaina e aumenta i livelli plasmatici della nifedipina. La cimetidina può innalzare i livelli plasmatici della lidocaina e della nifedipina. La contemporanea somministrazione di ANTROLIN crema rettale in pazienti in trattamento con digossina può determinare un aumento dei livelli plasmatici di digossina. **4.6 Gravidanza e allattamento:** la nifedipina e la lidocaina attraversano la barriera placentare e vengono escrete nel latte materno. Negli studi condotti su ratti e conigli la nifedipina si è dimostrata in grado di provocare effetti teratogeni. La lidocaina non ha messo in evidenza rischi per il feto. Si raccomanda, comunque, di non utilizzare il prodotto nelle donne in gravidanza ed in allattamento. **4.7 Effetti sulla capacità di guidare e di usare macchinari:** la nifedipina, se assunta per via orale contemporaneamente a bevande alcoliche, può ridurre la capacità di reazione. Nel caso di ANTROLIN crema rettale, il prodotto è destinato ad essere somministrato e ad agire localmente. Non sono prevedibili, pertanto, effetti che possano condizionare la capacità di guidare o di usare macchinari. **4.8 Effetti indesiderati:** possono verificarsi localmente reazioni quali dolore, bruciore, prurito, ipertemia e sanguinamento. Tali effetti regrediscono dopo la sospensione del trattamento. In casi molto rari, l'applicazione locale di preparati a base di lidocaina ha causato reazioni allergiche (nei casi più gravi, shock anafilattico). Durante la fase di sperimentazione clinica non sono stati evidenziati effetti indesiderati dovuti ad un possibile assorbimento sistemico dei due principi attivi (cefalea, vertigini, vasodilatazione periferica, ipotensione, capogiri e tremori). **4.9 Sovradosaggio:** non sono stati segnalati casi di tossicità sistemica da sovradosaggio con ANTROLIN crema rettale. Nell'eventualità di intossicazione dopo applicazione topica del prodotto, gli effetti sistemici dovrebbero essere analoghi a quelli solitamente indotti dai

principi attivi con altre vie di somministrazione. Nel caso di grave intossicazione da nifedipina si possono manifestare disturbi della coscienza fino al coma, calo della pressione arteriosa, alterazione del ritmo cardiaco e shock cardiogeno. Per quanto riguarda il trattamento possono essere utilizzati farmaci beta-simpaticomimetici per i disturbi bradicardici del ritmo cardiaco e, in caso di grave ipotensione, calcio gluconato (10-20 ml di soluzione al 10% lentamente per via endovenosa) ed eventualmente dopamina o noradrenalina. Gran parte delle reazioni tossiche agli anestetici locali ed alla lidocaina interessano il SNC; si avverte una sensazione di "testa leggera" e capogiri, seguiti spesso da disturbi visivi ed uditivi, quali difficoltà di accomodazione e tinnito. Nei casi più gravi possono manifestarsi depressione del SNC e convulsioni. Il trattamento è sintomatico. **5. PROPRIETÀ FARMACOLOGICHE.** **5.1 Proprietà farmacodinamiche:** Gruppo farmacoterapeutico: codice ATC C05AX - Altri antipertensivi per uso topico. Il meccanismo d'azione di ANTROLIN è di tipo sinergico. La nifedipina, una diidropiridina ad azione calcio-antagonista, esplica, se impiegata localmente, un'azione rilassante sulla muscolatura liscia periferica. Essa agisce riducendo l'ipertono del muscolo sfinterico anale interno. L'azione della nifedipina viene integrata nel prodotto dalla presenza della lidocaina, un anestetico locale di superficie. **5.2 Proprietà farmacocinetiche:** le proprietà farmacocinetiche di ANTROLIN crema rettale sono state studiate su volontari sani. La determinazione dei principi attivi nel sangue, effettuata con metodo analitico convalidato, ha dato esito negativo, non essendo stata rilevata in nessun siero la presenza di nifedipina. Inoltre, solo tracce minime di lidocaina sono state riscontrate in 2 soggetti su 12. Queste bassissime concentrazioni (al di sotto dei limiti di quantizzazione della metodica) sono in ogni caso molto inferiori a quelle terapeuticamente efficaci riscontrabili dopo somministrazione sistemica. Pertanto, è ragionevole escludere che l'applicazione locale di Antralin possa provocare la comparsa di effetti sistemici conseguenti all'assorbimento dei suoi principi attivi. Ad ulteriore conferma di ciò, durante gli studi clinici non sono stati evidenziati effetti indesiderati conseguenti all'assorbimento sistemico dei due principi attivi da parte della mucosa anorettale. **5.3 Dati preclinici di sicurezza:** uno studio di tossicità acuta, eseguito sul ratto, non ha rilevato effetti tossici o letali fino alla somministrazione di 50 volte la dose terapeutica singola. Le prove di tossicità subacuta hanno dimostrato che ANTROLIN crema rettale non modifica in modo significativo i parametri ematocritici degli animali trattati ed è ben tollerata. In uno studio sul potenziale irritante del medicinale, condotto sul coniglio, Antralin è stato classificato come "non irritante". **6. INFORMAZIONI FARMACEUTICHE.** **6.1 Elenco degli eccipienti:** Vaseline bianca; glicole propilenico; gliceroli semisintetici liquidi; polietilenglicole stearato; alcool cetostearylco; glicerilmonostearato; metile p-idrossibenzoato sodico; propile p-idrossibenzoato; acqua depurata. **6.2 Incompatibilità:** poiché non sono stati condotti studi di compatibilità, il medicinale non deve essere miscelato con altri prodotti. **6.3 Periodo di validità:** Confezionamento integro: 3 anni. Dopo prima apertura: 30 giorni. **6.4 Speciali precauzioni per la conservazione:** Conservare in confezione ben chiusa, a temperatura non superiore a 25°C. **6.5 Natura e contenuto del contenitore:** tubo in alluminio da 30 g di crema con cannula, in astuccio di cartone. **6.6 Istruzioni per l'impiego e la manipolazione:** sdraiarsi sul letto sul fianco sinistro, svitare il tappo dal tubetto ed avvitare la cannula, fare uscire una piccola quantità di crema per lubrificare la cannula ed inserirla nell'ano. Premere l'estremità del tubetto, far uscire la crema contenuta in circa un centimetro di tubetto (un centimetro del tubetto contiene circa 2.5 - 3 g di crema). **7. TITOLARE DELL'AUTORIZZAZIONE ALL'IMMISSIONE IN COMMERCIO:** NewFaDem s.r.l. Farmaceutici e chimici con sede legale ed officina di produzione in Viale Ferrovie dello Stato zona A.S.I. Giugliano in Campania NA. Concessionario esclusivo per la vendita in Italia: Bracco S.p.A. - Via Egidio Follì, 50 - Milano. **8. NUMERO DELL'AUTORIZZAZIONE ALL'IMMISSIONE IN COMMERCIO:** (A.I.C.): 35396011. **9. REGIME DI DISPENSAZIONE AL PUBBLICO:** Da vendersi dietro presentazione di ricetta medica. **10. TABELLA DI APPARTENENZA DPR 309/90:** Non pertinente. **11. DATA DI PRIMA AUTORIZZAZIONE:** Aprile 2004. **12. DATA DI REVISIONE DEL TESTO:** Aprile 2004.

LA CREMA ANTROLIN®.

UNA NOVITÀ NEL TRATTAMENTO ETIOPATOGENETICO DELLA MALATTIA EMORROIDARIA

La malattia emorroidaria è frequente e di notevole rilevanza per costo sociale. I disturbi associati sono generalmente assai fastidiosi e motivo di cronico disagio per la riduzione dell'attività lavorativa. L'eziologia della malattia emorroidaria non è stata ancora ben definita. Diverse teorie e diversi meccanismi sono stati proposti per definire la patogenesi e stabilire una classificazione, e vi sono studi che hanno cercato di determinare una connessione del tipo causa-effetto con l'ipertono dello sfintere anale. I trattamenti proposti possono essere di tipo medico o chirurgico. Fino ad oggi la terapia medica della malattia emorroidaria non è stata oggetto di innovazioni di rilievo dal punto di vista scientifico. L'opinione prevalente in letteratura attribuisce alla terapia medica il controllo della sintomatologia delle emorroidi di I e II grado nella maggior parte dei casi. Tuttavia al trattamento chirurgico si ricorre spesso ed impropriamente se non c'è risposta alle misure conservative ed alle terapie alternative (scleroterapia, legatura elastica, crioterapia, fotocoagulazione ad infrarossi), con il possibile rischio di danno alla continenza sfinterica. Un nuovo approccio al trattamento conservativo della malattia emorroidaria, la trombosi emorroidaria, la ragade anale, e altre patologie proctologiche è stato introdotto con l'utilizzazione locale della crema Antrolin®, contenente nifedipina allo 0,3% e lidocaina all'1,5%. L'ipotesi sottostante è che la genesi delle emorroidi, e di altri disordini proctologici sia accomunata da un ipertono dello sfintere anale interno. Risolvendo, quindi, l'ipertono con meccanismo farmacologico, si evita il trattamento chirurgico e si possono curare alcune patologie proctologiche su base funzionale. La nifedipina agisce attraverso l'inibizione del flusso del Ca⁺⁺ nel sarcoplasma della muscolatura liscia con conseguente risparmio di ossigeno, nonché una diminuzione della contrazione meccanica delle fibre muscolari. L'uso locale, sotto forma

di crema, provoca il rilasciamento dello sfintere anale interno. Studi sperimentali hanno peraltro riconosciuto alla nifedipina un'azione antinfiammatoria, modulatrice sul microcircolo e la possibilità di agire per via topica. Questo contribuisce a risolvere la componente infiammatoria che sostiene il circolo vizioso, responsabile del meccanismo patogenetico di patologie proctologiche sostenute da ipertono dello sfintere anale interno. La lidocaina completa l'associazione farmacologica. Il rationale di tale associazione è di tipo sinergico, in quanto la nifedipina assume un significato etiologico (avendo come bersaglio farmacologico la riduzione dell'ipertono sfinteriale riflesso), mentre la lidocaina mantiene il suo ruolo, consolidato da anni, di sintomatico nel trattamento del dolore. Nella malattia emorroidaria la crema Antrolin® ha determinato: la riduzione del grado della malattia emorroidaria nel 72,7% dei casi tra i pazienti portatori di emorroidi nei confronti dei controlli; la remissione totale della sintomatologia della trombosi emorroidaria nel 92% dei pazienti entro due settimane di trattamento nei confronti del 45,8% dei controlli; una risoluzione efficace della sintomatologia dolorosa post-emorroidectomia ed una riduzione significativa della assunzione di analgesici orali con minori effetti collaterali.

Pertanto nel panorama attuale nel quale il trattamento medico tradizionale è di tipo sintomatico ed invariato da decenni, ed altre recenti innovazioni (nitratati, botox, diltiazem) presentano limiti in termini di tollerabilità e sicurezza, la crema Antrolin® si propone come medicamento di *tipo etiologico*, con il maggiore effetto terapeutico e la minima incidenza di eventi avversi. Nei confronti della chirurgia vale la pena sottolineare che tale trattamento locale consente quasi sempre la scomparsa della sintomatologia dolorosa, e non intacca in alcun modo l'integrità degli sfinteri, evitando la chirurgia ed i rischi correlati.

ISTRUZIONI PER GLI AUTORI

Manoscritti

I manoscritti possono essere presentati in italiano o in inglese e devono essere accompagnati da una Cover Letter ove si spiega brevemente l'appeal del lavoro.

Le pagine devono essere numerate consecutivamente.

La **prima pagina** deve comprendere (a) il titolo dell'articolo in italiano e in inglese, (b) le iniziali del nome (nel caso di nomi femminili il nome per esteso) e il cognome del/degli autore/i, (c) la (le) rispettiva(e) istituzione(i), (d) il titolo corrente per le pagine successive, (e) l'indirizzo per la corrispondenza di uno degli autori, (f) eventuali note a piè di pagina.

I manoscritti devono includere un **Sommario Breve** di circa 20 parole, tre-sei **Parole-Indice** e un **Sommario Esteso** (circa 200 parole) il tutto sia in italiano che in inglese strutturato a seconda del tipo di articolo, in uno dei due modi che seguono: **Premessa, Materiali e metodi, Risultati, Conclusioni** (per gli articoli contenenti dati di ricerche) oppure **Premessa, Contributi o Descrizioni, Conclusioni** (per le rassegne e commenti etc.).

Al manoscritto dovrebbe essere unito un dischetto da 3.5 pollici con il testo preferibilmente scritto con programma Win Word 6.0 o in formato ASCII.

In alternativa il lavoro e tutta la documentazione possono essere inviati all'indirizzo e-mail di MEDIC (medic@unicampus.it), rispettando le indicazioni sul formato del file.

Riferimenti bibliografici

I riferimenti bibliografici nel testo devono essere numerati consecutivamente e riportati in Bibliografia, alla fine del manoscritto, nell'ordine di inserimento nel testo. I cognomi e le iniziali dei nomi di tutti gli autori, il titolo della rivista abbreviato in accordo con l'*Index Medicus*, l'anno di pubblicazione, il numero del volume, la prima e l'ultima pagine dell'articolo devono essere riportati secondo lo stile qui di seguito esemplificato:

Articoli di Giornali: Epstein O, De Villers D, Jain S, Potter BJ, Thomas HC, Sherlock S. Reduction of immune complex and immunoglobulins induced by D-penicillamine in primary biliary cirrhosis. *N Engl J Med* 1979; 300: 274-278.

Libri: Blumberg BS. The nature of Australia Antigen:infectious and genetic characteristics. In: Popper H, Scaffener F, *Eds.* Progress in Liver Disease. Vol.IV. Grune and Stratton, New York and London 1972: 367-379.

Tabelle e figure

Le **Tabelle** devono essere numerate consecutivamente con numeri romani e devono essere presentate su fogli separati. Le **Figure** devono essere numerate consecutivamente con numeri arabi e devono essere presentate anch'esse su fogli separati, accompagnate da esplicite *legende* con definizioni di tutti i simboli ed abbreviazioni usati. Sul retro, *in lapis*, deve essere riportato il nome del primo autore e deve essere indicato l'orientamento della figura mediante una freccia. In caso di Tabelle e Figure non correttamente imposte o poco chiare, il Giornale si riserva di sostituirle a spese degli autori. Nel caso di materiale illustrativo già pubblicato altrove o da altri autori.

Ringraziamenti

I ringraziamenti devono essere riportati su un foglio separato ed appariranno alla fine dell'articolo.

Autori

Nel caso di più autori si deve specificare il ruolo di ciascuno nel lavoro cui si riferisce l'articolo (es: ricercatore principale, autore *senior*, partecipante, etc; oppure più dettagliatamente). In mancanza di un'annotazione del genere, l'articolo verrà pubblicato con la nota "Il lavoro spetta in pari misura agli Autori".

Manoscritti riveduti e Bozze

I **manoscritti** verranno rinviati agli autori con i commenti dei *referees* e/o una revisione a cura della Segreteria Scientifica. Se accettati per la pubblicazione, i testi dovranno essere rimandati alla Segreteria Scientifica con il visto del primo autore. A meno di esplicita richiesta, la correzione delle **bozze** sarà effettuata direttamente dalla Segreteria Scientifica sulla base del testo finale vistato. Gli autori sono pregati di rinviare il materiale per *corriere rapido*.

Estratti e Stampe a Colori

25 estratti gratuiti saranno inviati al primo autore di ogni articolo pubblicato, che ne faccia richiesta al momento dell'invio del dattiloscritto vistato. Stampe a colori ed estratti oltre i 25 (da richiedere all'atto dell'invio del dattiloscritto vistato) saranno addebitati agli autori.

Copyright

I manoscritti e il relativo materiale illustrativo rimangono di proprietà del Giornale e non possono essere riprodotti senza un permesso scritto. Assieme al manoscritto gli autori sono pregati di inviare alla Segreteria Scientifica la seguente dichiarazione (a firma di ciascun autore): "I sottoscritti trasferiscono tutti i diritti d'autore del manoscritto (titolo dell'articolo) a Critical Medicine Publishing, Roma, nel caso il manoscritto sia pubblicato su MEDIC. Gli autori assicurano che l'articolo non è stato pubblicato in precedenza, ne è in corso di valutazione presso altro giornale".

Copie per gli Autori

A titolo di ringraziamento, al (primo) autore di ogni articolo saranno inviate due copie del corrispondente numero del Giornale.

Indirizzo per i Manoscritti

I **manoscritti (a doppio spazio) devono essere inviati in tre copie**, insieme con tre copie del materiale illustrativo e col dischetto, a MEDIC, Segreteria Scientifica, c/o Università "Campus Bio-Medico" di Roma, Via Álvaro Del Portillo, 21 - 00128 Roma (tel. +39-06225419050 Fax +39-06225419075).

Indirizzo per l'invio via E-mail: medic@unicampus.it.

Lista di controllo

Prima di spedire il manoscritto, si prega di controllare la lista che segue per accertarsi che siano state debitamente osservate le Istruzioni per gli Autori:

1. Tre copie del manoscritto accompagnate da Cover Lettere dal dischetto
2. Tre copie del materiale illustrativo e delle legende
3. Cognome e iniziale del nome (i nomi femminili per esteso) degli autori
4. Istituzioni di appartenenza degli autori con il nome della città dello Stato
5. Titolo in italiano e in inglese
6. Titolo corrente
7. Sommario breve (circa 20 parole) in italiano e in inglese
8. Sommario esteso (circa 200 parole) in italiano e in inglese
9. Ringraziamenti
10. Autori (ruoli)
11. Dichiarazione di cessione dei diritti d'autore
12. Indirizzo completo di uno degli autori per la corrispondenza (incluso numero di fax)
13. Numeri consecutivi delle referenze nel testo
14. Riferimenti numerati in bibliografia secondo lo stile raccomandato
15. È stato consultato per lo stile un numero precedente della rivista?
16. Richiesta di estratti

INSTRUCTIONS TO AUTHORS

Manuscripts

Manuscripts can be submitted in Italian or English and have to be sent together with a cover letter. Pages must be numbered consecutively.

Title page should include (a) title of the article in Italian or English, (b) initials of first name (for ladies, first name in full) and surname(s) both author(s), (c) corresponding institutions and cities, (d) running head, (e) address for correspondence of one of authors, (f) footnotes.

The articles should also include: a **Short Abstract** of approximately 20 words, three to six Index Terms and an **Extended Abstract** (approximately 200 words), in Italian and English (for articles in Italian) or only English (for non-Italian authors), structured according the following format: **Background, Material and Methods, Result, Conclusion** (articles reporting research data), or **Background, Contributions or Description, Conclusion** (review articles critical comments etc).

A 3.5" floppy disc with the text written in conformance with the Win Word 6.0 or ASCII format, should be submitted together with the manuscript.

Alternatively the text and the complete documentation can be sent to the following E-mail: medic@unicampus.it

References

References in the text should be numbered consecutively and reported as a bibliography at the end of the manuscript, in the order which they appear. The names and the initials of all authors, the title of the journal abbreviated according to Index Medicus, year of publication, volume number, and first and last page of the article must be reported in accordance with the sample shown below:

Journal articles: Epstein O, De Viller D, Jain S, Potter BJ, Thomas HC, Sherlock S. Reduction of immune complexes and immunoglobulines induced by D- penicillamine in primary biliary cirrhosis. *N Eng J Med* 1979; 300: 274-278.

Books: Blumberg BS. The nature of Australian antigen: infectious and genetic characteristics. In: Popper H, Schaffner F, Eds. *Progress in Liver Disease*. Vol. IV. Grune and Stratton, New York and London 1972: 367-379.

Tables and Figures

Tables should be numbered consecutively by Roman numerals and submitted on separate sheets. **Figures** should be numbered consecutively by Arab numerals, and should also be submitted on separate sheets, accompanied by explicit legends defining all symbols and abbreviations used. On the back, in pencil, give the first author's name and indicate the top of the figure by an arrow.

In case of incorrect or unclear reproduction of Tables and Figure, the Journal reserves the right to substitute them at the author's expense. If illustrative material has already been published, written permission of the publishing company and the author should be submitted together with the article. For any other problem regarding the format please check with previous issues of the Journal.

Acknowledgements

Acknowledgement should be typed on a separate sheet to appear at the end of the article.

Authorship

In case of multiple authorship the role of the various authors should be specified (eg: principal investigator, senior author, participants, or in detail). In the absence of such statement, the article will be presented with the following foot-note: "All Authors participated equally in this work".

Revised Manuscript and Proofs

Manuscripts will be returned to the author with the referees' comments and/or the revisions by the Scientific Secretariat. If accepted for publication, the text should be returned to the Secretariat with the approval by the first author. Unless explicitly requested otherwise, the correction of the proofs will be carried out directly by the Scientific Secretariat on the grounds of the approved manuscript. The authors are kindly requested to return the material by **special delivery**.

Reprints and Colour Prints

25 reprints will be sent to the first author of each article free of charge, when requested on the manuscript. Colour prints and reprints more than 25 will be charged to the author(s).

Copyright

Manuscripts and corresponding illustrative material remain property of the Journal and should not be reproduced without written permission. Please enclose with to the manuscript the following statement: "If it is published, the undersigned authors transfer all copyright ownership of the manuscript entitled (titled of article) to Critical Medicine Publishing. The authors warrant that the article has not been previously published and is not under consideration for publication by another journal".

Copies for Authors

Two complimentary copies of the Journal's issue containing the article will be sent to the (first) author.

Address for Manuscript

Three copies of the manuscript (in double space) should be submitted, together with three copies of the illustrative material and the diskette, to MEDIC, Segreteria Scientifica, c/o Università "Campus Bio-Medico" di Roma, Via Álvaro Del Portillo, 21 - 00128 Roma (tel. +39-06225419050 Fax +39-06225419075). For e-mail submission: medic@unicampus.it

Submission Checklist

Please use the following checklist before mailing the manuscript:

1. Three copies of the manuscript and diskette
2. Three copies of the illustrative material or legends
3. Full surname and initials (for ladies please first name in full) of all authors
4. Corresponding addresses of the authors
5. Title
6. Running head
7. Short Abstract (approx.20 words)
8. Extended Abstract (approx. 200 words)
9. Acknowledgements
10. Multiple authorship
11. Copyright statement
12. Full corresponding address of one of the authors (including FAX number and e.mail)
13. Consecutive numbers of the references given in the text
14. Bibliography references numbered following the recommended system
15. Have you checked a previous issue of the Journal for format of presentation?
16. Reprints required

Invito alla Lettura

An Invitation to Read

In accordo con la filosofia di MEDIC (Un Giornale per il Nostro Tempo, 1993; 1: 71-72), questo Numero comprende articoli di varia natura, aventi peraltro in comune l'interesse per i problemi d'ordine metodologico e/o riguardanti la didattica formativa.

Following the philosophy of MEDIC (A Journal for Our Times, 1993; 1: 71-73), this issue includes articles of various kinds, however all share a special interest in problem related methodology and/or education.

15. Research Highlights on the Role of Statins in Invasive Cardiology

Recenti Traguardi sul Ruolo delle Statine nella Cardiologia Interventistica

Annunziata Nusca, Rosetta Melfi, G Di Sciascio

MEDIC 2007/2008: 15-22

Il pre-trattamento con statine riduce significativamente l'incidenza di danno miocardico e nefropatia da contrasto dopo rivascolarizzazione percutanea coronarica.

Statin pre-treatment has been demonstrated to reduce the incidence of myocardial damage and contrast nephropathy after percutaneous coronary intervention.

23. Highlights in Diabetologia 2007

Ultimi Aggiornamenti in Diabetologia 2007

P Pozzilli, Chiara Moretti

MEDIC 2007/2008: 23-26

I tiazolidinedioni sono farmaci diffusamente utilizzati nel trattamento dei pazienti con diabete mellito di tipo 2, patologia che ha ormai assunto le caratteristiche di una vera e propria epidemia; recenti studi hanno però evidenziato effetti collaterali cardiovascolari legati all'utilizzo di uno di questi farmaci, il rosiglitazone, che necessita di attenta valutazione durante il suo impiego.

The thiazolidinediones are widely used to treat patients with type 2 diabetes mellitus, a disease that has reached now an epidemic; however, recent reports have indicated adverse cardiovascular events mainly associated with the use of rosiglitazone which requires careful evaluation during its use.

27. Research Highlights on Molecular Targeted Therapies in Haematology. Part I: Compounds Targeting Chromosomal Translocation Products or Signalling Pathways

Ultimi Aggiornamenti sulla Ricerca In Terapie Molecolari in Ematologia. Parte 1°: Composti Sviluppati per Colpire Prodotti di Traslocazioni Cromosomiche o Vie di Trasduzione del Segnale

OM Olimpieri, Valentina Summa, G Avvisati

MEDIC 2007/2008: 27-40

L'articolo presenta la terapia antineoplastica che sta rivoluzionando la pratica clinica onco-ematologica denominata "terapia mirata".

The paper highlights the revolutionary antineoplastic therapy that is getting a foothold in oncological and haematological practice under the name of targeted therapy.

41. Research Highlights in Neuroimaging

Ultimi Aggiornamenti sulla Ricerca in Neuroimaging

JM Melgari, PM Rossini

MEDIC 2007/2008: 41-50

Le tecniche di *neuroimaging* hanno presentato rapidi sviluppi negli ultimi anni. Il sistema nervoso centrale può essere studiato mediante tecniche anatomiche e funzionali. Le tecniche anatomiche trovano una vasta applicazione nella pratica clinica *routinaria*, mentre l'*imaging* cerebrale funzionale è un campo promettente, le cui potenzialità nella diagnosi, terapia e ricerca non sono state ancora completamente elucidate.

Techniques for neuroimaging have undergone rapid developments in recent years. The central nervous system can be imaged with anatomical and functional techniques. Anatomical techniques show a broad application in routine clinical practice, while functional brain imaging is a promising field whose diagnostic, therapeutic, and research potential is not yet fully investigated and understood so that is the main focus of the present review.

51. Research Highlights on Nerve Growth Factor Effects on Ocular Diseases

Ultimi Aggiornamenti sulla Ricerca Riguardo agli Effetti del Nerve Growth Factor nelle Patologie Oculari

A Lambiase, S Bonini

MEDIC 2007/2008: 51-57

Numerose evidenze sperimentali e cliniche hanno esteso il ruolo del *nerve growth factor* (NGF) da neurotrofina a fattore pleiotropico in grado di influenzare i sistemi nervoso, immunitario, endocrino e visivo. Studi clinici suggeriscono che il trattamento topico con NGF rappresenti un'utile terapia in numerose patologie oculari, cutanee e neurodegenerative, quali il morbo di Alzheimer.

Much clinical and experimental evidence has extended the role of Nerve Growth Factor (NGF) from neurotrophin to the pleiotropic factor which extends its biological activity from the central and peripheral nervous systems to the immune, endocrine and visual systems. Clinical studies suggest that topic treatment with NGF represents a useful therapy for various ocular, skin or neurodegenerative diseases such as Alzheimer.

58. Cardiotoxicity of Antitumor Drugs

Tossicità Cardiaca dei Farmaci Antitumorali

P Menna, G Minotti, Emanuela Salvatorelli

MEDIC 2007/2008: 58-66

Vengono brevemente trattati gli eventi cardiovascolari che spesso complicano l'uso clinico di farmaci antitumorali sia di nuova che vecchia generazione. Particolare attenzione viene richiamata sulla identificazione preclinica della tossicità cardiovascolare e l'importanza di un monitoraggio a lungo termine della funzione cardiaca dei pazienti.

This article briefly reviews cardiovascular events associated with clinical use of old and new generation antitumor drugs. Emphasis is placed on the importance of preclinical screening of cardiac safety signals and long-term cardiac surveillance of patients.

67. Dalla Cina un Nuovo Farmaco Antimalarico e un Insegnamento per la Ricerca Biomedica

A New Antimalarial Drug from China and a Lesson for Biomedical Research

G Mottini

MEDIC 2007/2008: 67-71

L'articolo presenta la valenza non solo clinica, ma anche etica di un nuovo farmaco antimalarico: l'Euratesim, nato dalla combinazione fra un derivato dell'artemisinina e un antimalarico di vecchia generazione, la piperachina. Il farmaco è, infatti, il risultato di un'alleanza tra due mondi, quello occidentale, rappresentato dalla casa farmaceutica italiana Sigma Tau assieme ad altre istituzioni, tra cui l'Università di Oxford, con quello sino-orientale, che fornisce l'erba medicinale artemisinina.

The article presents not only the clinical but the ethical value of the new antimalarial drug: the Euratesim, produced from a combination of Artemisinin and an antimalarial of old generation – piperazine. In fact the drug is the result of a joint venture between the West and the East of the world represented by the Italian pharmaceutical drug industry Sigma Tau with other institutions, such as Oxford University and Chinese institutions that produce the medicinal herb Artemisia.

72. The Epistemic Nature of Package Leaflet Information: a Contribution to the Legal Debate on the Role of Package Leaflets in Therapeutic Consent

La Natura Epistemologica dei Foglietti Illustrativi: un Contributo al Dibattito Legale sul loro Ruolo Relativamente al Consenso Informato

Barbara Osimani

MEDIC 2007/2008: 72-90

L'autrice sviluppa una riflessione sulle implicazioni dei foglietti illustrativi allegati ai farmaci, sia dal punto di vista legale che comunicativo. Si analizzano due funzioni comunicative fondamentali del foglietto illustrativo, in analogia e a complemento dell'informazione fornita dal medico durante la consultazione: l'istruzione vera e propria volta a preveni-

re il rischio evitabile; e la dichiarazione del rischio inevitabile (residuo) quale base per la libera decisione dell'utente (consenso informato).

The article is devoted to the legal and communicative analysis of package leaflets information. The author discusses the two main communicative aspects of package leaflets information which is considered complementary to that given by physician during consultation: instruction to prevent pharmaceutical risk; and the declaration of residual (inevitable) risk are the basis of the user's free decision (informed consent).

91. Progettazione e sperimentazione di un piano di valutazione di un corso di formazione aziendale

Experiment of an Evaluation Plan for Educational Courses

Maria Michela Gianino, Ivana Finiguerra, L Maina, Marilena Avanzato, Daniela Fiorina, G Renga

MEDIC 2007/2008: 91-101

L'articolo analizza gli obiettivi, la metodologia e i risultati di una esperienza di costruzione e attuazione di un piano di valutazione di corsi di formazione aziendale.

The article analyses the objectives, the methods and the results of an evaluation plan for educational courses.

102. Camillo Golgi un Secolo dopo il Nobel

Camillo Golgi: a Century from his Nobel Prize

G Delvecchio, Luisella Bettineschi

MEDIC 2007/2008: 102-108

A cento anni dal Premio Nobel per la Medicina di Camillo Golgi, l'articolo ricorda l'importanza che la sua ricerca ha avuto nella storia delle neuroscienze.

Written a century after Camillo Golgi won the Nobel Prize in Medicine, this article reminds us of the importance that the research he carried out has had in the history of neurosciences.

109. Costi del Trattamento del Carcinoma Gastrico in Stadio Avanzato

Economic Burden of Advanced Gastric Cancer

Simona Ravera, A Falcone

MEDIC 2007/2008: 109-113

La gestione dei pazienti con carcinoma gastrico è complicata e onerosa. Nelle fase avanzata della malattia la terapia orale con capecitabina+composto a base di platino si è dimostrata *cost-saving* rispetto a quella con 5-FU/LV+ composto a base di platino.

Gastric cancer treatment is complicated and burdensome. In the management of advanced disease oral therapy with capecitabine+platinum-based regimen is cost-saving compared to 5-FU/LV+platinum-based regimen.

THE PRESENT ISSUE OF MEDIC "Research highlights in Biomedical Research" provides comprehensive coverage of emerging literature on the experience with newly approved compounds and an evaluated assessment of the likely impact of these new agents on existing pharmacotherapy of specific diseases. This number of MEDIC tries to provide expert reviews of recent research covering novel molecular drug targets, new diagnostic issues, new pathogenetic mechanisms of emerging diseases and new concepts of therapeutic strategies.

It represents an original effort to incorporate into its aims the essential link between basic research on biological pathways and interactions, as well as the development of drugs and therapeutic strategies of tomorrow and seeks to unravel this vast amount of information and provide clear and informed guides to this increasingly important area.

The editorial board of MEDIC encouraged the authors to give their opinion, comment and discuss speculative hypothesis, any controversial prospects or work carried out by their own research group, but also to explore future directions, and the developments that are likely to be important in the future as well as the pathways of research which are likely to become exciting as further studies yield more detailed results.

This *Section Issue* is distinguishable from other publications by its high-quality authorship and expertly drafted articles, which are structured to incorporate the authors' own expertise on the subject.

All articles have been subjected to rigorous peer-review, and the finished articles make an essential contribution to decision-making in the field of each medical area covered by the authors.

The *editorial board* has adopted a systematic approach to coverage, with each issue focusing on one of the major therapeutic areas. The major themes covered are as follows:

- Cardiology
- Diabetology
- Haematology and Oncology
- Neuroimaging
- Ophthalmology
- Pharmacotherapy
- Tropical Medicine

With the present work we hope to have given our readers an opportunity to go beyond the large literature data over the different interest areas and to have stimulated in them the scientific *curiositas* so often underestimated and forgotten in the present *Medicine Academia*.

The *editorial board* of Medic strongly acknowledges the availability and the hard work of each contributor and hopes to increase this new interesting and promising collaboration in the near future.

Il presente numero di MEDIC "Nuove Frontiere della Ricerca Biomedica", intende offrire una panoramica esauriente della letteratura scientifica relativa alle esperienze con terapie di recente approvazione e alle valutazioni dell'impatto che esse potrebbero avere sulla farmacoterapia di specifiche patologie. Con questo fascicolo si cerca di fornire una revisione della nuove frontiere della ricerca biomedica che si è occupata di farmaci molecolari mirati, di nuove problematiche diagnostiche, di nuovi meccanismi patogenetici delle patologie emergenti e di strategie terapeutiche innovative. Esso rappresenta uno sforzo originale di includere negli intenti che sono propri della rivista MEDIC quel collegamento tra la ricerca di base in biologia e le interazioni possibili, relative allo sviluppo di farmaci e alle strategie terapeutiche del futuro. L'obiettivo è quello di offrire un orientamento per districarsi nel vasto panorama di informazioni, una guida chiara e fondata su conoscenze ben precise in alcuni campi che stanno acquistando sempre più maggiore rilevanza.

Il comitato editoriale di MEDIC ha incoraggiato gli autori a esprimere la propria opinione, a fare commenti e a trattare ipotesi possibili o controverse anche scaturite dalla ricerca portata avanti dal proprio gruppo di lavoro. Inoltre è stato chiesto loro di esplorare le potenziali conseguenti applicazioni e gli sviluppi che potrebbero scaturire nel futuro, nonché di ipotizzare possibili percorsi che la ricerca intraprenderà man mano che ulteriori studi forniranno risultati dettagliati.

Questo numero si distingue per l'autorevolezza e la competenza degli articoli, strutturati in modo tale da presentare l'esperienza degli autori sull'argomento trattato.

Gli articoli sono stati sottoposti ad un rigoroso "peer-review", per cui risultano un contributo essenziale per il processo decisionale in ogni campo delle scienze mediche specificamente trattato.

Il comitato editoriale ha adottato un approccio sistematico, cosicchè ogni specialità mette in luce una delle principali aree terapeutiche. Di seguito le aree coperte:

- *Cardiologia*
- *Diabetologia*
- *Ematologia e Oncologia*
- *Neuroimaging*
- *Oftalmologia*
- *Farmacoterapia*
- *Medicina tropicale*

Con questo lavoro speriamo di aver fornito ai nostri lettori l'opportunità di andare oltre la grande quantità di informazioni disponibili nelle varie aree di interesse e di aver stimolato la "curiositas" scientifica, così spesso sottovalutata e dimenticata nell'odierno mondo accademico.

Il comitato editoriale apprezza molto la disponibilità e l'impegno di coloro che hanno contribuito alla riuscita di questo numero. Ci auspichiamo che questa nuova ed interessante collaborazione possa svilupparsi ulteriormente anche in futuro.

Daniele Santini
Oncologo, Università Campus Bio-Medico di Roma

Research Highlights on the Role of Statins in Invasive Cardiology

Recenti Traguardi sul Ruolo delle Statine nella Cardiologia Interventistica

ANNUNZIATA NUSCA, ROSETTA MELFI, G DI SCIASCIO

Department of Cardiovascular Sciences, Campus Bio-Medico University of Rome

Background Statins, HMG-CoA reductase inhibitors, modulate endothelial function and stabilize atherosclerotic plaque by inhibiting oxidative stress and inflammation, with subsequent well documented primary and secondary prevention for coronary artery disease. Periprocedural myocardial damage and contrast induced nephropathy after percutaneous coronary intervention (PCI) are associated with an increased incidence of adverse cardiac events on long term follow-up. **Results** Pretreatment with statins before elective PCI reduces periprocedural myocardial infarction in patients with stable angina, as observed in the ARMYDA study. The ARMYDA ACS was the first randomized trial that demonstrated that an acute loading with high dose of atorvastatin prevents myocardial damage in patients with acute coronary syndromes undergoing early PCI (<48 hours). Patients on statins at the time of the procedure show a significantly reduced incidence of contrast-induced nephropathy. Moreover, statins prevent occurrence of atrial fibrillation in patients undergoing elective cardiac surgery with cardiopulmonary bypass. The beneficial effects of statins could be explained also by the decreased expression of adhesion molecules in endothelial cells (ICAM-1 and E-Selectin) observed in patients receiving these drugs. **Conclusions** All these evidences may strongly influence the clinical practice of interventional cardiologist and cardiac surgeon.

Index Terms Percutaneous coronary intervention, Statins, HMG-CoA reductase inhibitors, Myocardial necrosis.

Premessa Le statine, inibitori della HMG-CoA reduttasi, modulano la funzione endoteliale e stabilizzano la placca aterosclerotica mediante un'inibizione dello stress ossidativo e dell'infiammazione, con conseguente dimostrata efficacia nella prevenzione primaria e secondaria della cardiopatia ischemica. L'infarto miocardico periprocedurale e la nefrotossicità da mezzo di contrasto rappresentano complicanze associate ad un aumentato rischio di eventi avversi cardiaci al follow-up. **Descrizione** Il pre-trattamento con statine prima dell'angioplastica coronarica riduce l'incidenza di danno miocardico in pazienti con angina cronica stabile sottoposti a rivascolarizzazione percutanea elettiva, come osservato nello studio ARMYDA. L'ARMYDA ACS è stato il primo trial randomizzato a dimostrare che un carico con alte dosi di atorvastatina previene l'infarto miocardico peri-procedurale anche in pazienti con sindrome coronarica acuta sottoposti a rivascolarizzazione precoce (entro 48 ore). Pazienti sottoposti a trattamento con statine al momento della procedura mostrano una significativa riduzione nell'incidenza di nefropatia da contrasto. Infine, le statine si sono dimostrate efficaci anche nel prevenire l'incidenza di fibrillazione atriale in pazienti trattati con bypass aorto-coronarico. Gli effetti protettivi di questa classe farmacologica potrebbero essere spiegati anche mediante una modulazione nell'espressione di molecole di adesione endoteliale (ICAM-1 e selettina E). **Conclusioni** Tutte queste osservazioni potrebbero fortemente influenzare la pratica clinica del cardiologo interventista e del cardiocirurgo.

Parole Indice Rivascolarizzazione coronarica percutanea, Statine, Inibitori della HMG CoA reduttasi, Infarto miocardico.

Il lavoro spetta in pari misura agli autori
All authors participated equally in this work

Indirizzo per la corrispondenza
Address for correspondence

Prof. Germano Di Sciascio, MD,
Campus Bio-Medico University
Via Alvaro del Portillo, 200, 00128 Rome, Italy
Tel.+39-06-225411612
Fax.+39-06-225411638
E-mail:g.disciascio@unicampus.it

Statins inhibit hepatic 3-hydroxy-3-methylglutaryl Coenzyme A (HMG-CoA) reductase with suppression of hepatic cholesterol biosynthesis. The benefits of these drugs are well documented in primary and secondary prevention for coronary artery disease¹⁻³. Besides their lipid-lowering properties, statins exert a number of protective effects, involving improvement of endothelial function, stabilization of atherosclerotic plaque, decrease of oxidative stress and inflammation, and inhibition of thrombogenic response^{4,5}. Their benefit has been largely demonstrated also in the setting of percutaneous coronary interventions (PCI) by the prevention of periprocedural myocardial infarction and contrast induced nephropathy. Moreover, statins have been demonstrated to reduce the occurrence of post-operative atrial fibrillation in patients undergoing elective coronary artery bypass surgery.

Statins and prevention of periprocedural myocardial infarction

Myocardial infarction (MI) is a relatively frequent complication after coronary angioplasty and is associated with increased mortality during follow-up⁶. In the large majority of cases, only a small necrosis occurred, assessed by post-procedural CK-MB elevation, without ECG changes or impairment of cardiac function. The amount of the released cardiac markers is proportional to infarct size and is related with significantly higher incidence of adverse cardiac events⁷. Despite improvements in operative technique, this complication occurs up to 30-40% of patients^{8,9}. Different treatment strategies have been developed to prevent myocardial damage. Nitrate infusion¹⁰, intracoronary beta-blockers¹¹, Gp IIb/IIIa inhibitors¹² and adenosine¹³ have been proposed, but only Gp IIb/IIIa inhibitors have been used in current clinical practice.

Previous observational prospective and retrospective studies demonstrated decreased periprocedural myocardial damage after statin administration. Herrmann et al.¹⁴ observed that patients in treatment with different statins for a time more than one week undergoing PCI, had a lower incidence of MI (creatinine kinase – CK- >3 times upper normal limit, 0.4% vs 6%; $p=0.03$) compared with the non statin group. Chan et al.¹⁵ showed in a

larger series of patients ($n=5052$) that statins therapy at the time of PCI was associated with a lower 30-day and 6-month all cause mortality. These results were confirmed in another study, enrolling 1552 patients undergoing coronary angioplasty and demonstrating a lower incidence of post-procedural MI (5.7% vs 8.1%; $p=0.038$) and 1-year mortality (3.4% vs 6.9%; $p=0.003$) in patients who were pretreated with statins¹⁶. However, none of these studies were randomized, even if prospective.

The first randomized, placebo-controlled, double-blind, prospective study that demonstrated a beneficial effect of statins in preventing myocardial damage after coronary stenting was the ARMYDA (Atorvastatin for Reduction of MYocardial Damage during Angioplasty) study¹⁷. This trial enrolled 153 patients with chronic stable angina undergoing elective PCI randomized to placebo ($n=77$) and atorvastatin 40 mg ($n=76$), starting 7 days before the planned procedure. A significant reduction of post-procedural MI (defined as an increase of CK-MB >2 times the upper normal limit) was detected in patients receiving atorvastatin (5% vs 18%; $p=0.025$) (Figure 1). Moreover, the detection of markers of myocardial injury above the upper normal limit was lower in the statin group versus the placebo group (CK-MB 12% vs 35%, $p=0.001$; Tn I 20% vs 48%, $p=0.0004$, myoglobin 22% vs 51%, $p=0.0005$). At 1 month follow-up, no other cardiac event was observed in the two groups and the 30-day composite end point (death, my-

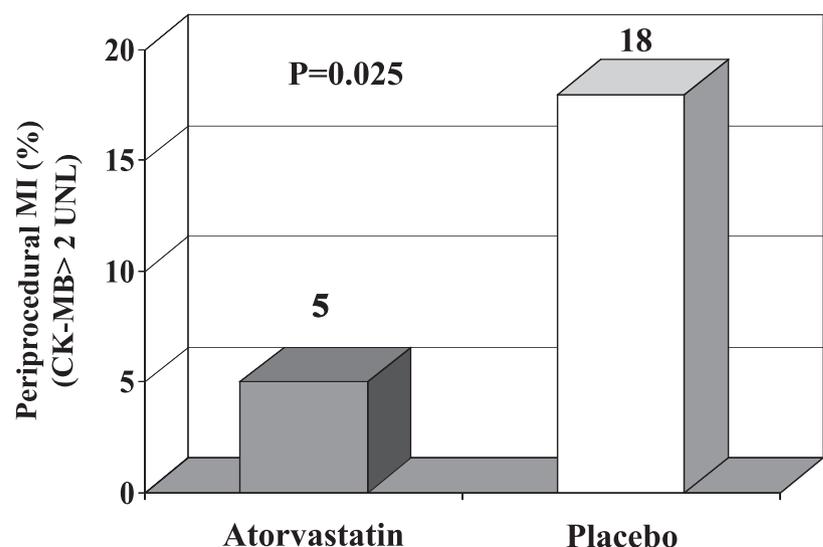


Figure 1 – ARMYDA Trial. Incidence of primary end point (postprocedural myocardial infarction, defined as an increased CK-MB >2 times upper normal limit) in atorvastatin group versus placebo group in the ARMYDA trial (MI=myocardial infarction; UNL=upper normal limit).

ocardial infarction and repeat coronary revascularization) was entirely ascribed to the reduction of periprocedural MI. Multivariate logistic regression analysis showed that pretreatment with atorvastatin was independently associated with lower risk of periprocedural CK-MB release (OR 0.19; 95% CI 0.05 to 0.57).

In patients with non ST segment elevation acute coronary syndromes (ACS), results from randomized trials on early use of statins have yielded conflicting data: the MIR-ACL study showed that atorvastatin 80 mg given 24-96 hours after admission for an unstable syndrome produced a significant reduction in the recurrence of myocardial ischemia¹⁸. Indeed, a recent metanalysis from 12 randomized trials comparing early (<14 days) statin therapy versus placebo or usual care after an ACS, reported no clinical benefit in the occurrence of death, MI or stroke at 4 months follow-up in patients receiving statins¹⁹. Nevertheless, all these findings were detected in patients undergoing conservative strategy, without coronary intervention.

Chang et al. evaluated the impact of pre-treatment with statins in patients with ACS in the setting of coronary intervention²⁰. They observed that patients who were already receiving statins at the time of intervention had a lower incidence of periprocedural myocardial necrosis compared to patients who were not on statins (2% vs 19%, $p=0.04$), with a significant better event free survival at 6 months (19% vs 31%; $p=0.015$). However, the ARMYDA ACS (Atorvastatin for Reduction of MYocardial Damage during Angioplasty – Acute Coronary Syndromes), designed by the ARMYDA investigators, was the first randomized, prospective, double-blind clinical trial that investigated the possible beneficial effect of an acute and high loading dose of atorvastatin in patients with unstable syndromes undergoing early (<48 hours) percutaneous coronary revascularization²¹. A total of 171 patients were randomized to receive placebo ($n=85$) or pre-treatment with atorvastatin ($n=86$, 80 mg loading dose given a mean of 12 hours before coronary angiography, with a further 40 mg dose approximately 2 hours before the procedure). The primary composite end point, 30 day incidence of major adverse cardiac events (death, MI, target vessel revascularization), occurred in 5% of patients in the atorvastatin group and in 17% of patients in the placebo group ($p=0.01$) (Figure 2), with an incidence of post proce-

dural MI of 5% and 15% ($p=0.04$), respectively. Multivariate analysis indicated an 88% risk reduction of major adverse clinical events (OR 0.12, 95% CI 0.05 to 0.50; $p=0.004$) and a 70% risk reduction of periprocedural myocardial infarction at 1 month in the atorvastatin group (Figure 3): according to these data, 10 patients should be treated with atorvastatin to avoid 1 case of myocardial infarction. Also the incidence of the secondary end point, prevalence of patients with post-procedural elevation of creatine kinase MB and troponin I above the upper normal limit, was significantly lower in patients receiving high dose of statins before PCI (CK-MB 7% vs 27%, $p=0.001$; Tn I 41% vs 58%, $p=0.039$).

The mechanisms of statin benefit in reducing myonecrosis in patients undergoing PCI is not completely elucidated, but they could be related to the “pleiotropic effects” of these drugs. These effects may start also acutely after drug administration as demonstrated in different *in vivo* and *in vitro* experiences, before their lipid-lowering effects^{22,23}. They include plaque stabilization as shown by reduction of matrix metalloproteinase secretion²⁴, anti-thrombotic effects, by reducing platelet CD40L expression, as well as production of prothrombin fragment F1+²⁵. Moreover statins have important anti-inflammatory effects. Previous studies suggested a significant attenuation in inflammatory markers such as C-reactive protein (CRP) in patients treated with these drugs after an

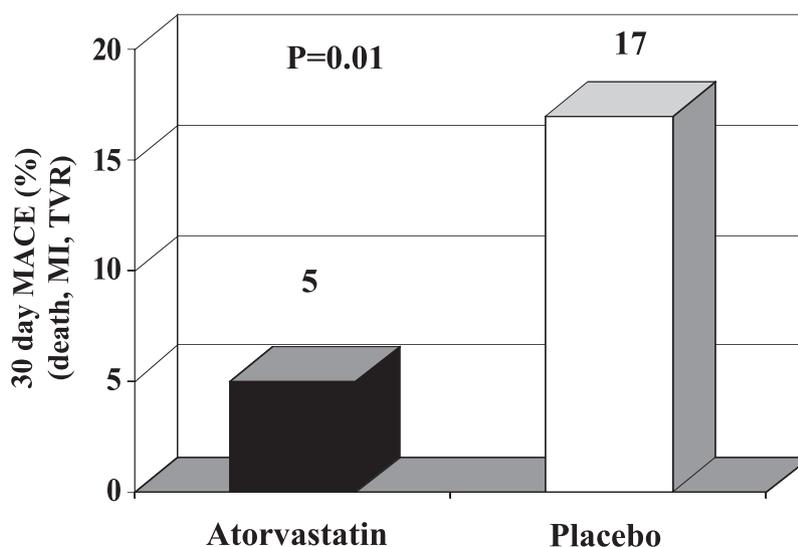


Figure 2 - ARMYDA ACS Trial. Incidence of primary composite end point (30 day death, myocardial infarction and target vessel revascularization) in atorvastatin group versus placebo group in the ARMYDA ACS trial (MI=myocardial infarction; TVR=target vessel revascularization, MACE=major adverse cardiac events).

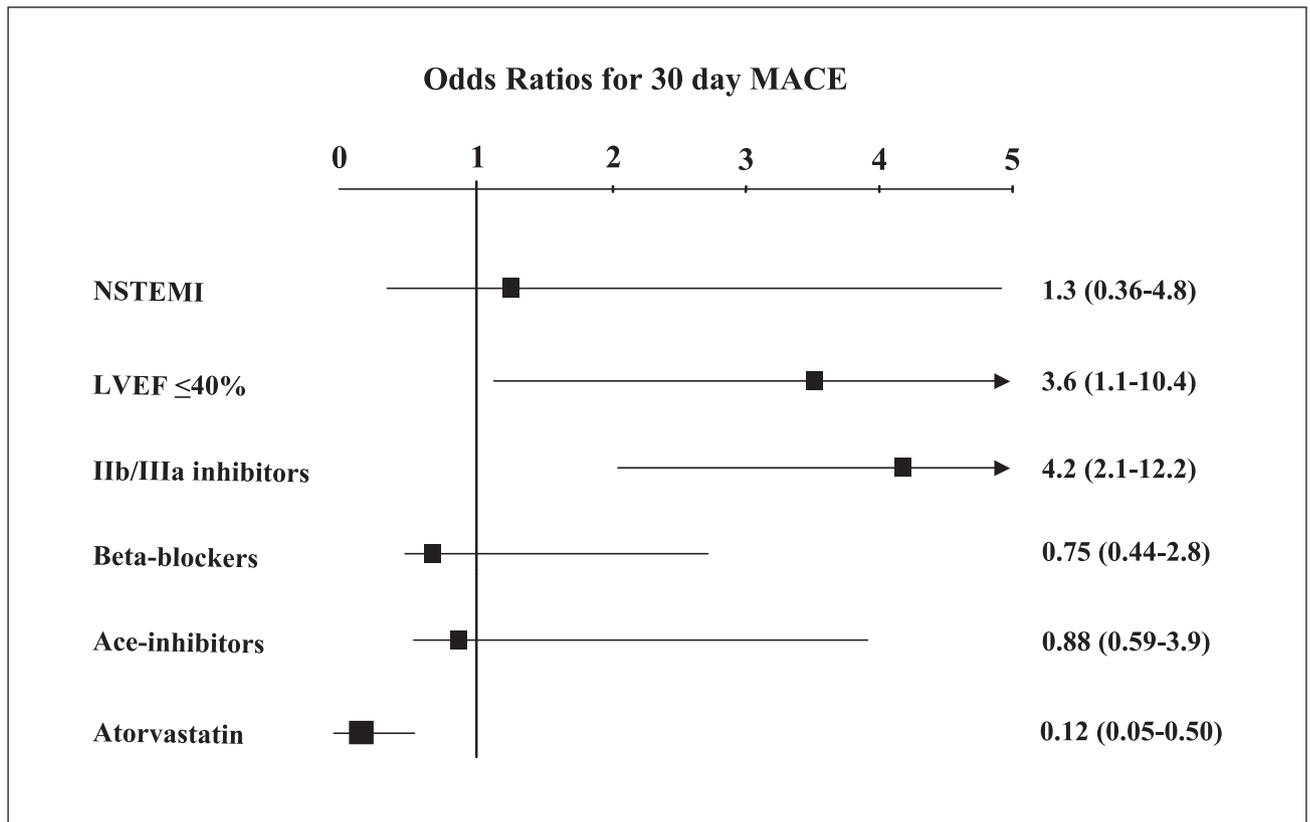


Figure 3 - ARMYDA ACS Trial. Results of multivariate analysis in the ARMYDA ACS Trial (NSTEMI=non-ST segment elevation myocardial infarction; LVEF=left ventricular ejection fraction; ACE=angiotensin-converting enzyme; MACE=major adverse cardiac events).

acute coronary syndrome²⁶. In the ARMYDA ACS study, atorvastatin pre-treatment has reduced post-procedural levels of CRP in patients with higher baseline levels of such marker²¹. Finally, statins have been shown to reduce adhesion molecule expression in endothelial cells via nitric oxide pathway²⁷. These experimental data were confirmed by the ARMYDA-CAMS (Atorvastatin for Reduction of MYocardial Damage during Angioplasty – Cell Adhesion Molecules) study²⁸, a substudy of ARMYDA trial. In this subanalysis, vascular cell adhesion molecule-1 (VCAM-1), intercellular cell adhesion molecule-1 (ICAM-1) and E-selectin plasma levels were blindly measured in 38 patients pre-treated with atorvastatin undergoing PCI and in 38 patients not pre-treated at randomization (i.e., 7 days before procedure), immediately before the angioplasty, and after 8 and 24 hours. ICAM-1, E-selectin and VCAM-1 levels were not different at the randomization and before intervention in either arm, whereas atorvastatin significantly attenuated ICAM-1 and E-selectin levels after PCI, confirming the protective actions of statins on endothelial function. Of note, accord-

ing to previous experimental data, statins did not attenuate baseline expression of adhesion molecules, but decreased CAMs levels after inflammatory stimuli, such as coronary angioplasty.

On the basis of these evidences, the anti-inflammatory effects of statins may lead to an improvement in microvessel coronary circulation and endothelial function, with a reduction of microembolization events during coronary intervention and consequent myocardial protection from procedural ischemic damage. These protective effects on coronary vessels translate in clinical early and long-term better outcome both in acute coronary syndromes and in stable coronary artery disease.

Statins and prevention of contrast induced nephropathy

Contrast induced nephropathy (CIN) is a recognized complication after percutaneous coronary intervention and has been associated with an increased risk of early and late cardiovascular events both in patients with pre-existing

chronic renal failure and in patients with normal baseline serum creatinine (SCr) levels²⁹⁻³¹. Although the pathogenesis of CIN is not completely clear, inflammatory mechanisms and oxidative stress may be involved³²; thus, statins could have a significant benefit in this setting by their anti-inflammatory effects.

Results by Khanal et al., from a large insurance database, showed that statin pre-treatment was associated with a reduced incidence of renal function deterioration after PCI³³. An observational, prospective study by the ARMY-DA group confirmed these findings³⁴. The study population consisted of 434 consecutive patients undergoing PCI, divided into statin-treated patients (n=260) and statin-naïve patients (n=174) at the time of the procedure. Patients who were on statins had a significantly lower incidence of CIN (3% vs. 27% in patients without statins; $P<0.0001$) (Figure 4), defined as a post-procedural increase in serum creatinine of ≥ 0.5 mg/dl or $> 25\%$ from baseline, corresponding to a 90% risk reduction (OR 0.10, 95% CI 0.02 to 0.18; $P=0.0001$), and had higher post-procedural creatinine clearance (80 ± 25 vs. 65 ± 19 mL/min; $P<0.0001$). Multivariate analysis showed that statin pre-treatment was an important predictor of decreased incidence of CIN (OR 0.10, 95% CI 0.02 to 0.18, $p=0.0001$) and this benefit was maintained in all subgroups, except for the patients with a baseline creatinine clearance < 40 ml/min (OR 0.42, 95% CI 0.1 to 2.8; $P=0.37$), probably related to the multiple non reversible mechanisms of advanced renal dysfunction. At four years clinical follow-up, the occurrence of cardiovascular events (cardiac death, MI, or repeat coronary revascularization) was significantly reduced in patients receiving statins at the time of procedure (6% vs 36%, $p<0.0001$). Actuarial life-table analysis (Figure 5) showed that 4-year event free survival was obviously best in patients treated with statins and no CIN (95%, $p\leq 0.015$ vs other groups) and worst in statin naïve patients with CIN (53%, $p\leq 0.018$ vs other groups); interestingly, survival of statin-treated patients who developed CIN was similar to that of statin-naïve patients who did not develop this complication (72% vs 71%), demonstrating that prevention of CIN by statins translates into significant improved outcome at long-term follow-up.

The beneficial effect of statins on CIN prevention may be explained by multiple mechanisms. Statins could

modulate the kidney hypoperfusion after contrast media administration by a downregulation of angiotensin receptors and a decreased synthesis of endothelin^{35,36}. Furthermore, toxic damage on the tubular cells by oxygen free radicals and proinflammatory cytokines may be decreased by anti-inflammatory effects of statins that inhibit the nuclear factor κ B, a transcription factor of genes encoding for proinflammatory molecules³⁷. However, pathogenesis of late adverse cardiac events in patients undergoing successful PCI that developed CIN is unclear and also the mechanisms of statins on long-term improved outcome. The occurrence of renal dysfunction after contrast media administration may represent a marker of multisystem atherosclerosis responsible for late cardiac events and statins could prevent these by the same mechanisms that exerted during PCI.

Statins and prevention of atrial fibrillation after elective cardiac surgery

Atrial fibrillation is frequent after cardiac surgery occurring in 10% to 65% of patients. It is related to an increased incidence of postoperative complications and prolonged hospitalization after surgery. Recently, inflammatory mechanisms have been discovered to be involved in the pathogenesis of this arrhythmia. Several drug therapies

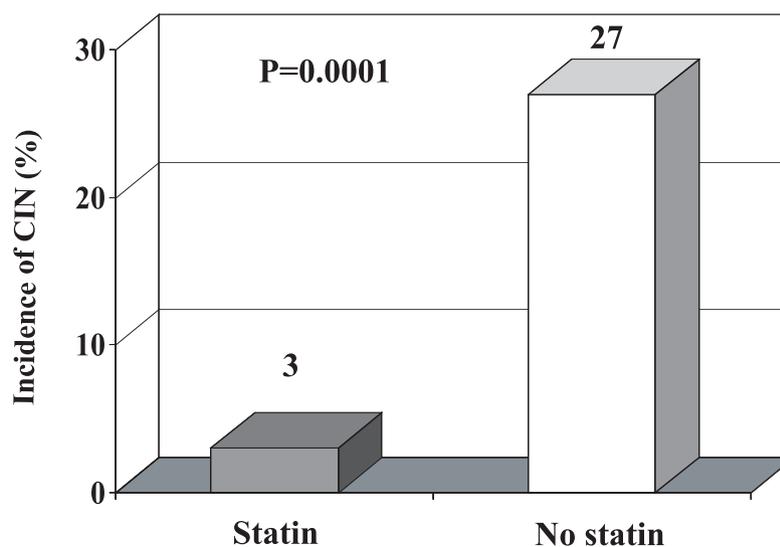


Figure 4 – Statin and contrast induced nephropathy. Incidence of contrast induced nephropathy in patients with versus without statins at the time of procedure (CIN=contrast induced nephropathy).

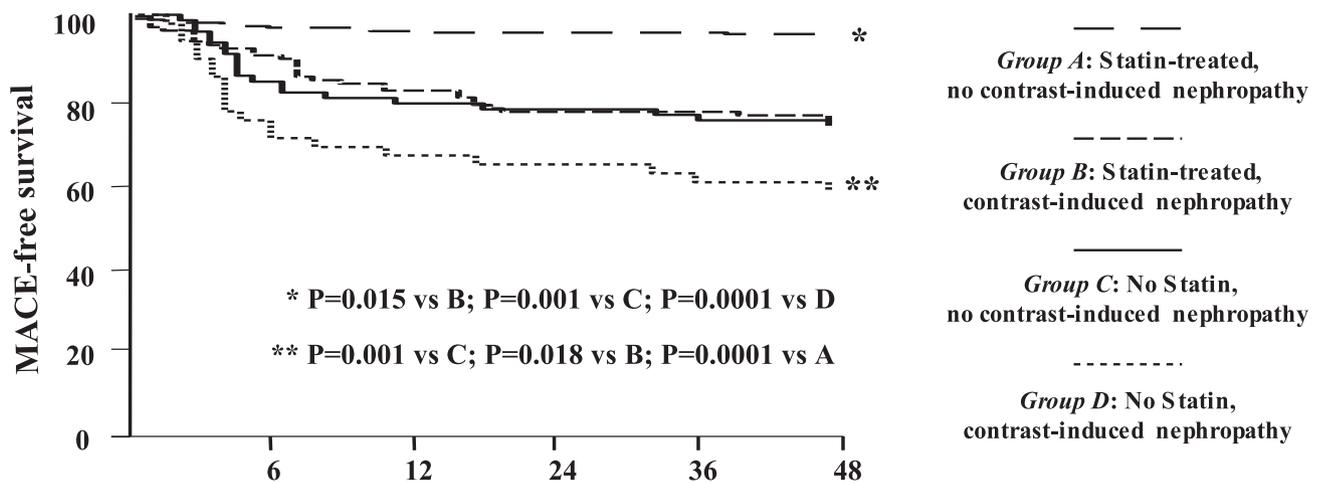


Figure 5 – Statins and contrast induced nephropathy. Event-free survival according to statin pre-treatment and CIN in group A (statin pre-treatment, no CIN), B (statin pre-treatment, CIN), C (no statin, no CIN), and D (no statin, CIN) (CIN=contrast induced nephropathy; MACE=major adverse cardiac events).

and perioperative techniques have been proposed to prevent episodes of atrial fibrillation after cardiac surgery. The ARMYDA 3 (Atorvastatin for Reduction of MYocardial Dysrhythmia After cardiac surgery) Study is the first randomized, placebo-controlled trial that demonstrated in 323 consecutive patients a reduction in the incidence of atrial fibrillation after pre-treatment with 40 mg of atorvastatin, starting 7 days before elective cardiac surgery with cardiopulmonary bypass³⁸. Postoperative atrial fibrillation occurred in 35 (35%) of 101 patients in the atorvastatin arm versus 56 (57%) of 99 patients in the placebo arm (p=0.003) (Figure 6). Accordingly, mean postoperative hospital stay was significantly lower in the atorvastatin versus placebo group (6.3±1.2 versus 6.9±1.4 days; p=0.001). Multivariate analysis revealed that treatment with atorvastatin was associated with a 61% risk reduction of atrial fibrillation after cardiac surgery (OR 0.39, 95% CI 0.18 to 0.85, p=0.017) and postoperative peak CRP levels above the median value were associated with higher risk. Use of atorvastatin, as preventive strategy for post-operative atrial fibrillation, may have important clinical and economic relevance.

Conclusions

Periprocedural myocardial infarction and contrast induced nephropathy after percutaneous coronary intervention are associated with worse outcome on long term fol-

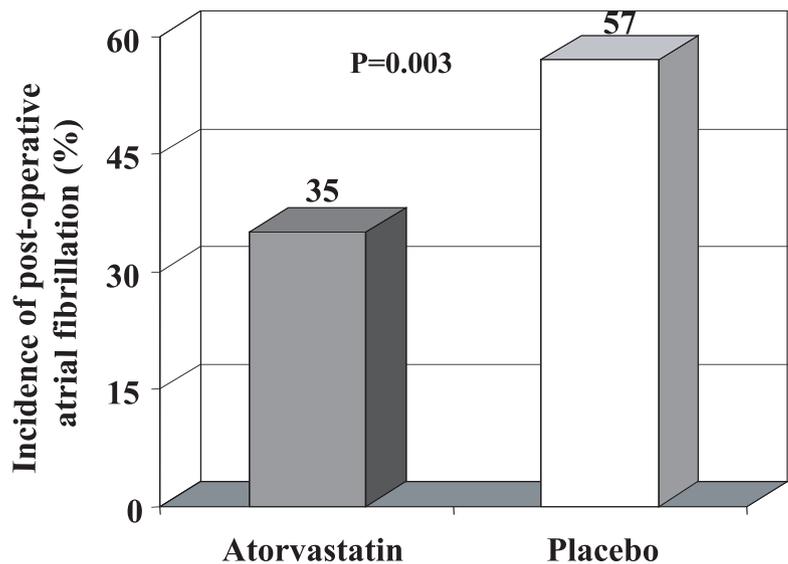


Figure 6 – ARMYDA 3. Incidence of post-operative atrial fibrillation in patients pretreated with atorvastatin versus placebo group.

low-up. Pretreatment with statin before elective PCI reduces periprocedural myocardial injury in patients with stable angina. Short-term statin administration before coronary stenting improves clinical outcome also in patients with acute coronary syndromes. Moreover, patients receiving statins at the time of procedure show a significantly reduced incidence of contrast-induced nephropathy. Finally, statins pre-treatment prevents occurrence of atrial fibrillation in patients undergoing elective bypass surgery. All these evidences strongly support “upstream” utilization of statins as adjuvant pharmacological therapy before percutaneous coronary revascularization and cardiac surgery, thereby significantly influencing clinical practice.

References

- Scandinavian Simvastatin Survival Study (4S). Randomised trial of cholesterol lowering in 4444 patients with coronary heart disease. *Lancet* 1994;344:1383-1389.
- Sacks FM, Pfeffer MA, Moye LA, Rouleau JL, Rutherford JD, Cole TG, Brown L, Warnica JW, Arnold JM, Wun CC, Davis BR, Braunwald E. The effect of pravastatin on coronary events after myocardial infarction in patients with average cholesterol levels: cholesterol and recurrent events trial investigators. *N Engl J Med* 1996;335:1001-1009.
- Long-term Intervention with Pravastatin in Ischaemic Disease (LIPID) study group. Prevention of cardiovascular events and death with pravastatin in patients with coronary heart disease and a broad range of initial cholesterol levels. *N Engl J Med* 1998;339:1349-1357.
- Davignon J. Beneficial cardiovascular pleiotropic effects of statins. *Circulation* 2004;109:39-43.
- Morikawa S, Takabe W, Mataka C, Kanke T, Itoh T, Wada Y, Izumi A, Saito Y, Hamakubo T, Kodama T. The effect of statins on mRNA levels of genes related to inflammation, coagulation, and vascular constriction in HUVEC. Human umbilical vein endothelial cells. *J Atheroscler Thromb* 2002;9:178-183.
- Ioannidis JPA, Karvouni E, Katritis DG. Mortality risk conferred by small elevations of creatinine kinase-MB isoenzyme after percutaneous intervention. *J Am Coll Cardiol*. 2003;42:1406-1411.
- Turer AT, Mahaffey KW, Gallup D, Weaver WD, Christenson RH, Every NR, Ohman EM. Enzyme estimates of infarct size correlate with functional and clinical outcomes in the setting of ST-segment elevation myocardial infarction. *Curr Control Trials, Cardiovasc Med* 2005;6:12-15.
- Abdelmeguid AE, Topol EJ, Whitlow PL, Sapp SK, Ellis SG. Significance of mild transient release of creatine-kinase MB fraction after percutaneous coronary interventions. *Circulation* 1996;94:1528-1536.
- Brener SJ, Ellis SG, Schneider J, Topol EJ. Frequency and long-term impact of myonecrosis after coronary stenting. *Eur Heart J*. 2002;23:869-876.
- Kurz DJ, Naegeli B, Bertel O. A double-blind, randomized study of the effect of immediate intravenous nitroglycerin on the incidence of post-procedural chest pain and minor myocardial necrosis after elective coronary stenting. *Am Heart J*. 2000;139:35-43.
- Wang FW, Osman A, Otero J, Stouffer GA, Waxman S, Afzal A, Anzuini A, Uretsky BF. Distal myocardial protection during percutaneous coronary intervention with an intracoronary beta-blocker. *Circulation* 2003;107:2914-2919.
- The EPISTENT Investigators. Randomised placebo-controlled and balloon-angioplasty-controlled trial to assess safety of coronary stenting with use of platelet glycoprotein-IIb/IIIa blockade. *Lancet* 1998;352:87-92.
- Desmet WJ, Dens J, Coussement P, Van de Werf F. Does adenosine prevent myocardial micronecrosis following percutaneous coronary intervention? The ADELIN pilot trial. *Heart* 2002;88:293-295.
- Herrmann J, Lerman A, Baumgart D, Volbracht L, Schulz R, von Birgelen C, Haude M, Heusch G, Erbel R. Preprocedural statin medication reduces the extent of periprocedural non-Q-wave myocardial infarction. *Circulation* 2002;106:2180-2183.
- Chan AW, Bhatt DL, Chew DP, Quinn MJ, Moliterno DJ, Topol EJ, Ellis SG. Early and sustained survival benefit associated with statin therapy at the time of percutaneous coronary intervention. *Circulation* 2002;105:691-696.
- Chan AW, Bhatt DL, Chew DP, Quinn MJ, Moliterno DJ, Topol EJ, Ellis SG. Relation of inflammation and benefit of statins after percutaneous intervention on frequency of periprocedural myocardial injury. *Am J Cardiol* 2004; 94:1363-1366.
- Pasceri V, Patti G, Nusca A, Pristipino C, Richichi G, Di Sciascio G; ARMYDA Investigators. Randomized trial of atorvastatin for reduction of myocardial damage during coronary intervention: results from the ARMYDA (Atorvastatin for Reduction of MYocardial Damage during Angioplasty) study. *Circulation* 2004;110:674-678.
- Schwartz GG, Olsson AG, Ezekowitz MD, Ganz P, Oliver MF, Waters D, Zeiher A, Chaitman BR, Leslie S, Stern T; Myocardial Ischemia Reduction with Aggressive Cholesterol Lowering (MIRACL) Study Investigators. Effects of atorvastatin on early recurrent ischemic events in acute coronary syndromes. The MIRACL study: a randomized controlled trial. *JAMA* 2001;285:1711-1718.
- Briel M, Schwartz GG, Thompson PL, de Lemos JA, Blazing MA, van Es GA, Kayikcioglu M, Arntz HR, den Hartog FR, Veeger NJ, Colivicchi F, Dupuis J, Okazaki S, Wright RS, Bucher HC, Nordmann AJ. Effects of early treatment with statins on short-term clinical outcomes in acute coronary syndromes: a meta-analysis of randomized controlled trials. *JAMA* 2006;295:2046-2056.
- Chang SM, Yazbek N, Lakkis NM. Use of statins prior to percutaneous coronary intervention reduces myonecrosis and improves clinical outcome. *Catheter Cardiovasc Interv* 2004;62:193-197.
- Patti G, Pasceri V, Colonna G, Miglionico M, Fischetti D, Sardella G, Montinaro A, Di Sciascio G. Atorvastatin pretreatment improves outcomes in patients with acute coronary syndromes undergoing early percutaneous coronary intervention: results of the ARMYDA-ACS randomized trial. *J Am Coll Cardiol* 2007;49:1272-1278.
- Wassmann S, Faul A, Hennen B, Scheller B, Böhm M, Nickenig G. Rapid effect of 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme a reductase inhibition on coronary endothelial function. *Circ Res* 2003;93:e98-103.
- Hinoi T, Matsuo S, Tadehara F, Tsujiyama S, Yamakido M. Acute effect of atorvastatin on coronary circulation measured by transthoracic Doppler echocardiography in patients without coronary artery disease by angiography. *Am J Cardiol* 2005;96:89-91.
- Bellosta S, Via D, Canavesi M, Pfister P, Fumagalli R, Paoletti R, Bernini F. HMG-CoA reductase inhibitors reduce MMP-9 secretion by macrophages. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1998;18:1671-1678.
- Sanguigni V, Pignatelli P, Lenti L, Ferro D, Bellia A, Carnevale R, Tesaro M, Sorge R, Lauro R, Violi F. Short-term treatment with atorvastatin reduces platelet CD40 ligand and thrombin generation in hypercholesterolemic patients. *Circulation* 2005;111:412-419.
- Kinlay S, Schwartz GG, Olsson AG, Rifai N, Leslie SJ, Sasiela WJ, Szarek M, Libby P, Ganz P; Myocardial Ischemia Reduction with Aggressive Cholesterol Lowering Study Investigators. High-dose atorvastatin enhances the decline in inflammatory markers in patients with acute coronary syndromes in the MIRACL study. *Circulation* 2003;108:1560-1566.
- Xenos ES, Stevens SL, Freeman MB, Cassada DC, Goldman MH. Nitric oxide mediates the effect of fluvastatin on intercellular adhesion molecule-1 and platelet endothelial cell adhesion molecule-1 expression on human endothelial cells. *Ann Vasc Surg* 2005;19:386-392.
- Patti G, Chello M, Pasceri V, Colonna D, Nusca A, Miglionico M, D'Ambrosio A, Covino E, Di Sciascio G. Protection from procedu-

- ral myocardial injury by atorvastatin is associated with lower levels of adhesion molecules after percutaneous coronary intervention: results from the ARMYDA-CAMs (Atorvastatin for Reduction of MYocardial Damage during Angioplasty-Cell Adhesion Molecules) substudy. *J Am Coll Cardiol* 2006;48:1560-1566.
29. Gruberg L, Mintz GS, Mehran R, Gangas G, Lansky AJ, Kent KM, Pichard AD, Satler LF, Leon MB. The prognostic implications of further renal function deterioration within 48 h of interventional coronary procedures in patients with pre-existent chronic renal insufficiency. *JACC* 2000;36:1542-1548.
 30. Rihal CS, Textor SC, Grill DE, Berger PB, Ting HH, Best PJ, Singh M, Bell MR, Barsness GW, Mathew V, Garratt KN, Holmes DR Jr. Incidence and prognostic importance of acute renal failure after percutaneous coronary intervention. *Circulation* 2002;105:2259-2264.
 31. Lindsay J, Apple S, Pinnow EE, Gevorkian N, Gruberg L, Satler LF, Pichard AD, Kent KM, Suddath W, Waksman R. Percutaneous coronary intervention-associated nephropathy foreshadows increased risk of late adverse events in patients with normal baseline serum creatinine. *Cathet Cardiovasc Intervent* 2003;59:338-343.
 32. Murphy SW, Barrett BJ, Parfrey PS. Contrast nephropathy. *J Am Soc Nephrol* 2000;11:177-182.
 33. Khanal S, Attallah N, Smith DE, Kline-Rogers E, Share D, O'Donnell MJ, Moscucci M. Statin therapy reduces contrast-induced nephropathy: an analysis of contemporary percutaneous interventions. *Am J Medicine* 2005;118:843-849.
 34. Patti G, Nusca A, Chello M, Pasceri V, D'Ambrosio A, Vetrotte GW, Di Sciascio G. Usefulness of statin pretreatment to prevent contrast-induced nephropathy and to improve long-term outcome in patients undergoing percutaneous coronary intervention. *Am J Cardiol* 2008;101:279-285.
 35. Ichiki T, Takeda K, Tokunou T, Iino N, Egashira K, Shimokawa H, Hirano K, Kanaide H, Takeshita A. Downregulation of angiotensin II type 1 receptor by hydrophobic 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase inhibitors in vascular smooth muscle cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2001;21:1896-1901.
 36. Hernández-Perera O, Pérez-Sala D, Navarro-Antolín J, Sánchez-Pascuala R, Hernández G, Díaz C, Lamas S. Effects of the 3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA reductase inhibitors, atorvastatin and simvastatin, on the expression of endothelin-1 and endothelial nitric oxide synthase in vascular endothelial cells. *J Clin Invest* 1998;101:2711-2719.
 37. Bonetti PO, Lerman LO, Napoli C, Lerman A. Statin effects beyond lipid lowering-are they clinically relevant? *Eur Heart J* 2003;24:225-248.
 38. Patti G, Chello M, Candura D, Pasceri V, D'Ambrosio A, Covino E, Di Sciascio G. Randomized trial of atorvastatin for reduction of postoperative atrial fibrillation in patients undergoing cardiac surgery: results of the ARMYDA-3 (Atorvastatin for Reduction of MYocardial Dysrhythmia After cardiac surgery) study. *Circulation* 2006;114:1455-61.

Highlights in Diabetologia 2007

Ultimi Aggiornamenti in Diabetologia 2007

P POZZILLI, CHIARA MORETTI

Area di Endocrinologia e Malattie del Metabolismo. Università Campus Bio-Medico, Roma

Background The thiazolidinediones *pioglitazone* and *rosiglitazone* are both widely used to treat patients with type 2 diabetes mellitus thanks to their efficacy in reducing blood glucose levels and glycated hemoglobin levels; unfortunately, the use of thiazolidinediones in individuals with diabetes mellitus and heart failure is limited because of their propensity to cause fluid retention. Recent reports have indicated serious adverse cardiovascular events mainly connected to the rosiglitazone use and so research is now underway to clarify the mechanisms associated with these potential side effects in patients with type 2 diabetes, a disease that has reached now an epidemic.

Estimates show that there will be some 246 million people with diabetes in 2007 and if action is not taken to put preventive measures in place, some 380 million people are expected to have diabetes in 2025.

Diabetes epidemic is real and it cannot be ignored. Culturally appropriate measures need to be adopted in order to reduce the enormous personal suffering and economic burden that grows with this epidemic. The cost of inaction is clear to all and unacceptable.

Index Terms Rosiglitazone, Pioglitazone, Diabetes, Cardiovascular complications, Myocardial Infarction, Heart failure

Premessa I tiazolidinedioni *pioglitazone* e *rosiglitazone* sono entrambi diffusamente utilizzati nel trattamento dei pazienti con diabete mellito di tipo 2 grazie alla loro efficacia nel ridurre i livelli della glicemia e della emoglobina glicata; sfortunatamente l'uso dei tiazolidinedioni nei pazienti con diabete mellito e insufficienza cardiaca è limitato a causa della tendenza di questi farmaci a causare ritenzione di liquidi.

Recenti studi hanno indicato la presenza di effetti avversi cardiovascolari principalmente legati all'utilizzo del *rosiglitazone* e dunque la ricerca è ora impegnata a chiarire i meccanismi associati a questi potenziali effetti collaterali nei pazienti con diabete di tipo 2, una patologia che al giorno d'oggi ha assunto le caratteristiche di una vera e propria epidemia.

Stime dimostrano che ci saranno circa 246 milioni di persone con diabete nel 2007 e, se non saranno messe in atto misure preventive, ci si aspetta che nel 2025 circa 380 milioni di persone svilupperanno il diabete.

L'epidemia del diabete è reale e non può essere ignorata. È necessario adottare adeguati provvedimenti per tentare di ridurre l'enorme sofferenza personale e l'onere economico che crescono con questa epidemia.

Parole Indice *Pioglitazone, Rosiglitazone, Diabete, Complicazioni cardiovascolari, Infarto del miocardio*

Il lavoro spetta in pari misura agli autori
All authors participated equally in this work

Indirizzo per la corrispondenza
Address for correspondence

Professor Paolo Pozzilli
Area di Endocrinologia e Malattie del Metabolismo
Università Campus Bio-Medico di Roma
Via Álvaro del Portillo, 21
00128 Roma
p.pozzilli@unicampus.it

Thiazolidinediones: effects on the cardiovascular system

Thiazolidinediones (TZDs), such as *trogliptazone* -removed from the market some years ago because of toxic effects in the liver-, *rosiglitazone*, *pioglitazone*, etc., are peroxisome proliferator-activated receptor-gamma (PPAR- γ) agonists.

PPAR- γ are a group of nuclear receptors that serve as transcription factors for genes fundamental to glucose, lipid and bone metabolism. Their activation by TZDs improves glucose-lowering and insulin-sensitizing effects by promoting fatty acid uptake into adipose tissue, increasing production of adiponectin and reducing levels of inflammatory mediators such as tumour necrosis factor-alpha (TNF-alpha), plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) and interleukin-6 (IL-6).

The thiazolidinediones *pioglitazone* and *rosiglitazone* are both widely used to treat patients with type 2 diabetes mellitus thanks to their efficacy in reducing blood glucose levels and glycated hemoglobin levels (1); unfortunately, the use of thiazolidinediones in individuals with diabetes mellitus and heart failure is limited because of their propensity to cause fluid retention. The underlying mechanisms of fluid retention appear to be a dose-related class effect, exacerbated by combination therapy with insulin(2).

Recent reports have indicated serious adverse cardiovascular events mainly connected to the *rosiglitazone* use and so research is now underway to clarify the mechanisms associated with these potential side effects in patients with type 2 diabetes, a disease that has reached now an epidemic.

On May 21, 2007, Nissen and Wolski published on New England Journal of Medicine a meta-analysis (3) of *rosiglitazone* trials to determine the associated cardiovascular risk. They highlighted the finding that *rosiglitazone* is associated with an increase of Myocardial Infarction (MI) and deaths due to cardiovascular causes compared with the comparison treatment (placebo or combination therapy with metformin and sulfonylurea).

After this publication a debate broke out in the scientific community about the real risk of MI linked to *rosiglitazone* long term use and possible preventive measures.

On May 23, 2007 the EMEA published a press release(4) in which the results of NEJM meta-analysis were highlighted; on August 14, 2007, the FDA added a boxed warning on the *rosiglitazone* label that states "Thiazolidinediones, including *rosiglitazone*, cause or exacerbate congestive heart failure in some patients"; "Avandia is not recommended in patients with symptomatic heart failure. Initiation of Avandia in patients with established NYHA Class III or IV heart failure is contraindicated"(5).

Different studies have been conducted which address the question of the risks of congestive heart failure and cardiovascular death in patients with type 2 diabetes given *rosiglitazone*.

An important meta-analysis was published on JAMA in September 2007 by Singh and colleagues to "systematically review the long-term cardiovascular risks of *rosiglitazone*, including myocardial infarction, heart failure, and cardiovascular mortality"(6).

The study suggests that *rosiglitazone* significantly increases the risk of MI ($p=0.02$) and heart failure ($p=0.001$) compared with control therapy, but it had no significant increase in risk of cardiovascular mortality (Figure 1).

Studies of this nature have been conducted to evaluate the effect of another component of this pharmacological class -*pioglitazone*- on ischemic cardiovascular events. It has been studied in a prospective randomized trial of cardiovascular outcomes called Prospective Pioglitazone Clinical Trial in Macrovascular Events (PROACTIVE)(7) and in other trials(8), with the result that *pioglitazone* is associated with a significantly lower risk of death, myocardial infarction, or stroke among a diverse population of patients with diabetes. Serious heart failure is increased by *pioglitazone*, although without an associated increase in mortality.

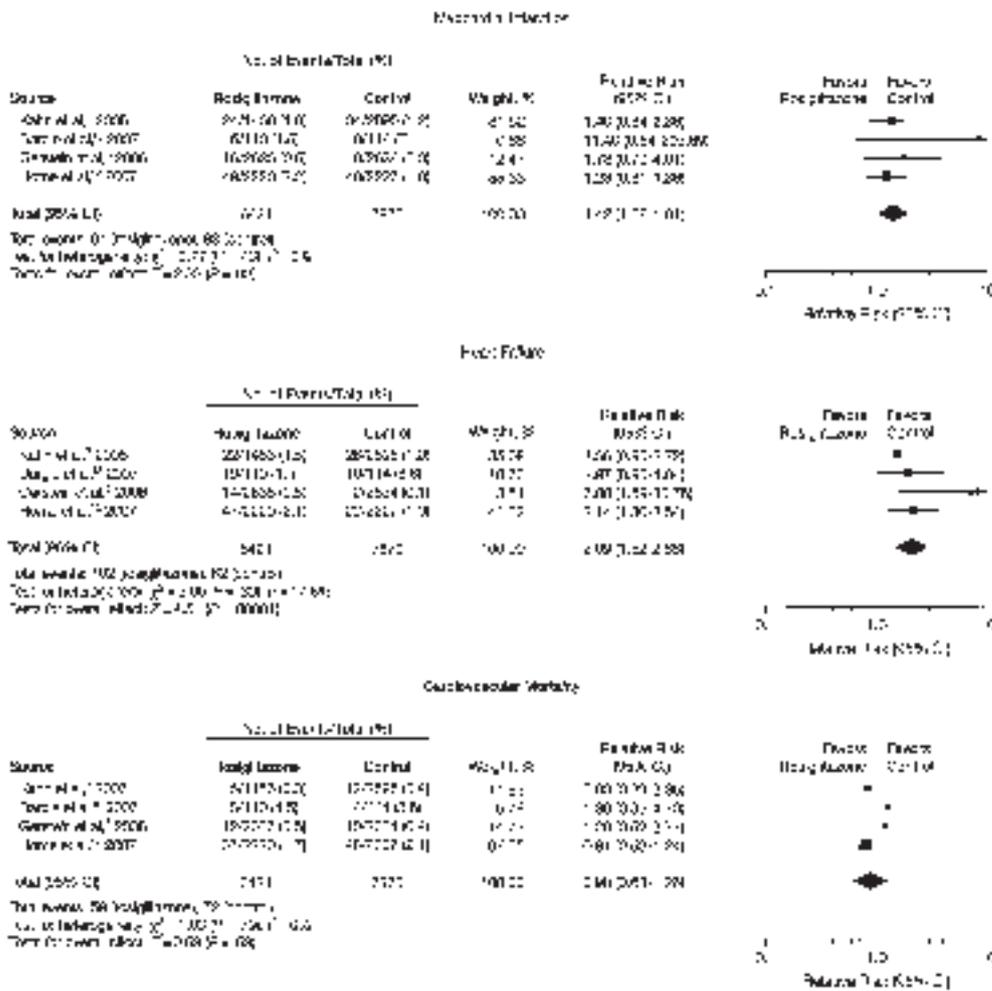
So the two TZDs currently marketed, although both representing the same class of drugs, have strikingly different profiles in their effects on ischemic cardiovascular outcomes.

This different action on cardiovascular system could be partly related to difference in effects on lipids and lipoprotein particles and subclass (9,10).

Many objections have been made to these studies from several authors, especially about methods used for the analysis.

GlaxoSmithKline (producer of *rosiglitazone*) also carried out a study(11) on the association between heart failure risk and *rosiglitazone* use and confirmed it; however GlaxoSmithKline responded to JAMA articles in this way: "Conclusions drawn from the most recent meta-analyses do not confirm a difference in the safety profile of Avandia (*rosiglitazone*) and Actos (*pioglitazone*) and reflect limitations that are common to all meta-analyses. The JAMA article offers no new information on the safety of *rosiglitazone* and the conclusions of these meta-analyses conflict with the wealth of accumulated data on *rosiglitazone* that show no difference in the ischemic cardiovascular effects of *rosiglitazone* versus other oral anti-diabetic medicines, including *pioglitazone*. Importantly, only *rosiglitazone* has been shown to control blood sugar for up to five years and to be 32% more effective than metformin and 63% more effective than glibenclamide in maintaining blood sugar control over the long-term. So these analyses do not yield data robust enough to guide doctors in selecting appropriate diabetes treatments for their patients."

In conclusion, the effective role played by these drugs is unclear; all these findings suggest the need for large-scale prospective trials to investigate the safety and potential benefits of thiazolidinediones use in patients with dia-



CI indicates confidence interval.

Figure 1. Meta-analysis of randomized controlled trials of rosiglitazone vs control for myocardial infarction, heart failure, and cardiovascular mortality (6)

betes mellitus and heart failure to re-evaluate whether rosiglitazone should be allowed to remain on the market.

Until more precise estimates of the cardiovascular risk of this treatment can be delineated in patients with diabetes, the evidences of the meta-analysis must be taken seriously and patients and providers should carefully consider the potential risks of rosiglitazone in the treatment of type 2 diabetes, a disease which has increased in prevalence all over the world.

Diabetes epidemic

Diabetes mellitus is a group of metabolic diseases characterized by hyperglycemia resulting from defects in insulin secretion, insulin action, or both. It is classified on the basis of aetiology and clinical presentation of the disorder into four types:

– type 1 diabetes, that is usually diagnosed in children or young adults, but can develop at any age;

– type 2 diabetes, that represents about 90% of all cases of diabetes;

– gestational diabetes mellitus (GDM);

– other specific types(12).

Chronic hyperglycemia is associated with the long-term damage, dysfunction, and failure of various organs, especially the eyes, kidneys, nerves, heart, and blood vessels(13). These diabetic complications account for much of the social and financial burden of diabetes.

Diabetes is certain to be one of the most challenging health problems in the 21st century. It can now be found in almost every population in the world and epidemiological evidence suggests that, without effective prevention and control programmes, it is likely to continue to increase globally. The estimated increase is of 110%.

Estimates show that there will be some 246 million people with diabetes in 2007 and if action is not taken to put preventive measures in place, some 380 million people are expected to have diabetes in 2025 (Figure 2). This would be more than the current adult population of the African Region(14).

The Western Pacific Region with 67 million and the European Region with 53 million will have the highest number of people with diabetes, the greatest number of these persons are 40-59 years old, and the estimates for both 2007 and 2025 showed little gender difference among them (for 2007 there are expected to be two million more women than men with diabetes, with this difference expected to be about four million by 2025)(14).

Moreover it is the fourth or fifth leading cause of death in most developed countries and there is substantial evidence that it has reached epidemic proportions in many developing and newly industrialized nations. It is estimated

that 3.8 million men and women will die from diabetes in 2007, more than 6% of total world mortality.

Diabetes epidemic is real and it cannot be ignored.

The growth of the epidemic almost exactly mirrors the growth in social polarization and social inequality, wrong life-styles, education, aging and every single sphere of social life, like globalization and urbanization.

There are numerous lessons to be learnt from the growing diabetes epidemic, over and above the immediate medical emergency.

Prevention of diabetes appears to be the logical option for curbing this epidemic(15); many studies have shown that individuals at high risk of developing diabetes (those with impaired glucose tolerance) can be given a wide variety of interventions that significantly delay, and sometimes prevent, the onset of diabetes. An intensive lifestyle modification program has been shown to be very effective and use of the pharmacologic agents has also been shown to decrease incident diabetes to various degrees.

Diabetes is no longer an epidemic that can be ignored. Culturally appropriate measures need to be adopted in order to reduce the enormous personal suffering and economic burden that grows with this epidemic. The cost of inaction is clear to all and unacceptable.

| | 2007 | 2025 |
|--|------|------|
| Total world population (billions) | 6.6 | 7.9 |
| Adult population (age 20-79, billions) | 4.1 | 5.2 |
| Number of people with diabetes (millions) | 246 | 380 |

Figure 2. Data from the International Diabetes Federation 2007

References

1. Kely AS, Bank AJ. The cardiovascular effects of the thiazolidinediones: a review of the clinical data. *J Diabetes Complications* 2007; 21 (5):326-34.
2. Macfarlane DP, Fisher M. Thiazolidinediones in patients with diabetes mellitus and heart failure: implications of emerging data. *Am J Cardiovasc Drug*, 2006;6(5):297-304.
3. Nissen SE, Wolski K Effect of rosiglitazone on the risk of myocardial infarction and death from cardiovascular causes. *N Engl J Med* 2007; 356:2457-71.
4. <http://www.emea.europa.eu/>
5. GlaxoSmithKline Avandia rosiglitazone maleate (package insert). http://www.fda.gov/cder/drug/infopage/rosiglitazone/rosiglitazone_label20070814.pdf. Accessed August 14,2007.
6. Sonal S, Yoon K.L, Curt D.F. Long-term risk of cardiovascular events with rosiglitazone. A meta-analysis. *JAMA*,2007; 298(10):1189-1195.
7. Dormandy JA, Charbonnel B, Eckland DJ, et al. Secondary prevention of macrovascular events in patients with type 2 diabetes in the PROactive study (PROspective PioglitAzone Clinical Trial in macroVascular Events): a randomised controlled trial. *Lancet* 2005; 366:1279-89.
8. Lincoff M, Wolski K, Nicholls S, Nissen S. Pioglitazone and risk of cardiovascular events in patients with type 2 diabetes mellitus. A meta-analysis of randomized trials. *JAMA*,2007; 298(10):1180-1188.
9. Goldberg RB, Kendall DM, Deeg MA, et al. A comparison of lipid and glycemic effects of pioglitazone and rosiglitazone in patients with type 2 diabetes and dyslipidemia. *Diabetes Care*. 2005; 28 (7):1547-1554.
10. Deeg MA, Buse JB, Goldberg RB, et al; GLAI Study Investigators. Pioglitazone and rosiglitazone have different effects on serum lipoprotein particle concentrations and sizes in patients with type 2 diabetes and dyslipidemia (published online ahead of print June 26, 2007). *Diabetes Care*. doi:10.2337/dc06-1903.
11. GlaxoSmithKline. Study no. ZM2005/00181/01: Avandia Cardiovascular Event Modeling Project.
12. Report of the Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. *Diabetes Care* 1997; 20:1183-97.
13. American Diabetes Association. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care* 2006; 29:S43-S48.
14. *Diabetes Atlas*, third edition, IDF.
15. Farag A, Karam J, Nicasio J, McFarlane SI. Prevention of type 2 diabetes: an update. *Curr Diab Rep*. 2007 Jun;7(3):200-7.

Research Highlights on Molecular Targeted Therapies in Haematology. Part I: Compounds Targeting Chromosomal Translocation Products or Signalling Pathways

*Ultimi Aggiornamenti sulla Ricerca In Terapie Molecolari in Ematologia. Parte 1°:
Composti Sviluppate per Colpire Prodotti di Traslocazioni Cromosomiche o Vie di
Trasduzione del Segnale*

OM OLIMPIERI, VALENTINA SUMMA, G AVVISATI

Ematologia. Università Campus Bio-Medico di Roma

Background In the last few years a novel, revolutionary paradigm of drug design and a new concept of antineoplastic therapy are getting a foothold in oncological and haematological practice under the name of *targeted therapy*.

An anti-cancer agent can be defined as “targeted” when it “kills cancer cells by targeting key molecules involved in cancer cell growth”. This particular mechanism of action allows these antineoplastic agents to damage the neoplastic clone with negligible toxicity on normal tissues. Many new potential targets and related chemotherapeutic agents have been presently identified; we will take a closer look on some of the most important among them. In particular, we will briefly describe the cellular pathways that, when altered, can be responsible for neoplastic proliferation (chromosomal translocation products, signalling pathways, intracellular protein degradation and apoptosis, cell cycle control, cellular surface molecules), the mechanism of action and the clinical applications of the most promising compounds specifically developed to contrast these alterations.

This review will be divided in two parts; in this first part we will analyse those compounds targeting the chromosomal translocation products BCR/ABL and PML/RAR α (such as Imatinib, Dasatinib, Nilotinib, all-*trans* retinoic acid, arsenic trioxide), the signalling pathways (in particular, Ras and Farnesyltransferase inhibitors Tipifarnib and Lonafarnib) and FLT3 mutations.

Index Terms Innovative Cancer Therapies, Therapeutic Use of Antineoplastic Agents

Premessa Negli ultimi anni, sotto la denominazione di “targeted therapy”, un nuovo paradigma di sviluppo dei farmaci e un concetto diverso di terapia antineoplastica stanno rivoluzionando la pratica clinica onco-ematologica.

Un agente antineoplastico può essere definito “targeted” quando “provoca la morte delle cellule neoplastiche colpendo molecole chiave nei processi di crescita tumorale”. Un meccanismo d’azione così specifico permette a questi nuovi farmaci di danneggiare il clone cellulare neoplastico con una ridotta tossicità a carico dei tessuti normali.

Attualmente sono state identificate numerose potenziali molecole target e sono in corso di sviluppo numerosi agenti chemioterapici mirati: in questa review saranno analizzati nello specifico alcuni tra i composti più promettenti. In particolare verranno descritte brevemente le alterazioni che, frequentemente, possono essere alla base della trasformazione e proliferazione neoplastica (prodotti di traslocazioni cromosomiche, vie di trasduzione del segnale, sistemi di degradazione proteica intracellulare e apoptosi, controllo del ciclo cellulare ed espressione di molecole di superficie); verranno inoltre descritti i meccanismi di azione e le applicazioni cliniche di alcuni tra i più promettenti agenti antineoplastici di nuova generazione.

Questa review sarà divisa in due parti; in questo primo articolo analizzeremo le molecole sviluppate per colpire i prodotti di traslocazioni cromosomiche BCR/ABL e PML/RAR α (Imatinib, Dasatinib, Nilotinib, l’acido *trans*-retinoico, triossido di arsenico), i farmaci che interferiscono con le vie di trasduzione del segnale (in particolare Ras e gli inibitori della farnesiltransferasi Tipifarnib e Lonafarnib) e i composti capaci di contrastare la mutazione a carico di FLT3.

Parole Indice Terapie innovative in Oncologia, Uso terapeutico di Antineoplastici

Il lavoro spetta in pari misura a tutti gli autori
All authors participated equally in this work

Indirizzo per la corrispondenza
Address for correspondence

Dott. Odoardo Maria Olimpieri
Ematologia - Università Campus Bio-Medico di Roma
Via Álvaro del Portillo, 21
00128 Roma - Italy

Introduction

Since the development of the nitrogen mustard derivatives from chemical warfare agents during World War I, cytotoxic anticancer therapy is based on the ability of chemotherapeutic drugs to disrupt the mechanisms implicated in tumor growth, that from purine and pyrimidine synthesis lead to incorporation of deoxyribonucleotides into DNA during the S phase of cell-cycle and, subsequently, to proteins formation and the organization of the mitotic spindle.

Therefore, cytotoxic anticancer agents are traditionally divided into categories based on cell-cycle specificity and mechanism of action, such as alkylating agents, antimicrotubule agents, antimetabolites, inhibitors of topoisomerases and platinum analogs².

The efficacy and specificity of cytotoxic drugs depend on the reduced ability of neoplastic cells, compared with normal stem cells, to repair drugs induced damages on DNA and to overcome mitotic blocks³; therefore, their pharmacological action is independent of the oncogenetic alterations that underlie different malignancies and differentiate neoplastic from normal cells; as a consequence tumor sensitivity to any single drug is mainly due to the particular mechanisms of resistance it has developed, while its pathogenetic alterations play a minor role.

From these considerations, it is obvious that the therapeutic index of classical cytotoxic agents is very narrow, and a temporary or definitive interruption of treatment due to severe toxicity is a common occurrence in daily clinical practice.

However, in the last few years a novel paradigm of drug design and a new concept of antineoplastic therapy is getting a foothold in oncologic and hematologic practice under the name of *targeted therapy*.

According to the NCI Dictionary of Cancer Terms an anti-cancer chemotherapeutic agent can be defined *targeted* when it “kills cancer cells by targeting key molecules involved in cancer cell growth”.

This definition implies that targeted drugs are specifically developed to disrupt critical molecular pathways who give a neoplastic clone growth or survival advantage compared with normal stem cells, therefore their action is largely predictable and their toxicity on normal tissues is negligible in respect to old cytotoxic agents.

The first and till now the more successful targets for anti-neoplastic compounds have been cancer specific chimeric proteins, such as BCR-ABL and PML/RAR α , whose role in the pathogenesis of chronic myelogenous leukaemia and acute promyelocytic leukaemia has been deeply investigated and described. Imatinib and all-*trans* retinoic acid have revolutionised all the previous established therapeutic paradigms in chronic and acute myeloid leukaemia, leading to improved event free and overall survival in once fatal diseases.

Our deeper understanding of many hematologic malignancies and the constant improving in pharmaceutical development techniques and bio-engineering have pointed out many new potential targets in anticancer therapy involved in several cellular processes, from intracellular protein degradation to cell-receptors signalling and cellular cycle control.

These compounds may have as target:

- a) Chromosomal translocation products
- b) Signalling pathways
- c) Intracellular protein degradation and apoptosis
- d) Cell cycle control
- e) Cellular surface molecules

To facilitate the readers, the review will be divided in two parts: Part I, dealing with those compounds targeting the chromosomal translocation products or the signalling pathways; Part II, dealing with those compounds targeting intracellular protein degradation and apoptosis, or cell cycle control or cellular surface molecules.

In this review we will take a closer look on some of the most important achievements of targeted therapy and will focalize our attention on the most clinically promising compounds by now under trial.

a) TARGET: CHROMOSOMAL TRANSLOCATIONS PRODUCTS

Tirosin-kinase inhibitors (Figure 1)

Chronic myelogenous leukemia (CML) was the first human malignancy in which a constant genetic alteration, the reciprocal translocation t(9;22) (q34;q11), was demonstrated to be the pathological cause of the disease.

In 1960 Nowel and Hungerford found that a recurrent chromosomal abnormality, visible as a shortened chromosome 22, was detectable in most patients with CML⁴.

Some years later Rowley demonstrated that this alteration, called Philadelphia chromosome, was the result of a reciprocal translocation between the long arms of chromosome 22 and chromosome 9⁵.

This genetic rearrangement causes the fusion of the ABL gene on chromosome 9 to BCR (Breakpoint Cluster Region), a gene with specific oligomerization sequences on chromosome 22, giving rise to the chimeric BCR-ABL gene⁶.

The site of breakpoint in the ABL gene is located anywhere in an area of more than 300 Kb at its 5' end, involving the alternative exons Ia and Ib; these casual differences are not significant because after post transcriptional splicing processes ABL exon a2 is always juxtaposed to the translocated BCR sequences in the resultant mRNA⁷.

Regarding BCR gene, the most common break in the DNA sequence found in patients with CML (major break-

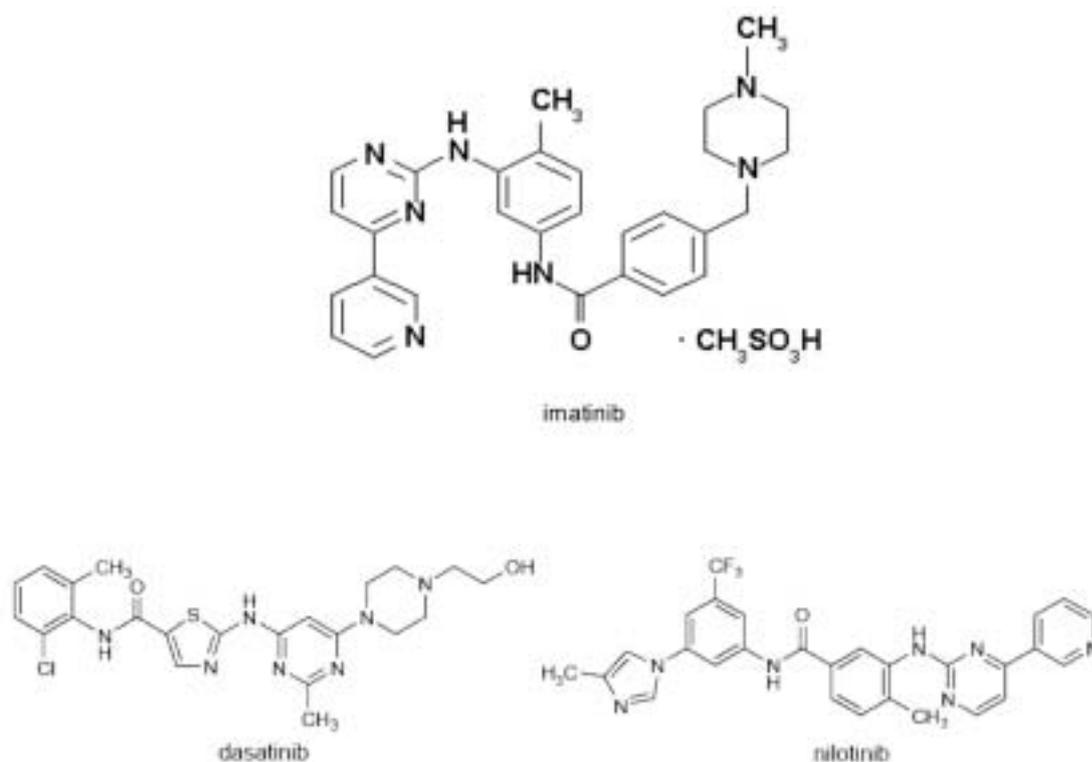


Figure 1.

point cluster region or M-BCR) occurs within a area of 5.8 Kb that includes exons 13 and 14. The fusion of BCR exon b2 or b3 (depending on the site of translocation) with ABL exon a2 gives birth to a mRNA transcribed in a 210 kDa protein named p210^{BCR-ABL} 8.

Two other variants of this chimeric protein has been identified, p190^{BCR-ABL} and p230^{BCR-ABL}.

The chimeric protein p190^{BCR-ABL} is highly associated with Acute Lymphoblastic Leukemia (ALL) Ph+ and some forms of CML with prominent monocytosis and it is the product of a different breakpoint in BCR, known as minor breakpoint cluster region (m-BCR), located further upstream between exon 1 and 2, that allows the fusion of BCR exon e1 to ABL exon a2⁹. Some studies seem to indicate that the 190KDa protein could have higher tyrosine activity than its 210KDa counterpart, which may explain why it is more frequently associated with acute phenotypes^{10,11}.

The rarer form of the BCR-ABL chimeric protein named p230^{BCR-ABL} results from a third breakpoint cluster region (μ -BCR) localized downstream to exon e19 of BCR and associated with many cases of Ph+ Chronic Neutrophilic Leukemia¹².

The specific properties of BCR-ABL depend on the functional domains inherited from the normal BCR and ABL genes¹³. The most important structure for the onco-

genic properties of BCR-ABL is the ABL-derived Src-homology 1 (SH1) domain, a non-receptor tyrosine kinase whose targets include members of the Ras family¹⁴, phosphatidylinositol-3 kinases (PI3K)/Akt¹⁵ and Jak/Stat¹⁶ signalling pathways responsible for the high rate cell proliferation and reduced apoptosis in CML. SH1 abnormal activity is the key to understand also other clinical characteristics of CML, such as leukocytosis with immature cells in peripheral blood, splenomegaly and an invariable course to an accelerated phase and eventually to blast crisis.

As a matter of fact SH1 tyrosine kinase alters cell adhesion properties modulating the expression and activity of cytoskeletal and adhesion molecule^{17,18}, reduces or eliminates cell dependence on growth factors such as SCF by increasing the production of IL-3¹⁹ and seems to have direct effects on DNA repair systems²⁰, promoting further genetic instability and disease progression by allowing the development of more aggressive and undifferentiated clones^{21,22}.

Other ABL-derived motifs are also crucial for the action of BCR-ABL chimeric protein. SH3 and SH2 are important components in protein-interaction which is indispensable for both normal ABL and BCR-ABL activation²³, while C-terminal nuclear localization signal (NLS), DNA- and actin-binding domains are critical for the tyrosin kinase's proliferative, anti-apoptotic and anti-adhesion action²⁴.

Looking at the BCR portion of the protein, the most important domain is surely the coiled-coil motif (OLI) encoded in the first exon, responsible for BCR-ABL dimerization²⁵, while a tyrosine at position 177 has a key role in the binding of adaptor proteins like Grb-2 and the N-terminal phosphoserine-phosphothreonine residues (S/TK) are required for interactions with protein who contain SH2 domains, including ABL itself²⁶.

The central event that causes a constitutively activation of the ABL-derived SH1 tyrosine kinase is the dimerization of two BCR-ABL protein dependent on the OLI domain of BCR²⁷.

Two dimers in turn can form a tetramer with a 130° angle between the coiled-coil segments whose pathological importance is still under investigation, even if it has been supposed that a tetramer may be more efficient in juxtaposing the activation domains of BCR-ABL leading to a higher oncogenic potential²⁸.

Moreover, kinases should be seen as plastic structures in a dynamic equilibrium between an open/active conformation, which enhance ATP binding and catalytic activity, and a closed/auto-inhibited state of catalytic quiescence²⁹. BCR-ABL is an example of loss of auto inhibition secondary to a genetic alteration that specifically causes a prominence of the open state over the inactivated one³⁰. This loss depends on structural changes that involve the SH2 and SH3 domains, as well as the linker region between SH2 and the catalytic domain, known as SH2-CD linker^{31,32}.

The accurate characterization of BCR-ABL action and structure has made it the primary and most attractive drug target for novel therapeutic strategies against CML, so that pharmacological research has been focalized on finding a potent and specific kinase inhibitor.

Imatinib (STI571)

In the early 80s Lyndon and Matter, working for Ciba Geigy (now Novartis), focalized their attention on protein kinases inhibitors and found that a 2-phenylaminopyrimidine derivative was able to inhibit both serine/threonine and tyrosine kinases³³.

From this starting point they further engendered the new found molecule obtaining a series of new derivatives among which the compound identified as STI 571 (now Imatinib) was the more promising³⁴.

The STI571 was tested on different cellular lines and the results exceeded expectations: it was strongly active against all ABL tyrosine kinases (c-ABL, v-ABL, BCR-ABL and TEL-ABL), with a 50% inhibitory concentration (IC₅₀) ranging between 0.1 and 0.35µM, and also against platelet-derived growth factor receptor (PDGFR) and KIT receptor³⁵.

At the same time, STI571 did not inhibit serine/threonine kinases, EGF receptor, VEGFR-1, VEGFR-2 and FGF-R1, showing a considerable specificity of action³⁶.

Its targeted action was further underlined by in vitro studies on cell lines with activated ABL signalling, while it was totally ineffective against vSRC transformed and Philadelphia negative cell-lines even at concentrations up to 10 mM and had little effect on normal haematopoiesis^{37,38}.

Further investigations conducted on animals showed similar encouraging results; therefore, in June 1998 a phase I trial enrolling CML patients in chronic phase who had failed therapy with interferon- α was started.

Even though this study was designed to determine the maximal tolerated dose of the drug, results showed that the compound was very effective against CML with 53 out of 54 patients treated who had a complete hematologic response at the end of the study. Moreover, of these responding patients, 31% had a cytogenetic response that was complete in 13%³⁹.

Furthermore, toxicity was mild and the most common side effects were nausea, diarrhea, periorbital edema and skin rashes. Myelosuppression was frequently found but it was considered the result of imatinib action on clonal myelopoiesis rather than real toxicity⁴⁰.

Following these results, in 1999 the drug was used as single agent therapy in patients affected by CML in all stages of the disease and in patients with Ph₁ positive Acute Lymphoblastic Leukemia (ALL)⁴¹. The obtained results revealed that even in CML in blast crisis and in Ph₁ positive ALL the drug was able to induce a hematologic response in 31% and 27% of patients, respectively^{42,43}.

Moreover, patients in chronic phase who had failed interferon (IFN) therapy obtained, as expected, better results and a hematologic response was noticed in virtually all patients, with a 41% rate of complete cytogenetic responses (CCR) and a 60% rate of major cytogenetic responses (MCR)⁴⁴.

Therefore several phase III randomized trials were undertaken confirming the great activity of this drug on CML.

On December 2006 the published results⁴⁵ of a five year long follow-up of 533 patients in treatment with imatinib revealed that: cumulative rates of complete hematologic remissions were 96% at 12 months and 98% at 60 months; MCR cumulative rates were 85% at 12 months and 92% at 60 months, while CCR rates were 69% and 87% at 12 and 60 months respectively.

Moreover, 82% of patients reached a stable dosage of 400 mg daily without significant toxicity. After 60 months of therapy the most common adverse events were: edema (60%), cramps (49%), diarrhea (45%), nausea (50%), rash and other skin problems (40%), fatigue (39%), joint pain (31%) and headache (37%). Severe hematologic alterations

were even rarer: neutropenia (PMN <500 /mmc) and thrombocytopenia (platelets <50000 /mmc) were detected in 17% and 9% of patients respectively.

The results were dependent on the Sokal scoring system with higher CCR obtained in patients with low risk Sokal score and lower CCR in those with high risk Sokal score.

Long-term outcomes were also dependent on molecular response; in particular, patients who reached a CCR and had a reduction of at least 3 log in BCR-ABL transcript at 18 months from the beginning of treatment had an estimated rate of survival without progression of 100%; patients who obtained a reduction of less than 3 log had an estimated survival of 98% while in absence of cytogenetic response this rate fell to 87%.

Nonetheless, during the follow up, a hematologic or cytogenetic relapse rate of 17% associated to 7% of patients evolved to accelerated phase or blast crisis were observed.

This observation revealed that despite its great activity against BCR-ABL, the drug was not able to eradicate the malignant clone, because low level of BCR-ABL activity persists even under treatment, allowing more resistant cells to survive⁴⁶.

Many molecular mechanisms have been proposed to elucidate imatinib resistance, from overexpression of BCR-ABL^{47,48} to mutations in BCR-ABL expression⁴⁹.

To overcome mutations-induced resistance insensible to dose escalation of imatinib, many other compounds have been developed; however, the majority of them are still under investigation.

These new compounds may be grouped in two main categories:

- a) More powerful than imatinib
- b) More efficient in inhibiting BCR-ABL kinase activity

Dasatinib (BMS-354825)

Respect to imatinib, this is a more powerful kinase inhibitor active against ABL, c-kit, PDGFR β and multiple Src-family members like Lck, Fyn, Src and Hck, developed by Bristol-Myers Squibb⁵⁰.

It is a pyridol[2,3-d]pyrimidine quite different in structure and mechanism of action compared to imatinib.

In vitro studies showed that dasatinib is more than 100 times more potent than imatinib in inhibiting BCR-ABL positive cell lines, probably because it also targets Src-kinases which are downstream effectors of BCR-ABL⁵¹.

It binds BCR-ABL kinase in both active and inactive conformation, overcoming all the active conformation inducing mutations that confer imatinib resistance⁵².

In particular, Dasatinib binds to the ATP-binding site in a position similar to imatinib, with a similar central core, but extending in the opposite direction. The new com-

pound is smaller than imatinib and has fewer contact points with ABL, as a consequence it has greater affinity and lower conformation requirements⁵³.

In phase I clinical trials conducted in CML patients resistant or intolerant to imatinib, a hematologic response was reported in nearly all patients (except the ones with T315I mutation, which makes the mutated cells totally insensitive to the drugs, even at a higher dose); a CCR of 39% and an event free survival of 95% after 12 months of treatment were observed^{54,55}.

Supported by this results, in June 2006, the drug was approved by FDA for use in patients who are resistant or cannot tolerate imatinib.

Nilotinib (AMN107)

A leading example of a different strategy to overcome imatinib resistance is represented by Nilotinib. This new compound is an anilino-pyrimidine derivative rationally designed to improve imatinib efficacy and binding affinity to BCR-ABL⁵⁶. In-vitro studies showed that nilotinib is 10- to 30-times more potent than imatinib in inhibiting BCR-ABL kinase. Moreover, its affinity to the kinase pocket is far higher than imatinib because of its increased contact surface.

Furthermore, a study demonstrated that nilotinib is much less affected by MDR1 driven resistance than its precursor⁵⁷.

Nevertheless, nilotinib has a similar profile respect to imatinib: it inhibits selectively ABL kinases, ARG, Kit and PDGFR kinases and can bind BCR-ABL only in its closed-inactive conformation.

As a consequence, T315I BCR-ABL mutants remain resistant to nilotinib no matter its dosage⁵⁶.

Phase I and II trials opened to CML in accelerated or blast crisis and Ph+ ALL are ongoing, but initial results show hematologic response rates higher than 50%. In previously treated patients with chronic phase CML resistant to imatinib a rate of 40% of CCR was obtained after 12 months of therapy⁵⁸. Further follow-up is needed to assess the durability of the response.

Toxicity of the new compounds

The toxicity profile of these two new compounds is still under investigation. Both dasatinib and nilotinib can produce a dose adjustment requiring myelosuppression.

Dasatinib may cause pleural and pericardial effusions (15 to 20% of patients), even if the majority are subclinical. Nilotinib can produce asymptomatic elevations of unconjugated bilirubin and of lipase.

The future

A new ABL inhibitor is on study under the name of ONO12380 (Onconova Therapeutics)⁵⁹. Its specific action is different from imatinib, dasatinib and nilotinib because it blocks substrate binding instead of ATP binding.

In-vitro studies show that ONO121380 can inhibit both wild-type and mutated BCR-ABL, even when T315I is present. This small molecule has not yet entered clinical trials, even though interesting hypothesis about its use in combination with imatinib-like drugs are already arising in the hematologic world.

PML/RAR α and acute promyelocytic leukemia

Many chromosomal translocations have been described in acute myeloid leukemia (AML) and myelodysplastic syndromes, resulting in new gene products that can have abnormal oncogenetic functions and often inhibit the normal gene product⁶⁰. It should be noted that the translocations products in AML involve transcription factors and not kinases⁶¹.

Chromosomal rearrangements causing abnormal proliferation, lack of differentiation and a block of apoptosis give the neoplastic clone an advantage in respect to normal hematopoietic cells.

The most studied translocation in AML is t(15;17)(q22;q11-12), the genetic hallmark of acute promyelocytic leukemia (APL)⁶².

This chromosomal aberration leads to the fusion of the promyelocytic gene (PML) on chromosome 15 to the retinoic acid receptor α gene (RAR α) on chromosome 17.

Breakpoints can occur in a large area of the PML gene, giving rise to three major chimeric transcripts: the L (long) isoform stemming from both bcr1 and bcr2 breakpoints, V (variable) isoform from bcr2 and S (small) isoform from bcr3⁶³.

Some studies suggested a trend to a worst prognosis for patients with the S-isoform subtype not confirmed by other⁶⁴.

RAR α is not the only translocational partner of PML; a PML/PLZF (promyelocytic leukemia zinc finger) is found in 3% of patients⁶⁵, and rarer combinations involve nucleophosmin (NPM), nuclear mitotic apparatus (NUMA) and STAT5b⁶³.

RAR α is a nuclear receptor that belongs to Retinoid Acid (RA) family; after contact with specific activating ligands it acts as transcription factor binding to response element called RARE in the promoter region of several target genes involved in proliferation control and cellular differentiation.

In the absence of specific ligands, RAR α binds retinoid X receptor (RXR) in a heterodimeric complex who can re-

cruit a corepressor complex (COR) which mediates transcriptional repression by histone deacetylase (HDAC) activity of chromatin condensation^{66,67}.

Retinoic acid even in small concentrations is able to induce COR releasing and recruitment of histone acetyltransferases that by chromatin remodeling leads to transcriptional activation of RAR α controlled genes⁶⁸.

PML is a transcriptional factor characterized by a RING finger, a C₃HC₄ zinc-binding domain⁶⁹, that influences the expression of p53 and several other genes implied in apoptosis and cell proliferation such as Rb and Mad⁷⁰.

PML/ RAR α is different from wild-type RAR α for its altered DNA-binding properties; it can bind RXR as well as PML and another PML/ RAR α , working as a repressor of RA-mediated pro-differentiating signals.

This is possible because PML/ RAR α , compared to wild-type RAR α , binds COR with much higher affinity and is able to release it only in presence of high doses (10⁻⁶ M) of all-*trans* retinoic acid (ATRA)⁷¹.

PML/ RAR α is also capable of recruiting DNA methylating enzymes Dnmt1 and Dnmt3a, leading to the methylation of RA target promoters and causing further transcriptional inactivation⁷².

In the rare cases of PLFZ/RAR α chimerical protein the presence of an additional COR binding site has been demonstrated and it explains why its repression activity is far stronger than PML/RAR α 's. Patients with PLFZ/RAR α have proven to be resistant to pharmacological doses of ATRA, benefiting from a combined therapy with histone deacetylase inhibitors⁷³.

ATRA therapy in APL could be seen as the first effective targeted therapy in human cancer, even if its development was the consequence of an unexpected observation rather than the product of a rational drug design.

Before ATRA, APL was described as "the most malignant form of acute leukemia⁷⁴" and since Bernard studies in 1973, its therapy was based on chemotherapy with daunorubicin or idarubicin as single agents⁷⁵, or on combination between anthracyclines and cytarabine⁷⁶.

In 1988 the Shanghai group reported the pro-differentiation activity of all-*trans* retinoic acid (ATRA) in APL cells⁶⁸ and it was the dawn of a new era in APL therapy, leading to the current therapeutic approach of ATRA plus anthracycline-based chemotherapy. With these integrated chemotherapy regimens complete remission (CR) rates are 87 to 95% in cooperative groups trials, with a cumulative incidence of relapse and an overall survival ranging between 7-29% and 88-69% respectively^{77,78,79,80,81}.

Acquired point mutations in the ligand binding domain of PML/RAR α can confer resistance to therapeutic doses of ATRA by reducing its binding affinity⁸². These mutations can be found in about 30% of patients relapsing during ATRA therapy, but some studies point out that muta-

tions can predate treatment with ATRA, giving carrier cells a survival and growth advantage compared to non mutated PML/RAR α carriers⁸³.

RAR α protein is also a target of arsenic trioxide (ATO), that at low therapeutic dosage has a pro-differentiating action on APL blasts, even if full maturation to neutrophils never occurs during treatment. At higher doses, instead, it induces apoptosis of neoplastic clones mediated by activation of caspases 1 and 3^{84,85,86}.

Complete remission (CR) rates after induction therapy with ATO are 100 to 86% in randomized trials, with a disease free survival and an overall survival ranging between 86-64% and 88-81% respectively after a median 3 years follow-up^{87,88,89,90}.

b) TARGET: SIGNALLING PATHWAYS

Ras and Farnesyltransferase inhibitors

Ras proteins are low molecular weight proteins that bind guanosine triphosphate (GTP) and are located in cell membrane. They are critically involved in the regulation of signal transduction pathways implicated in the control of cell proliferation, differentiation and survival, and the frequency of Ras mutations in human neoplasia in general is considerable⁹¹. In addition, proteins involved in Ras pathway are particularly relevant in the survival of neoplastic cells⁹². This is the reason why researchers have concentrated their efforts in finding therapeutic intervention on Ras pathway.

There are four different Ras proteins: H-RAS, N-RAS, K-RAS4A, K-RAS4B. In hematologic malignancies Ras mutations more frequently interest H-RAS and N-RAS forms⁹³.

Ras proteins belong to the large *Ras superfamily of monomeric GTPases*, and are localised on cell surface membrane. Their role is to transmit signals from the cell surface to other parts of the cell. They are involved in receptor tyrosine kinases signals to the nucleus, stimulating cell proliferation or differentiation by altering gene expression⁹⁴. If Ras function is inhibited, the cell proliferation or differentiation responses normally induced by the activated receptor tyrosine kinases do not occur, while if a hyperactive mutant Ras protein is introduced into some cell lines, the effect on cell proliferation or differentiation is sometimes the same as that induced by the binding of ligands to cell-surface receptors⁹⁵. Ras shows two distinct conformational states: **active** when GTP is bound and **inactive** when GDP is bound⁹⁶. Two classes of signalling proteins regulate Ras activity by influencing its transition between active and inactive state: Guanine nucleotide exchange factors (GEFs) activate Ras promoting the ex-

change of bound nucleotide by stimulating the dissociation of GDP and the subsequent uptake of GTP from the cytosol; GTPase-activating proteins (GAPs) inactivate Ras increasing the rate of hydrolysis of bound GTP⁹⁷. Hyperactive mutant forms of Ras are resistant to GAP-mediated GTPase stimulation and are locked permanently in the GTP-bound active state, promoting the development of cancer; in many cases, the mechanism of activation is a point mutation in the GTP binding site. Ras mutations occur at a frequency of 25%, 30% and 6-20% in AML, multiple myeloma and ALL, respectively, and they can reach the 30-40% in MDS⁹⁸.

As previously mentioned, once activated, Ras in turn activates other signalling proteins to relay the signal downstream along several pathways. In order to become functional, Ras proteins need to undergo post-translational modifications, which involve the C-terminal CAAX motif; the first step is farnesylation⁹⁹ (adding an isoprenoid lipid called farnesyl group to the carboxyl terminus of the target protein). This process is mediated by an enzyme called Farnesyltransferase; inhibitors of this enzyme (FTIs) have shown to be effective in inhibiting cell participation in signalling events, and so proliferation and survival of cells involved in tumors driven by Ras mutations^{100,101} (Figure 2).

Although several different FTI compounds have been developed, only four have been used in clinical trials: Tipifarnib, Lonafarnib, BMS-214662, L-778,123. Among these, Tipifarnib (Zarnestra) is the more frequently utilized.

Tipifarnib (R115777; Zarnestra®)

Several studies have shown that Farnesyltransferase mediates post-transcriptional farnesylation of multiple protein substrates involved in tumor cell proliferation (e.g. Rho, lamin, centromere-associated protein, protein tyrosin phosphatases, TGF β)^{102,103,104,105} and that inhibition of Ras does not account for all the effects of FTIs. In fact, FTIs have demonstrated antiproliferative activity and indirect antiangiogenic and proapoptotic effects in tumor cell lines^{106,107,108,109}.

In patients with advanced hematologic malignancies Tipifarnib has shown a significant single agent activity and excellent tolerability; it has been evaluated in clinical studies for the treatment of high-risk acute leukemias and MDS¹¹⁰.

In a phase I study, adult patients with poor-risk acute leukemias were enrolled; clinical responses were observed in 10 of the 34 evaluable patients (including two complete remissions and eight partial remissions). None of the patients affected by ALL responded. Tipifarnib was administered orally in escalating doses of 100-1.200 mg twice daily for 21 days every four weeks; it was well tolerated up to doses of 600 mg twice daily and toxicities observed include

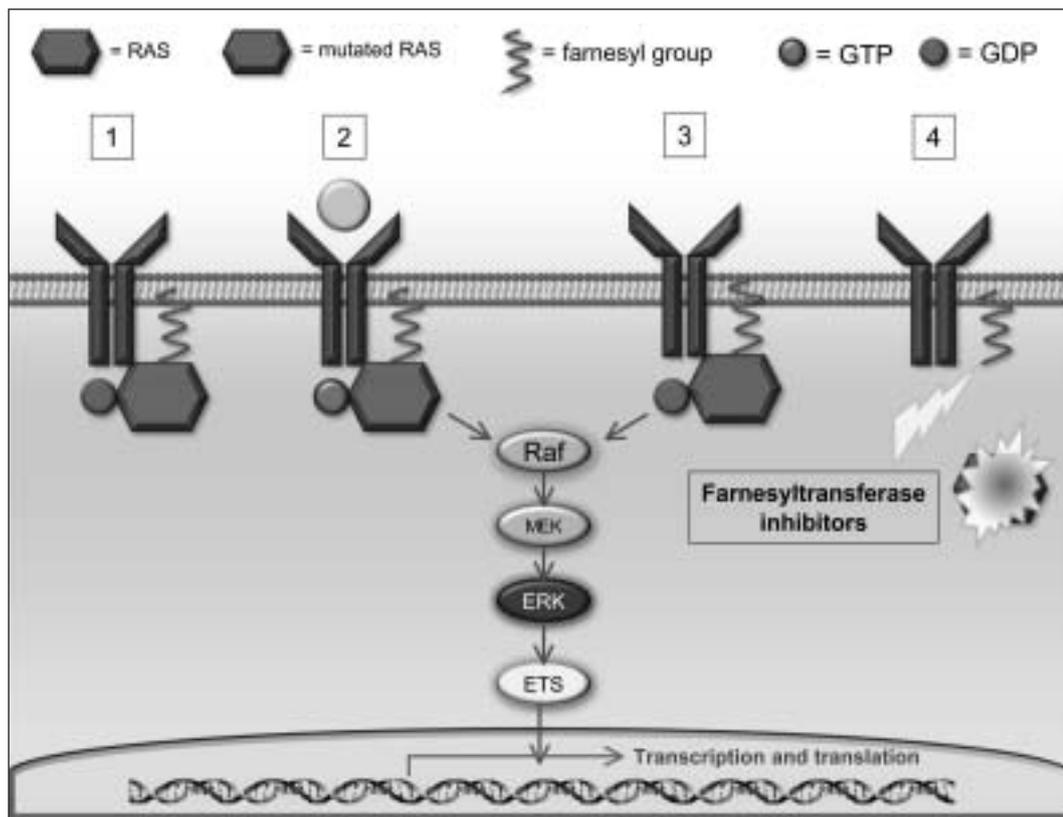


Figure 2.

reversible nausea, renal insufficiency, polydipsia (non-dose limiting) and central neurotoxicity (dose limiting)¹¹¹.

A phase II trial evaluated Tipifarnib in old (age > 65 years) and previously untreated, high risk patients, with prognostic negative cytogenetics and/or secondary AML; these patients had refused or were not suitable for conventional induction chemotherapy. Median age was 73 years, with 45% of the patients over 75 years of age; an adverse cytogenetic was present in 43% of patients. Tipifarnib was administered orally at doses of 600 mg twice daily for 21 days, followed by a 1-3 week recovery period. Response was complete remission (CR) in 15% of the poor-risk patients, with overall response rate (ORR) of 34%. Complete response was associated with prolonged survival (median survival: 433 days for patients in CR and 136 days for non-responders). Grade 3 Tipifarnib-related nonhematologic adverse events were 43%, and they were mostly infectious and gastrointestinal complications^{112,113}.

In another phase II multicenter study 82 patients affected by high-risk MDS were enrolled; 63% were untreated. The dosage of Tipifarnib was 300 mg bid for 21 days on a 28-day cycle; median number of cycles was three. The following responses were obtained: seven CR, four CR with

incomplete platelet recovery, two partial responses (PR), with an overall response rate of 34%. Median response duration was 10.1 months for patients with at least a PR. The most common adverse event was myelosuppression; fatigue, nausea, diarrhea, rash and purpura occurred in 32%, 26%, 20%, 11% and 10% of patients, respectively^{114,115}.

Finally, Tipifarnib was tested in patients affected by advanced multiple myeloma (phase II study). Disease was stabilized in 64% of patients, even if inhibition of farnesylation was not correlated with disease stabilization. The most common adverse effect was fatigue (66% of the patients)¹¹⁶.

One of the major issues concerning FTI is to better elucidate its mechanism of action; in fact, no strong correlation between farnesylation and clinical response has been established. In addition, one aspect that must be considered is the fact that farnesyltransferase has multiple substrates, and no correlation between clinical response and N-Ras mutations has been so far detected. Resistance to farnesylation inhibition in neoplastic cells may be determined by alternative farnesylation mechanisms, as for example geranylgeranylation. Therefore, further studies about leukemogenesis mechanisms and FTI function are needed.

Lonafarnib (SCH 66366)

This is a tricyclic FTI that seems to be particularly effective against cells carrying H-Ras mutations¹¹⁷. In phase I clinical trials the maximally tolerated dose appears to be 200-300 mg/mq twice daily, with dose-limiting toxicities represented by nausea, vomiting, diarrhea, fatigue and renal insufficiency. Target pathologies are AML, ALL and MDS^{118,119}.

One interesting aspect is the discovery that Lonafarnib shows a synergistic interaction with Imatinib mesylate, inducing apoptosis in BCR-ABL cells¹²⁰.

FLT3 mutations in acute leukemia

FLT3 is a receptor tyrosine kinase of the FMS family (FLT3 is the acronym of FMS-like tyrosine kinase 3) involved in cell proliferation and differentiation in normal hematopoiesis.

FLT3 is constitutively expressed in hematopoietic stem cells and early committed precursors and its expression is gradually lost during physiological differentiation, with the exception of dendritic cells^{121,122,123}.

The structure of FLT3 is very similar to PDGFR, being organized in three functional parts: an extracellular ligand-binding domain, constituted by five immunoglobulin-like folds, a transmembrane hydrophobic domain and a cytoplasmic part made up of a kinase domain separated in two halves by a kinase insert and joined to the transmembrane domain by a short juxtamembrane domain¹²⁴.

FLT3 is normally activated by a specific ligand, known as FLT3-ligand (FL); FL binding triggers both autophosphorylation and direct or indirect phosphorylation of several proteins, among which GAB1, GAB2, SHP-2, AKT, FOXO3a, CBL, P90RSK, GAP, LYN, VAV, SHC, GRB2, ERK1/2 and STAT5a^{125,126}.

All these proteins are involved in intracellular signalling pathways like PI-3kinases/AKT, RAS/MAPK and STAT cascades¹²⁷.

Activation of FLT3 causes enhancing expression of several protooncogenes, such as Pim-1, Pim-2, SOCS, p21, MYC and IL2R α , and reduces the transcription of Bim, GADD45, RAR α , MAID, RB2/p130, LSC, RGS2 and several others gatekeeper genes¹²⁸.

FLT3 mRNA is overexpressed in many hematological malignancies, e.g. B lineage ALL, CML and AML, accounting for its importance in leukemogenesis.

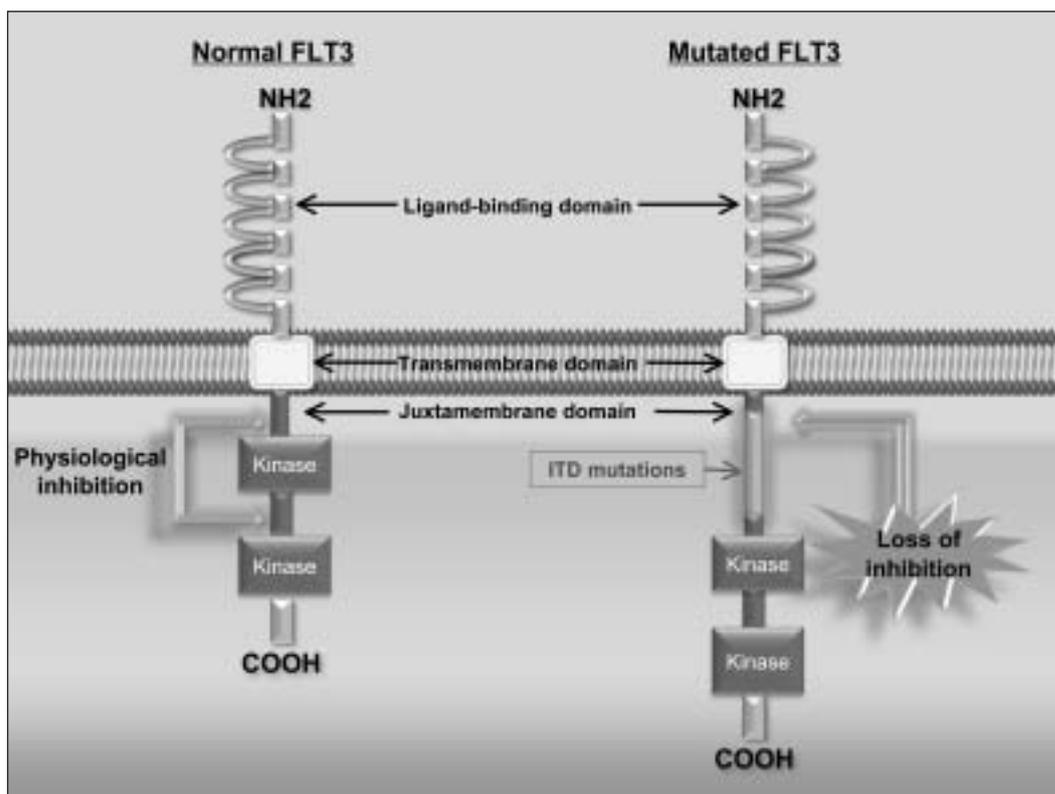


Figure 3.

Furthermore, in recent years many FLT3 mutations have been described in approximately 1/3 of AML patients, indicating FLT3 as a leading candidate for targeting therapy¹²⁹.

Two classes of mutations can be described: **internal tandem mutations (ITD)**, involving 400 bp in the juxtamembrane region of FLT3 (Figure 3) (23% of AML patients) and **missense point mutations in the kinase domain (KD)** most often focused on aspartic acid 835 (8-12% of AML patients)¹³⁰. ITD mutations are rare in children with AML (15%) and even rarer in ALL patients (<1%), while KD mutations have equal rates between adults and children¹³¹.

Both classes of mutations induce constitutive activation of FLT3 in the absence of FL, ITDs by interfering with the negative regulatory function of the juxtamembrane domain, KDs by altering the activation loop of the receptor tyrosin kinase¹³².

ITD mutations seem to have a prognostical effect in AML young patients, with 44% of event free survival observed in ITD negative patients vs 7% of EFS in those patients who had ITD¹³³.

Furthermore, patients with an increased ratio of FLT3-ITD to wild-type appears to have an even worse prognosis, while in patients older than 60 years there seem to be no prognostic effect. One possible explanation for this different prognostic behaviour between AML patients younger or older than 60 years may be the fact that the latter have a severe prognosis with very short survival (generally less than 12 months)¹¹⁴.

An interesting finding is that FLT3 mutations are more common in evolving MDS than in early ones, as if it could be a second hit in the evolution to AML¹³⁴.

Recently, many tyrosine kinase inhibitors have been developed to target FLT3; all these compounds are small heterocyclic molecules with a purine ring-like subunit that competitively inhibits ATP binding¹³⁵.

The firsts of these molecules to be identified were *AG1295* and *AG1296*; they inhibited autophosphorylation of FLT3 at very low concentrations, with a preferential cytotoxicity on cells with high FLT3 expression rates, demonstrating how these cells tend to become very dependent on FLT3 signalling pathway (oncogene addiction). Unfortunately their low solubility prevented the clinical use of these molecules¹³⁶.

Other compounds have been subsequently developed, the best characterized being *CEP-701* (Lestaurtinib), *PKC412* (Novartis), *MLN518* and *SU11248* (Sunitinib)^{137, 138, 139}.

However, investigators are still working to find better FLT3 inhibitors because these first compounds share many limitations: the potency of FLT3 inhibition, as well as their spectrum of activity and their selectivity, vary considerably between different molecules.

As a consequence, toxicities are often extreme because of the inhibition of several other tyrosine kinases proteins.

Moreover, most of these drugs are hydrophobic and circulate in blood tightly bound to plasma proteins (even >99% for some compounds), and therefore not easily available for their inhibitory action.

These limitations may clarify why, even if all compounds inhibit FLT3-dependent cellular growth in-vitro, clinical trials in relapsed or refractory AML patients have been so far disappointing^{140,141,142}.

As a matter of fact, even when patients' blasts are prone to FLT3 inhibitors in-vitro, the responses in-vivo are usually restricted to a clearing of peripheral leukemia cells, with little or no bone marrow clearing. Furthermore these responses are usually short-lasting, and relapses occur within weeks or, rarely, months.

This happens because in AML the pathogenetic mechanism is not unique (as in CML) and several genetic damages are needed to transform normal cells in leukemic cells, FLT3 mutations being just one of these pathogenetic mechanisms.

Some studies indicate that in many AML cases, FLT3 mutations are present only in a subclone of leukemic blasts, which have, therefore, a growth advantage over both normal cells and other neoplastic clones.

While FLT3 inhibitors can be effective in eradicating the FLT3 mutated clone, they have little or no effect in these subclones whose growth patterns are independent of FLT3¹¹⁴.

Despite that, being aware of the prognostic effects of FLT3 mutations in AML and of their high frequency in relapses, a therapy combining FLT3 inhibitors and conventional cytotoxic drugs has been hypothesized to be very effective in AML.

Preclinical studies demonstrated a synergistic killing of neoplastic cells when FLT3 inhibitors were given simultaneously or after the administration of cytotoxic drugs¹⁴³. On the contrary, if these inhibitors were administered before conventional chemotherapy, antagonism due to cell-cycle blockade was observed.

Many clinical trials are currently underway: very interesting is a phase III study testing Lestaurtinib combined with chemotherapy that is under investigation in US, Italy, Israel and Spain. Moreover, very preliminary results of a study combining PKC412 with conventional chemotherapy were presented at 2005 and 2006 ASH meetings¹⁴⁴.

Results are interesting, with low toxicity profiles and good remission rates. Further fields in targeting FLT3 are currently investigated, such as anti-FLT3 antibody in AML and ALL.

References

- Gilman A, Philips FS. The Biological Actions and Therapeutic Applications of the B-Chloroethyl Amines and Sulfides. *Science*. 1946;103:409-436
- Hoffman R. Hematology, basic principles and practice. Churchill Livingstone, 2004.
- Lowe SW, Ruley HE, Jacks T, Housman DE. p53-dependent apoptosis modulates the cytotoxicity of anticancer agents. *Cell*. 1993;74:957-67.
- Nowel PC, Hungerford DA. A minute chromosome in human granulocytic leukemia. *Science*. 1960; 132: 1497.
- Rowley JD. A new consistent chromosomal abnormality in chronic myelogenous leukaemia identified by quinacrine fluorescence and Giemsa staining. *Nature*. 1973;243:290-3.
- de Klein A, van Kessel AG, Grosveld G, Bartram CR, Hagemeijer A, Bootsma D, Spurr NK, Heisterkamp N, Groffen J, Stephenson JR. A cellular oncogene is translocated to the Philadelphia chromosome in chronic myelocytic leukaemia. *Nature*. 1982;300:765-7.
- Shtivelman E, Lifshitz B, Gale RP, Canaani E. Fused transcript of *abl* and *bcr* genes in chronic myelogenous leukaemia. *Nature*. 1985;315: 550-4.
- Ben-Neriah Y, Daley GQ, Mes-Masson AM, Witte ON, Baltimore D. The chronic myelogenous leukemia-specific P210 protein is the product of the *bcr/abl* hybrid gene. *Science*. 1986;233:212-4.
- Chan LC, Karhi KK, Rayter SI, Heisterkamp N, Eridani S, Powles R, Lawler SD, Groffen J, Foulkes JG, Greaves MF, et al. A novel *abl* protein expressed in Philadelphia chromosome positive acute lymphoblastic leukaemia. *Nature*. 1987;325:635-7.
- Lugo TG, Pendergast AM, Muller AJ, Witte ON. Tyrosine kinase activity and transformation potency of *bcr-abl* oncogene products. *Science*. 1990;247:1079-82.
- Voncken JW, Kaartinen V, Pattengale PK, Germeraad WT, Groffen J, Heisterkamp N. BCR/ABL P210 and P190 cause distinct leukemia in transgenic mice. *Blood*. 1995;86:4603-11.
- Wada H, Mizutani S, Nishimura J, Usuki Y, Kohsaki M, Komai M, Kaneko H, Sakamoto S, Delia D, Kanamaru A, et al. Establishment and molecular characterization of a novel leukemic cell line with Philadelphia chromosome expressing p230 BCR/ABL fusion protein. *Cancer Res*. 1995;55:3192-6.
- Barnes DJ, Melo JV. Cytogenetic and molecular genetic aspects of chronic myeloid leukaemia. *Acta Haematol*. 2002;108:180-202.
- Tauchi T, Okabe S, Miyazawa K, Ohyashiki K. The tetramerization domain-independent Ras activation by BCR-ABL oncoprotein in hematopoietic cells. *Int J Oncol*. 1998;12:1269-76.
- Skorski T, Kanakaraj P, Nieborowska-Skorska M, Ratajczak MZ, Wen SC, Zon G, Gewirtz AM, Perussia B, Calabretta B. Phosphatidylinositol-3 kinase activity is regulated by BCR/ABL and is required for the growth of Philadelphia chromosome-positive cells. *Blood*. 1995;86:726-36.
- Chai SK, Nichols GL, Rothman P. Constitutive activation of JAKs and STATs in BCR-Abl-expressing cell lines and peripheral blood cells derived from leukemic patients. *J Immunol*. 1997;159:4720-8.
- Cheng K, Kurzrock R, Qiu X, Estrov Z, Ku S, Dulski KM, Wang JY, Talpaz M. Reduced focal adhesion kinase and paxillin phosphorylation in BCR-ABL-transfected cells. *Cancer*. 2002;95:440-50.
- Gotoh A, Miyazawa K, Ohyashiki K, Tauchi T, Boswell HS, Broxmeyer HE, Toyama K. Tyrosine phosphorylation and activation of focal adhesion kinase (p125FAK) by BCR-ABL oncoprotein. *Exp Hematol*. 1995;23:1153-9.
- Jiang X, Lopez A, Holyoake T, Eaves A, Eaves C. Autocrine production and action of IL-3 and granulocyte colony-stimulating factor in chronic myeloid leukemia. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1999;96: 12804-9.
- Deutsch E, Dugray A, Abdulkarim B, Marangoni E, Maggiorella L, Vaganay S, Kacher R, Rasy SD, Eschwege F, Vainchenker W, Turhan AG, Bourhis J. BCR-ABL down-regulates the DNA repair protein DNA-PKcs. *Blood*. 2001;97:2084-90.
- Deutsch E, Jarrousse S, Buet D, Dugray A, Bonnet ML, Vozenin-Brottons MC, Guillhot F, Turhan AG, Feunteun J, Bourhis J. Down-regulation of BRCA1 in BCR-ABL-expressing hematopoietic cells. *Blood*. 2003;101:4583-8.
- Slupianek A, Schmutte C, Tomblin G, Nieborowska-Skorska M, Hoser G, Nowicki MO, Pierce AJ, Fishel R, Skorski T. BCR/ABL regulates mammalian RecA homologs, resulting in drug resistance. *Mol Cell*. 2001;8:795-806.
- Meyn MA 3rd, Wilson MB, Abdi FA, Fahey N, Schiavone AP, Wu J, Hochrein JM, Engen JR, Smithgall TE. Src family kinases phosphorylate the Bcr-Abl SH3-SH2 region and modulate Bcr-Abl transforming activity. *J Biol Chem*. 2006;281:30907-16
- Rapozzi V, Burm BE, Cogoi S, van der Marel GA, van Boom JH, Quadrifoglio F, Xodo LE. Antiproliferative effect in chronic myeloid leukaemia cells by antisense peptide nucleic acids. *Nucleic Acids Res*. 2002;30:3712-21.
- McWhirter JR, Wang JY. Effect of Bcr sequences on the cellular function of the Bcr-Abl oncoprotein. *Oncogene*. 1997;15:1625-34.
- Ma G, Lu D, Wu Y, Liu J, Arlinghaus RB. Bcr phosphorylated on tyrosine 177 binds Grb2. *Oncogene*. 1997;14:2367-72.
- McWhirter JR, Galasso DL, Wang JY. A coiled-coil oligomerization domain of Bcr is essential for the transforming function of Bcr-Abl oncoproteins. *Mol Cell Biol*. 1993;13:7587-95.
- Zhao X, Ghaffari S, Lodish H, Malashkevich VN, Kim PS. Structure of the Bcr-Abl oncoprotein oligomerization domain. *Nat Struct Biol*. 2002;9:117-20.
- Huse M, Kuriyan J. The conformational plasticity of protein kinases. *Cell*. 2002;109:275-82.
- Nagar B, Hantschel O, Young MA, Scheffzek K, Veach D, Bornmann W, Clarkson B, Superti-Furga G, Kuriyan J. Structural basis for the autoinhibition of c-Abl tyrosine kinase. *Cell*. 2003;112:859-71.
- Barilá D, Superti-Furga G. An intramolecular SH3-domain interaction regulates c-Abl activity. *Nat Genet*. 1998;18:280-2.
- Smith KM, Yacobi R, Van Etten RA. Autoinhibition of Bcr-Abl through its SH3 domain. *Mol Cell*. 2003;12:27-37.
- Buchdunger E, Zimmermann J, Mett H, Meyer T, Müller M, Druker BJ, Lydon NB. Inhibition of the Abl protein-tyrosine kinase in vitro and in vivo by a 2-phenylaminopyrimidine derivative. *Cancer Res*. 1996;56:100-4.
- Kasper B, Fruehauf S, Schiedlmeier B, Buchdunger E, Ho AD, Zeller WJ. Favorable therapeutic index of a p210(BCR-ABL)-specific tyrosine kinase inhibitor; activity on lineage-committed and primitive chronic myelogenous leukemia progenitors. *Cancer Chemother Pharmacol*. 1999;44:433-8.
- Buchdunger E, Cioffi CL, Law N, Stover D, Ohno-Jones S, Druker BJ, Lydon NB. Abl protein-tyrosine kinase inhibitor STI571 inhibits in vitro signal transduction mediated by c-kit and platelet-derived growth factor receptors. *J Pharmacol Exp Ther*. 2000; 295:139-45.
- Fabbro D, García-Echeverría C. Targeting protein kinases in cancer therapy. *Curr Opin Drug Discov Devel*. 2002; 5:701-12.
- Druker BJ, Tamura S, Buchdunger E, Ohno S, Segal GM, Fanning S, Zimmermann J, Lydon NB. Effects of a selective inhibitor of the Abl tyrosine kinase on the growth of Bcr-Abl positive cells. *Nat Med*. 1996;2:561-6.
- Druker BJ, Tamura S, Buchdunger E, Ohno S, Segal GM, Fanning S, Zimmermann J, Lydon NB. Effects of a selective inhibitor of the Abl tyrosine kinase on the growth of Bcr-Abl positive cells. *Nat Med*. 1996;2:561-6.
- Druker BJ, Talpaz M, Resta DJ, Peng B, Buchdunger E, Ford JM, Lydon NB, Kantarjian H, Capdeville R, Ohno-Jones S, Sawyers CL. Efficacy and safety of a specific inhibitor of the BCR-ABL tyrosine kinase in chronic myeloid leukemia. *N Engl J Med*. 2001; 344:1031-7.
- Peng B, Hayes M, Resta D, Racine-Poon A, Druker BJ, Talpaz M, Sawyers CL, Rosamilia M, Ford J, Lloyd P, Capdeville R. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of imatinib in a phase I trial with chronic myeloid leukemia patients. *J Clin Oncol*. 2004;22:935-42.

41. Druker BJ, Sawyers CL, Kantarjian H, Resta DJ, Reese SF, Ford JM, Capdeville R, Talpaz M. Activity of a specific inhibitor of the BCR-ABL tyrosine kinase in the blast crisis of chronic myeloid leukemia and acute lymphoblastic leukemia with the Philadelphia chromosome. *N Engl J Med.* 2001;344:1038-42. Erratum in: *N Engl J Med* 2001;345:232.
42. Sawyers CL, Hochhaus A, Feldman E, Goldman JM, Miller CB, Ottmann OG, Schiffer CA, Talpaz M, Guilhot F, Deininger MW, Fischer T, O'Brien SG, Stone RM, Gambacorti-Passerini CB, Russell NH, Reiffers JJ, Shea TC, Chapuis B, Coutre S, Tura S, Morra E, Larson RA, Saven A, Peschel C, Gratwohl A, Mandelli F, Ben-Am M, Gathmann I, Capdeville R, Paquette RL, Druker BJ. Imatinib induces hematologic and cytogenetic responses in patients with chronic myelogenous leukemia in myeloid blast crisis: results of a phase II study. *Blood.* 2002;99:3530-9.
43. Ottmann OG, Druker BJ, Sawyers CL, Goldman JM, Reiffers J, Silver RT, Tura S, Fischer T, Deininger MW, Schiffer CA, Baccarani M, Gratwohl A, Hochhaus A, Hoelzer D, Fernandes-Reese S, Gathmann I, Capdeville R, O'Brien SG. A phase 2 study of imatinib in patients with relapsed or refractory Philadelphia chromosome-positive acute lymphoid leukemias. *Blood.* 2002;100:1965-71.
44. Kantarjian H, Sawyers C, Hochhaus A, Guilhot F, Schiffer C, Gambacorti-Passerini C, Niederwieser D, Resta D, Capdeville R, Zoellner U, Talpaz M, Druker B, Goldman J, O'Brien SG, Russell N, Fischer T, Ottmann O, Cony-Makhoul P, Facon T, Stone R, Miller C, Tallman M, Brown R, Schuster M, Loughran T, Gratwohl A, Mandelli F, Saglio G, Lazzarino M, Russo D, Baccarani M, Morra E; International STI571 CML Study Group. Hematologic and cytogenetic responses to imatinib mesylate in chronic myelogenous leukemia. *N Engl J Med.* 2002;346:645-52. Erratum in: *N Engl J Med* 2002 Jun 13;346(24):1923.
45. Druker BJ, Guilhot F, O'Brien SG, Gathmann I, Kantarjian H, Gattermann N, Deininger MW, Silver RT, Goldman JM, Stone RM, Cervantes F, Hochhaus A, Powell BL, Gabilove JL, Rousselot P, Reiffers J, Cornelissen JJ, Hughes T, Agis H, Fischer T, Verhoef G, Shepherd J, Saglio G, Gratwohl A, Nielsen JL, Radich JP, Simonsson B, Taylor K, Baccarani M, So C, Letvak L, Larson RA; IRIS Investigators. Five-year follow-up of patients receiving imatinib for chronic myeloid leukemia. *N Engl J Med.* 2006;355:2408-17.
46. Graham SM, Jørgensen HG, Allan E, Pearson C, Alcorn MJ, Richmond L, Holyoake TL. Primitive, quiescent, Philadelphia-positive stem cells from patients with chronic myeloid leukemia are insensitive to STI571 in vitro. *Blood.* 2002;99:319-25.
47. Gorre ME, Mohammed M, Ellwood K, Hsu N, Paquette R, Rao PN, Sawyers CL. Clinical resistance to STI-571 cancer therapy caused by BCR-ABL gene mutation or amplification. *Science.* 2001 293: 876-80.
48. Hochhaus A, Kreil S, Corbin AS, La Rosée P, Müller MC, Lahaye T, Hanfstein B, Schoch C, Cross NC, Berger U, Gschaidmeier H, Druker BJ, Hehlmann R. Molecular and chromosomal mechanisms of resistance to imatinib (STI571) therapy. *Leukemia.* 2002;16:2190-6.
49. O'Hare T, Eide CA, Deininger MW. Bcr-Abl kinase domain mutations, drug resistance, and the road to a cure for chronic myeloid leukemia. *Blood.* 2007;110:2242-9.
50. Lombardo LJ, Lee FY, Chen P, Norris D, Barrish JC, Behnia K, Castaneda S, Cornelius LA, Das J, Doweiko AM, Fairchild C, Hunt JT, Inigo I, Johnston K, Kamath A, Kan D, Klei H, Marathe P, Pang S, Peterson R, Pitt S, Schieven GL, Schmidt RJ, Tokarski J, Wen ML, Wityak J, Borzilleri RM. Discovery of N-(2-chloro-6-methylphenyl)-2-(6-(4-(2-hydroxyethyl)-piperazin-1-yl)-2-methylpyrimidin-4-ylamino)thiazole-5-carboxamide (BMS-354825), a dual Src/Abl kinase inhibitor with potent antitumor activity in preclinical assays. *J Med Chem.* 2004;47:6658-61.
51. Shah NP, Tran C, Lee FY, Chen P, Norris D, Sawyers CL. Overriding imatinib resistance with a novel ABL kinase inhibitor. *Science.* 2004;305:399-401.
52. Adrián FJ, Ding Q, Sim T, Velentza A, Sloan C, Liu Y, Zhang G, Hur W, Ding S, Manley P, Mestan J, Fabbro D, Gray NS. Allosteric inhibitors of Bcr-abl-dependent cell proliferation. *Nat Chem Biol.* 2006;2:95-102.
53. Tokarski JS, Newitt JA, Chang CY, Cheng JD, Wittekind M, Kiefer SE, Kish K, Lee FY, Borzilleri R, Lombardo LJ, Xie D, Zhang Y, Klei HE. The structure of Dasatinib (BMS-354825) bound to activated ABL kinase domain elucidates its inhibitory activity against imatinib-resistant ABL mutants. *Cancer Res.* 2006;66:5790-7.
54. Talpaz M, Shah NP, Kantarjian H, Donato N, Nicol J, Paquette R, Cortes J, O'Brien S, Nicaise C, Bleickardt E, Blackwood-Chirchir MA, Iyer V, Chen TT, Huang F, Decillis AP, Sawyers CL. Dasatinib in imatinib-resistant Philadelphia chromosome-positive leukemias. *N Engl J Med.* 2006;354:2531-41.
55. Guilhot F, Apperley J, Kim DW, Bullorsky EO, Baccarani M, Roboz GJ, Amadori S, de Souza CA, Lipton JH, Hochhaus A, Heim D, Larson RA, Branford S, Muller MC, Agarwal P, Gollerkeri A, Talpaz M. Dasatinib induces significant hematologic and cytogenetic responses in patients with imatinib-resistant or -intolerant chronic myeloid leukemia in accelerated phase. *Blood.* 2007;109:4143-50.
56. Weisberg E, Manley PW, Breitenstein W, Brügger J, Cowan-Jacob SW, Ray A, Huntly B, Fabbro D, Fendrich G, Hall-Meyers E, Kung AL, Mestan J, Daley GQ, Callahan L, Catley L, Cavazza C, Azam M, Neuberg D, Wright RD, Gilliland DG, Griffin JD. Characterization of AMN107, a selective inhibitor of native and mutant Bcr-Abl. *Cancer Cell.* 2005 Feb;7(2):129-41. Erratum in: *Cancer Cell.* 2005;7:399.
57. Le Coutre P, Baskaynak G, Tamm I, et al. Activity and induction of apoptosis of the specific tyrosin kinase inhibitor AMN 107 in bcr-abl+ cell lines and in imatinib resistant primary cells from CML patients. *Blood* 2004; 104:218a.
58. Kantarjian H, Giles F, Wunderle L, Bhalla K, O'Brien S, Wassmann B, Tanaka C, Manley P, Rae P, Mielowski W, Bochinski K, Hochhaus A, Griffin JD, Hoelzer D, Albitar M, Dugan M, Cortes J, Alland L, Ottmann OG. Nilotinib in imatinib-resistant CML and Philadelphia chromosome-positive ALL. *N Engl J Med.* 2006;354:2542-51.
59. Gumireddy K, Baker SJ, Cosenza SC, John P, Kang AD, Robell KA, Reddy MV, Reddy EP. A non-ATP-competitive inhibitor of BCR-ABL overrides imatinib resistance. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2005;102:1992-7. Epub 2005 Jan 27. Erratum in: *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2005;102:5635.
60. Van Etten RA, Shannon KM. Focus on myeloproliferative diseases and myelodysplastic syndromes. *Cancer Cell.* 2004;6:547-52.
61. John AM, Thomas NS, Mufti GJ, Padua RA. Targeted therapies in myeloid leukemia. *Semin Cancer Biol.* 2004;14:41-62.
62. Kakizuka A, Miller WH Jr, Umehara K, Warrell RP Jr, Frankel SR, Murty VV, Dmitrovsky E, Evans RM. Chromosomal translocation t(15;17) in human acute promyelocytic leukemia fuses RAR alpha with a novel putative transcription factor, PML. *Cell.* 1991;66:663-74.
63. Lo-Coco F, Ammatuna E. The biology of acute promyelocytic leukemia and its impact on diagnosis and treatment. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program.* 2006;156-61.
64. Sanz MA, Tallman MS, Lo-Coco F. Tricks of the trade for the appropriate management of newly diagnosed acute promyelocytic leukemia. *Blood.* 2005;105:3019-25.
65. Chen Z, Brand NJ, Chen A, Chen SJ, Tong JH, Wang ZY, Waxman S, Zelent A. Fusion between a novel Krüppel-like zinc finger gene and the retinoic acid receptor-alpha locus due to a variant t(11;17) translocation associated with acute promyelocytic leukaemia. *EMBO J.* 1993;12:1161-7.
66. Dilworth FJ, Chambon P. Nuclear receptors coordinate the activities of chromatin remodeling complexes and coactivators to facilitate initiation of transcription. *Oncogene.* 2000;20:3047-3054.
67. Glass CK, Rosenfeld MG. The coregulator exchange in transcriptional functions of nuclear receptors. *Genes Dev.* 2000;14:121-141.
68. Huang ME, Ye YC, Chen SR, et al. Use of all-trans retinoic acid in the treatment of acute promyelocytic leukemia. *Blood.* 1988;72:567-572.

69. Zhong S, Salomoni P, Pandolfi PP. The transcriptional role of PML and the nuclear body. *Nat Cell Biol.* 2000;2:E85-90
70. Gurrieri C, Capodiceci P, Bernardi R, et al. Loss of the tumor suppressor PML in human cancers of multiple histologic origins. *J Natl Cancer Inst.* 2004;96:269-279.
71. Pandolfi PP. In vivo analysis of the molecular genetics of acute promyelocytic leukemia. *Oncogene.* 2001;20:5726-5735.
72. Di Croce L, Raker VA, Corsaro M, et al. Methyltransferase recruitment and DNA hypermethylation of target promoters by an oncogenic transcription factor. *Science.* 2002;295:1079-1082.
73. He LZ, Tolentino T, Grayson P, et al. Histone deacetylase inhibitors induce remission in transgenic models of therapyresistant acute promyelocytic leukemia. *J Clin Invest.* 2001;108:1321-1330.
74. Hillestad LK. Acute promyelocytic leukemia. *Acta Med Scand.* 1957;159:189-194.
75. Bernard J, Weil M, Boiron M, et al. Acute promyelocytic leukemia: results of treatment by daunorubicin. *Blood.* 1973;41:489-496.
76. Sanz MA, Martín G, Lo-Coco F. Choice of chemotherapy in induction, consolidation and maintenance in acute promyelocytic leukemia. *Baillieres Best Pract Res Clin Haematol.* 2003;16:433-451.
77. Mandelli F, Diverio D, Avvisati G, et al. Molecular remission in PML/RAR_α-positive acute promyelocytic leukemia by combined all-trans retinoic acid and idarubicin (AIDA) therapy. *Blood.* 1997;90:1014-1021.
78. Asou N, Adachi K, Tamura J, et al. Analysis of prognostic factors in newly diagnosed acute promyelocytic leukemia treated with all-trans retinoic acid and chemotherapy. *J Clin Oncol.* 1998;16:78-85.
79. Sanz MA, Martín G, Rayón C, et al. A modified AIDA protocol with anthracycline-based consolidation results in high antileukemic efficacy and reduced toxicity in newly diagnosed PML/RAR_α-positive acute promyelocytic leukemia. *Blood.* 1999;94:3015-3021.
80. Lengfelder E, Reichert A, Schoch C, et al. Double induction strategy including high dose cytarabine in combination with all-trans retinoic acid: effects in patients with newly diagnosed acute promyelocytic leukemia. *Leukemia.* 2000;14:1362-1370.
81. Sanz MA, Martín G, González M, et al. Risk-adapted treatment of acute promyelocytic leukemia with all-trans retinoic acid and anthracycline monochemotherapy: a multicenter study by the PETHEMA Group. *Blood.* 2004;103:1237-1243.
82. Zhou DC, Kim SH, Ding W, Schultz C, Warrell RP Jr, Gallagher RE. Frequent mutations in the ligand-binding domain of PML-RAR_α after multiple relapses of acute promyelocytic leukemia: analysis for functional relationship to response to all-trans retinoic acid and histone deacetylase inhibitors in vitro and in vivo. *Blood.* 2002;99: 1356-1363.
83. Gallagher RE, Schachter-Tokarz EL, Zhou DC, et al. Relapse of acute promyelocytic leukemia with PMLRAR_α mutant subclones independent of proximate alltrans retinoic acid selection pressure. *Leukemia.* 2006;20:556-562.
84. Douer D, Tallman MS. Arsenic trioxide: new clinical experience with an old medication in hematologic malignancies. *J Clin Oncol.* 2005;23:2396-2410.
85. Chou WC, Dang CV. Acute promyelocytic leukemia: recent advances in therapy and molecular basis of response to arsenic therapies. *Curr Opin Hematol* 2005;12:1-6.
86. Miller WH, Schipper HM, Lee JS, et al. Mechanisms of action of arsenic trioxide. *Cancer Res.* 2002;62:3893-3903.
87. Shen ZX, Shi ZZ, Fang J, et al. All-trans retinoic acid/As2O3 combination yields a high quality remission and survival in newly diagnosed acute promyelocytic leukemia. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2004;101: 5328-5335
88. Estey E, Garcia-Manero G, Ferrajoli A, et al. Use of all-trans retinoic acid plus arsenic trioxide as an alternative to chemotherapy in untreated acute promyelocytic leukemia. *Blood.* 2006;107:3469-3473
89. Mathews V, George B, Lakshmi KM, et al. Single-agent arsenic trioxide in the treatment of newly diagnosed acute promyelocytic leukemia: durable remissions with minimal toxicity. *Blood.* 2006;107: 2627-2632.
90. Ghavamzadeh A, Alimoghaddam K, Ghaffari SH, et al. Treatment of acute promyelocytic leukemia without ATRA and/or chemotherapy. *Ann Oncol.* 2006;17:131-134.
91. Shaw RJ, Cantley LC. Ras, PI(3)K and mTOR signalling controls tumour cell growth. *Nature.* 2006;441:424-30.
92. Cox AD, Der CJ. The dark side of Ras: regulation of apoptosis. *Oncogene.* 2003;22:8999-9006
93. Chang F, Steelman LS, Lee JT, Shelton JG, Navolanic PM, Blalock WL, Franklin RA, McCubrey JA. Signal transduction mediated by the Ras/Raf/MEK/ERK pathway from cytokine receptors to transcription factors: potential targeting for therapeutic intervention. *Leukemia.* 2003;17:1263-93.
94. Wennerberg K, Rossman KL, Der CJ. The Ras superfamily at a glance. *J Cell Sci.* 2005;118:843-6.
95. Schubbert S, Shannon K, Bollag G. Hyperactive Ras in developmental disorders and cancer. *Nat Rev Cancer.* 2007;7:295-308.
96. Dunn KL, Espino PS, Drobic B, He S, Davie JR. The Ras-MAPK signal transduction pathway, cancer and chromatin remodeling. *Biochem Cell Biol.* 2005;83:1-14.
97. Bos JL, Rehmann H, Wittinghofer A. GEFs and GAPs: critical elements in the control of small G proteins. *Cell.* 2007;129:865-77. Erratum in: *Cell.* 2007 Jul 27;130:385.
98. R.A. Padua et al, RAS, FMS and p53 mutations and poor clinical outcome in myelodysplasias: a 10-year follow-up, *Leukemia* 1998; 12:887-892
99. Ikeda A, Shankar DB, Watanabe M. et al. Molecular targets and the treatment of myeloid leukemia. *Mol Genet Metab.* 2006;88:216-24.
100. Manne V, Roberts D, Tobin A, O'Rourke E, De Virgilio M, Meyers C, Ahmed N, Kurz B, Resh M, Kung HF, et al. Identification and preliminary characterization of protein-cysteine farnesyltransferase. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1990;87:7541-5.
101. Kohl NE, Mosser SD, deSolms SJ, Giuliani EA, Pompliano DL, Graham SL, Smith RL, Scolnick EM, Oliff A, Gibbs JB. Selective inhibition of ras-dependent transformation by a farnesyltransferase inhibitor. *Science.* 1993;260:1934-7.
102. Lebowitz PF, Davide JP, Prendergast GC. Evidence that farnesyltransferase inhibitors suppress Ras transformation by interfering with Rho activity. *Mol Cell Biol.* 1995;15:6613-22.
103. Glynn MW, Glover TW. Incomplete processing of mutant lamin A in Hutchinson-Gilford progeria leads to nuclear abnormalities, which are reversed by farnesyltransferase inhibition. *Hum Mol Genet.* 2005;14:2959-69.
104. Tamanai F, Kato-Stankiewicz J, Jiang C, Machado I, Thapar N. Farnesylated proteins and cell cycle progression. *J Cell Biochem* 2001;Suppl 37:64-70.
105. Wang T, Danielson PD, Li BY, Shah PC, Kim SD, Donahoe PK. The p21(RAS) farnesyltransferase alpha subunit in TGF-beta and activin signaling. *Science.* 1996;271:1120-2.
106. Rowinsky EK, Windle JJ, Von Hoff DD. Ras protein farnesyltransferase: a strategic target for anticancer therapeutic development. *J Clin Oncol* 1999; 17:3631-3652
107. Johnston SR. Farnesyl transferase inhibitors: a novel targeted therapy for cancer. *Lancet Oncol.* 2001;2:18-26.
108. Cox AD. Farnesyltransferase inhibitors: potential role in the treatment of cancer. *Drugs.* 2001;61:723-32.
109. End DW, Smets G, Todd AV. Characterization of the antitumor effects of the selective farnesyl protein transferase inhibitor R115777 in vivo and in vitro. *Cancer Res.* 2001;61:131-7.
110. Armand JP, Burnett AK, Drach J et al. The emerging role of targeted therapy for hematologic malignancies: update on bortezomib and tipifarnib. *Oncologist.* 2007;12:281-90.
111. Karp JE, Lancet JE, Kaufmann SH et al. Clinical and biologic activity of the farnesyltransferase inhibitor R115777 in adults with refractory and relapsed acute leukemias: a phase 1 clinical-laboratory correlative trial. *Blood.* 2001;97:3361-9.
112. Lancet JE, Gotlib J, Gojo I et al. Bone marrow response rate in elderly patients with poor-risk AML following treatment with the oral-

- ly available farnesyl transferase inhibitor tipifarnib (Zarnestra, R115777). *Haematologica* 2005; 90 (suppl 2):324a
113. Lancet JE, Gotlib J, Gojo I et al. Tipifarnib (Zarnestra) in previously untreated poor-risk AML in the elderly: updated results of a multicenter phase 2 trial. *Blood* 2004; 104:249a
 114. Fenaux P, De Porre P, Raza A. Et al. Results of an international phase 2 study of the oral farnesyl transferase inhibitor (FTI) tipifarnib (Zarnestra, R115777) in patients with high-risk myelodysplastic syndrome (MDS). *Haematologica* 2005; 90 (suppl 2):306a
 115. Kurzrock R, Albitar M, Cortes JE et al. Phase II study of R115777, a farnesyl transferase inhibitor, in myelodysplastic syndrome. *J Clin Oncol.* 2004;22:1287-92.
 116. Alsina M, Fonseca R, Wilson EF et al. Farnesyltransferase inhibitor tipifarnib is well tolerated, induces stabilization of disease, and inhibits farnesylation and oncogenic/tumor survival pathways in patients with advanced multiple myeloma. *Blood.* 2004;103:3271-7.
 117. Liu M, Bryant MS, Chen J, Lee S, Yaremko B, Lipari P, Malkowski M, Ferrari E, Nielsen L, Prioli N, Dell J, Sinha D, Syed J, Korfmacher WA, Nomeir AA, Lin CC, Wang L, Taveras AG, Doll RJ, Njoroge FG, Mallams AK, Remiszewski S, Catino JJ, Girijavallabhan VM, Bishop WR, et al. Antitumor activity of SCH 66336, an orally bioavailable tricyclic inhibitor of farnesyl protein transferase, in human tumor xenograft models and wap-ras transgenic mice. *Cancer Res.* 1998;58:4947-56.
 118. Adjei AA, Erlichman C, Davis JN, Cutler DL, Sloan JA, Marks RS, Hanson LJ, Svingen PA, Atherton P, Bishop WR, Kirschmeier P, Kaufmann SH. A Phase I trial of the farnesyl transferase inhibitor SCH66336: evidence for biological and clinical activity. *Cancer Res.* 2000;60:1871-7.
 119. Housseau JL. Farnesyltransferase inhibitors in hematologic malignancies. *Blood Rev.* 2007;21:173-82.
 120. Hoover RR, Mahon FX, Melo JV, Daley GQ. Overcoming STI571 resistance with the farnesyl transferase inhibitor SCH66336. *Blood.* 2002;100:1068-71.
 121. Gilliland DG, Griffin JD. The roles of FLT3 in hematopoiesis and leukemia. *Blood.* 2002;100:1532-1542.
 122. Mackarehtschian K, Hardin JD, Moore KA, Boast S, Goff SP, Lemischka IR. Targeted disruption of the flk2/flt3 gene leads to deficiencies in primitive hematopoietic progenitors. *Immunity.* 1995;3:147-161.
 123. McKenna HJ, Stocking KL, Miller RE, et al. Mice lacking flt3 ligand have deficient hematopoiesis affecting hematopoietic progenitor cells, dendritic cells, and natural killer cells. *Blood.* 2000;95:3489-3497.
 124. Agnes F, Shamoan B, Dina C et al. Genomic structure of the downstream part of the human FLT3 gene: Exon/intron structure conservation among genes encoding receptor tyrosine kinases (RTK) of subclass III. *Gene* 1994;145:283-288.
 125. Hannum C, Culpepper J, Campbell D et al. Ligand for FLT3/FLK2 receptor tyrosine kinase regulates growth of haematopoietic stem cells and is encoded by variant RNAs. *Nature* 1994;368:643-648.
 126. Zheng R, Levis M, Piloto O et al. FLT3 ligand causes autocrine signaling in acute myeloid leukemia cells. *Blood* 2004;103:267-274.
 127. Wodnar-Filipowicz A. Flt3 ligand: Role in control of hematopoietic and immune functions of the bone marrow. *News Physiol Sci* 2003;18:247-251.
 128. Choudhary C, Muller-Tidow C, Berdel WE, Serve H. Signal transduction of oncogenic Flt3. *Int J Hematol.* 2005;82:93-99.
 129. Thiede C, Steudel C, Mohr B, Schaich M, Schäkel U, Platzbecker U, Wermke M, Bornhäuser M, Ritter M, Neubauer A, Ehninger G, Illmer T. Analysis of FLT3-activating mutations in 979 patients with acute myelogenous leukemia: association with FAB subtypes and identification of subgroups with poor prognosis. *Blood.* 2002;99:4326-35.
 130. Small D. FLT3 mutations: biology and treatment. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program.* 2006;:178-84.
 131. Armstrong SA, Mabon ME, Silverman LB, et al. FLT3 mutations in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Blood.* 2004;103:3544-3546.
 132. Griffith J, Black J, Faerman C, et al. The structural basis for autoinhibition of FLT3 by the juxtamembrane domain. *Mol Cell.* 2004; 13:169-178.
 133. Meshinchi S, Woods WG, Stirewalt DL, et al. Prevalence and prognostic significance of Flt3 internal tandem duplication in pediatric acute myeloid leukemia. *Blood.* 2001;97:89-94.
 134. Shih LY, Huang CF, Wang PN, et al. Acquisition of FLT3 or Nras mutations is frequently associated with progression of myelodysplastic syndrome to acute myeloid leukemia. *Leukemia.* 2004;18:466-475.
 135. Levis M, Small D. FLT3 tyrosine kinase inhibitors. *Int J Hematol.* 2005;82:100-107.
 136. Levis M, Tse KF, Smith BD, Garrett E, Small D. A FLT3 tyrosine kinase inhibitor is selectively cytotoxic to acute myeloid leukemia blasts harboring FLT3 internal tandem duplication mutations. *Blood.* 2001;98:885-887.
 137. Levis M, Allebach J, Tse KF, et al. A FLT3-targeted tyrosine kinase inhibitor is cytotoxic to leukemia cells in vitro and in vivo. *Blood.* 2002;99:3885-3891.
 138. Weisberg E, Boulton C, Kelly LM, et al. Inhibition of mutant FLT3 receptors in leukemia cells by the small molecule tyrosine kinase inhibitor PKC412. *Cancer Cell.* 2002;1:433-443.
 139. O'Farrell AM, Abrams TJ, Yuen HA, et al. SU11248 is a novel FLT3 tyrosine kinase inhibitor with potent activity in vitro and in vivo. *Blood.* 2003;101:3597-3605.
 140. Smith BD, Levis M, Beran M, et al. Single-agent CEP-701, a novel FLT3 inhibitor, shows biologic and clinical activity in patients with relapsed or refractory acute myeloid leukemia. *Blood.* 2004; 103:3669-3676.
 141. Stone RM, DeAngelo DJ, Klimek V, et al. Patients with acute myeloid leukemia and an activating mutation in FLT3 respond to a small-molecule FLT3 tyrosine kinase inhibitor, PKC412. *Blood.* 2005;105:54-60.
 142. Fiedler W, Serve H, Dohner H, et al. A phase 1 study of SU11248 in the treatment of patients with refractory or resistant acute myeloid leukemia (AML) or not amenable to conventional therapy for the disease. *Blood.* 2005;105:986-993. 36.
 143. Levis M, Pham R, Smith BD, Small D. In vitro studies of a FLT3 inhibitor combined with chemotherapy: sequence of administration is important to achieve synergistic cytotoxic effects. *Blood.* 2004; 104:1145-1150.
 144. Levis M, Smith BD, Beran M, et al. A randomized, open-label study of Lestaurtinib (CEP-701), an oral FLT3 inhibitor, administered in sequence with chemotherapy in patients with relapsed AML harboring FLT3 activating mutations: clinical response correlates with successful FLT3 inhibition. *Blood.* 2005;106:121a.

Research Highlights in Neuroimaging

Ultimi Aggiornamenti sulla Ricerca in Neuroimaging

JM MELGARI, PM ROSSINI

Neurologia, Università Campus Bio-Medico di Roma

Background Techniques for neuroimaging have undergone rapid developments in recent years. The central nervous system can be imaged with anatomical and functional techniques. Anatomical imaging provides information about the structure of the skull, the brain, the cerebrospinal fluid and the vascular supply of the nervous system. Functional brain imaging provides information about the functional state of brain tissues, including water content, blood flow, blood volume, metabolism, and biochemistry.

Anatomical techniques show a broad application in routine clinical practice, while functional brain imaging is a promising field whose diagnostic, therapeutic, and research potential is not yet fully investigated and understood so that is the main focus of the present review. Many functional imaging techniques to study the brain in vivo are nowadays available. Some measure regional blood flow and metabolic changes linked with function-related changes in neuronal firing level such as Positron Emission Tomography (PET) and functional Magnetic Resonance Imaging (fMRI) while others, namely high resolution ElectroEncephaloGraphy (EEG), MagnetoEncephaloGraphy (MEG) and Transcranial Magnetic Stimulation (TMS), analyze the electromagnetic properties of neuronal activation. It must be underlined that, to date, all functional imaging techniques in spite their increasing technology, still present limits in spatial or temporal resolution and explore cerebral function from different points of view. Since none of the available functional imaging techniques presents high degree of temporal and spatial resolution, many promising integrated approaches have been implemented including the use of fMRI- or structural MRI–neuronavigated TMS systems to precisely localize the cerebral site of stimulation with respect to the underlying brain anatomy or function. The integrated use of EEG and TMS is one of the most promising functional neuroimaging approaches because it has given the possibility of studying “on-line” and in vivo the direct effects of TMS on the brain. We encourage the integration of different imaging technologies that is just one of the possible application of a most general multidisciplinary approach that should always lead the activity of clinicians and researchers.

Index Terms Neuroimaging, Diagnostic Technologies

Premessa Le tecniche di neuroimaging hanno presentato rapidi sviluppi negli ultimi anni. Il sistema nervoso centrale può essere studiato mediante tecniche anatomiche e funzionali. L'imaging anatomico permette di acquisire informazioni strutturali su cranio, encefalo, liquido cerebrospinale, vascolarizzazione del sistema nervoso e spazi perencefalici. L'imaging cerebrale funzionale fornisce informazioni circa lo stato funzionale dei tessuti encefalici, inclusi flusso e volume ematico, metabolismo e biochimica. Le tecniche anatomiche trovano una vasta applicazione nella pratica clinica routinaria, mentre l'imaging cerebrale funzionale è un campo promettente, le cui potenzialità nella diagnosi, terapia e ricerca non sono state ancora completamente elucidate, e rappresenta l'oggetto principale di questa review. Varie tecniche di imaging funzionale sono ormai disponibili per studiare il cervello in vivo. Alcune misurano flusso ematico e variazioni metaboliche regionali correlate a modificazioni funzionali dell'attività neuronale, quali la Tomografia ad Emissione di Positroni (PET) e la Risonanza Magnetica funzionale, mentre altre, quali elettroencefalografia (EEG), MagnetoEncefaloGrafia (MEG) e Stimolazione Transcranica Magnetica (TMS), analizzano le proprietà elettromagnetiche dell'attivazione neuronale. È opportuno sottolineare che, ad oggi, tutte le tecniche di imaging funzionale, nonostante la loro crescente tecnologia, presentano tuttora limiti di risoluzione spaziale o temporale e studiano la funzione encefalica da diversi punti di vista. Poiché nessuna delle tecniche di imaging funzionale disponibili presenta contemporaneamente alta risoluzione sia spaziale che temporale sono stati sviluppati vari promettenti approcci integrati incluso l'impiego della risonanza magnetica strutturale o funzionale in sistemi di neuronavigazione per TMS per localizzare con precisione il sito di stimolazione in relazione alla sottostante anatomia o funzione cerebrale. L'utilizzo integrato di EEG e TMS è uno degli approcci di neuroimaging funzionale più promettenti in quanto ha fornito la possibilità di studiare “on line” e in vivo gli effetti diretti della TMS sull'encefalo. Gli autori consigliano l'integrazione di differenti tecnologie di imaging che è solo una delle possibili applicazioni di un più generale approccio multidisciplinare che dovrebbe sempre ispirare l'attività di clinici e ricercatori.

Parole Indice Neuroimaging, Tecnologie diagnostiche

Il lavoro spetta in pari misura agli autori
All authors participated equally in this work

Indirizzo per la corrispondenza
Address for correspondence

Professor Paolo Maria Rossini
Neurologia - Università Campus Bio-Medico di Roma
Via Álvaro del Portillo, 21 - 00128 Roma

NON-INVASIVE BRAIN IMAGING TECHNIQUES

Techniques for human brain imaging have undergone rapid developments in recent years. The central nervous system can be imaged with anatomical and physiologic techniques. Anatomical imaging provides information about the structure of the skull, the brain, the vascular supply of the nervous system, and the cerebrospinal fluid spaces. Physiologic imaging (functional brain imaging) provides information about the functional state of brain tissues, including water content, blood flow, blood volume, metabolism, and biochemistry [1-5].

The most important anatomical techniques are: X-Ray Computed Tomography (CT) and Magnetic Resonance Imaging (MRI).

CT has the advantages of widespread availability, short study time, sensitivity for detection of calcifications and acute hemorrhage, and excellent visualization of the anatomy of bone, such as the skull base and vertebrae.

With respect to X-Ray Techniques, such as computed tomography (CT), Magnetic Resonance Imaging (MRI) has many advantages: absence of ionizing radiation, exquisite sensitivity to blood flow, capacity to produce images in planes with any orientation, sensitivity to the accumulation of iron in tissue, high soft-tissue contrast resolution, high sensitivity to tissue edema, and absence of beam-hardening artifacts. MRI is the imaging procedure of choice for most neurologic diseases and is more indicated than CT for demyelinating and other white-matter diseases, primary and metastatic intracerebral neoplasms, degenerative diseases, nonacute hemorrhage, and cerebral infarction [1]. Besides, conventional MRI is not as effective as CT for detecting abnormal calcification, disorders of cranial and vertebral bones and joints, and acute subarachnoid hemorrhage [1].

Many new developments have improved the usefulness of MRI [1]: fluid-attenuated inversion recovery, which gives a high signal for parenchymal lesions and a low signal for cerebrospinal fluid [6]; diffusion-weighted imaging, which can detect cytotoxic edema and is sensitive to early ischemic changes [7]; echoplanar imaging, which uses improved gradient design to acquire ultrafast images, a requirement for functional MRI [8] and combinations of these techniques [9]. Magnetic resonance angiography allows noninvasive visualization of the cerebral and extracerebral vessels.

Anatomical techniques show a broad application in routine clinical practice, while functional brain imaging is a promising field whose diagnostic, therapeutic, and research potential is not yet fully investigated and understood so that is the main focus of the present review.

NON-INVASIVE FUNCTIONAL BRAIN IMAGING

Functional imaging techniques to study the brain in vivo are nowadays available, though they all present both significant advantages and limitation [2-5]. Some measure regional blood flow and metabolic changes linked with function-related changes in neuronal firing level such as Positron Emission Tomography (PET) and functional Magnetic Resonance Imaging (fMRI) while others, namely high resolution ElectroEncephaloGraphy (EEG), MagnetoEncephaloGraphy (MEG) and Transcranial Magnetic Stimulation (TMS), analyze the electromagnetic properties of neuronal activation.

PET, fMRI and MR spectroscopy

PET is a relatively invasive technique involving inhalation or injection of radioactive substances, displaying quantitative maps of brain activity via tracer kinetic modeling of the radioactive compound. For instance, regional cerebral blood flow (rCBF), a marker of synaptic activity, can be measured using various radioisotopes. The subject lies in the scanner and radiation detectors, positioned all around the head, detect the anatomical location within the subject's brain where the encounter of a positron and a natural electron reciprocally annihilating produce gamma radiations. The source of these radiations can in turn be mapped showing the position of the radioisotope in space, that is where in the brain the blood is preferentially flowing while the subject performs a particular "activation" task [10]. The anatomic location of the activation can be determined by mapping the signal changes into a standardized co-ordinate system and superimposed onto a standardized three-dimensional MR image of the human brain [11-13]. Although initially possible only across a group of subjects, recent advances in PET technology have made possible to detect significant activations in individual subjects and to map these changes on their own MRI's, resulting in substantial improvement in spatial resolution and anatomical registration. The temporal resolution of PET is poor, as each measurement of rCBF takes around 90 seconds and cannot be repeated for at least 6 minutes. Because of dosimetry, only a limited number of scans can be obtained in a single session in a given subject. Other major advantages of PET are that radioisotopes can be incorporated in specific ligands to receptors that one wants to study [14]. On the other hand this technique is rather complex in execution and expensive requiring a cyclotron to produce essentially in loco the short decaying radioisotopes needed.

Functional MRI is a method of imaging the oxygenation status of hemoglobin in order to visualize local changes in cerebral blood flow that reflect changing neu-

ronal activity in response to a specific sensory stimulus or motor task [15, 16].

Functional MRI derives its signal from changes in deoxyhemoglobin concentrations in response to local neuronal firing, not needing the injection or inhalation of exogenous substances.

Oxyhemoglobin is weakly diamagnetic and interferes very little with the magnetic field, while deoxyhemoglobin is a paramagnetic molecule and its variations in concentration can be detected generating fMRI activation with an inverse correlation [17]. Neuronal activation secondary to a task increases the need for supply of oxygen and glucose, (though oxygen consumption increases less than the increase in perfusion). This results in a relative decrease in local deoxyhemoglobin, so-called blood oxygen-level dependent (BOLD) signal. BOLD is therefore the local change in deoxyhemoglobin concentration that the MR scanner detects [17, 18]. The BOLD signal was first described by Ogawa [19] in rat brain studied with strong magnetic fields (7 and 8.4 T). Since then, several experimental studies have analyzed the origin of its signal to clarify the complex cascade that, from neural activation, finally generates the decrement of deoxyhemoglobin concentration detected by MRI. Though these phenomena are only partially understood, it is generally accepted, that fMRI activation is based on neuro-vascular coupling, i.e. the local vascular response of arterioles and capillaries to supplying glucose and oxygen to neurons firing in their feeding territory. Although the signal change is very small, this is offset by the acquisition of repeats time-series, so that this technique has sufficient sensitivity to detect activations from individual subjects. The acquisition frames of fMRI depend on the specific collection sequence used, but can be less than 100ms for a single scan, which allows to perform multi-slice imaging of the whole brain within a short time of period. It is nevertheless possible to detect differences in peak activation time between brain regions in the order of one-two seconds. Temporal resolution of fMRI is dictated by the hemodynamic response timing of the neuro-vascular coupling phenomenon, which is about 12 seconds. It is nevertheless possible to detect differences in peak activation time between brain regions in the order of two seconds, thanks to the detection of a transient increase in deoxyhemoglobin determining an initial dip of BOLD signal [20-22]. Conversely, spatial resolution of fMRI is currently the highest among functional imaging techniques, up to a submillimetric level [16].

MR spectroscopy (MRS) is a noninvasive method that involves the examination of molecules in a much more transparent manner than does routine, clinical, conventional MR imaging [23-25]. Its performance and interpretation goes back to the origins of MR imaging in nuclear magnetic resonance and also points to a future in which

functional type techniques such as molecular imaging tell more than simple anatomy, but also the physiology of what is seen when looking at a patient's radiological images. Magnetic resonance spectroscopy permits measurement of the concentration of specific biochemical compounds in the brain and other organ systems in precisely defined regions guided by MR imaging [25]. Recently, MRS methods have been developed to measure specific neurotransmitters in the brain. More advanced MRS methods have been developed to measure the synthesis rates and turnover of specific neurotransmitters. These turnover rates can provide measures of brain metabolism similar to radioisotope techniques. Also, investigations of the relationship of brain metabolism and specific neurotransmitter systems are now possible using MRS. The main field of interest and present application of MRS are the brain neoplasms and neurodegenerative diseases and particularly dementias.

Neuromagnetic integrated methods: EEG, MEG and TMS.

Since its introduction, the **electroencephalogram** (EEG) was viewed with a great enthusiasm as the only methodology allowing a direct and on-line view of the "brain at work". The introduction of structural imaging technologies in the '70s and '80s (CT and MRI) and the great hits on brain function obtained with techniques dealing with regional metabolism, glucose and oxygen consumption and blood flow (SPECT, PET, fMRI) in the following two decades have relegated the role of EEG to a somewhat secondary line. Meanwhile, the 'old' EEG has been enriched by a number of modern approaches able to analyse and localise in 3D the sources as well as to track connectivity characterizing the hierarchy of the electromagnetic brain activity sustaining a given function. Such an approach, moreover, if integrated with structural and functional imaging coming from PET and fMRI, is –therefore- regaining the interest of the scientific community as a tool theoretically able to discern -with a time resolution which follows the 'brain time' that is in the order of milliseconds- the sequential recruitment of various centres according with a 'natural' hierarchy, within a putative network underlying the investigated task.

Advanced EEG methods allow to eliminate the contribution of volume currents, in order to obtain reference free recordings and to disentangle locoregional rhythmic or transient neuronal activities produced by both tangential and radially oriented generators from discrete brain regions underlying the exploring electrode [26, 27].

Source reconstruction of the electromagnetic brain scalp signals can be achieved via different methods. Relevant literature on brain imaging is particularly linked to the use of

low resolution electromagnetic tomography algorithm (LORETA) technique that computes 3-D linear solutions from multi-channel input to localize generators in the brain from the EEG field distribution on the scalp by employing a three-shell spherical head model of the scalp, skull, and brain compartments [28-31].

These advances in EEG signal analysis permit relatively precise localization of brain neural sources and the ability to track their hierarchical connectivity in sustaining a given function.

Another promising computational EEG approach is the analysis of the coherence of the EEG rhythms (theta, alpha, and beta) generated in different cortical areas. Coherence analysis studies non-invasively the connectivity of different brain regions, and how this connectivity changes in relation to task activation with a high temporal resolution. Coherence EEG methods, as well as the study of the coherence between EEG and EMG signals during voluntary motor activity, are very promising and they might permit a more in depth study of neuronal plastic changes secondary to either physiological brain function or to disease states [28, 32-34].

Magnetoencephalography (MEG) represents a non-invasive technique that detects the electromagnetic fields produced by active neurons, able to spatially identify the synchronous firing of neurons from restricted cortical areas, in relation to either spontaneous cerebral activity or in response to external stimuli. The MEG signal is not influenced by extracerebral tissue layers overlying brain. It allows to localize and measure the intracellular currents in a shallow brain region exactly below the recording sensor, without any contributions from volume currents. It preferentially records the tangential component of current dipoles generated in the depth of gyri and sulci.

MEG can identify and provide a precise three-dimensional location of neurons that are synchronously firing, either spontaneously or in response to an external stimulus, in restricted cortical areas. Externally recorded magnetic fields, produced by groups of neurons firing, can be modeled as current dipoles. MEG follows the spatial and temporal evolution of a dipolar generator source, which is modeled as an Equivalent Current Dipole (ECD) able to explain 90% or more of the magnetic field distribution over the scalp [35]. It has a very high time resolution, in the order of one millisecond or less. Such dipoles not only characterize the position of the firing neurons but also their strength (ie, their number and orientation). A decrease or increase in the responsive area caused by recruitment or loss of neurons surrounding the central core, causes a corresponding increase or decrease in the dipole strength. In fact, besides the spatial properties, the strength of ECDs (roughly reflecting the number of neurons firing synchronously), and their orientation can also be measured while response morphology

provides indirect information on the underlying neural circuitries. Decrease or increase of dipole strength can be due to restriction or enlargement of the responsive area studied, possibly because of recruitment of a fringe of neurons surrounding those usually firing in response to the incoming stimulus. These variations can be secondary to dynamic phenomena, such as use-dependent modulation of synaptic efficacy, to changes of excitatory/inhibitory input from adjacent or remote lesioned brain areas (diaschisis), or to changes in the amount of sensory information. The center of gravity (CoG) of the responsive area, in this model, is not modified by "plastic" reorganization and the ECD baricenter remains stable. On the other hand, when a brain lesion affects the main afferents and/or their target relays in primary somatosensory cortex, recovery of lost function can be achieved if an alternative neural circuitry is progressively activated. In this case, the CoG, as well as the ECD baricenter of the responsive area, are shifted in space and the response morphology is modified.

EEG and MEG [36-38] are non-invasive techniques, which detect electrophysiological signals with the temporal resolution of the millisecond or better. For both techniques the origin of the signal is mainly the effect of the postsynaptic currents associated with synchronous neuronal firing in the brain. EEG detects the electric potential difference measured from the scalp, i.e. it is a reference-dependent measure. It requires the contact between the recording electrodes and the scalp. MEG detects magnetic fields at the cranial surface, giving an absolute measure in each point.

The MEG recording system is to be brought near the head and the sensors are not in contact with the scalp. EEG is equally sensitive to cerebral sources oriented both radial and tangential to the head surface, MEG is almost selectively sensitive to the latter. Moreover EEG signal is distorted in space and time by the passage through the conductivity discontinuities of cerebrospinal fluid, meninges, skull and scalp, while MEG signal is transparent to these discontinuities in first approximation of spherical head.

Transcranial Magnetic Stimulation (TMS) was introduced by Barker *et al.* (1985) [39] and is a safe, painless, and non-invasive technique increasingly employed in brain functions studies [40, 5].

Different protocols of stimulation have been implemented to measure variables: following individual stimuli, following paired-pulses and following repetitive TMS (rTMS).

When applied over the scalp regions corresponding to the motor strip, TMS triggers a transient electromyographic response (Motor Evoked Potentials = MEPs) in the connected "target" muscles [41, 5].

Cortical mapping procedures with single TMS pulses focally applied on several scalp positions overlying the motor

cortex take into account the number of cortical sites eliciting MEPs and its “center of gravity” [42]. They are useful to track plastic changes originating from physiological manipulations—i.e., changing the sensory feedback or during motor learning or secondary to a disease process involving the motor system. Use-dependent changes—or changes secondary to a lesion—have been shown in cortical maps, with or without variations in the amplitude-weighted center of gravity, probably owing to the recruitment or inhibition of adjacent neurons at the periphery of the map [2]. Conditions exist where the area of maximal excitability, also called “hot spot,” can migrate outside the usual ease [2, 43]. Such “migration” may be due to the activation of a secondary hot spot previously hidden by the predominant one or to the recruitment of silent but already existing synapses or even to the creation of new synaptic connections and neural networks. Cross-modal plastic changes have also been demonstrated by TMS [44]. Published mapping studies with Transcranial Magnetic Stimulation (TMS) have addressed the cortical representation of either individual or limited group of upper limb muscles. Our team has performed (Melgari et al., unpublished data) mapping studies of 12 upper limb muscles of healthy subjects with TMS in order to disentangle functional topography (i.e. dynamic associations) by measuring cortical overlapping and correlation (standardized covariation). Interhemispheric differences and the influence of posture were evaluated as well. Findings demonstrate significant difference between muscles’ pairs in cortical overlapping (high for hand-forearm muscles, very low for arm vs hand/forearm) and higher overlapping in the left hemisphere. The arm/hand posture influenced both measures of association resulting on a higher overlapping with prone vs supine hand, but only for distal muscles whilst no changes occurred in the overlapping of proximal muscles with the muscles of the other more distal districts. Larger overlapping in the left hemisphere could be related to its lifetime higher training of all studied muscles with respect to the right hemisphere, resulting in larger connectivity. Altogether, findings with prone hand might be ascribed to mechanisms facilitating coupling of muscles for objects’ grasping and lifting -with more proximal involvement for joint stabilization- compared to supine hand facilitating hand catching actions.

Paired-pulse TMS protocols are powerful tool for studying mechanisms of intracortical inhibition and excitation. Typically, intracortical inhibitory and excitatory mechanisms can be tested by a paired-pulse protocol in which a conditioning sub-threshold TMS stimulus precedes a supra-threshold test stimulus by a programmable interstimulus interval (ISI) typically between 1-15 milliseconds in duration. The amplitude modulation of the test MEP allows the intracortical evaluation of inhibitory (ISIs 1-4 ms=intracortical inhibition, ICI) and facilitatory (at longer ISIs=in-

tracortical facilitation, ICF) phenomena, which are likely mediated by GABA_A and glutamate, respectively [45, 46].

Single TMS pulses delivered in trains with a constant frequency and intensity for a given time is the principle of rTMS. RTMS) can produce changes—outlasting the period of stimulation—in cortical excitability. This approach can influence transiently the function of the underlying brain area by either potentiating or “knocking out” activity (i.e. making a “virtual lesion”). Depending on the frequency of application, rTMS is known to increase or decrease the level of cortical excitability, which is the basis for the reported clinical benefits in diseases linked with brain excitability dysfunctions [5].

PITFALLS AND NEED OF AN INTEGRATED APPROACH

There are many pitfalls that have to be taken into account when approaching to the field of functional neuroimaging [47]. In fact, It must be underlined that, to date, all functional imaging techniques in spite their increasing technology, still present limits in spatial or temporal resolution and explore cerebral function from different points of view. PET and fMRI can provide a detailed relationship between function and anatomy and comprehensively map the distributed network subtending a given motor act. There are, however, intrinsic limitations in both PET and fMRI. In particular, the length of the examined epochs necessary to compute a statistically significant activation (seconds to minutes) make it difficult to discriminate the temporal sequence of a phenomenon and to differentiate neuronal firing decrease from increase (exciting vs inhibiting net effects). Imaging techniques such as Functional MRI (fMRI) and positron emission tomography (PET), on their own, have insufficient time resolution to follow the hierarchical activation of relays within a neural network; however, because of their excellent spatial resolution, they can integrate the findings of TMS, MEG and EEG. Thus, these neuroimaging techniques cannot discriminate in series or parallel activation of different relays within a distributed network [3]. Besides, while TMS permits the study of intracortical inhibition and excitation, PET and fMRI don’t distinguish whether activation of a certain brain area corresponds to the activity of excitatory or inhibitory neuronal networks. Moreover, when evaluating brain plasticity in older subjects and in patients affected by cerebrovascular disease, the analysis may encounter further difficulties. This is the case of the techniques based on metabolic-hemodynamic aspect of cerebral activation. Changes in cerebrovascular ultrastructure during aging result largely from arteriosclerotic changes, which probably decrease the elasticity and compliance of affected vessels. Aging is also as-

sociated with a decrease in resting cerebral blood flow, cerebral metabolic rate of O₂ consumption and vascular reactivity. In individuals with chronic cerebrovascular disease, neurovascular coupling has also been found to be altered in an increasing number of reports. These findings have implications for fMRI studies that aim to compare neural activity between aging or diseased populations and young or healthy subjects. It might be necessary to screen subjects carefully for cerebrovascular abnormalities [48] since in these patients (with both large or small vessels cerebrovascular disease), an altered neurovascular coupling was associated with a decreased [49] absent [50,51] or even negative [52] BOLD response. Nevertheless, arterial spin labeling demonstrated that a hemodynamic and metabolic down-regulation accompanies neuronal inhibition in the healthy subjects, supporting the idea that a sustained negative BOLD signal reflects neuronal deactivation [53]. An absent or negative BOLD response could be interpreted either as a lack of activation or inactivation of neural circuitry, or as the consequence of neurovascular uncoupling. Helpful in this regard is the integration of neurophysiological and metabolic techniques [54-56], since it permits—with appropriate approach—to characterize neuronal firing contribution to the related hemodynamic response. TMS and MEG allow the detection of sensorimotor area reshaping, either due to neuronal reorganization or to recovery of the previously damaged neural network. They have a high temporal resolution but suffer from limitations. TMS, in fact, only provides bi-dimensional scalp maps while MEG allows for three-dimensional identification of sources obtained by means of inverse procedures that rely on the choice of a mathematical model of the head and sources.

Many promising integrated approaches are nowadays available [5] including the use of fMRI- or structural MRI-neuronavigated TMS systems to precisely localize the cerebral site of stimulation with respect to the underlying brain function or anatomy [57,58]. This, does not imply the knowledge of volume, position in space, and stimulus-related chronology of brain areas directly or indirectly (i.e., at a distance from the directly stimulated area) influenced by the stimulus. Another possible integrated approach takes in consideration cortical TMS-induced metabolic changes measured by PET [59] and blood oxygen level TMS-dependent changes measured by fMRI [60]. Brain responses occurring in the first tens of milliseconds following TMS are necessarily neglected, though such temporal window includes important and function-related TMS-induced neural events that may have pathophysiologic relevance and can help to causally elucidate neural substrates sustaining higher cognitive functions. EEG provides a means to study the instantaneous neuronal effects of TMS in the brain with a millisecond time scale, which is presently not possible with any brain imaging method. So, the coregistration of EEG

activity during TMS may fill-up this gap, as it provides—together with high temporal resolution—unique information about the characteristics of cortical reactivity and cortico-cortical connectivity [61, 62]. The first published attempt to measure TMS-evoked brain responses was made by Cracco et al. (1989) with one scalp electrode used to register responses to TMS at a homologous contralateral cortical area to the stimulation site [63]. However, this approach was applied only in one study till the 1997 [64]. In 1997 TMS-compatible multi-channel EEG were introduced and allowed measurement of the instant and direct neuronal effects of TMS from multiple scalp locations [61]. In the EEG system, linear operation of the first amplifier stages was assured by limiting the input voltage and the shock artifact was suppressed by sampling the signal and by holding it constant during the stimulus. TMS-evoked EEG responses peaking at precise and repeatable latencies after stimulation have been described according to this approach [62, 65, 66]. Their temporal and topographic evolution over the scalp have been proposed to be the expression of the spread of activation from the stimulated cortical site via intra and interhemispheric corticocortical fibers, even if the contribution of subcortical neural structures cannot be excluded. Further investigation in patients with discrete brain lesions might help to better understand their (patho)physiologic significance. Many studies on cortical reactivity have shown that clear brain responses are elicited even at sub-threshold intensities, when no muscle activity is observable [65, 67] so that EEG-TMS can be considered very sensitive for the assessment of cortical excitability. Cortical reactivity may also be studied in terms of cortical rhythmic activity. TMS induces a period of synchronized activity in the beta range in the vicinity of the stimulation site as documented by spectral analysis of the TMS-evoked EEG [68].

The TMS-EEG allows the study of interhemispheric connections with high spatiotemporal specificity and the assessment of cortical reactivity with excellent sensitivity [62]. The importance of the combined use of EEG and TMS for neuroscience research makes it one of the most promising functional neuroimaging approaches [5]. The possibility of studying “on-line” and in vivo the direct effects of TMS on the brain “at work” can find useful applications in almost the whole neuron-scientific scenario: cognitive neuroscience, neurology, neuropharmacology, neuroplasticity, clinical neurophysiology.

CURRENT APPLICATIONS AND FUTURE PERSPECTIVES

Functional neuroimaging has enabled to measure various fundamental parameters of human brain physiology and chemistry, such as cerebral blood flow, metabolism,

synaptic functions and brain excitability. In particular, functional neuroimaging has had a major impact in cognitive neuroscience and in the study of brain plasticity.

Current clinical research has emphasized novel concepts for clinicians, such as the role of plasticity in recovery and the maintenance of brain functions in a broad range of diseases. There is a wider potential for neuroimaging in applications ranging from presymptomatic diagnosis, through drug development and individualization of therapies, to understanding functional brain disorders.

A major challenge of modern neuroscience is to identify eventual patterns of neuronal activity underlying cognitive function and to disentangle these actions from ongoing electromagnetic brain signals unrelated to task performance, background activity, and function-related activity. This issue is complicated further as these processes undergo maturation in infancy, childhood, adolescence, and adult aging with dramatic alterations produced by neurodegeneration or other lesional events [28].

Study of the “aging brain”: neurodegeneration, cognitive neuroscience.

Electromagnetic brain signals during mental rest and cognitive engagement provide significant insights on the aging processes and cognitive decline from neurodegeneration. In addition, cortical excitability and the causative role of relevant cortical areas within a cognitive task reliably can be performed using TMS techniques [28]. Very interesting is the study of the role of imaging biomarkers in dementia pathophysiology and in clinical trials. There are many potential major roles for neuroimaging with respect to dementia [69]: (i) as a cognitive neuroscience research tool, (ii) for prediction of which normal or slightly impaired individuals will develop dementia and over what time frame, (iii) for early diagnosis of Alzheimer’s disease (AD) in demented individuals, (sensitivity) and separation of AD from other forms of dementia (specificity), (iv) for monitoring of disease progression, and (v) for monitoring response to therapies. Focusing on the last role, no single imaging approach is yet ideal, as all trade-off speed, cost, and accuracy. Functional radionuclide-scanning imaging (i.e. SPECT and PET) is best suited to tracking symptomatic therapy response, and anatomic (MRI volumetric) imaging or amyloid PET or MRS are more suited to reflect dementia modulation studies. The potential for imaging with respect to pharmacological studies of dementia—to provide surrogate markers for drug studies, to improve diagnosis, to speed evaluation of outcomes, and to decrease sample sizes—is huge. At the present time, however, no single measure has sufficient proven reliability, replicability, or robustness, to replace clinical primary outcome measures [69].

Recently the development of new amyloid imaging ligands allowed the measurement of amyloid *in vivo* in the brain of patients with Alzheimer’s disease. This new PET amyloid imaging technique is a breakthrough in understanding the pathophysiological mechanisms and time course in amyloid deposits and will enable early detection of Alzheimer’s disease. Besides, PET amyloid imaging should be used in the evaluation of new anti-amyloid therapies [70].

Cognitive neuroscientists use also TMS in several ways, from aiming to increase understanding of brain–behavior relationships to transiently improving performance, both in normals and in patients with neurological and neuropsychological deficits [5, 71]. Different types of TMS (single-pulse, paired-pulse, repetitive) are able to interfere with higher brain functions that require the cooperation of different brain areas and complex neuronal networks.

Very promising in cognitive neuroscience for future perspectives is the coregistration of EEG activity during TMS.

Recovery: brain plasticity in stroke and neurorehabilitation

The field in which functional neuroimaging provide many interesting results is the evaluation of brain function and neural plasticity. In fact, during the past two decades experimental studies in animals, and neurophysiological and neuroimaging studies in humans have demonstrated that the adult brain maintains the ability to reorganize throughout life [72, 73]. Brain plasticity is thought to play an important role in functional recovery after injury to the nervous system [47, 2-5]. This consideration is particularly important when applied to ischemic brain injuries, which today are the most common cause of chronic disability, and to dementia. In fact, the study with functional neuroimaging techniques of monohemispheric stroke is increasingly used in investigations of brain plasticity.

In the last years, our group has published pivotal studies concerning brain plasticity in recovery from stroke using MEG. MEG is especially suitable in post-stroke studies, because the morbid tissue near the cerebral generators has minimal effects on the scalp distribution of the magnetic field [2, 3, 38, 74-76].

TMS has been used to investigate residual motor function in patients after stroke because the size of map and amplitude of the Motor Evoked Potential (MEP) depend on the intensity of the magnetic stimulus, the excitability and number of cortical neurones and on the integrity of the entire cortico-spinal tract: changes in them should give some insight into the functional integrity of the cortico-spinal system after stroke. Further, so far, TMS is one of the most reliable techniques to demonstrate that plasticity

in adult brain can be manipulated and to assess the reorganization in response to therapeutic intervention -as the Constraint-induced movement therapy- in the chronic stage of stroke. Usually after physical therapy the motor output maps increases in size, correlating with significant clinical improvement and suggesting the recruitment of additional brain areas.

However, the biological basis of spontaneous recovery of function that occurring over weeks and months after an acute insult, like cerebro-vascular stroke, has long remained elusive. An integrated use of functional imaging techniques can lead to a better study of the brain activation pattern of an individual patient, at any given time during recovery, that represents the state of organization within the motor system which is influenced by numerous factors (like size and localization of the lesion etc.). In a recent study of Stinear et al (2007) TMS, structural MRI and fMRI were used to determine which factors predict functional potential, defined as an individual's capacity for further functional improvement at least 6 months following stroke [77].

Treatments could be considered as inputs that interact with a damaged system (in this case the damaged post-stroke brain) in order to optimize its functional organization. An important point, suggested by the literature, is that an input will succeed in driving functionally useful change only if the brain regions and the networks with which it interacts are intact or able to influence motor output pathways. Another important issue is that we need more information on the specific patterns that sustain the recovery and we need new and measurable prognostic factors. It is in these contexts that neuroimaging techniques show their main future perspectives in research and clinical practice. For example, in a recent fMRI study the authors examined for longitudinal changes in cerebral responses to proprioceptive input that correlated with motor recovery in two patients demonstrating that functionally relevant changes in cerebral organization can be identified and described in individual patients [78].

Dementia, dystonia, Parkinson disease, autism, mood disorders and schizophrenia

It is now well accepted the importance of identifying the genetic determinants of complex brain-related disorders. Neuroimaging endophenotypes are quantitative indicators of brain structure or function that index genetic liability for an illness. These indices will significantly improve gene discovery and help us to understand the functional consequences of specific genes at the level of systems neuroscience [79].

Epilepsy

Blood flow and oxygen metabolism is important for the understanding of cerebro-vascular disease. Glucose metabolism is tightly coupled with brain function and FDG-PET (and also SPECT) is useful for the determination of epileptic foci [80] and for the evaluation of tumor malignancy.

Parkinson Disease and Movement Disorders

Measurement of pre- and post-synaptic function is applicable to the differential diagnosis of parkinsonism. In early stage of Parkinson's disease, only presynaptic dopaminergic function is impaired, while in multiple system atrophy with striato-nigral degeneration type, both pre- and post dopaminergic function is reduced. Development of new radiotracers is expected for detection of early specific pathological changes and more previous changes underlying the deterioration of neurochemistry, such as genetic abnormalities.

Neuro-Oncology

Of particular clinical interest are the possible applications of metabolic and molecular imaging in neuro-oncology [81]. In fact, technological progress has enabled the assessment of many physiological parameters in vivo that are highly relevant for tumor grading, tissue characterization, definition of the extent and infiltration of tumors, and planning and monitoring of therapy. A broad range of techniques, including dynamic MRI, PET, and single photon emission computed tomography, provide measurements of various features of tumor blood flow and microvasculature. Using PET to measure glucose consumption enables visualization of tumor metabolism, and magnetic resonance spectroscopy techniques provide complementary information on energy metabolism. Changes in protein and DNA synthesis can be assessed through uptake of labeled amino acids and nucleosides. Advanced imaging techniques can be used to assess tumor malignancy, extent, and infiltration, and might provide diagnostic clues to distinguish between lesion types and between recurrent tumor and necrosis. Stereotactic biopsies should be taken from the most malignant part of tumors, which can be identified by changes in microvascular structure and metabolic activity. Functional and metabolic imaging can improve the planning and monitoring of radiation and chemotherapy and contribute to the development of new therapies [81].

TAKE-HOME MESSAGE

As mentioned above, an integrated approach with technologies able to investigate functional brain imaging is of considerable value in providing information on the excitability, extension, localization and functional hierarchy of cortical brain areas. The deepening our knowledge on the mechanisms regulating cerebral function, plasticity and the long-term recovery (even if partial), observed for most neurological sequelae after neural damage, might prompt newer and more efficacious therapeutic and rehabilitative strategies for neurologic diseases.

Integration of different imaging technologies is just one of the possible application of a most general multidisciplinary approach that should always lead the activity of clinicians and researchers.

References

- Gilman S. Imaging the brain. First of two parts. *N Engl J Med*. 1998 Mar 19;338(12):812-20.
- Rossini PM, Calautti C, Pauri F, Baron JC. Post-stroke plastic reorganisation in the adult brain. *Lancet Neurol*. 2003 Aug;2(8):493-502.
- Rossini PM, Dal Forno G. Integrated technology for evaluation of brain function and neural plasticity. *Phys Med Rehabil Clin N Am*. 2004 Feb;15(1):263-306.
- Rossini PM, Pauri F. Neuromagnetic integrated methods tracking human brain mechanisms of sensorimotor areas 'plastic' reorganisation. *Brain Res Brain Res Rev*. 2000 Sep;33(2-3):131-54.
- Rossini PM, Rossi S. Transcranial magnetic stimulation: diagnostic, therapeutic, and research potential. *Neurology*. 2007 Feb 13;68(7):484-8.
- Wieshmann UC, Free SL, Everitt AD, Bartlett PA, Barker GJ, Tofts PS, Duncan JS, Shorvon SD, Stevens JM. Magnetic resonance imaging in epilepsy with a fast FLAIR sequence. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1996; 61:357-61.
- Marks MP, de Crespigny A, Lentz D, Enzmann DR, Albers GW, Moseley ME. Acute and chronic stroke: navigated spin-echo diffusion-weighted MR imaging. *Radiology* 1996;199:403-8.
- Mattay VS, Frank JA, Santha AK, Pekar JJ, Duyn JH, McLaughlin AC, Weinberger DR. Whole-brain functional mapping with isotropic MR imaging. *Radiology* 1996;201:399-404.
- Sorensen AG, Buonanno FS, Gonzalez RG, Schwamm LH, Lev MH, Huang-Hellinger FR, Reese TG, Weisskoff RM, Davis TL, Suwanwela N, Can U, Moreira JA, Copen WA, Look RB, Finklestein SP, Rosen BR, Koroshetz WJ. Hyperacute stroke: evaluation with combined multisection diffusion-weighted and hemodynamically weighted echo-planar MR imaging. *Radiology* 1996;199:391-401.
- Neville HJ, Mills DL, Lawson DS. Fractionating language: different neural subsystems with different sensitive periods. *Cereb Cortex* 1992;2:244-58.
- Messa C, Fazio F, Costa DC. Clinical brain radionuclide imaging studies. *Semin Nucl Med* 1995;25:111-143.
- Nadeau SE, Crosson B. A guide to the functional imaging of cognitive processes. *Neuropsychiatry, Neuropsychology and Behavioral Neurology* 1995;8:143-162.
- Watson JD, Myers R, Frackowiak RS, Hajnal JV, Woods RP, Mazziotta JC, Shipp S, Zeki S. Area V5 of the human brain: evidence from a combined study using positron emission tomography and magnetic resonance imaging. *Cereb Cortex* 1993;3:79-94.
- Saha GB, MacIntyre WJ, Go RT. Radiopharmaceuticals for brain imaging. *Semin Nucl Med* 1994;24:324-49.
- Desmond JE, Sum JM, Wagner AD, Demb JB, Shear PK, Glover GH, Gabrieli JD, Morrell MJ. Functional MRI measurement of language lateralization in Wada-tested patients. *Brain* 1995;118:1411-9.
- Matthews PM, Honey GD, Bullmore ET. Applications of fMRI in translational medicine and clinical practice. *Nat Rev Neurosci*. 2006; 7(9):732-44.
- Arthurs O, Boniface S. How well do we understand the neural origins of the fMRI BOLD signal? *Trends Neurosci* 2002; 25(1):27-31.
- Zarahn E. Spatial location and resolution of BOLD fMRI. *Curr Opin Neurobiol*. 2001;11(2):209-12.
- Ogawa S, Lee TM, Kay AR, Tank DW. Brain magnetic resonance imaging with contrast dependent on blood oxygenation. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990; 87:9868-9872.
- Heeger DJ, Ress D. What does fMRI tell us about neuronal activity? *Nat Rev Neurosci* 2002;3(2):142-51.
- Heeger DJ, Huk AC, Geisler WS, Albrecht DG. Spikes versus BOLD: what does neuroimaging tell us about neuronal activity? *Nat Neurosci*. 2000; 3(7):631-3.
- Logothetis NK, Pauls J, Augath M, Trinath T, Oeltermann A. A neurophysiological investigation of the basis of the fMRI signal. *Nature* 2001;412,150-157.
- Rothman DL, Petroff OAC, Behar KL, Mattson RH. Localized ¹H NMR measurements of g-aminobutyric acid in human brain in vivo. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1993;90:5662-6.
- Wang Z, Zimmerman RA, Sauter R. Proton MR spectroscopy of the brain: clinically useful information obtained in assessing CNS diseases in children. *Am J Roentgenol* 1996;167:191-9.
- Mullins ME. MR spectroscopy: truly molecular imaging; past, present and future. *Neuroimaging Clin N Am*. 2006 Nov;16(4):605-18.
- Babiloni C, Carducci F, Cincotti F, Rossini PM, Neuper C, Pfurtscheller G, Babiloni F. Human movement-related potentials vs desynchronization of EEG alpha rhythm: a high-resolution EEG study. *Neuroimage* 1999; 10(6):658-65.
- Babiloni C, Babiloni F, Carducci F, Cincotti F, Rosciarelli F, Arendt-Nielsen L, Chen AC, Rossini PM. Human brain oscillatory activity phase-locked to painful electrical stimulations: a multi-channel EEG study. *Hum Brain Mapp* 2002; 15(2):112-23.
- Rossini PM, Rossi S, Babiloni C, Polich J. Clinical neurophysiology of aging brain: From Normal Aging to Neurodegeneration. *Prog Neurobiol*. 2007 Dec;83(6):375-400.
- Pascual-Marqui RD, Michel CM, Lehmann D. Low resolution electromagnetic tomography: a new method for localizing electrical activity in the brain. *Int J Psychophysiol*. 1994;18:49-65.
- Pascual-Marqui RD, Lehmann D, Koenig T, Kochi K, Merlo MC, Hell D, Koukkou M. Low resolution brain electromagnetic tomography (LORETA) functional imaging in acute, neuroleptic-naive, first-episode, productive schizophrenia. *Psychiatry Res*. 1999; 90:169-179.
- Pascual-Marqui RD, Esslen M, Kochi K, Lehmann D. Functional imaging with low resolution brain electromagnetic tomography (LORETA): a review. *Methods and Findings in Exp. Clin. Pharmacol*. 2002; 24: 91-95.
- Mima T, Hallet M. Cortico-muscular coherence: a review. *J Clin Neurophysiol* 1999;16:501-511.
- Mima T, Toma K, Koshy B, Hallet M. Coherence between cortical and muscular activities after a subcortical stroke. *Stroke* 2001;32: 2597-2601.
- Schack B, Grieszbach G, Nowak H, Krause W. The sensitivity of instantaneous coherence for considering elementary comparison processing. Part II: similarities and differences between EEG and MEG coherences. *Int J Psychophysiology* 1999;31:241-259.
- Williamson SJ, Kaufman L. Evolution of neuromagnetic topographic mapping. *Brain Topogr* 1990;3:113-27.
- Niedermeyer E, Lopes da Silva F. *Electroencephalography: basic principles, clinical applications, and related fields*. Baltimore, MD: Williams & Wilkins 1997.
- Del Gratta C, Pizzella V, Tecchio F, Romani GL. Magnetoencephalography - a non invasive brain imaging method with 1 ms time resolution. *Rep Prog Phys* 2001;64:1759- 1814.

38. Tecchio F, Porcaro C, Barbati G, Zappasodi F. Functional source separation and hand cortical representation for a brain-computer interface feature extraction. *J Physiol.* 2007;580:703-721.
39. Barker AT, Jalinous R, Freeston IL. Non invasive magnetic stimulation of the human motor cortex. *Lancet* 1985; 1, 1106-7.
40. Kobayashi M, Pascual Leone A. Transcranial magnetic stimulation in neurology. *Lancet Neurol.* 2003; 2:145-156.
41. Rossini PM, Di Stefano E, Stanzione P. Nerve impulse propagation along central and peripheral fast conducting motor and sensory pathways in man. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol.* 1985;60: 320-334.
42. Rossini PM, Barker AT, Berardelli A, Caramia MD, Caruso G, Cracco RQ, Dimitrijevic MR, Hallett M, Katayama Y, Lucking CH, et al. Non-invasive electrical and magnetic stimulation of the brain, spinal cord and roots: basic principles and procedures for routine clinical application. Report of an IFCN committee. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol.* 1994; 91:79-92.
43. Ferreri F, Pauri F, Pasqualetti P, Fini R, Dal Forno G, Rossini PM. Motor cortex excitability in Alzheimer's disease: a transcranial magnetic stimulation study. *Ann Neurol.* 2003;53:102-108.
44. Chen R, Cohen LG, Hallett M. Nervous system reorganization following injury. *Neuroscience* 2002;111:761-773.
45. Kujirai, T., Caramia, M.D., Rothwell, J.C., Day, B.L., Thompson, P.D., Ferbert, A., Wrose, S., Asselmann, P., Marsden, C.D. Corticocortical inhibition in human motor cortex. *J. Physiol* 1993; 471, 501-519.
46. Ziemann U. TMS and drugs. *Clin. Neurophysiol.* 2004;115:1717-22.
47. Rossini PM, Altamura C, Ferreri F, Melgari JM, Tecchio F, Tombini M, Pasqualetti P, Vernieri F. Neuroimaging experimental studies on brain plasticity in recovery from stroke. *Eura Medicophys.* 2007 Jun;43(2):241-54.
48. D'Esposito M, Deouell LY, Gazzaley A. Alterations in the BOLD fMRI signal with ageing and disease: a challenge for neuroimaging. *Nat Rev Neurosci.* 2003; 4(11):863-72.
49. Pineiro R, Pendlebury S, Johansen-Berg H, Matthews PM. Altered hemodynamic responses in patients after subcortical stroke measured by functional MRI. *Stroke* 2002; 33:103-9.
50. Rossini PM, Altamura C, Ferretti A, Vernieri F, Zappasodi F, Caulo M, Pizzella V, Del Gratta C, Romani GL, Tecchio F. Does cerebrovascular disease affect the coupling between neuronal activity and local haemodynamics? *Brain.* 2004 Jan;127(Pt 1):99-110.
51. Binkofski F & Seitz RJ. Modulation of the BOLD-response in early recovery from sensorimotor stroke. *Neurology* 2004 Oct 12;63(7): 1223-9.
52. Rother J, Knab R, Hamzei F, Fiehler J, Reichenbach JR, Buchel C, Weiller C. Negative dip in BOLD fMRI is caused by blood flow-oxygen consumption uncoupling in humans. *Neuroimage* 2002; 15(1):98-102.
53. Stefanovic B, Warnking JM, Pike GB. Hemodynamic and metabolic responses to neuronal inhibition. *Neuroimage* 2004;22:771-8.
54. Rossini PM, Caltagirone C, Castriota-Scanderbeg A, Cicinelli P, Del Gratta C, Demartin M, Pizzella V, Traversa R, Romani GL. Hand motor cortical area reorganization in stroke: a study with fMRI, MEG and TCS maps. *Neuroreport.* 1998;9:2141-6.
55. Gerloff C., Bushara K, Sailer A, Wassermann EM, Chen R, Matsuoaka T, Waldvogel D, Wittenberg GF, Ishii K, Cohen LG, Hallett M. Multimodal imaging of brain reorganization in motor areas of the contralesional hemisphere of well recovered patients after capsular stroke. *Brain* 2006; 129:791-808.
56. Hamzei F, Liepert J, Dettmers C, Weiller C, Rijntjes M. Two different reorganization patterns after rehabilitative therapy: An exploratory study with fMRI and TMS. *Neuroimage* 2006; 31: 710-20.
57. Boroojerdi B, Foltys H, Krings T, Spetzger U, Thron A, Topper R. Localization of the motor hand area using transcranial magnetic stimulation and functional magnetic resonance imaging. *Clin Neurophysiol.* 1999 Apr;110(4):699-704.
58. Herwig U, Schonfeldt-Lecuona C, Wunderlich AP, et al. The navigation of transcranial magnetic stimulation. *Psychiatry Res.* 2001;108:123-131.
59. Rounis E, Lee L, Siebner HR, Rowe JB, Friston KJ, Rothwell JC, Frackowiak RS. Frequency specific changes in regional cerebral blood flow and motor system connectivity following rTMS to the primary motor cortex. *Neuroimage* 2005;26:164-176.
60. Bestmann S, Baudewig J, Siebner HR, Rothwell JC, Frahm J. Functional MRI of the immediate impact of transcranial magnetic stimulation on cortical and subcortical motor circuits. *Eur J Neurosci* 2004;19: 1950-1962.
61. Ilmoniemi RJ, Virtanen J, Ruohonen J, Karhu J, Aronen HJ, Naatanen R, Katila T. Neuronal responses to magnetic stimulation reveal cortical reactivity and connectivity. *Neuroreport* 1997;8:3537-3540.
62. Komssi S, Kahkonen S. The novelty value of the combined use of electroencephalography and transcranial magnetic stimulation for neuroscience research. *Brain Res Rev.* 2006 Aug 30;52(1):183-92.
63. Cracco RQ, Amassian VE, Maccabee PJ, Cracco JB. Comparison of human transcallosal responses evoked by magnetic coil and electrical stimulation. *Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol.* 1989;74: 417-424.
64. Amassian VE, Cracco RQ, Maccabee PJ, Cracco J.B. Cerebello-frontal cortical projections in humans studied with the magnetic coil. *Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol* 1992; 85: 265-272.
65. Komssi S, Kahkonen S, Ilmoniemi RJ. The effect of stimulus intensity on brain responses evoked by transcranial magnetic stimulation. *Hum Brain Mapp* 2004;21:154-164.
66. Esser SK, Huber R, Massimini M, Peterson MJ, Ferrarelli F, Tononi G. A direct demonstration of cortical LTP in humans: a combined TMS/ EEG study. *Brain Res Bull* 2006;69:86-94.
67. Kähkönen, S., Komssi, S., Wilenius, J., Ilmoniemi, R.J., Prefrontal transcranial magnetic stimulation produces intensity-dependent EEG responses in humans. *NeuroImage* 2005; 24:955-960.
68. Paus, T., Sipilä, P.K., Strafella, P. Synchronization of neuronal activity in the human primary motor cortex by transcranial magnetic stimulation: an EEG study. *J. Neurophysiol* 2001; 86:1983-1990.
69. Chertkow H, Black S. Imaging biomarkers and their role in dementia clinical trials. *Can J Neurol Sci.* 2007 Mar;34 Suppl 1:S77-83.
70. Nordberg A. Amyloid imaging in Alzheimer's disease. *Curr Opin Neurol.* 2007 Aug;20(4):398-402.
71. Rossi S, Rossini PM. TMS in cognitive plasticity and the potential for rehabilitation. *Trends Cogn Sci.* 2004 Jun;8(6):273-9.
72. Nudo RJ, Wise BM, SiFuentes F, Milliken GW. Neural substrates for the effects of rehabilitative training on motor recovery after ischemic infarct. *Science* 1996;272:1791-4.
73. Nudo RJ. Remodeling of cortical motor representations after stroke: implications for recovery from brain damage. *Mol Psychiatry* 1997 May;2(3):188-91.
74. Tecchio F, Rossini PM, Pizzella V, Cassetta E, Romani GL. Spatial properties and interhemispheric differences of the sensory hand cortical representation: a neuromagnetic study. *Brain Res.* 1997;767:100-8.
75. Tecchio F, Pasqualetti P, Pizzella V, Romani G, Rossini PM. Morphology of somatosensory evoked fields: inter-hemispheric similarity as a parameter for physiological and pathological neural connectivity. *Neurosci Lett.* 2000;287:203-6.
76. Tecchio F, Zappasodi F, Pasqualetti P, Rossini PM. Neural connectivity in hand sensorimotor brain areas: an evaluation by evoked field morphology. *Hum Brain Mapp.* 2005; 24:99-108.
77. Stinear CM, Barber PA, Smale PR, Coxon JP, Fleming MK, Byblow WD. Functional potential in chronic stroke patients depends on corticospinal tract integrity. *Brain.* 2007 Jan;130(Pt 1):170-80.
78. Ward NS, Brown MM, Thompson AJ, Frackowiak RS. Longitudinal changes in cerebral response to proprioceptive input in individual patients after stroke: an FMRI study. *Neurorehabil Neural Repair.* 2006 Sep;20(3):398-405.
79. Glahn DC, Thompson PM, Blangero J. Neuroimaging endophenotypes: strategies for finding genes influencing brain structure and function. *Hum Brain Mapp.* 2007 Jun;28(6):488-501.
80. Van Paesschen W, Dupont P, Sunaert S, Goffin K, Van Laere K. The use of SPECT and PET in routine clinical practice in epilepsy. *Curr Opin Neurol.* 2007 Apr;20(2):194-202.
81. Herholz K, Coope D, Jackson A. Metabolic and molecular imaging in neuro-oncology. *Lancet Neurol.* 2007 Aug;6(8):711-24.

Research Highlights on Nerve Growth Factor Effects on Ocular Diseases

Ultimi Aggiornamenti della Ricerca sugli Effetti del “Nerve Growth Factor” nelle Patologie Oculari

A LAMBIASE, S BONINI

Oftalmologia, Centro Interdisciplinare di Ricerca (CIR), Università Campus Bio-Medico di Roma

Background Many clinical and experimental evidences have extended the role of Nerve Growth Factor (NGF) from neurotrophin to the pleiotropic factor that extends its biological activity from the central and peripheral nervous systems to the immune, endocrine and visual systems. Clinical studies suggest that topic treatment with NGF represents a useful therapy for various ocular, skin or neurodegenerative diseases such as Alzheimer.

Index Terms Nerve growth factor. Ocular diseases

Premessa Studi sperimentali e clinici compiuti negli ultimi venti anni hanno dimostrato che il nerve growth factor (NGF) svolge un ruolo chiave non solo nel sistema nervoso, ma anche in quello immunitario, endocrino e visivo. Il NGF è coinvolto in un ampio spettro di patologie, quali le allergie, le malattie autoimmuni, neurodegenerative, infettive, congenite, ischemiche e traumatiche. Particolarmente interessanti sono i risultati conseguiti con il trattamento in collirio a base di NGF in patologie oculari. Studi sperimentali e su pazienti hanno dimostrato che la terapia con NGF è in grado di indurre la guarigione di ulcere corneali di natura neurotrofica, autoimmune e virale, e di proteggere le cellule ganglionari retiniche nel glaucoma. Questi risultati, insieme alla dimostrata efficacia del NGF nel trattamento di pazienti affetti da ulcere cutanee diabetiche, da decubito e da vasculite, ha dato nuovo impulso ai tentativi di sviluppo farmaceutico del NGF per terapie topiche. L'uso del NGF ricombinante umano per somministrazione sistemica nelle neuropatie diabetiche e da HIV era stato sviluppato negli anni '90 dalla Genentech e successivamente abbandonato per i risultati insoddisfacenti di un trial multicentrico di fase III. Dieci anni dopo, le nuove scoperte sul NGF ne hanno rinnovato l'interesse per lo sviluppo farmacologico industriale. Numerosi aspetti spiegano il rinnovato interesse per l'impiego terapeutico del NGF: 1) il progresso delle biotecnologie che ha consentito la scoperta di nuovi e più efficaci NGF ricombinanti umani, 2) la dimostrata efficacia della somministrazione locale del NGF rispetto a quella sistemica, 3) l'ampio spettro di patologie in cui l'NGF si è dimostrato efficace: oculari e cutanee, oltre che del sistema nervoso centrale e periferico, 4) la dimostrazione che la somministrazione del NGF in collirio ne consente il passaggio in numerose aree cerebrali e che almeno in un modello animale di Alzheimer riduce i danni cerebrali della malattia. L'insieme di queste nuove conoscenze suggerisce che in un prossimo futuro il NGF, e probabilmente altre neurotrofine, entreranno a far parte della farmacopea per il trattamento di patologia a tutt'oggi ancora prive di terapie risolutive.

Parole Indice Fattore di crescita neuronale, Patologie oculari

Il lavoro spetta in pari misura agli autori
All authors participated equally in this work

Indirizzo per la corrispondenza
Address for correspondence

Dr. Alessandro Lambiase
Area di Oftalmologia - Università Campus Bio-Medico di Roma
Via Álvaro del Portillo, 21
00128 Roma - Italy

Nerve growth factor (NGF), the founder and the most well known member of the family of neurotrophins (NTs), is a pleiotropic factor that extends its biological activity from the central and peripheral nervous systems to the immune, endocrine and visual systems.¹

Signals mediated by NGF are propagated by two distinct receptors: TrkA (a tyrosine kinase receptor) and p75 receptor (a member of the tumor necrosis factor receptor superfamily).^{2,3} The duration and magnitude of NGF signaling depends on the ratio of TrkA and p75 co-distributed on cell surface.⁴ Functionally, signalling by TrkA and p75 may be synergistic, independent, or antagonistic. Interestingly, these opposing NGF effects, ranging from cell growth, differentiation, survival and cell death, are apparently not shared by the other NTs, although all bind p75. From the NGF discovery in the 1950s, increasing evidence have demonstrated that NGF is able to support neurons survival *in vitro* and during neurodegenerative diseases in animal experimental models and in few patients.⁵ Based on these data, NGF has raised expectations that its clinical application to neurodegenerative diseases, such as Alzheimer and Parkinson disease, might provide an effective therapy for what are now untreatable conditions.⁶ However, the first pharmacological problem was related to the molecular size of NGF (the active subunit is a 118AA peptide), which does not cross the blood-brain barrier in therapeutic amount, when systemically administered.⁷ As a consequence, for several years the therapeutic application of NGF for CNS diseases was abandoned, the recent discovery of small peptide mimicking NGF activity and the availability of engineered cell transfected with NGF gene have opened new prospective.^{8,9} However, during the last twenty years pharmaceutical companies have focused on the potential use of NGF for the treatment of peripheral neuropathy such as in diabetes, HIV infection and following anti-cancer therapy. In particular, since reduced levels of NGF contributes to the pathogenesis of diabetic neuropathy, and animal models of neuropathy respond to the exogenous administration of NGF, this neurotrophin was selected as a potential therapy for diabetic polyneuropathy. In the 1990s, two phase II clinical trails demonstrated that recombinant human NGF (rhNGF) systemic administration was effective at improving both diabetic polyneuropathy and HIV-related neuropathy, showing as the only side effect a painful sensation at the site of NGF injection.^{10,11} However, a large-scale phase III clinical trail of 1019 patients randomized to receive either rhNGF or placebo for 48 weeks failed to confirm the previous indications of efficacy. Among the explanations offered for the discrepancy between the two sets of trails was a robust placebo effect, inadequate dosage, different study populations, and changes to the formulation of rhNGF for the phase III trail.¹² As a result of the phase III outcome, the potential development of NGF as a clinical available drug seemed to be finished.

At the end of 1990s, our research group extended the involvement of NGF on the pathophysiology of the ocular surface, showing a role of this neurotrophin in the modulation of immune reaction, trophic support and healing of both cornea and conjunctiva.¹ Therefore, the efficacy of NGF eye drop treatment was evaluated in animal models and in “untreatable” human diseases, showing that the therapeutic effectiveness was associated with a safety profile.¹³⁻¹⁵ Furthermore, pharmacodynamic studies highlighted that the NGF administered on the ocular surface reaches the ocular posterior segment opening new prospective for the treatment of optic nerve and retina diseases, which are still without any medical therapy.¹⁶

Nerve growth factor and the posterior ocular segment

Historically, the first evidence of the NGF involvement in the visual system has been demonstrated on the retina and the central visual pathway. It is known since 1970s, that NGF and both NGF-receptors (NGFR) are widely expressed in the central visual pathway (lateral geniculate nucleus and visual cortex) as well as in the optic nerve and retina.¹

Recently, it has also been found that NGF and NGFR are expressed by all the intra-ocular tissues, including crystalline, vitreous, choroid, iris and trabecular meshwork.¹⁷

NGF has been found to strongly affect visual pathway development and plasticity, and in particular, NGF acts as a differentiation, rather than survival, factor in the development of the visual cortex.¹⁸ During visual system development, NGF, TrkA and p75 are localized in numerous visual centers, from the visual cortex to the retina, where NGF modulates neuritis outgrowth, survival and selective apoptosis.¹⁸⁻²⁰ In rats undergoing experimental monocular sensorial deprivation (occlusion of one eye), NGF treatment restored visual acuity and visual cortex neuron distribution, maintaining the ocular dominance and neural functions in the lateral geniculate nucleus, as compared to the control eye.^{18,21}

NGF modulates retina and optic nerve development/differentiation and promotes the survival and recovery of retinal ganglion cells (RGCs). The first evidence for an NGF/NGF-R pathway expression in the retina came from observations in chicken and developing rat retina.^{22,23} In the retina, NGF is produced and utilized by RGCs, bipolar neurons as well as glial cells, in a local paracrine/autocrine pattern. A retrograde/anterograde transport along the axons of the RGCs (optic nerve) and geniculate nucleus has been also reported.²⁰ After NGF administration at the site of lesion, retrograde/anterograde transport was also demonstrated in the optic nerve of goldfish and rats.^{20,24} Subsequently, NGF production from RGCs, Muller cells and pigmented ep-

ithelium of adult rats was also reported,²⁵ as well as *trkA* expression in the pigmented epithelium and Muller cells of rat adult retina.^{20,25} NGF also affects retinal plasticity, with massive cell death observed during retinal development associated with a consistent p75 expression. Conversely, several experimental studies demonstrate that NGF/*TrkA* pathway promotes RGCs survival. In fact, intraocular injection of NGF promoted recovery of damaged RGCs after ischemic injury, optic nerve transection, and ocular hypertension, in contrast to the exacerbating effects of the administration of neutralizing anti-NGF antibodies.²⁶⁻²⁸ In addition to the original discovery of NGF as a survival and neurite growth-promoting factor, in the retina NGF appears to exert multiple effects on different cell types, including proliferation, transmitter synthesis, cytoskeletal changes, synaptic transmission, reorganization, and plasticity.¹ NGF expression was found decreased in the retina of mice affected by an inherited retinal degeneration that resembles retinitis pigmentosa.²⁹ Exogenous retro-bulbar or intraocular NGF administration significantly delayed retinal degeneration in C3H mice.³⁰ In diabetic rats, intraocular administration of NGF triggered recovery of damaged retina.³¹ Above all, in this animal model, both RGCs and Muller cells underwent apoptosis by overexpression of p75, while exogenous NGF treatment appeared to prevent this RGC, Muller cell and vascular pericyte loss.³¹

The experimental data on the effects of NGF in animal model of glaucoma are particularly interesting. Glaucoma, a neurodegenerative disease involving retina and optic nerve, is the most common cause of untreatable blindness in the Western countries. This chronic and progressive disease is characterized by degeneration of the RGCs and loss of axons of the optic nerve with a progressive and consequent deficit of the peripheral and central visual field.³² In an animal model of glaucoma, an increase of intraocular NGF during the progression of retinal degeneration was demonstrated.²⁸ NGF administration rescued RGCs, while its neutralizing antibodies exacerbated RGCs loss.²⁸ In particular, the crucial role of *TrkA*/p75 ratio expression in determining the fate of RGC is further supported by a recent study on a animal model of glaucoma showing that *TrkA* activation, but not p75, is able to rescue RGCs degeneration.³³

Moreover, NGF is involved in multiple sclerosis optic neuropathy, as demonstrated by decreased NGF levels in the optic nerve of multiple sclerosis patients.^{31,34,35}

Nerve growth factor and the anterior ocular segment

Under normal conditions, NGF and *trkA* are expressed in the anterior segment of the eye (iris, ciliary body, lens, cornea and conjunctiva), and NGF is released in the aqueous humor.¹⁷ After experimental iridectomy, only the iris

and ciliary body over-express NGF and NGF mRNA, consequently increasing NGF levels in aqueous humor.^{17,36} This finding suggests a potential role of NGF in the physiopathology of the rabbit anterior segment and a potential clinical significance of iridectomy, other than in the hydrodynamic regulation of the aqueous humor, and its role in influencing trophism and wound healing of the intraocular tissues.³⁷

Experimental study demonstrated that rat lens epithelium expresses and synthesizes NGF and *TrkA*. Indeed, in a culture model of cataractogenesis NGF administration delays, while neutralizing NGF-antibody increases cataract development.³⁸

Compelling evidence from *trkA* or p75 Null mice indicates that NGF also plays a role in the trophism of cornea.^{39,40} Corneal innervation appears to be NGF dependent, as demonstrated in *trkA* Null mice, showing a decrease of corneal nerve density and sensitivity.⁴⁰ NGF also plays a crucial role not only in the trophism, but also in the physiopathology, of anterior ocular segment diseases. In humans and experimental models, corneal and conjunctival layers (epithelial, stromal and endothelial cells) show the ability not only to produce and release NGF, but also to express *trkA* and p75, essential for mediating NGF's biological activities.⁴¹⁻⁴³ In vitro studies have confirmed that NGF is produced, stored, released and utilized by resident conjunctival, limbal and corneal cells (epithelial cells and fibroblasts).^{42,44,45} NGF, directly or via induction of other cytokines/growth factors, seems to modulate, in vitro and in vivo, some of the principal functions of epithelial cells and fibroblasts. In particular, NGF induces in vitro corneal epithelial cell proliferation and differentiation.⁴⁶ In addition, animal models of corneal injury, such as epithelial mechanical removal and refractive surgery, show that NGF expression is increased following to injuries and that NGF eye drop treatment stimulates corneal epithelial healing.^{42,47} A recent study performed on dogs confirmed the increase of NGF and *TrkA* expression following corneal injury, but failed to demonstrate an healing effect of NGF treatment.⁴⁸ This contrasting result may be explained by the difference in the animal used in the experiment, by the complete different dose regimen treatment and by the different statistical evaluation of the data. Using animal model of refractive surgery, it was demonstrated that NGF treatment may increase epithelial proliferation and corneal reinnervation post-PRK and stimulate corneal sensitivity after LASIK.^{47,49} In line with these observation, the involvement of NGF following refractive surgery was also confirmed in humans, where difference in the postoperative NGF levels were related with corneal sensation and ocular surface dryness following PRK and LASIK treatments.⁵⁰

NGF also affects corneal and conjunctival fibroblasts. After in vitro stimulation, NGF induces a wide range of

functional activities in fibroblasts, ranging from migration, differentiation, extracellular matrix metabolism and contraction of the matrix.⁴⁵

The expression of both NGF receptors by corneal endothelium strongly supports the hypothesis of an NGF biological activity, although up to now NGF function on these cells is unclear, since two studies demonstrated that this neurotrophin does not affect at least cell proliferation.^{41,51,52}

Increasing evidence show that NGF is also involved in the regulation of tear film production. In fact, NGF, trkA and p75, as well as other NTs and related receptors, were found expressed by the rat lacrimal gland tissue, and NGF has been quantified in human tears, indicating that NGF is basally released by the lacrimal gland.⁵³⁻⁵⁵ This data suggest that growth factors may play a role in the maintenance of the tear film. Considering that NGF potentially affects all the components of the ocular surface (cornea, conjunctiva, lacrimal gland and sensory innervation), it might play an important role during dry eye.¹ In line with this hypothesis, NGF eye drop administration in an dog experimental model of dry eye, increases tear production, conjunctival goblet cell density and corneal features.⁵⁶ Increased tear concentration of NGF has been reported also in patients affected by dry eye.⁵⁷ Interestingly, in rat NGF stimulate conjunctival goblet cells glycoconjugate secretion, without affecting cell proliferation.⁵⁸

An involvement of NGF in the corneal trophic support has been demonstrated by molecular study on keratoconus cornea.⁵⁹ In this study, a total absence of the NGF-receptor TrkA expression and a decreased expression of NGF and p75 was found in keratoconus. The absence of TrkA expression was associated with a strong increase in the Sp3 repressor short isoform(s) and a lack of the Sp3 activator long isoform. Sp3 is a bifunctional transcription factor that has been reported to stimulate or repress the transcription of numerous genes. Indeed, Sp3 short isoform(s) overexpression in cell culture results in a down-regulation of TrkA expression. An imbalance in Sp transcription-factor isoforms may play a role in controlling the NGF signaling, thus contributing to the pathogenesis of keratoconus. This mechanism for the transcriptional repression of the TrkA gene can provide the platform for the development of a therapeutic strategy in keratoconus.⁵⁹

Interestingly the NGF/ trkA pathway plays a crucial role also during chronic inflammatory ocular conditions, such as in patients affected by vernal keratoconjunctivitis (VKC) and ocular cicatricial pemphigoid (OCP).⁴¹ During these inflammatory diseases of the ocular surface, NGF and trkA are over-expressed in the conjunctiva, as well as in serum.^{41,60,61} In particular, NGF plays an important role in VKC, an allergic conjunctivitis, in which high circulating NGF levels were related with ECP and total IgE levels, two common pe-

ripheral markers of allergy.⁶⁰ A significant correlation was also observed between NGF concentrations and increased numbers of mast cells in the VKC conjunctiva. In line with this observation, NGF and NGF-R were found increased in inflamed juvenile conjunctival nevus (IJCN), a disease characterized by eosinophil (EOS) infiltration of conjunctiva and increase of circulating and local IgE.⁴³ A link between local NGF and infiltrating mast cells and eosinophils was also confirmed in other allergic diseases, such as allergic asthma, urticaria-angioedema and allergic rhinoconjunctivitis.⁶² It is still unclear what cells are responsible for the increase of NGF and how NGF participates in allergic inflammation. Activated mast cells and eosinophils may be one source of NGF, as demonstrated in vitro and in vivo.⁶³ Resident cells, such as epithelial cells and fibroblasts may also participate in NGF production.⁶³ It is well known that NGF affects all cells that play a pivotal role in allergic inflammation, such as Th2 lymphocytes, mast cells and eosinophils. In particular, NGF induces mast cell differentiation, degranulation (including cytokines/growth factor release) and apoptosis/survival, as well as eosinophil activation, apoptosis and cytokines/growth factor release.⁶³

Additionally, both anti-inflammatory and endothelial cytoprotective mechanisms of NGF are demonstrated by a recent study showing that NGF gene therapy promotes cornea allograft survival in experimental rat corneal transplantation.⁶⁴

In vitro and in vivo studies demonstrated the antiviral efficacy of nerve growth factor (NGF) and its cyto-protective effect in herpes simplex virus (HSV)-infected cells.^{65,66} Experimental studies show that NGF is able to influence also herpetic keratitis. It was demonstrated that systemically administered anti-NGF induces ocular shedding of HSV-1 in vivo in rabbits harboring latent virus.⁶⁷ In line with this study, treatment with anti-NGF antibodies induced a more severe keratitis associated with increased biochemical and molecular markers of active viral replication in rabbits.⁶⁸ Conversely, topical treatment with NGF induced a significant amelioration of clinical and laboratory parameters statistically not inferior to acyclovir.⁶⁸ However, the effectiveness of NGF treatment on herpetic keratitis was not confirmed in a rat model of herpetic keratitis.⁶⁹ This discrepancy may be justified by the animal model difference, but also by the way of NGF administration (subconjunctival injection) that is well known to induce viral replication.

Potential therapeutic use of NGF in ocular diseases (evidence in humans)

The cornea, being an avascular structure, is unique in its dependence on sensory nerves for maintenance of trophism and for healing.⁷⁰ The cornea is the most richly innervated

site of the body, more than 100 times that of the tooth pulp and trigeminal nerve. Nerve damage leads to the development of a corneal lesion with markedly decreased healing properties (neurotrophic keratitis).⁷¹ Recently, the activity of NGF was considered in the treatment of human corneal ulcers related to neurotrophic disease.^{13,15,72} Topical administration of NGF in patients affected by neurotrophic corneal ulcer induces persistent corneal recovery and improvement of corneal sensitivity.^{13,15,72} NGF's clinical effect is thought to be mediated by a direct activity on the corneal epithelium, since trkANGFR receptors are expressed on the surface of the human cornea and *in vitro* NGF induces rabbit corneal epithelium to proliferate and differentiate.^{41,46} Indeed, in an experimental model of corneal injury, NGF treatment promoted the healing process, avoiding the onset of stromal remodelling mechanisms that often lead to superficial stroma opacification in corneal disease.⁴²

Besides the healing process, NGF modulates inflammatory reaction of the ocular surface, suggesting a therapeutic activity in corneal ulcer due to autoimmune diseases. This hypothesis was confirmed by the effectiveness of NGF eye drop treatment in 4 patients affected by long standing autoimmune corneal ulcers with stromal melting unresponsive to any standard treatment. Topical NGF treatment induced in all patients a prompt corneal healing associated with inhibition of the inflammatory reaction.¹⁴

More recently the therapeutic use of NGF eye drop has been extended to cataract surgery, as demonstrated by placebo controlled study showing that NGF is effective in accelerating the healing of corneal wounds, as demonstrated by optical coherence tomography (OCT).⁷³

Conclusion

Once regarded solely as target-derived survival factors for the nervous system, NGF is now known to exert different roles in modulating the ocular surface, as well as the retina and optic nerve. In fact NGF affects surface resident cells (cornea and conjunctiva epithelium, fibroblasts and endothelium), immune cells, sensory nerves, tear production, but also retinal ganglion cells, photoreceptors and optic nerve. As consequence, NGF is involved in several ocular diseases from the anterior to the posterior ocular segment with different etiopathology (table 1 and 2). Most of the experimental evidence show an effectiveness of NGF treatment in degenerative diseases of retina, such as glaucoma and retinite pigmentosa, as well as of the cornea such as neurotrophic keratitis. However increasing evidence suggest a role of NGF also in chronic inflammatory conditions, such as allergic conjunctivitis and autoimmune corneal ulcers, in promoting corneal healing and during infective keratoconjunctivitis such as herpes virus infection.

Preliminary clinical trials, performed in severe ocular diseases unresponsive to any standard treatment, confirm the therapeutic effectiveness of NGF eye drop treatment in patients affected by neurotrophic and autoimmune corneal ulcers.

The evidence that NGF administered on the ocular surface reaches the retina, optic nerve and brain area⁷⁴ suggests a potential use of NGF eye drop for the treatment of chronic neurodegenerative diseases of the visual and central nervous systems, such as glaucoma and Alzheimer's disease.

Table 1. Potential use of NGF in ocular surface diseases

| | INDICATIONS | EVIDENCE |
|--|------------------------------------|--|
| Corneal persistent epithelial defects | Neurotrophic keratitis | Experimental ^{39,40} and Clinical data ^{13,15,72} Experimental data ^{42,46} |
| | Trauma | |
| Corneal ulcers and melting | Autoimmune diseases | Experimental ⁴¹ and Clinical data ¹⁴ |
| Infective keratitis | Herpes and post herpetic keratitis | Experimental data ^{65,67,68} and clinical data ¹³ |
| Corneal Hypo/anaesthesia (prevention of corneal diseases) | Neurotrophic keratitis | Experimental ^{39,40} and Clinical data ^{13,15,72} Experimental data ^{47,49} |
| | Before refractive surgery | |
| Keratoconjunctivitis sicca | After refractive surgery | Experimental ^{47,49} and Clinical data ⁵⁰ Experimental data ^{53,54,55,56,58} and Clinical data ⁵⁷ |
| | Sjogren and non Sjogren syndrome | |
| Cataract | Inhibit cataractogenesis | Experimental data ³⁸ Experimental ^{45,46} and Clinical data ⁷³ |
| | Improve healing at surgery | |
| Cornea transplantation | Inhibit rejection | Experimental data ⁶⁴ |
| Keratoconus | Trophic effect | Experimental data ⁵⁹ |

Table 2. Potential use of NGF in posterior segment diseases

| | INDICATIONS | EVIDENCE (see references) |
|-------------------------------|---|--|
| Optic nerve diseases | traumatic, ischemic, multiple sclerosis | Experimental data ^{16,26,27,34} |
| Glaucoma | neuroprotection | Experimental data ^{16,28,33} |
| Retinal ischemic injury | Occlusion of central artery, | Experimental data ^{16,27} |
| Degenerative retinal diseases | retinitis pigmentosa | Experimental data ^{16,30} |
| Diabetic retinopathy | neuroprotection | Experimental data ^{16,31} |

References

- Micera A, Lambiase A, Aloe L, Bonini S, Levi-Schaffer F, Bonini S. Nerve growth factor involvement in the visual system: implications in allergic and neurodegenerative diseases. *Cytokine & Growth Factor Reviews* 2004;15:411-7.
- Chao MV, Hempstead BL. p75 and trk: a two-receptor system. *Trends Neurosci* 1995;18:321-6.
- Meakin SO, Shooter EM. The nerve growth factor family of receptors. *Trends Neurosci* 1992;15:323-31.
- Yoon SO, Casaccia-Benefil P, Carter B, Chao MV. Competitive signalling between trk and p75 nerve growth factor receptors determines cell survival. *J Neurosci* 1998;18:3273-81.
- Levi-Montalcini R. The nerve growth factor 35 years later. *Science* 1987;237:1154-62.
- Williams BJ, Eriksdotter-Jonhagen M, Granholm AC. Nerve growth factor in treatment and pathogenesis of Alzheimer's disease. *Prog Neurobiol.* 2006;80(3):114-28.
- Poduslo JF, Curran GL. Permeability at the blood-brain and blood-nerve barriers of the neurotrophic factors: NGF, CNTF, NT-3, BDNF. *Brain Res Mol Brain Res.* 1996 Mar;36(2):280-6.
- Lin B, Pirrung MC, Deng L, Li Z, Liu Y, Webster NJ. Neuroprotection by small molecule activators of the nerve growth factor receptor. *J Pharmacol Exp Ther.* 2007;322(1):59-69.
- Tuszynski MH, Thal L, Pay M, et al. A phase 1 clinical trial of nerve growth factor gene therapy for Alzheimer disease. *Nat Med.* 2005; 11(5):551-5.
- Apfel SC, Kessler JA, Adornato BT, Litchy WJ, Sanders C, Rask CA. Recombinant human nerve growth factor in the treatment of diabetic polyneuropathy. NGF Study Group. *Neurology.* 1998 Sep;51(3):695-702.
- Schifitto G, Yiannoutsos C, Simpson DM, et al. Long-term treatment with recombinant nerve growth factor for HIV-associated sensory neuropathy. *Neurology.* 2001;57(7):1313-6.
- Apfe. SC. Nerve growth factor for the treatment of diabetic neuropathy: what went wrong, what went right, and what does the future hold? *Int Rev Neurobiol.* 2002;50:393-413.
- Lambiase A, Rama P, Bonini S, Caprioglio G, Aloe L. Topical treatment with nerve growth factor for neurotrophic corneal ulcers. *N Engl J Med* 1998;338:1174-80.
- Lambiase A, Bonini St., Rama P, Bonini Se., Aloe L. Anti-inflammatory and healing activities of nerve growth factor in immune corneal ulcers with stromal melting. *Arch Ophthalmol* 2000;118: 1446-9.
- Bonini St., Lambiase A, Rama P, Caprioglio G, Aloe L. Topical treatment with nerve growth factor for neurotrophic keratitis. *Ophthalmology* 2000;107:1347-52.
- Lambiase A, Tirassa P, Micera A, Aloe L, Bonini S. Pharmacokinetics of conjunctivally applied nerve growth factor in the retina and optic nerve of adult rats. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2005 Oct;46(10): 3800-6.
- Lambiase A, Bonini S, Manni L, Ghinelli E, Tirassa P, Rama P, et al. Intraocular production and release of nerve growth factor after iridectomy. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2002;43:2334-40.
- Maffei L, Berardi N, Domenici L, Parisi V, Pizzorusso T. Nerve growth factor (NGF) prevents the shift in ocular dominance distribution of visual cortical neurons in monocularly deprived rats. *J Neurosci* 1992;12:4651-62.
- Frade JM, Rodri'guez-Tebar A, Barde YA. Induction of cell death by endogenous nerve growth factor through its p75 receptor. *Nature* 1996;383:166-8.
- Carmignoto G, Comelli MC, Candeo P, Cavicchioli L, Yan Q, Meriggi A, et al. Expression of NGF receptor mRNA in the developing and adult rat retina. *Exp Neurobiol* 1991;111:302-11.
- Domenici L, Parisi V, Maffei L. Exogenous supply of nerve growth factor prevents the effects of strabismus in the rat. *Neuroscience* 1992;51:19-24.
- Ebendal T, Persson H. Detection of nerve growth factor mRNA in the developing chicken embryo. *Development* 1988;102:101-6.
- Ayer-Lelievre CS, Ebendal T, Olson L, Seiger A. Localization of nerve growth factor-like immunoreactivity in rat nervous tissue. *Med Biol* 1983;61:296-304.
- Yip MC, Johnson Jr EM. Retrograde transport of nerve growth factor in lesioned goldfish retinal ganglion cells. *J Neurosci* 1983;3:2172-82.
- Chakrabarti S, Sima AA, Lee J, Brachet P, Dcou E. Nerve growth factor (NGF), proNGF and NGF receptor-like immunoreactivity in BB rat retina. *Brain Res* 1990;523:11-5.
- Carmignoto G, Maffei L, Candeo P, Canella R, Comelli C. Effect of NGF on the survival of rat retinal ganglion cells following optic nerve section. *J Neurosci* 1989;9:1263-72.
- Siliprandi R, Canella R, Carmignoto G. Nerve growth factor promotes functional recovery of retinal ganglion cells after ischemia. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1993;34:3232-43.
- Lambiase A, Centofani M, Micera A, Manni GL, Mattei E, De Gregorio A, et al. Nerve growth factor (NGF) reduces and NGF antibody exacerbates retinal damage induced in rabbit by experimental ocular hypertension. *Graefe's Arch Clin Exp Ophthalmol* 1997;235:780-5.
- Amendola T, Fiore M, Aloe L. Postnatal changes in nerve growth factor and brain derived neurotrophic factor levels in the cortex and geniculate nucleus in rats with retinitis pigmentosa. *Neurosci Lett* 2003;345:37-40.
- Lambiase A, Aloe L. Nerve growth factor delays retinal degeneration in C3H mice. *Graefe's Arch Clin Exp Ophthalmol* 1996;234:96-100.
- Hammes HP, Federoff HJ, Brownlee M. Nerve growth factor prevents both neuroretinal programmed cell death and capillary pathology in the experimental diabetes. *Mol Med* 1995;1:527-34.
- Quigley HA, Dunkelberger GR, Green WR. Retinal ganglion cell atrophy correlated with automated perimetry in human eyes with glaucoma. *Am J Ophthalmol* 1989;107:453-64.
- Shi Z, Birman E, Saragovi HU. Neurotrophic rationale in glaucoma: A TrkA agonist, but not NGF or a p75 antagonist, protects retinal ganglion cells in vivo. *Dev Neurobiol.* 2007 Sep 15;67(11):1547-8.

34. Micera A, Lambiase A, Rama P, Aloe L. Altered nerve growth factor level in the optic nerve of patients affected by multiple sclerosis. *Mult Scler* 1999;5:389-94.
35. Anand P. Neurotrophin and peripheral neuropathy. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 1996;351:449-54.
36. Shelton DL, Reichardt LF. Studies on the regulation of beta-nerve growth factor gene expression in the rat iris: the level of mRNA encoding nerve growth factor is increased in irises placed in explant cultures in vitro, but not in irises deprived of sensory or sympathetic innervation in vivo. *J Cell Biol* 1986;102:1940-8.
37. Bonini S, Aloe L, Bonini S, Rama P, Lamagna A, Lambiase A. Nerve growth factor (NGF): an important molecule for trophism and healing of the ocular surface. *Adv Exp Med Biol* 2002;506:531-7.
38. Ghinelli E, Aloe L, Cortes M, Micera A, Lambiase A, Bonini S. Nerve growth factor (NGF) and lenses: effects of NGF in an in vitro rat model of cataract. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 2003 Oct;241(10):845-51.
39. Smeyne RJ, Klein R, Schnapp A, et al. Severe sensory neuropathies in mice carrying a disrupted *trk*/NGF receptor gene. *Nature* 1994; 368: 246-9.
40. de Castro F, Silos-Santiago I, Lopez de Armentia M, Barbacid M, Belmonte C. Corneal innervation and sensitivity to noxious stimuli in *trkA* knockout mice. *Eur J Neurosci* 1998;10:146-52.
41. Lambiase A, Bonini S, Micera A, Rama P, Bonini S, Aloe L. Expression of nerve growth factor receptors on the ocular surface in healthy subjects and during manifestation of inflammatory diseases. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1998;39:1272-5.
42. Lambiase A, Manni L, Bonini S, Rama P, Micera A, Aloe L. Nerve growth factor promotes corneal healing: structural, biochemical and molecular analysis on rat and human cornea. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2000;41:1063-9.
43. Levi-Schaffer F, Micera A, Zamir E, Mechoulam H, Puxeddu I, Piliponsky AM, et al. Nerve growth factor and eosinophils in inflamed juvenile conjunctival nevus: a link with allergy. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2002;43:1850-6.
44. Micera A, Vigneti E, Pickholtz D, Reich R, Pappo O, Bonini S, et al. Nerve growth factor displays stimulatory effects on human skin and lung fibroblasts, demonstrating a direct role for this factor in tissue repair. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001;98:6162-7.
45. Micera A, Lambiase A, Puxeddu I, et al. Nerve growth factor effect on human primary fibroblastic-keratocytes: possible mechanism during corneal healing. *Exp Eye Res*. 2006 Oct;83(4):747-57.
46. Kruse FE, Tseng SCG. Growth factors modulate clonal growth and differentiation of cultured rabbit limbal and corneal epithelium. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1993;34:1963-76.
47. Esquenazi S, Bazan HE, Bui V, He J, Kim DB, Bazan NG. Topical combination of NGF and DHA increases rabbit corneal nerve regeneration after photorefractive keratectomy. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2005;46(9):3121-7.
48. Woo HM, Bentley E, Campbell SF, Marfurt CF, Murphy CJ. Nerve growth factor and corneal wound healing in dogs. *Exp Eye Res*. 2005 May;80(5):633-42.
49. Joo MJ, Yuhan KR, Hyon JY, Lai H, Hose S, Sinha D, O'Brien TP. The effect of nerve growth factor on corneal sensitivity after laser in situ keratomileusis. *Arch Ophthalmol*. 2004 Sep;122(9):1338-41.
50. Lee HK, Lee KS, Kim HC, Lee SH, Kim EK. Nerve growth factor concentration and implications in photorefractive keratectomy vs laser in situ keratomileusis. *Am J Ophthalmol*. 2005 Jun;139(6):965-71.
51. Zhu C, Joyce NC. Proliferative response of corneal endothelial cells from young and older donors. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2004 Jun;45(6):1743-51.
52. Li W, Sabater AL, Chen YT, Hayashida Y, Chen SY, He H, Tseng SC. A novel method of isolation, preservation, and expansion of human corneal endothelial cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2007 Feb;48(2): 614-20.
53. Nguyen D, Beuerman HRW, Thompson HW, DiLoreto DA. Growth factor and neurotrophic factor mRNA in human lacrimal gland. *Cornea* 1997;16:192-9.
54. Vesaluoma M, Muller L, Gallar J, Lambiase A, Moilanen J, Hack T, et al. Effects of oleoresin capscium pepper spray on human corneal morphology and sensitivity. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2000;41: 2138-47.
55. Ghinelli E, Johansson J, Rios JD, Chen LL, Zoukhri D, Hodges RR, et al. Presence and localization of neurotrophins and neurotrophin receptors in rat lacrimal gland. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2003;44:3352-7.
56. Coassin M, Lambiase A, Costa N, De Gregorio A, Sacchetti M, Bonini S. Efficacy of topical nerve growth factor treatment in dogs affected by dry eye. *Graefe's Arch Clin Exp Ophthalmol* 2005;243(2):151-5.
57. Lee HK, Ryu IH, Seo KY, Hong S, Kim HC, Kim EK. Topical 0.1% prednisolone lowers nerve growth factor expression in keratoconjunctivitis sicca patients. *Ophthalmology*. 2006;113(2):198-205.
58. Rios JD, Ghinelli E, Gu J, Hodges RR, Dartt DA. Role of neurotrophins and neurotrophin receptors in rat conjunctival goblet cell secretion and proliferation. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2007;48(4):1543-51.
59. Lambiase A, Merlo D, Mollinari C, et al. Molecular basis for keratoconus: lack of *TrkA* expression and its transcriptional repression by Sp3. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2005;102(46):16795-800.
60. Lambiase A, Bonini S, Bonini S, Micera A, Magrini L, Bracci-Laudiero L, et al. Increased plasma levels of nerve growth factor in Vernal Keratoconjunctivitis and relationship to conjunctival mast cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1995;36:2127-32.
61. Motterle L, Diebold Y, Enriquez de Salamanca A, et al. Altered expression of neurotransmitter receptors and neuromediators in vernal keratoconjunctivitis. *Arch Ophthalmol*. 2006;124(4):462-8.
62. Bonini S, Lambiase A, Bonini S, et al. Circulating nerve growth factor levels are increased in humans with allergic diseases and asthma. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996;93:10955-60.
63. Micera A, Puxeddu I, Aloe L, Levi-Schaffer F. New Insight on the involvement of nerve growth factor in allergic inflammation and fibrosis. *Cytokine Growth Factor Rev* 2003;14:369-74.
64. Gong N, Pleyer U, Vogt K, Anegon I, Flugel A, Volk HD, Ritter T. Local overexpression of nerve growth factor in rat corneal transplants improves allograft survival. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2007;48(3): 1043-52.
65. Ungheri, D., Verini, M.A., Ganceff, L., Mazue, G., Carminati, P. Antiviral activity of nerve growth factor in vitro. *Drugs Exp Clin Res*. 1993;19(4):151-7.
66. Aloe, L. Intraocular herpes simple virus injection in neonatal rats induces sympathetic nerve cell destruction: effect of nerve growth factor. *Int. J. Dev. Neurosci*. 1987;5: 357-366.
67. Hill, J.M., Garza, J.H.H., Helmy, M.F., et al. Nerve growth factor antibody stimulates reactivation of ocular herpes simplex virus type 1 in latently infected rabbits. *Journal of NeuroVirology*, 1997;3:206-211.
68. Lambiase A, Coassin M, Costa N, et al. Topical treatment with nerve growth factor in an animal model of herpetic keratitis. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 2008 Jan;246(1):121-7.
69. Laycock, K.A., Brady, R.H., Lee, S.F., Osborne, P.A., Johnson, E.M., Pepose, J.S. The role of nerve growth factor in modulating herpes simplex virus reactivation in vivo. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 1994;232(7):421-5.
70. Sigelman S, Friedenwald JS. Mitotic and wound healing activities of the corneal epithelium: effect of sensory denervation. *Arch Ophthalmol* 1954;52:46-57.
71. Lambiase A, Rama P, Aloe L, Bonini S. Management of neurotrophic keratopathy. *Curr Opin Ophthalmol* 1999;10:270-6.
72. Tan MH, Bryars J, Moore J. Use of nerve growth factor to treat congenital neurotrophic corneal ulceration. *Cornea*. 2006;25(3):352-5.
73. Cellini M, Bendo E, Bravetti GO, Campos EC. The use of nerve growth factor in surgical wound healing of the cornea. *Ophthalmic Res*. 2006;38(4):177-81.
74. Lambiase A, Pagani L, Di Fausto V, Sposato V, Coassin M, Bonini S, Aloe L. Nerve growth factor eye drop administered on the ocular surface of rodents affects the nucleus basalis and septum: biochemical and structural evidence. *Brain Res*. 2007;1127(1):45-51.

Cardiotoxicity of Antitumor Drugs

Tossicità Cardiaca dei Farmaci Antitumorali

P MENNA, G MINOTTI, EMANUELA SALVATORELLI

CIR and Center of Drug Sciences. University Campus Bio-Medico of Rome, Italy

Background Cardiovascular events plague the clinical use of many antitumor drugs. Doxorubicin and other anthracyclines cause dilative cardiomyopathy that develops in a dose-dependent manner and probably reflects an intramyocardial formation of toxic drug metabolites. Cardiovascular events may occur also with other chemotherapeutics, but the mechanism(s) and dose-dependence of such events are less obvious and predictable. Remarkably, there are clinical conditions when noncardiotoxic drugs aggravate cardiac toxicity induced by other drugs; for example, the tubulin-active taxane paclitaxel altered the myocardial metabolism of doxorubicin in such a manner that cardiomyopathy occurred at lower than expected cumulative doses of doxorubicin. The approval of “targeted” drugs greatly changed this scenario. While popularly perceived as “magic bullets” that recognize tumor-specific growth factors receptors or metabolic routes, many such targeted drugs proved to introduce a moderate but measurable risk of cardiovascular toxicity. In many cases the benefit of adopting targeted drugs outweighed the drawbacks associated with relatively infrequent or mild cardiovascular events; unfortunately, however, certain targeted drugs caused an unacceptable aggravation of toxicity induced by concomitant chemotherapeutics. The higher than expected cardiotoxicity of combining doxorubicin with the anti-HER2/*neu* antibody trastuzumab is a typical example of one such toxic synergism. Mechanism-based considerations and results of clinical trials now form the basis for a new classification of cardiotoxicity induced by antitumor drugs. Here we briefly review how these concepts matured over the last couple of years and how they could easily change over the next few years to come.

Index Terms Cancer, Chemotherapeutics, Targeted drugs, Cardiotoxicity

Premessa Molti farmaci antitumorali provocano eventi sfavorevoli di natura cardiovascolare. La doxorubicina e altre antracicline inducono una cardiomiopatia dilatativa che si sviluppa in misura dose-dipendente e riflette la formazione intracardiaca di alcuni metaboliti tossici. Molti altri chemioterapici possono indurre eventi cardiovascolari la cui patogenesi e dose-dipendenza sono però meno chiari e prevedibili. Di particolare rilievo è il possibile sinergismo tra chemioterapici non cardiotossici e cardiotossici. Un esempio è rappresentato dal sinergismo tra paclitaxel e doxorubicina. Il paclitaxel, un tassano tubulino-attivo, modifica il metabolismo intracardiaco delle antracicline e provoca l'insorgenza di cardiomiopatia a dosi insolitamente basse di doxorubicina. L'avvento dei farmaci “al bersaglio” ha ulteriormente modificato questo scenario. Sebbene considerati “proiettili magici” che colpiscono specificamente alcuni recettori o vie metaboliche delle cellule tumorali, molti di questi farmaci possono in realtà indurre cardiotossicità. In molti casi il vantaggio terapeutico supera di molto il rischio di cardiotossicità lieve o moderata; purtroppo, ci sono altri casi in cui la somministrazione contemporanea di un farmaco “al bersaglio” e di un chemioterapico provoca un aggravamento inaccettabile della cardiotossicità indotta da quest'ultimo. Paradigmatico è l'aumento di cardiotossicità in pazienti trattati con doxorubicina e trastuzumab, un anticorpo monoclonale diretto contro il recettore HER2/*neu* sovraespresso in una quota di carcinomi della mammella. Considerazioni sui meccanismi molecolari e i risultati di studi clinici hanno quindi suggerito una nuova classificazione delle varie forme di cardiotossicità indotte da farmaci antitumorali. In questa breve rassegna descriviamo come questi concetti si sono sviluppati negli ultimi e cambieranno ulteriormente in un futuro a breve termine.

Parole Indice Cancro, Chemioterapici, Farmaci “al bersaglio”, Cardiotossicità

Abbreviations DOX(OL), doxorubicin(ol); CHF, congestive heart failure; STKIs, small tyrosine kinase inhibitors; EPI(OL), epirubicin(ol); DNR, daunorubicin; IDA, idarubicin; O₂⁻, superoxide anion; H₂O₂, hydrogen peroxide; ROS, reactive oxygen species; PTX, paclitaxel; DCT, docetaxel; Vascular Disrupting Agents (VDAs); NRG-1, neuregulin-1; LVEF, left ventricular ejection fraction; VEGF, vascular endothelial growth factor; FDA, Food and Drug Administration.

Il lavoro spetta in pari misura agli autori
All authors participated equally in this work

Indirizzo per la corrispondenza
Address for correspondence

Prof. Giorgio Minotti, MD
Campus Bio-Medico University
Via Alvaro del Portillo 21
00128 Rome ITALY
Phone: 011-39-06-225419109
g.minotti@unicampus.it

1. Introduction

Antitumor therapy has long been considered as a sort of twin edged sword. On the one hand, many drugs were known to induce regression of common human tumors; on the other hand, however, the same drugs caused severe side effects in normal cells and challenged patients' compliance and quality of life. Some of these effects (like e.g., bone marrow toxicity) were unavoidable consequences of the action of cytostatic/cytotoxic agents in proliferating normal cells, and could be satisfactorily managed through the use of growth factors or schedule modifications; other effects could not be reconciled with the mode of action of drugs but surfaced in the form of tissue-specific dysfunction(s) that occurred both during the course of drug administration and long after the completion of a therapeutic regimen. This was the case of cardiotoxicity induced by anthracyclines, a family of DNA intercalating agents and topoisomerase II inhibitors with approved indications in many solid and hematologic tumors.

Over the last decade the scientific community has witnessed an accelerated approval of new drugs that clearly improved the life expectancy of cancer patients; regrettably, however, the long-sought goal of combining improved activity with reduced toxicity was not fully met by the new drugs, not even when the new chemical entities or biologic agents were designed to target receptors or metabolic pathways that were felt to be crucial to the growth of tumor cells but not to the integrity and turnover of normal cells. In particular, a closer collaboration of oncologists with cardiologists shows that cardiotoxicity remains a problem of major concern, particularly when the "old" drugs are combined with the "new" ones in an attempt to obtain the highest possible rates of disease-free survival or overall survival.

2. Dimension of the problem

Cardiotoxicity is misleadingly perceived as a rare or relatively unimportant complication of chemotherapy; here, we introduce a few concepts that challenge such a misconception.

In the case of doxorubicin (DOX), the lead compound of anthracyclines, the incidence of congestive heart failure (CHF) or other treatment-requiring cardiac events averages below 5% if the lifetime cumulative dose is adjusted to no greater than 450 mg of DOX/m² (1); however, cardiac events may develop at lower cumulative doses if the patients presented with individual risk factors like hypertension, arrhythmias, valvular dysfunction, coronary disease, metabolic disorders (2). Age itself introduces a risk factor, as does chest irradiation in patients with lymphomas or breast cancer (2). Thus, the dose-adjusted risk of car-

diotoxicity may be higher than generally believed, and the need to adjust dose restrictions to the individual characteristics of a patient limits the life-saving potential of DOX or other anthracyclines in that particular patient.

Another point of consideration pertains to the quality of life of patients previously exposed to chemotherapy. Currently, there are approximately 270,000 long-term survivors of childhood cancer in the United States, more than 10 million survivors if adult cancer patients are included. A population-based study of 5-year survivors in Nordic countries shows that such individuals are plagued by standardized mortality ratios of 5.9 for cardiac death and 3.9 for sudden, presumed cardiac death (3). The Childhood Cancer Survivor Study shows that decades after diagnosis, survivors of childhood cancer had 15-fold increased rates of CHF, 10-fold higher rates of cardiovascular disease, and 9-fold higher rates of stroke compared to siblings or national controls (3). Of note, studies of asymptomatic childhood cancer survivors show that as little as 100 mg of DOX/m² increases the risk of reduced fractional shortening or higher afterload at noninvasive cardiac testing, while 270 mg of DOX/m² introduces a measurable 4.5-fold excess risk of such abnormalities (4). These latter observations denote that there is no completely safe dose of anthracyclines in children; more in general, it seems that every exposure to anticancer drugs causes a small but measurable degree of cardiac damage, which may remain asymptomatic or precipitate into symptomatic events anytime the repair mechanisms decline or the drug-induced damage overlaps with otherwise non fatal changes in lifestyle or exposure to environmental factors.

The aforesaid concepts apply to not only children but also adults exposed to reportedly safe doses of chemotherapeutics. In the case of adult patients treated with anthracyclines the available evidence shows that endomyocardial biopsies or provocative tests like exercise-echocardiography or dobutamine-stressed echography may reveal positive well below the maximum tolerated dose of 450 mg of DOX/m² (5). This issue is anything but negligible if one considered that every year thousands women receive ~300 mg of DOX/m² for the (neo)adjuvant treatment of early breast cancer. Because the life expectancy of these women has improved substantially, one may only recommend that cardiac surveillance be intensified to avoid trading one fatal disease (cancer) for another (delayed CHF or other serious cardiovascular events) (6). Similar concerns apply to targeted drugs like Trastuzumab or Small Tyrosine Kinase inhibitors (STKIs). These drugs almost universally introduce a cardiac safety signal that is reversible at a short/mid-term follow up; little is known about the long-term cardiac outcome of these patients, however, and the possible development of late cardiovascular events is more than a speculative possibility (7).

Finally, full-blown anthracycline cardiomyopathy has a poor prognosis; in many cases heart transplant is the only vital option for these patients. The problem of anticancer drug-induced cardiotoxicity must therefore be weighed also on social and economical grounds such as the loss of human resources and the costs of hospitalization and treatment.

3. Cardiotoxicity of chemotherapeutics

Cardiotoxicity of antitumor drugs may manifest in many different ways; this introduces a complicating factor in the clinical management of cancer patients, as the methodologic approach to cardiac surveillance and pharmacologic protection may vary considerably from one type of cardiac toxicity to another. Further complexity is introduced by factors such as the presence or absence of a dose-dependent pattern, possible drug interactions, different toxicity of administering drugs by concomitant or sequential schedules. Here, we briefly describe how these concepts apply to cardiac toxicities induced by *chemotherapeutics*, i.e. drugs that poison cellular players shared by normal and tumor tissues.

3.1. Anthracycline cardiotoxicity: What we knew and what is new

In spite of their longer than 40 years record of longevity anthracyclines remain essential components of many anticancer therapies. Anthracyclines, however, are known to cause what is considered the most severe but also predictable form cardiotoxicity; in fact, cardiomyopathy and CHF (whether determined by systolic or diastolic dysfunction) occurs in a significant percentage of patients exposed to a cumulative dose of DOX higher than the aforesaid threshold of ~450 mg of DOX/m² (1). Safety limits have been determined also for anthracyclines like 4'-epidoxorubicin (epirubicin, EPI), daunorubicin (DNR), 4-demethoxydaunorubicin (IDA, idarubicin). For each of these analogs the maximum tolerated cumulative dose will depend on established pharmacokinetic determinants: for example, the maximum tolerated dose of EPI is approximated to ~850-900 mg/m², primarily- but not exclusively- because EPI exhibits an improved body clearance compared to DOX (8).

The current thinking is that DOX may become cardiotoxic after one- or two-electron reductive activation. One-electron reduction of the quinone moiety of DOX results in the formation of a semiquinone free radical which regenerates its parent quinone by reducing molecular oxygen to superoxide anion (O₂⁻) and hydrogen peroxide (H₂O₂), members of the broad family of Reactive Oxygen Species (ROS) that cause oxidative stress (2). Two-electron

reduction of the side chain C-13 carbonyl moiety converts anthracyclines to secondary alcohol metabolites (doxorubicinol/DOXOL, epirubicinol/EPIOL, etc.) that are less prone to redox cycling but are remarkably more toxic to calcium- and iron- handling proteins (9). Oxidative stress and calcium/iron dysregulation eventually conspire at inducing cardiomyopathy (Figure 1). The dose-dependence of anthracycline cardiotoxicity fits well in a mechanism in which repeated burst of ROS or secondary alcohol metabolites overrule the defense and/or repair mechanisms of cardiomyocytes. We are witnessing important advances in our understanding of the mechanisms of anthracycline cardiotoxicity. Studies with human myocardial biopsies now show that DOX and other anthracyclines exhibit a rapid diffusion from cardiomyocytes back into plasma while DOXOL or EPIOL are too polar to do so; secondary alcohol metabolites therefore accumulate in the heart and form a long-lived anthracycline reservoir which recapitulates many aspects of anthracycline cardiomyopathy (9,10). Delayed cardiotoxicity in adult patients treated with subthreshold cumulative doses of anthracyclines may well reflect an overlap of *de novo* damage with the subchronic damage induced by long-lived secondary alcohol metabolites. In a similar manner, delayed cardiotoxicity in long-term survivors of childhood cancer may well be caused by a conspiracy of growth-related changes with the latent damage induced by long-lived cardiac secondary alcohol metabolites.

The characteristics of secondary alcohol metabolites may also help to explain how cardiomyopathy is exacerbated by chemotherapeutics that caused little or no cardiotoxicity *per se*. The best known example of a toxic synergism between anthracyclines and nonanthracycline chemotherapeutics pertains to the severe cardiotoxicity observed on combining DOX with the taxane paclitaxel (PTX). Doxorubicin and PTX exhibit different mechanisms of action (DNA intercalation-topoisomerase II inhibition *vs* microtubule stabilization), non-overlapping dose-limiting toxicities (cardiomyopathy *vs* neuropathy), and incomplete cross-resistance; PTX was known to induce arrhythmias or blood pressure disorders, but these were manageable effects caused by the PTX vehicle Cremophor EL. Combining DOX and PTX therefore offered a logical opportunity for improving the treatment of breast cancer and other solid tumors while not introducing an additional risk of cardiomyopathy. Surprisingly, however, pivotal trials showed that DOX immediately followed by PTX caused cardiomyopathy and CHF in ~19% of patients exposed to as low as 420-480 mg of DOX/m², as if PTX accelerated the dose-related progression of anthracycline cardiotoxicity. Recent studies now show that PTX causes a positive allosteric modulation of the reductases that convert DOX to DOXOL in human myocardium; the same effect has been documented with the PTX analogue docetaxel

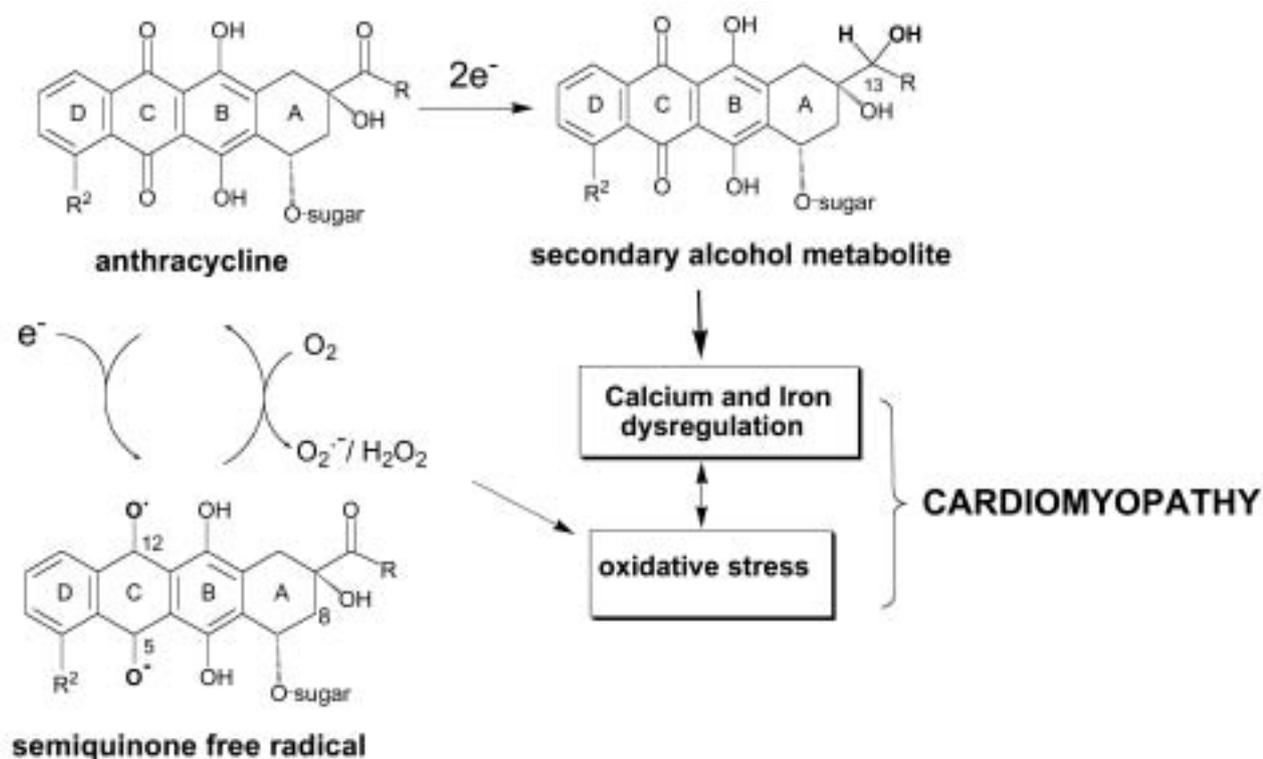


Figure 1 Metabolic determinants of anthracycline-induced cardiotoxicity

One-electron quinone reduction is accompanied by formation of $O_2^{\cdot-}$ and H_2O_2 , which cause oxidative stress. Two electron side chain carbonyl reduction causes formation of a secondary alcohol metabolite which causes calcium and iron dysregulation. The two pathways conspire at inducing chronic cardiomyopathy.

$O_2^{\cdot-}$, superoxide anion; H_2O_2 , hydrogen peroxide.

(DCT), which is not formulated in Cremophor EL but nonetheless caused a trend toward a higher than expected incidence of anthracycline-related cardiotoxicity in clinical trials (10-12). These results suggest that anthracycline cardiotoxicity would be aggravated by any concomitant drug that stimulated the formation of secondary alcohol metabolites beyond the ability of the heart to repair calcium or iron dysregulation induced by such metabolites. They also suggest that it would be wise replacing DOX with analogues that formed fewer amounts of their alcohol metabolite. The “old” EPI and the “new” sabarubucin might serve as valuable alternatives in these settings (9).

The experience gained with DOX-taxane combinations rationalizes methodological guidelines to screen the cardiac safety of toxicity of anthracycline-based combination therapies. Taxanes did not stimulate DOXOL formation in laboratory animals or isolated murine cardiac samples; moreover, studies of DOXOL formation in human myocardial samples *versus* isolated rat or rabbit heart showed that the former adopted aldehyde dehydrogenases/reductases from the superfamily of aldo-keto reductases, while the lat-

ter adopted carbonyl reductases from the superfamily of short chain dehydrogenases/reductases (13,14). From the point view of drug developers and toxicologists these findings raise caution against the value of animal models, and suggest that clinical trials of new combination therapies should be preceded by a judicious scrutiny of drug interactions in translational models of human heart.

3.1.1. Cardiotoxicity of other chemotherapeutics: New entries

Many other approved chemotherapeutics are known to induce cardiac events; these drugs include, among others, anthraquinolones (mitoxantrone), antimetabolites (5-fluorouracil, capecitabine), alkylating agents (cyclophosphamide, platinum compounds) (Table I). Whereas mitoxantrone may share some characteristics of anthracycline cardiomyopathy (mainly related to oxidant stress, albeit less severe than that induced by anthracyclines), the cardiac toxicities induced by other chemotherapeutics may vary from ischemia to cardiomyopathy or hemorrhagic

Table I. Cardiac toxicities of nonanthracycline chemotherapeutics

| Drug | Mechanism of activity | Type of cardiotoxicity | Mechanism of cardiac toxicity | Dose-dependence |
|---|--|---|--|--|
| Anthraquinolones (mitoxantrone) | Partly identical with anthracyclines | Arrhythmias and hypotension, pericarditis, chronic cardiomyopathy | Oxidative stress (albeit less severe compared to anthracyclines) | Established; influenced by age, individual risk factors, chest irradiation |
| Antimetabolites (5-fluorouracil capecitabine) | DNA synthesis inhibition | Ischemia | Coronary artery vasospasm | Not firmly established |
| Tubulin-active agents taxanes (PTX, DCT), vinca alkaloids (vincristine, vinblastine, vinorelbine) | Inhibition of tubulin assembly or depolymerization | Bradycardia, hypertension, hypotension, conduction abnormalities (mainly vehicle-mediated in the case of PTX) | Microtubule dysfunction; myofibrillar disarray (only in high concentrations/long time experiments) | Not firmly established (taxanes may aggravate cardiotoxicity induced by DOX) |
| Alkylating drugs (cyclophosphamide, cisplatin) | DNA alkylation | Hemorrhagic myocarditis, cardiomyopathy | Adduction to cellular nucleophiles | >100-120 mg of cyclophosphamide/kg over 2 days; less firmly established with platinum compounds; reports of a cardiotoxic synergism of cyclophosphamide with DOX |

Adapted from ref. 5.

DOX, doxorubicin; PTX, paclitaxel; DCT, docetaxel.

myocarditis, as one would expect based upon the different modes of actions of these drugs; furthermore, only few such drugs exhibit a defined dose-dependence of their toxic effects. Thus, the cardiotoxicity of nonanthracycline chemotherapeutics is pleomorphic and poorly predictable by definition, which calls for a cautionary cardiac surveillance of patients treated with any of these drugs. Individuals with preexisting coronary disease or other cardiovascular risk factors obviously need an intensified regimen of surveillance (5).

The repertoire of cardiotoxic nonanthracycline drugs is expanding. Over the last year there have been phase I studies of ZD6126, member of the first generation of Vascular Disrupting Agents (VDAs). Representative VDAs include tubulin-binding agents (ZD6126, combretastatin A4 phosphate, TZT-1027, AVE8062, ABT-751, MN-029), cell adhesion perturbers (exherin), inhibitors of endothelial regulatory cascades (5,6-dimethylxanthenone-4-acetic acid). VDAs have been designed to specifically target the cytoskeleton and signal transduction pathways of dysmorphic endothelial cells of tumor vasculature, so as to induce an acute tumor ischemia. Whereas preclinical and early clinical studies call for a promising activity of VDAs, all of these agents are plagued by potentially harmful events such as acute coronary syndromes, thrombophlebitic syndromes, alterations in blood pressure and heart rate or ventricular conduction (15). In the case of VDAs the profile of cardio-

vascular toxicity seems to be a logical extension of their mode of action in tumors (ischemia, necrosis, detachment of thrombogenic biologic material). The next few years will tell us whether the clinical safety of VDAs can be improved through dose reductions or development of soluble markers that are sensitive enough to herald cardiovascular toxicity prior to manifestation of severe symptoms.

4. Cardiotoxicity of targeted drugs

The development of “targeted therapies” raised hopes for improving the efficacy of cancer therapy while also avoiding the side effects of the “old” chemotherapeutics. As usual, however, not all that gleams is gold; in fact, it is becoming increasingly evident that also the “new” targeted drugs may cause a number of untoward effects (16). Cardiotoxicity has been documented or suspected to occur with a number of antibodies or STKIs, and the experience gained with such drugs anticipates that cardiotoxicity might delay or eventually terminate the development of other chemical entities. Moreover, lessons from the clinical use of Trastuzumab anticipate that targeted drugs may cause different patterns of cardiotoxicity, depending on whether such drugs were used alone or in combination with the old chemotherapeutics.

4.1. Lessons from Trastuzumab: Why did cardiotoxicity escape preclinical screens?

Trastuzumab (Herceptin®) is a humanized monoclonal antibody approved for the treatment of breast tumors that overexpress HER2 (also called *c-neu* or *erbB-2*), member of *erbB* receptors family that also comprises *erbB1* (Epidermal Growth Factor Receptor), *erbB3*, *erbB4* (hereafter referred to as HERs). HER2 is a non-ligand-binding 185-kD transmembrane protein with a cytoplasmic tyrosine kinase domain that is normally activated by heterodimerization with HER1, HER3, or HER4. Neuregulins, produced by cardiomyocytes and endothelial cells, dimerize HER2 with HER4. HER2 overexpression was shown to anticipate a poor prognosis, but the approval of Trastuzumab introduced remarkable improvements in chemotherapy responses; unfortunately, however, pivotal studies of women with metastatic breast cancer showed that combining Trastuzumab with subthreshold cumulative doses of DOX (300-360 mg/m²) caused a unexpected high incidence of CHF.

The cardiotoxic synergism of Trastuzumab with DOX came as relatively unexpected surprise. Genetic deletion studies in mice had shown that HER2, HER4 and neuregulin 1 were important determinants of embryonic cardiac development and of postnatal cardiac resistance to a variety of stressor agents (reviewed in ref. 17); nonetheless, the pre-clinical evaluation of Trastuzumab in rodents xenografted with HER2⁺ human tumors had not characterized cardiac

safety signals that could herald toxicity in adult patients. We now know that Trastuzumab does not interact specifically with rodent HER2, precluding detection of its cardiotoxicity in animal models of anticancer therapy (18). Thus, the Trastuzumab story is one more example of the need for translational models of human heart that obviate metabolic or immunologic heterogeneity between humans and laboratory animals.

4.1.1. Clinical Manifestations of Trastuzumab cardiotoxicity: Is the problem solved?

In the adult human heart, Trastuzumab alone causes a contractile dysfunction that develops dose-independently, shows reversibility upon Trastuzumab withdrawal or appropriate medications, does not relapse upon rechallenge, and only occasionally induces ultrastructural damage at endomyocardial biopsies (19,20). The characteristics of Trastuzumab cardiotoxicity are quite opposite to those of DOX, and this concept has formed the basis to distinguish the cardiotoxicity of anthracyclines (type I) from that of Trastuzumab (type II) (Table II).

This having been said, how does Trastuzumab precipitate DOX-induced cardiotoxicity? The current thinking is that HER2-HER4 heterodimerization and receptor phosphorylation activate downstream survival factors (like Akt or ERK) that control cardiomyocyte metabolism and function, facilitate sarcomeric proteins turnover, prevent apoptosis (17). Recent studies suggest that neureg-

Table II. Anthracyclines vs Trastuzumab: Type I vs Type II cardiotoxicity

| Manifestations and outcome | Type I Cardiotoxicity (anthracyclines) | Type II Cardiotoxicity (Trastuzumab) |
|----------------------------------|---|--|
| Clinical course | May stabilize, but subclinical damage persists; recurrence in months or years may be caused by sequential exposure to cardiac stressors | Complete or near-to-complete recovery upon withdrawal and/or medication |
| Dose-dependence | Cumulative, "lifetime" dose-related | Dose-independent |
| Mechanism | Oxidative stress, calcium and iron dysregulation | Elimination of HER2-related survival factors or regulation of sympathetic tone |
| Ultrastructure | Vacuoles, myofibrillar disarray and dropout, apoptosis and necrosis | Only occasional ultrastructural abnormalities |
| Diagnostics | Decreased LVEF, global decrease in wall motion | As in type I |
| Effect of rechallenge | High probability of recurrent dysfunction | Increasing evidence for the safety of rechallenge |
| Effect of late sequential stress | High likelihood of sequential stress-related cardiac dysfunction | Low likelihood of sequential stress-related cardiac dysfunction (at least at short-term follow up) |

Adapted from ref. 19.

LVEF, left ventricular ejection fraction; CHF, congestive heart failure.

ulin-1 may also counteract adrenergic stimuli and facilitate an obligatory interaction of cardiomyocytes with the muscarinic cholinergic system (21). Blockade of the neuregulin/HER system by Trastuzumab therefore eliminates cardiac survival factors that help cardiomyocytes withstand stressor agents, or exposes cardiomyocytes to an adrenergic hyperstimulation similar to that seen in hypertension and heart failure; in either case Trastuzumab would aggravate the type I cardiotoxicity of concomitant anthracyclines (Figure 2). In keeping with the concept of a “two hit damage” retrospective analyses of thousands patients with metastatic breast cancer showed that the probability of cardiac events decreased significantly if DOX and Trastuzumab were administered sequentially. The cardiac safety of switching from concomitant to sequential schedules has been confirmed during the course of the Herceptin Adjuvant (HERA) trial that adopted Trastuzumab ~90 days after completion of (neo)adjuvant anthracyclines (22).

Once again, not all that gleams is gold. A comprehensive review of the major adjuvant Trastuzumab trials, including the National Surgical Adjuvant Breast and Bowel

Project (NSABP) B-31, North Central Cancer Treatment Group N9831, HERA, Breast Cancer International Research Group 006, and Finland Herceptin trials, shows that the incidence of CHF remains at the disturbing level of 4% overall. In the NSABP B-31 trial approximately 14% of patients discontinued Trastuzumab because of asymptomatic decreases in their left ventricular ejection fraction (LVEF), and even more patients had decrements in their LVEF to less than 50% (7). These latter figures were appreciably worse than those derived from the HERA trial, presumably because in the NSABP B-31 trial Trastuzumab was initiated immediately after anthracyclines, and PTX was given in combination with Trastuzumab. This denotes how critical the separation between chemotherapy and Trastuzumab can be (7). Other concerns pertain to the fact that patients enrolled in the pivotal trials were selected on the basis of their cardiac performance and the absence or presence of risk factors: would Trastuzumab induce more cardiotoxicity in unselected “standard” patients affected by prevailing comorbidities? And further, little is known about the long-term cardiac outcome of these patients: would Trastuzumab weaken the cardiac defenses against

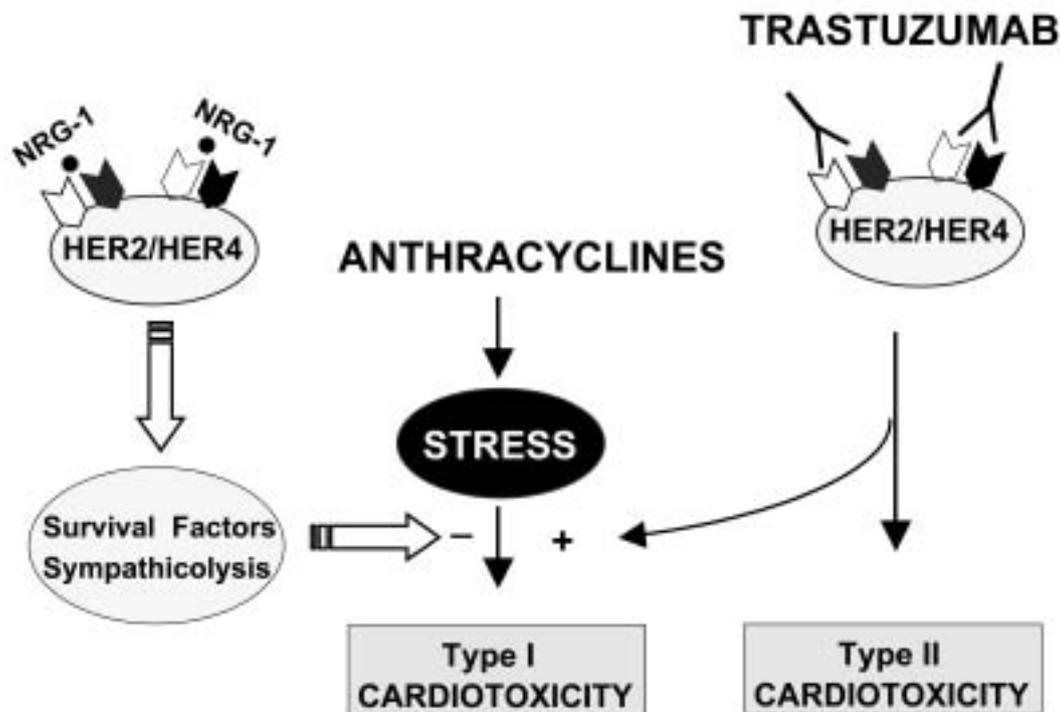


Figure 2 Toxic synergism of Trastuzumab with anthracyclines: Two hits model

Trastuzumab alone causes a type II cardiotoxicity that is relatively mild, while anthracyclines induce severe stress-related type I cardiotoxicity. In concomitant administration Trastuzumab aggravates anthracycline-related type I cardiotoxicity by eliminating survival factors or sympathicolytic mechanisms that otherwise mitigated cardiac stress.

NRG-1, neuregulin-1.

delayed stressors or morbidities? These and other questions call for answers in the next years to come. In the meantime there are some “good sense” criteria for diminishing the cardiotoxicity of Trastuzumab-anthracycline schedules while not diminishing their activities. One obvious strategy would be to replace DOX with analogues that generates fewer toxic species (e.g., EPI); another potential strategy would be to replace DOX with liposomal formulations that accumulate in tumors but show a limited partitioning in the heart (reviewed in ref. 23).

In the era of genotyping it would be surprising if Trastuzumab cardiotoxicity were insensitive to polymorphisms of HER2. Accordingly, most recent studies of HER2 Ile655Val genetic polymorphism show that cardiac events may be more frequent in Ile/Val patients compared to Val/Val or Ile/Ile patients (24). This introduces more knowledge but also more concerns in evaluating the risk:benefit ratio of Trastuzumab therapies in certain patients.

4.2. Other paradigms of cardiotoxicity by targeted drugs

Trastuzumab is no longer a singular example of myocardial or cardiovascular toxicity induced by targeted therapies; Table III reports other targeted drugs for which there have been alerts by the Food and Drug Administration (FDA) or published reports of potential cardiotoxicity (5, 25-28). Particularly disturbing is the evidence of cardiotoxicity induced by imatinib, a “blockbuster” which gained accelerated approval for its activity in poor prognosis malignancies such as chronic myeloid leukaemia and gastrointestinal sarcomas (26).

Whereas the cardiovascular risk associated with any targeted drug needs to be carefully quantified in larger trials, one may want to consider that many such drugs might soon be considered for routine combination with anthracyclines, thus creating conditions similar to those observed with Trastuzumab-anthracycline regimens. Bevacizumab, monoclonal antibody against the Vascular Endothelial Growth Factor has already been shown to aggravate DOX-related cardiomyopathy in patients with advanced soft tissue sarcomas (28). This is a warning sign that should be kept in mind when designing regimens that combine the “venerable” anthracyclines with the “fashionable” new drugs.

5. Conclusions

Cardiotoxicity remains an important untoward effect of anticancer drugs. A complete list of potentially cardiotoxic anticancer agents would be endless and way beyond the scope of our commentary. For a comprehensive coverage of this topic the reader may want to explore contributions in ref. 29. Here we wished to call the reader’s attention on the importance of preclinical screening of cardiotoxicity. We would also reiterate that cardiac surveillance should be considered an integral component of the clinical management of cancer patients rather than an optional prudential measure. The limited but informative experience with targeted drugs also anticipates that chemists, pharmacologists and oncologists might better serve cancer patients by studying the terminal ballistics of new agents rather than persisting in a search for wonder “magic bullets”.

Table III. Targeted drugs with FDA alerts or published reports of myocardial/cardiovascular toxicity

| Target | Drug | Mechanism of toxicity | Type of cardiotoxicity |
|--|----------------------------------|--|---|
| HER1-HER2 | Lapatinib (STKI) | Possibly similar to Trastuzumab | Contractile dysfunction |
| Bcr-Abl fusion protein, c-Kit receptor protein | Imatinib (STKI) | Endoplasmic reticulum stress, inhibition of mitochondrial function, oxidative stress | Contractile dysfunction |
| VEGF | Bevacizumab (anti VEGF antibody) | Elimination of neuregulin-1-related signals (?), microvasculature failure (?) | Hypertension, myocardial infarction; contractile dysfunction (reports of synergism with DOX-related cardiomyopathy) |
| VEGF receptor | Sunitinib (STKI) | Possibly similar to Bevacizumab | Contractile dysfunction |

See text for explanations and related references.

FDA, Food and Drug Administration; VEGF, vascular endothelial growth factor; STKI, small tyrosine kinase inhibitor.

References

- Swain SM, Whaley FS, Ewer MS. Congestive heart failure in patients treated with doxorubicin: a retrospective analysis of three trials. *Cancer* 2003; 97: 2869-2879.
- Minotti G, Menna P, Salvatorelli E, Cairo G, Gianni L. Anthracyclines: Molecular advances and pharmacologic developments in anti-tumor activity and cardiotoxicity. *Pharmacol Rev* 2004; 56:185-229.
- Barry E, Alvarez JA, Scully RE, Miller TL, Lipschultz SE. Anthracycline-induced cardiotoxicity: course, pathophysiology, prevention and management. *Expert Opin Pharmacother* 2007; 8: 1039-1058.
- Hudson MM, Rai SN, Nunez C, Merchant TE, Marina NM, Zalamea N, Cox C, Phipps S, Pompeu R, Rosenthal. Noninvasive evaluation of late anthracycline cardiac toxicity in childhood cancer survivors. *J Clin Oncol* 2007; 25:3635-3643.
- Zuppinger C, Timolati F, Suter TM. Pathophysiology and diagnosis of cancer drug induced cardiomyopathy. *Cardiovasc Toxicol* 2007; 7: 61-66.
- Portera CC, Swain SM. The heart of the matter. *J Clin Oncol* 2007; 25: 3794-3796.
- Telli ML, Hunt SA, Carlson RW, Guardino AE. Trastuzumab-related cardiotoxicity: calling into question the concept of reversibility. *J Clin Oncol* 2007; 25: 3525-3533.
- Salvatorelli E, Guarnieri S, Menna P, Liberi G, Calafiore AM, Mariglio MA, Mordente A, Gianni L, Minotti G. Defective one or two electron reduction of the anticancer anthracycline epirubicin in human heart: Relative importance of vesicular sequestration and impaired efficiency of electron addition. *J Biol Chem* 2006; 281: 10990-11001.
- Menna P, Salvatorelli E, Gianni L, Minotti G. Anthracycline cardiotoxicity. *Top Curr Chem* 2008, in press
- Salvatorelli E, Menna P, Gianni L, Minotti G. Defective taxane stimulation of epirubicinol formation in the human heart: Insight into the cardiac tolerability of epirubicin-taxane chemotherapies. *J Pharmacol Exptl Ther* 2007; 320: 790-800.
- Gianni L, Baselga J, Eiermann W, Guillem Porta V, Semiglazov V, Lluch A, Zambetti M, Sabadell D, Raab G, Llombart Cussac A, Bozhok A, Martinez-Agullo A, Greco M, Byakhov M, Lopez Lopez JJ, Mansutti M, Valagussa P, Bonadonna G (European Cooperative Trial in Operable Breast Cancer Study Group) Feasibility and tolerability of sequential doxorubicin/paclitaxel followed by cyclophosphamide, methotrexate, and fluorouracil and its effects on tumor response as preoperative therapy. *Clin Cancer Res* 2005; 11:8715-8721.
- Martin M, Pienkowski T, Mackey J, Pawlicki M, Guastalla JP, Weaver C, Tomiak E, Al-Tweigeri T, Chap L, Juhos E, Guevin R, Howell A, Formander T, Hainsworth J, Coleman R, Vinholes J, Modiano M, Pinter T, Tang SC, Colwell B, Prady C, Provencher L, Walde D, Rodriguez-Lescure A, Hugh J, Loret C, Rupin M, Blitz S, Jacobs P, Murawsky M, Riva A, Vogel C (Breast Cancer International Research Group 001 Investigators) Adjuvant docetaxel for node-positive breast cancer. *N Engl J Med* 2005; 352:2302-2313.
- Salvatorelli E, Menna P, Cascegn S, Liberi G, Calafiore AM, Gianni L, Minotti G. Paclitaxel and docetaxel stimulation of doxorubicinol formation in the human heart: Implications for cardiotoxicity of doxorubicin-taxane chemotherapies. *J Pharmacol Exptl Ther* 2006; 318: 424-433.
- Silvestrini A, Meucci E, Vitali A, Giardina B, Mordente A. Chalcone inhibition of anthracycline secondary alcohol metabolite formation in rabbit and human heart cytosol. *Chem Res Toxicol* 2006; 19: 1518-1524.
- van Heeckeren WJ, Bhakta S, Ortiz J, Duerk J, Cooney MM, Dowlati A, McCrae K, Remick SC. Promise of new vascular-disrupting agents balanced with cardiac toxicity: Is it time for oncologists to get to know their cardiologists? *J Clin Oncol* 2006; 24: 1486-1488.
- Maitland ML, Ratain MJ. Terminal ballistics of kinase inhibitors: there are no magic bullets. *Ann Intern Med* 2006; 145: 702-703.
- Chen B, Peng X, Pentassuglia L, Lim CC, Sawyer DB. Molecular and cellular mechanisms of anthracycline cardiotoxicity. *Cardiovasc Toxicol* 2007; 7:114-1121.
- Albanell J. Dual/pan-HER tyrosine kinase inhibitors: Focus in breast cancer. In López-Guerrero JA, Ed. *New Trends in Cancer for the 21st Century*. Springer, Berlin and Heidelberg, 2006: 329-340.
- Ewer MS, Lippman SM. Type II chemotherapy-related cardiac dysfunction: time to recognize a new entity. *J Clin Oncol* 2005; 23: 2900-2902.
- Guarneri V, Lenihan DJ, Valero V, Durand J-B, Broglio K, Hess KR, Boehnke Michaud L, Gonzalez-Angulo AM, Hortobagyi GN, Esteva FJ. Long-term cardiac tolerability of Trastuzumab in metastatic breast cancer: The M.D. Anderson Cancer Center experience. *J Clin Oncol* 2006; 24: 4107-4115.
- Lemmens K, Doggen K, De Keulenaer GW. Role of neuregulin-1/ErbB signaling in cardiovascular physiology and disease: Implications for therapy of heart failure. *Circulation* 2007; 116: 954-960.
- Suter TM, Procter M, van Veldhuisen DJ, Muscholl M, Bergh J, Carlomagno C, Perren T, Passalacqua R, Bighin C, Klijn JGM, Ageev FT, Hitre E, Groetz J, Iwata H, Knap M, Gnant M, Muehlbauer S, Spence A, Gelber RD, Piccart-Gebhart MJ. Trastuzumab-associated cardiac adverse effects in the Herceptin adjuvant trial. *J Clin Oncol* 2007; 25: 3859-3865.
- Hayes DF, Picard MH. Heart of darkness: The downside of Trastuzumab. *J Clin Oncol* 2006; 24: 4056-4058.
- Beauchair S, Formento P, Fischel JL, Lescaut W, Largillier R, Chamorey E, Hofman P, Ferrero JM, Pagès G, Milano G. Role of the HER2 [Ile655Val] genetic polymorphism in tumorigenesis and in the risk of trastuzumab-related cardiotoxicity. *Ann Oncol* 2007; 18: 1335-1341.
- Force T, Krause DS, Van Etten RA. Molecular mechanisms of cardiotoxicity of tyrosine kinase inhibition. *Nat Rev Cancer* 2007; 7:332-344.
- Kerkela R, Grazette L, Yacobi R, Iliescu C, Patten R, Beahm C, Walters B, Shevtsov S, Pesant S, Clubb FJ, Rosenzweig A, Salomon RN., Van Etten RA, Alroy J, Durand JB, Force T. Cardiotoxicity of the cancer therapeutic agent imatinib mesylate. *Nat Med* 2006; 12: 908-916.
- Demetri GD, Desai J, Fletcher JA. SU11248, a multi-targeted tyrosine kinase inhibitor, can overcome imatinib resistance caused by diverse genomic mechanisms in patients with metastatic gastrointestinal stromal tumor. *J Clin Oncol* 2004; 22:195A
- D'Adamo DR, Anderson SE, Albritton K, Yamada J, Riedel E, Scheu K, Schwartz GK, Chen H, Maki RG. Phase II study of doxorubicin and Bevacizumab for patients with metastatic soft-tissue sarcomas. *J Clin Oncol* 2005; 23: 7135-7142.
- Ewer MS, Yeh E, Eds. *Cancer and the Heart*. BC Decker Inc., Hamilton, 2006: 1-374.

Dalla Cina un Nuovo Farmaco Antimalarico e un Insegnamento per la Ricerca Biomedica

A New Antimalarial Drug from China and a Lesson for Biomedical Research

G MOTTINI

Docente di Medicina sociale, Università Campus Bio-Medico di Roma

Premessa La malaria rappresenta senza dubbio una delle patologie infettive a più ampia diffusione nel mondo (il 40% della popolazione mondiale vi è esposto, con 1-2 milioni di morti all'anno), e in grado di incidere in modo pesantemente negativo sulle potenzialità di sviluppo del Sud del mondo. La ricerca biomedica, con una *joint-venture* fra la casa farmaceutica italiana Sigma Tau e una omologa cinese, ha messo a punto un nuovo farmaco in linea con le nuove strategie antimalariche del WHO conosciute sotto il nome di ACTs (*Artemisinin-based Combination Therapies*). È la storia di un esempio di globalizzazione geo-politica, in quanto nasce dalla collaborazione fra due mondi molto distanti, come quello occidentale e quello sino-orientale. Una risposta ai rispettivi bisogni di attingere a nuovi patrimoni di conoscenze e opportunità da una parte, e di espandere i propri mercati e stabilire legami proficui con l'occidente dall'altra. Ma richiama soprattutto all'opportunità, che è pure responsabilità morale personale e collettiva, di promuovere un sapere e una ricerca biomedica sempre più *socially oriented*, dove università e industria farmaceutica possono realizzare autenticamente e in concreto la loro vocazione di servizio alla società e al bene comune. La sfida resta ardua in un ambiente in cui domina la logica di mercato liberale, che esclude automaticamente i deboli dai benefici del progresso del sapere. Non perché si avrà qualcuno contro ma perché non si troveranno mai molti talmente a favore da essere disposti a rischiare di perderci. La scienza non ha bisogno solo di pionieri che avanzano nel sapere, ma anche di condottieri che sappiano indicare dove si deve andare.

Parole Indice Etica della ricerca, Malaria

Background *Without doubt malaria represents the most widely spread infectious disease amongst the global population (40% of the world population is exposed to it, causing 1-2 million deaths). Thus it has a great negative influence on the development of the southern countries' potentialities. Biomedical research, a cooperation of Sigma-Tau, the Italian pharmaceutical company and a Chinese one, has developed a new drug in WHO's line of strategies against malaria, the so called Artemisinin-based Combination Therapies (ACTs). The story is an example of globalisation politics as it originated from a collaboration of two parts of the world, the Western and the Chinese or Eastern one, far away from one another. It gives an answer to the respective needs of drawing new knowledge and opportunities on the one hand, and expand one's own market and establish profitable connections with the West on the other. It also evokes the opportunity, which is also a moral as well as shared responsibility, of promoting a kind of biomedical research always more socially oriented. Thus university and pharmaceutical industry can realize their true and concrete vocation of serving society and the common good. The challenge is a hard one as the logic of a liberal market dominates and rules out weak people from the benefits of knowledge advancement. This is not because someone will be against it but rather because it will not be possible to find many people so in favour of it that they will be ready to loose money. Science does not need only pioneers advancing in knowledge, it needs leaders to show the way.*

Index Terms *Biomedical research, Ethics, Malaria*

Indirizzo per la corrispondenza
Address for correspondence

Professor Giovanni Mottini
Università Campus Bio-Medico di Roma
Via Álvaro del Portillo, 21
00128 Roma

Nasce dalle montagne del Wuling, provincia dell'Hunan, nel cuore della Cina: è un nuovo farmaco estratto dall'*Artemisia annua*, un'erba medicinale conosciuta fin dall'antichità e patrimonio del millenario prontuario della medicina tradizionale cinese; nota per la sua azione febbrifuga e che ha attirato l'attenzione dei ricercatori da qualche decennio per i suoi possibili effetti antimalarici.

Giunto al termine del lungo percorso delle fasi di sperimentazione, ha dimostrato di essere un arma formidabile per la lotta alla malaria: una delle principali endemie mondiali.

Il farmaco nasce da una collaborazione fra l'azienda farmaceutica Sigma Tau: la prima azienda italiana ad occuparsi coraggiosamente di un settore come quello delle patologie tropicali, una grande azienda farmaceutica cinese, l'organizzazione *no-profit* MMV-Medicines for Malaria Ventures e l'Università di Oxford, con il sostegno finanziario di ben 16 diversi enti finanziatori, fra cui la *Bill & Melinda Gates Foundation*.

La malaria nel mondo

Più di due miliardi di persone sono esposte al rischio di contrarre la malaria; il che significa oltre il 40 % della popolazione mondiale, in oltre 100 paesi tropicali, dal Sudafrica al sub-continente indiano.

Secondo i dati dell'OMS la malaria colpisce ogni anno 500 milioni di persone, provocando la morte in 1,5 – 2 milioni di casi; per il 90% bambini dell'Africa sub-sahariana.

In altre parole, la malaria è come uno tsunami con una forza d'urto sette volte superiore a quello che ha colpito recentemente l'Indocina, e che ha fatto complessivamente 250mila vittime. La differenza è che questo "tsunami della malaria" si ripete costantemente ogni anno e riversa silenziosamente la sua onda di morte.

Inevitabile constatare come la consapevolezza che ha l'umanità intera, e soprattutto l'Occidente, di questo dramma è ancora molto modesta.

ACTs: Un nuovo approccio alla terapia antimalarica

Eurartesim – questo il nome del farmaco – appartiene alla classe delle cosiddette ACTs (*Artemisinin-based Combination Therapies*), ritenute dagli esperti di tutto il mondo e dalla stessa OMS tra gli strumenti più innovativi ed efficaci per il trattamento della malaria, dal momento che negli ultimi anni in tutte le parti del mondo è stato registrato un aumento della resistenza del plasmodio verso i farmaci tradizionalmente utilizzati.

Il principio base che ha portato le *Artemisinin-based Combination Therapies* (ACTs) ad essere la terapia che, se fornita

ad un prezzo sostenibile, il WHO incoraggia maggiormente come terapia della malaria, è basato su alcuni assunti:

- Ad oggi non sono stati riportate evidenze di ceppi di Plasmodio che mostrino sviluppo di resistenza ai derivati dell'artemisinina;
- I derivati dell'artemisinina hanno una potente e rapida attività contro il plasmodio;
- Essi hanno però una emivita breve. Di conseguenza, in monoterapia devono essere assunti più volte in un giorno e per almeno 7 giorni. Questo non è assolutamente accettabile in Africa, e in generale nei Paesi in Via di Sviluppo, dove l'attitudine dei pazienti a schemi di trattamento poco più che semplici è pressoché nulla. Ne deriva che dopo 2-3 giorni i pazienti (se hanno assunto il farmaco più volte al giorno) interrompono le assunzioni quando i sintomi scompaiono ma non tutti i plasmodi sono stati distrutti. Il rischio di sviluppo di ceppi resistenti è quindi molto elevato. A tal proposito e per "proteggere" l'alta efficacia delle ACTs, il 18 Gennaio 2006 il WHO ha chiesto la cessazione immediata delle terapie antimalariche basate su monoterapie con derivati dell'artemisinina;
- Le ACTs uniscono un derivato dell'artemisinina a breve emivita (poche ore), con un altro antimalarico, in genere "datato" ed oggi non tanto efficace se dato da solo, che però deve possedere una lunga o lunghissima emivita. Nell'immediatezza della somministrazione l'artemisinina distrugge gran parte (95-97%) dei plasmodi circolanti. Il compito del secondo farmaco antimalarico è quindi di distruggere la piccola quota rimanente. La probabilità che in quella piccola quota vi siano dei ceppi resistenti è quasi nulla, per cui il successo terapeutico è pressoché garantito. Nel caso dell'Eurartesim il secondo antimalarico è la piperachina, composto sviluppato negli anni '60 dalla Rhone-Poulenc, che ha un'emivita di diverse settimane. Nel 1978 la piperachina sostituì in Cina la cloroquina nel programma nazionale di lotta alla malaria. In circa 14 anni furono impiegati circa 214 tonnellate di piperachina fosfato, e circa 140 milioni di pazienti furono trattati in profilassi o terapia.

Per testare la sicurezza e l'efficacia di questa nuova ACT sono stati realizzati due tra i più grandi studi clinici sulla malaria mai condotti in Africa (Kenia, Burkina Faso, Uganda, Mozambico e Zambia) e in Estremo Oriente (Thailandia, Laos e India), che hanno coinvolto oltre 2700 pazienti. I risultati definitivi di questi studi sono già disponibili e confermano le attese.

Va messo in evidenza che le caratteristiche del farmaco consentono una grande maneggevolezza della sommini-

strazione che facilitano la *compliance* da parte del paziente dei paesi in via di sviluppo. L'intero trattamento prevede infatti solo tre giorni di terapia e, a differenza di altre ACTs in commercio, presenta 2 vantaggi:

- il limitato numero di compresse da somministrare: 2 anziché 6-8;
- La possibilità di essere assunta anche a stomaco vuoto, a differenza delle altre ACTs somministrabili solo a stomaco pieno e dopo un pasto grasso: evenienze difficilmente realizzabili in chi, oltre ad avere nausea e vomito provocati della malaria non avrebbe comunque nemmeno le risorse economiche per procurarsi tale pasto.

Dunque una formula terapeutica che, unita all'impegno delle autorità internazionali come l'OMS per una fornitura a costi accessibili alle popolazioni povere, rappresenta l'esempio di una ricerca farmacologica orientata a trovare soluzioni efficaci e ad alta tecnologia calibrate sui problemi veri di coloro che più hanno bisogno di cure.

Una questione attuale: chemoprofilassi verso *Presumptive Stand-by Treatment*

La chemoprofilassi antimalarica è stata ed è tuttora l'opzione di riferimento che i medici dei Paesi non-endemici consigliano ai viaggiatori che devono recarsi nei Paesi dove la malaria è endemica. La chemoprofilassi è intesa a ridurre il rischio di malaria ma non è sempre efficace a causa della mancata *compliance* della persona verso il regime farmacologico consigliato o a causa della resistenza del parassita verso il farmaco. Prima che la resistenza alla cloroquina diventasse un problema globale, le decisioni mediche su come affrontare la chemoprofilassi erano semplici. Oggi che la cloroquina non dovrebbe essere più prescritta per la profilassi, sono disponibili scelte multiple di farmaci, ciascuno dei quali presenta i suoi vantaggi ma anche alcuni problemi.

Le tre opzioni che vengono maggiormente utilizzate nei Paesi Occidentali per la chemoprofilassi sono la meflochina (Lariam®, Mephaquin®), la doxycycline (Vibramycin®, Vibra-Tabs®, Doryx®) e l'atovaquone/proguanil (Malarone®) e sono state approvate negli Stati Uniti rispettivamente nel 1989, 1992 e 2001.

Vi è un crescente e diffuso allarme tra la popolazione, soprattutto anglosassone, riguardo al possibile impiego della meflochina per la profilassi antimalarica. Probabilmente si deve far risalire a delle inchieste della BBC che furono trasmesse all'inizio degli anni '90. Sebbene gli Eventi Av-

versi da meflochina con casi ben documentati di disturbi psichiatrici severi siano rari, rimane un certo convincimento tra il pubblico che questo farmaco possa causare una ben maggiore quantità di Eventi Avversi di quanto sia stato indicato dalla informazione di origine medica o farmaceutica. Comunque, diverse controversie legali sono in corso in vari Paesi. Queste considerazioni sono di un certo rilievo per i medici che si trovano di fronte ad un aumento di rifiuti da parte dei pazienti e all'aumento della quota di cattiva *compliance* al trattamento profilattico. Aumentando i rischi. In qualche *trial* è riportato una frequenza di disturbi neuropsichiatrici (soprattutto legati al sonno) attribuibile alla meflochina del 29%, contro un 14% attribuibile all'atovaquone/proguanil. Un grande studio retrospettivo inglese su più di 35.000 persone che furono esaminate circa il loro inizio di depressione, psicosi o attacchi di panico seguiti ad uso dei 3 farmaci usati per la profilassi antimalarica, ha evidenziato che possono essere loro attribuiti da 6,9 a 9,5/1000 persone-anno casi di depressione, da 1 a 3/1000 persone-anno di psicosi o attacchi di panico e che alla meflochina andava comunque attribuita un'incidenza maggiore e statisticamente significativa verso le altre due chemoprofilassi.

La vera domanda è: oggi ha ancora senso prescrivere la chemoprofilassi antimalarica a viaggiatori che si recano in aree endemiche? La risposta è no.

Le motivazioni a sfavore della chemoprofilassi sono:

- attenzione alla *compliance*: il trattamento può essere così protratto da presentare problemi di *compliance* (dimenticare il trattamento). In questo caso si vanifica l'efficacia e si apre la strada a potenziali nuovi ceppi resistenti.
- effetti collaterali. Sia il Malarone che il Lariam (i più prescritti) hanno molti effetti collaterali sul sistema nervoso centrale e sull'apparato gastrointestinale.
- in alcuni casi specifici (viaggiatori ad alta frequenza in zone endemiche, visitatori a lunga permanenza in zone endemiche), la chemoprofilassi non è praticabile in quanto sarebbe eccessivamente protratta.

Il fatto che le linee guida dei Sistemi Sanitari dei Paesi occidentali abbiano ancora la chemoprofilassi come approccio consigliato per i viaggiatori, rispecchia probabilmente la scarsa attenzione e tempo che le nostre Autorità hanno dedicato a studiare l'evoluzione della terapia antimalarica. D'altronde è perfettamente comprensibile. La malaria non è certamente in cima alla lista delle patologie che vengono costantemente aggiornate in termini di approccio terapeutico. Inoltre la rivoluzione determinata dalla altissima efficacia terapeutica delle *Artemisinin-based Combination Therapy* è relativamente recente. Solo cinque-sei anni.

C'è però da ritenere che la cosiddetta *Presumptive stand-by treatment* potrà sostituire quasi integralmente le prescrizioni che oggi vengono fatte per la chemoprolifassi. In altre parole i viaggiatori dovrebbero avere nel loro bagaglio una confezione di ACT da usare in caso di infezione da plasmodio. D'altronde questo è l'approccio che chiunque fa (nei confronti delle infezioni batteriche) quando mette nel bagaglio una confezione di antibiotico a largo spettro.

La ragionevole obiezione è che il viaggiatore non è in grado di auto-diagnosticarsi. In tal caso l'approccio al problema può essere:

1. Il viaggiatore ha comunque sintomi (febbre e/o molori). Nella maggior parte dei casi è molto facile avere un centro medico nelle vicinanze in grado di effettuare la lettura di uno striscio di sangue al microscopio. In meno di cinque minuti si ha la diagnosi.
2. Vi sono almeno 28 Aziende che producono *kit* di autodiagnosi per la malaria. Il costo va da 1 a 2US\$. Perfettamente sostenibile da un viaggiatore occidentale.
3. Qualora non si sia in una delle due condizioni previste sopra e si abbiano sintomi o dubbi, l'approccio può essere quello di assumere comunque l'ACT (Eurartesim o altre combinazioni in commercio) per le tre somministrazioni previste dal trattamento. Se si era effettivamente infetti, la cura è certa. Se, invece, i sintomi fossero dovuti ad altra causa, l'ottima tollerabilità del farmaco giustifica l'assunzione in assenza di diagnosi certa.

Quando si dice globalizzazione

La storia di Eurartesim potrebbe essere presa a modello sotto diversi punti di vista.

È un esempio di globalizzazione geo-politica, in quanto nasce dalla *joint-venture* fra due mondi fra loro molto distanti, ma destinati inevitabilmente a incontrarsi - per non scontrarsi - come quello occidentale e quello sino-orientale. Una risposta intelligente e lungimirante ai rispettivi bisogni di attingere a nuovi patrimoni di conoscenze e opportunità da una parte, e di espandere i propri mercati e stabilire legami proficui con l'occidente dall'altra.

È pure esempio di una "globalizzazione nel tempo", e non solo per i cultori della storia della medicina, se si approfondisce l'origine del suo principio attivo: l'artemisinina e le vicende storiche che lo hanno portato alla ribalta:

La pianta *Artemisia annua* (in cinese *qing-hao*) è conosciuta dai Cinesi da più di 2000 anni. Nelle tombe della dinastia Han, vi è una citazione del 168 a.C. dove è menzionata come rimedio per il trattamento delle emorroidi. Nel 340 d.C., durante la dinastia Yin, il medico Ge Hong per primo descrive le proprietà antipiretiche del *qinghao*.

La scoperta della attività antimalarica ha un retroscena suggestivo che attiene alla recente storia. Durante la guerra del Vietnam, il presidente nord-vietnamita Ho Chi Minh fece nel 1967 un appello al leader cinese Zho En Lai per aiutare i combattenti e la popolazione contro questa infezione parassitaria che indeboliva il Paese in guerra. I cinesi risposero positivamente e aprirono il "Progetto 523" che si concentrò su questa erba. Il principio attivo del *qinghao* fu isolato da scienziati cinesi nel 1971. Fu chiamato **artemisinina**. L'efficacia era paragonabile a quella della cloroquina e del chinino. Le relative sperimentazioni cliniche furono pubblicate nel *Chinese Medical Journal* nel 1979. Da allora molti derivati, più potenti del composto madre, sono stati sintetizzati: **artemeter**, **artesunato** e **diiidroartemisinina**. Ad oggi non sono stati segnalati casi di resistenza genetica a questi farmaci, sebbene alcuni casi di tolleranza siano stati descritti.

Una storia che richiama alla memoria quella altrettanto istruttiva di un altro potente e popolare farmaco antimalarico come è il chinino: scoperto dai coloni spagnoli in Perù nel '600 come rimedio antipiretico della popolazione locale, la "corteccia peruviana" attira l'interesse degli uomini di cultura e scienziati dell'epoca e dopo alterne vicende che attraversano i continenti e le potenze politiche dell'occidente finisce per diventare, con l'estrazione del suo principio attivo: il chinino, il più diffuso farmaco antimalarico fino ai giorni nostri.

Gli stessi "ingredienti" dunque: un patrimonio popolare che arriva dalle profondità del passato in luoghi remoti e dimenticati, lo spirito d'osservazione di alcune menti curiose e illuminate, la necessità che aguzza l'ingegno unita l'interesse, talvolta cupido, di ragioni di stato vicine e lontane.

Storie istruttive anche per un presente in cui si percepisce chiaramente la tendenza all'affermarsi di un sapere biomedico sempre più ostaggio di ideologie dominanti, e merce contesa dalle potenze economiche del mercato internazionale.

Ma il panorama non va visto necessariamente solo con preoccupazione.

Esiste l'opportunità, che è pure responsabilità morale personale e collettiva, di promuovere un sapere e una ricerca biomedica sempre più *socially oriented*, dove università e industria farmaceutica possono realizzare autenticamente e in concreto, come la storia di Eurartesim dimostra, la loro vocazione di servizio alla società e al bene comune.

La sfida resta ardua e non priva di ostacoli, a volte poco appariscenti ma più insidiosi (per due gambe stanche un lungo pendio sabbioso può essere più insuperabile di un alto muro...). Arduo, per intenderci, andare controcorrente facendo buona ricerca per fare buoni prodotti a servizio del bene comune; in un ambiente in cui domina la logica di mercato liberale, che esclude automaticamente i deboli dai benefici del progresso del sapere.

Non perché si avrà qualcuno contro...ma perché non si troveranno mai molti talmente a favore da essere disposti a rischiare di perderci.

La scienza non ha bisogno solo di pionieri che avanzano nel sapere, ma anche di condottieri che sappiano indicare dove si deve andare.

Bibliografia

1. Tangpukdee N, Krudsood S, Thanachartwet W, Chalermrut K. An open randomised clinical trial of Artekin® vs Artesunate-mefloquine, Southeast Asian J. Tropical Medicine and Public Health Sep 2005; 36(5):1085-91.
2. Bonn D. Artekin an affordable antimalarial. *Lancet Infect Dis.* 2004;4(5):256
3. Amorosa LF, Jr, Corbellino G, Coluzzi M. Lessons learned from malaria:Italy's past and sub-Sahara's future. *Health & Place* 2005; 11: 67-73.
4. Ashley EA, Krudsood S, Phaiphun L, Srivilairit S, McGready R, Leowattana W, Hutagalung R, Wilairatana P, Brockman A, Looareesuwan S, Nosten F, White NJ. Randomized, controlled dose-optimization studies of dihydroartemisinin-piperaquine for the treatment of uncomplicated multidrug-resistant falciparum malaria in Thailand. *J Infect Dis.* 2004 Nov 15;190(10):1773-82.
5. Karema C, Fanello CI, van Overmeir C, van Geertruyden JP, van Doren W, Ngamije D, D'Alessandro U. Safety and efficacy of dihydroartemisinin/piperaquine (Artekin) for the treatment of uncomplicated Plasmodium falciparum malaria in Rwandan children. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 2006 Dec;100(12):1105-11.

The Epistemic Nature of Package Leaflet Information: a Contribution to the Legal Debate on the Role of Package Leaflets in Therapeutic Consent

La Natura Epistemologica dei Foglietti Illustrativi: un Contributo al Dibattito Legale sul loro Ruolo Relativamente al Consenso Informato

BARBARA OSIMANI

Research Assistant, Institute of Communication and Health. University of Lugano, Switzerland

Background Package leaflets (PL) belong to the complex communication system related to the minimization and prevention of pharmaceutical risk. Their legal nature is not exhausted by safety regulation though: as a privileged form of product instruction, they are also subject to liability regulation with a consequent reallocation of damage responsibility through risk disclosure. This article presents the results of a doctoral dissertation devoted to the legal and communicative analysis of PL information.

After illustrating the articulation of pharmaceutical risk through risk prevention norms (residual risk, development risk), the paper goes on with a discussion of the PL role within the therapeutic decision as a complementary vehicle to doctor's information. It results that the liability framework in which both information channels are embedded determines a communication model, which far from promoting a shared decision process, radicalizes the two-step communication structure typical of the informed consent model inherited by surgery judicature.

The second part investigates PL information as a source of knowledge updating through the methodological tools provided by Bayesian decision theory.

Finally, an empirical study conducted over a sample of 55 drug consumers investigates the impact of PL information on drug risk perception and its perceived value to therapeutic decision.

Index Terms Package leaflets information, Informed consent

Premessa I foglietti illustrativi fanno parte del complesso sistema comunicativo volto alla minimizzazione e prevenzione del rischio farmaceutico. La loro natura legale tuttavia, non si esaurisce all'ambito della precauzione: quale forma privilegiata di istruzioni allegate al prodotto, sono oggetto di normativa del danno civile con relativa distribuzione della responsabilità sul rischio residuo (Kojuncu, 2006).

Il presente contributo riassume i dati principali di una tesi dottorale dedicata all'analisi legale e comunicativa dei foglietti illustrativi. La prima parte illustra la ricca articolazione giuridica in ambito di prevenzione del rischio. Proprio riguardo alla distinzione tra rischio evitabile e inevitabile (residuo) vengono a distinguersi due funzioni comunicative fondamentali del foglietto illustrativo in analogia e a complemento dell'informazione fornita dal medico durante la consultazione: l'istruzione vera e propria volta a prevenire il rischio evitabile; e la dichiarazione del rischio inevitabile quale base per la libera decisione dell'utente (consenso informato).

La seconda parte analizza il contesto decisionale in cui il consumatore si trova coinvolto nell'acquisire informazioni dal foglietto illustrativo e valuta tale supporto informativo quale base per il consenso informato sulla base di categorie tipiche della teoria della decisione.

Infine una parte empirica indaga l'impatto del foglietto illustrativo nella decisione terapeutica e ne esamina il valore percepito su un campione di 55 consumatori.

Parole Indice Foglietti illustrativi, Consenso Informato

Indirizzo per la corrispondenza
Address for correspondence

Barbara Osimani
Via Giuseppe Buffi, 13
CH - 6900, Lugano, Switzerland

Introduction: pharmaceutical information towards the patient

Pharmaceutical products are at the centre of vivacious debates, and the importance of transparent, timely and comprehensive information is acknowledged by the society at large as an indispensable means of risk prevention and consumers' protection.

The relevance of timely information for an effective risk management has particularly come to light in the occasion of sadly famous pharmaceutical scandals such as the Contergan tragedy in Germany, up to the recent Vioxx case in the U.S.¹

Precisely as a consequence of the Contergan scandal, in Europe, and particularly in Germany, a detailed regulation of pharmaceutical risk management and information has been developed and continues to absorb legal theorists and policy makers in the complex task of conciliating the widest possible accessibility to health technology innovations and the requirement of safety.²

Debates about pharmaceutical products focus on one and the same concern: Health as an individual and societal good, which drugs contribute to promote and to endanger at the same time.

¹ For a recent discussion see: Gaßner, Reich-Malter, 2006: 147 ff.

² European directives on pharmaceuticals have been issued since 1965 with the council directive 65/65/EEC (Official Journal 22, 9.2. 1965, p. 369/65, amended through directives 66/454/EEC, 75/319/EEC, 83/570/EEC, 87/21/EEC, 89/341/EEC, 92/27/EEC, 93/39/EEC); following to the first directive other council directives with related amendments have been issued: 75/318/EEC (amended through 83/570/EEC, 87/19/EEC, 89/341/EEC, 91/507/EEC, 93/39/EEC, 1999/82/EC and 1999/83/EC – commission directives); 75/319/EEC (amended through 78/420/EEC, 83/570/EEC, 89/341/EEC, 92/27/EEC, 93/39/EEC, 2000/38/EC – commission directive); both directives can be considered as the legislator's answer to the Contergan catastrophe; finally directives 89/342/EEC, 89/343/EEC, 89/381/EEC, 92/25/EEC, 92/26/EEC, 92/27/EEC, 92/28/EEC, 92/73/EEC. The most recent commission directive assembles all preceding ones in a single text: 2001/83/EC (amended through 2002/98/EC, 2003/63/EC, 2004/24/EC, and 2004/27/EC).

The German legislation has evolved from a mere danger avoidance to a risk prevention system through the German Medicines Act issued in 1976 (Gesetz über den Verkehr mit Arzneimitteln: Arzneimittelgesetz – AMG). This law has evolved in accordance to European legislation and in the attempt to meet the safety requirements deriving from the continuously evolving pharmaceutical field. Amendments to AMG 1976 have been issued in 1983 (1st amendment), 1986 (2nd), 1988 (3rd), 1990 (4th and 5th), 1996 (6th), 1998 (7th and 8th), 1999 (9th), 2000 (10th), 2002 (11th), 2004 (14th), 2005 (13th, 14th, 15th).

A detailed historical account of the juridical path leading to the actual state of the art with special reference to the German legislation can be found in Scheu, 2003.

The need for preventing damaging events has led to a strict regulation of the pharmaceutical market. Pharmaceutical risk communication is at the core of this regulatory activity and aims at protecting *health and life* as constitutional goods regarding both the individual and the society, but also the right to self-determination and freedom of choice with respect to the risks associated with pharmaceutical products. In this sense, information should warrant decision autonomy both to the prescribing physician and to the patient.³

The importance of product instruction for therapeutic safety is especially linked to the use of pharmaceutical products in home therapy, where patients cannot be monitored and supported as accurately as in the inpatient setting.

As a special support of such sort of information, the drug package leaflet has been object of thorough legal regulation, which has been amended and refined through the time by the legislator.⁴

³ In both cases the decision is based upon the evaluation of the alternative options and their consequences as they can be gauged by the available information. Information becomes therefore the necessary condition for the decision-maker to perform an autonomous evaluation of the options available and to choose one of them in accordance to his preferences and values. Because of the endemic incompetence in dealing with medical matters, the concept of autonomous decision for lay decision makers in the medical setting is however difficult to circumscribe and raises complex ethical and philosophical problems. The concluding part of this article presents some questions pertaining to the definition of this concept, which the legal/philosophical analysis of the institute of informed consent should take into account.

⁴ In particular, the European directive 92/27/EEC recommends the insertion of product instructions in the drug package specifically addressing the patient. The 92/27/CEE directive (31. 3. 1992) represents a milestone in the development of pharmaceutical labeling. It provides a detailed list of information contents that the PL text must cover (particularly at point 3 of art. 7 and in art. 8) and invites to a closer connection with the layman medical background (the notion of "health literacy" is explicitly mentioned).

In 1998 "A Guideline on the readability of the Label and Package Leaflet of Medicinal Products for Human Use" has been emanated as a valid companion to an enhanced patient information quality. The document presents a set of examples and provides a guideline for testing PL readability. The 1992 directive with annexed guideline have been officially implemented in the German legislation in 2002, through the recommendations for the configuration of package leaflet, and translated in legal norms through the 14th amendment to AMG. More recently, § 61 I of the modified European directive 2001/83/EC prescribes the introduction of a comprehensibility test for patient leaflets as part of the documentation for drug approval. This requirement has been implemented in the German Law through § 22 VII, 2 AMG in the 14th AMG-amendment, which declares: "Der zuständigen Bundesbehörde sind bei Arzneimitteln, die zur Anwendung bei Menschen bestimmt sind, außerdem die Ergebnisse von Bewertungen der Packungsbeilage vorzulegen, die in Zusammenarbeit mit Patienten-Zielgruppen durchgeführt wurden."

In despite of these efforts, the package leaflet is still object of harsh criticism and is blamed by health professionals of hindering compliance and failing to provide a valid information support for therapeutic decision.⁵ Moreover, in Germany, recent court decisions concerning damage compensation for information faults have delivered contradictory judgments in relation to package leaflet information:

– A much discussed sentence of the LG Dortmund (6. 10. 1999)⁶ has emphasized the patient's responsibility in taking notice of the risks reported in the package leaflet as a basis for his own risk/benefit evaluation and therapeutic decision.

– In contrast to this sentence, other decisions,⁷ have pointed at the inadequacy of this information support alone – and generally of standardized forms of risk disclosure (brochures, pre-drafted formularies) – as a sufficient source of therapeutic information for the lay consumer: in these sentences, doctor's personal and tailored communication is considered a necessary condition for consent to be valid, and cannot be substituted by PL information.

The legal debate concerns the distribution of risk responsibility among patient, doctor, and pharmaceutical firm in relation to the delivered information.⁸

In fact, differently than in the U.S., where no legal value is assigned to pharmaceutical product instruction, and the theory of "learned intermediary"⁹ imposes information duties only on the doctor, PL information has in Germany a specific binding force for the drug consumer, which is nevertheless difficult to define precisely because of the information duties also imposed on the doctor.

This article illustrates the main conclusions presented by a doctoral dissertation¹⁰ devoted to the examination and evaluation of package leaflets as a basis for informed consent.

⁵ See among others Aumiller, 1978, 1982; Degner, 1982, Karpa, 1991, Kepplinger 1990, 1991, Nickolaus, 1991; Nöthlich, 1991; Wenzel, 1985; Winckelmann, 1983; Wolff, 1982; Zink, 1985; Zylka, 1986. Until recently – 15.3.2006 – the BfArM (Bundesinstitut für Arzneimittel und Medizinprodukte – the German Federal Office for Drugs and Medical Devices – has organized a seminar for investigating the state of the art as for PLs readability and patient friendliness. http://www.bfarm.de/cln_042/nn_599148/DE/BfArM/Publikationen/Praesentationen/060215-Dialog.html Bonn, 15.3.2006.

⁶ LG Dortmund, MedR 2000, 332.

⁷ BGH, 14. 3. 2006 (NJW 2006: 2108); BGH 15. 3. 2005, NJW 2005, 1716 (1718); BGH 15. 2. 2000 (NJW 2000, 1784).

⁸ See Koyuncu, 2006, 2005a, 2005b, 2005c, 2005d; Müller, 2006, Fries, 2006; Bergmann, 2005, Blasius, 2005; Oehlschläger, 2005; Hart, 2003; Schlund, 1999.

⁹ See for a detailed discussion Fergusin, 1992.

¹⁰ Osimani, 2007. The dissertation has been made possible through a doctoral grant from the Swiss National Fund for research.

The resulting claim is that PL information cannot totally dispense the pharmaceutical firm from taking on responsibility for relevant residual risk, in that this information cannot be considered adequate for consent to be valid.

The argumentation is articulated in three parts:

- I. A legal analysis of PL information;
- II. A normative evaluation of PL information;
- III. An empirical research on the impact of PL information on the therapeutic decision.

I. Legal analysis of PL information

Notwithstanding the official qualification of PL information as product instruction within safety regulation, liability norms related to the distribution of residual risk translate it in a risk disclaimer in analogy to the information provided by the doctor within the institute of informed consent.

Therefore two main legal functions can be identified for PL information:

1. warning and risk prevention function, in observance of the consumer's right to safety;
2. disclosure of *residual risk*, in observance of the constitutionally protected right to self-determination.

Safety information should prevent avoidable risk to occur; instead self-determination information should declare the unavoidable residual risk, so as to insure that the drug user is aware of it when he decides whether to undertake the therapy or not.

The notion of residual risk is fundamental in this setting (chapter 1), because it is the risk which the beneficiary party needs to shoulder unless he has not previously been informed about it by the doctor and/or by the pharmaceutical firm.

Residual risk in general is the risk which cannot be excluded with absolute safety, but which can be regarded as improbable (and/or insignificant) enough to be considered legally irrelevant. In the case of drug prescription, residual risk is the foreseeable damage which can be considered to be compensated by the risks connected to the illness.

The threshold is established in two stages: (i) in the drug approval procedure and (ii) in the risk/benefit assessment made by the doctor.

(i) Given the impossibility of absolute safety for pharmaceuticals, the evaluation of drugs cannot result in a distinction between harmfulness and innocuousness but rather between an acceptable ("zumutbar") and an unacceptable ("unzumutbar") risk.¹¹ This is a relational judgment and is done by relating the drug risks to its expected benefit and

¹¹ Drug approval and access to the market is regulated by 5 AMG. See also Rapple, 1991: 50-57.

evaluating them in a comprehensive fashion. The upshot of this evaluation is the classification of the drug as relatively safe or not (“unbedenklich” vs. “bedenklich”) and of the related risks as tolerable or not tolerable (“vertretbar” vs. “unvertretbar”).

The principle underlying this evaluation refers to the consideration that risks are tolerable to the extent that they are not avoidable for achieving a certain therapeutic purpose. Acceptable is solely the minimal risk compensated by a comparable benefit.¹² The tolerance threshold refers to this comparison and determines the line above which a drug is declared as “bedenklich” (unsafe).¹³

(ii) With the general safety judgment (“Unbedenklichkeit”) about a pharmaceutical *product*, it is yet said nothing about its safe *use*.¹⁴ For each individual, in fact the same product can be associated to a different risk/benefit evaluation depending both on product characteristics, and on the patient condition and predisposition to side effects. A drug which has a *general positive risk/benefit evaluation*

can show a *negative risk/benefit profile for a specific user*. The doctor’s task consists in minimizing the therapeutic risks by choosing the product which best suits the patient’s risk profile for the required indication.

Pharmaceutical firms are liable for product safety; the doctor is liable for therapy safety.¹⁵

The medical prescription is the means through which the doctor acts as a filter between the products offered by the pharmaceutical market (and the general risk/benefit evaluation associated to them) and the single patient with his personal risk profile. The doctor must “translate” the general risk assessment into a concrete one, and evaluate on this basis whether the concrete risk for the individual exceeds the expected benefit.¹⁶ The doctor should assess a tailored risk prognosis by integrating statistical data registered in product information with patient’s information as acquired through anamnesis and other diagnostics.¹⁷ Figure 1 shows the “residual risk areas” for the pharmaceutical product and for the therapeutic prescription.

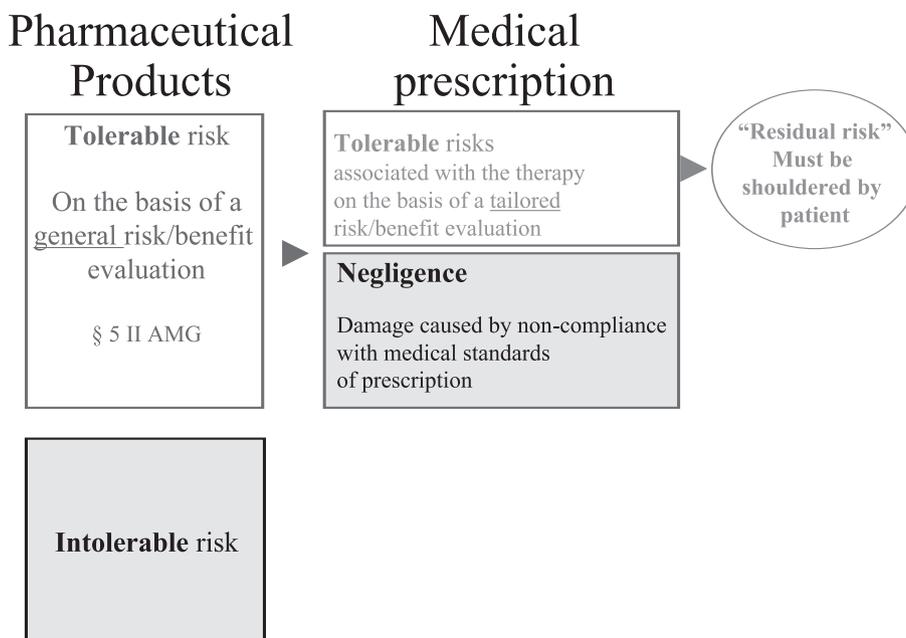


Figure 1. Residual risk for the pharmaceutical product and for the therapeutic prescription.

¹² Räßple, 1991: 110. Scheu, 2003: 713.

¹³ See Krudop-Scholz: 2005: 145.

¹⁴ Krudop-Scholz, 2005: 147.

¹⁵ Hart, 2003, 603. Francke, Hart, 1999: 60.

¹⁶ See Hart, 2003: 605.

¹⁷ In Bayesian terms, this equates to updating the risk probabilistic hypothesis delivered by frequency data related to the product on the basis of patient’s data. For the Bayesian approach regarding the interpretation and updating of probabilistic data with reference to pharmaceuticals see chapter 6.

The drug profile is evaluated in connection to the patient considered for prescription, and only if it results in a positive *individual* risk/benefit evaluation, is the drug considered adequate for therapy.

Consequently, any risk falling within the tolerance line is considered acceptable (or tolerable) and it is considered “residual risk”.

Because disclosure of residual risk is also performed by the doctor, two steps are needed in order to evaluate the legal/communicative role of PLs in this framework:

1. the analysis of risk disclosure within the institute of informed consent (chapter 3);
2. the analysis of the responsibility spheres regarding the information of residual risk (chapter 4);

Within point 1 two issues have been touched:

1.1 The repercussions of the 2nd Amendment Law for Compensation on doctor-patient communication;

1.2 The communicative status of therapeutic information under the tort and the contract liability regimes respectively.

1.1 Doctor-Patient Communication after the 2nd Amendment Law for Compensation

The institute of informed consent is relatively recent and has begun to find its way in the U.S. legal system in the '50ies as a consequence of a new interpretation of individual liberties and autonomy brought about by a new right-orientation (civil rights and consumer rights).¹⁸ However, in Germany, the development of case law around the concept of “informierte Einwilligung” (German version of informed consent) dates back to 1894 with a court decision establishing that a doctor that commits a bodily injury *with no permission* of the patient, acts tortuously because he violates his bodily integrity and health.¹⁹

Lacking a specific regulation on the matter, judges facing the task of determining compensation duties for the doctor have subsumed the medical intervention under 823.1 BGB which states that: “A person who intentionally or by his negligence, unlawfully causes death or injury or impairment of the health, freedom, property is bound to compensate him for damages arising therefrom”,²⁰ and where compensation is linked to the qualification of the

medical intervention as “Körper- und Gesundheitsverletzung” (bodily and health injury - tort liability).

In this context, consent serves the purpose of legitimizing the doctor's intervention and safeguarding him from liability charges: “The tortiousness, and thereby the responsibility of the doctor according to 823.1 BGB is excluded only if – and to the extent that – the patient or his legal representative has consented to the lesion”.²¹

In order for consent to be valid however, it must be given in observance of the right to autonomy and self-determination²², and therefore must be preceded by adequate information about the intervention itself and consequent health implications.

As a consequence, the information delivered within the context of informed consent is a legal tool aimed at the distribution of the responsibility concerning the residual risk associated with a therapy or a medical intervention, and thereby equates to a risk disclaimer.

Two critical aspects are questioned in the legal debate in this respect:

- on one side, the institute of informed consent is considered an inadequate ground for the regulation of the doctor-patient relationship, because it equates the *doctor's action* to that of a *knifer* (“Messerstecher”),
- but on the other side, it is also criticized because it reduces the *doctor-patient communication* to a *risk disclaimer*.

This debate has only recently found a solution with the disentanglement of indemnity for information failures from 823.1 BGB through the 2nd Amendment Law for Damage compensation.²³ In fact, through the amendment of § 253 Abs. 2 BGB and the abolishment of § 847 BGB,

“Wer vorsätzlich oder fahrlässig das Leben, den Körper, die Gesundheit, die Freiheit, das Eigentum, oder sonstiges Recht eines anderen widerrechtlich verletzt, ist dem anderen zum Ersatz des daraus entstehende Schadens verpflichtet”. The German formulation differentiates from other European equivalents in that it restricts the general clause to a specific list of goods protected by the constitution (see Wagner, 2004:1473) and then extends the obligation to compensate only indirectly to other goods in the second paragraph through reference to specific laws.

²¹ “Die Widerrechtlichkeit und damit die Haftbarkeit des Arztes aus 823 [I BGB] ist nur ausgeschlossen, wenn und insoweit der Kranke oder sein gesetzlicher Vertreter in die Verletzung eingewilligt hat”: Reichsgericht 14.3.1911, *Juristische Wochenschrift*, 1911: 450.

²² Which follows from article § 1 I GG: „Die Würde des Menschen ist unantastbar. Sie zu achten und zu schützen ist Verpflichtung aller staatlichen Gewalt.“; and § 2 I GG: „Jeder hat das Recht auf die freie Entfaltung seiner Persönlichkeit, soweit er nicht die Rechte anderer verletzt und nicht gegen die verfassungsmäßige Ordnung oder das Sittengesetz verstößt”.

²³ II Schadensersatzänderungsgesetz, 2SchadÄndG: 25.7.2002 BGBl I S 2674.

¹⁸ Faden, Beauchamp, 1986: 23-143.

¹⁹ Reichsgericht 31.5.1894, Strafs. Bd. 25, nr. 127: 375: “Ein Arzt der vorsätzlich für Heilzwecke eine Körperverletzung verübe, ohne sein Recht hierzu aus einem bestehenden Vertragsverhältnisse oder einer präsuntiven Zustimmung, dem vermuteten Auftrage hierfür legitimer Personen, herleiten zu können, handelt überhaupt unberechtigt, also rechtswidrig”.

²⁰ English translation from: Dietl, C.E., E. Lorenz, Dictionary of Legal, Commercial and Political Terms (2005). § 823 I BGB:

the 2nd Amendment Law of Compensation extends compensation for moral damage (damage for pain and sufferings) – which were previously limited by § 847 BGB to torts – to breaches of contract.

The importance of this change for doctor-patient communication lies in the fact that by subsuming lack of adequate information under a contract violation, this need not be associated with material damage (health impairment, pecuniary losses).²⁴

It has been observed that by allowing the claim for moral damage also for contract breaches, the legislator intends to steer the future medical liability law into its natural setting, namely breach of contract (rather than tort law).²⁵

Indeed, differently than in tort liability, within contract liability, the damage derived from the lack of self-determination information consists in the lost chance to decide upon one's own health, independently of eventual material damage. Therefore, information for self-determination ceases to be a risk disclaimer and rather responds to the need of enabling the patient's autonomous choice within a counseling activity: risk information is only part of the more general duty of fostering a shared decision making.²⁶

²⁴ Moral damage is generally identified with non-pecuniary losses such as psychological distress, loss of enjoyment of life and is measured through quality of life scales (see for instance Bovbjerg et al. 1989). In this setting moral damage consists in the lost chance of being enabled to choose among concretely available options because of lack of comprehensive information.

²⁵ „An die Einbeziehung des Schmerzensgeldanspruchs in die Rechtsfolgen vertraglicher Haftung hat der Gesetzgeber die Erwartung geknüpft, dass die *ihrer Rechtsnatur nach vertragliche Arzthaftung* künftig nicht mehr mithilfe des Deliktsrechts abgewickelt ist“. Giebel, 2001, citing the BT-Drucks. 14/7752: 15 (my emphasis).

²⁶ The considerations above recall the argumentation that contributed in the U.S. law system to the shift from “battery theory” (breach of duty imposed by the law) to the “negligence theory” (breach of professional duty) of informed consent. The distinction between the two theories is grounded on the different purposes that the information is supposed to accomplish: legitimization of the bodily intrusion in the first case, and patient's enablement in an autonomous decision in the second.

The official justification of the duty to inform as a professional care duty rather than as a legitimization of what otherwise should be a battery comes with the Canterbury case (1972):

True consent to what happens to one's self is the *informed exercise of a choice*, and that entails an opportunity to evaluate knowledgeably the options available and the risks attendant upon each. The average patient has little or no understanding of the medical arts, and ordinarily *has only the physician to whom he can look for enlightenment with which to reach an intelligent decision*. From these almost axiomatic considerations springs the need, and in turn the requirement, of a reasonable divulgence by physician to patient to make such a decision possible [Canterbury v. Spence, 464 F.2d 780 (D.C. Cir.1972) (footnotes omitted), cited in Faden (1986, p. 133-34), my emphasis].

This has important consequences for the doctor-patient communication. In fact, under tort liability, compensation is only granted when a causal nexus can be established between damage and failure to provide adequate information. The right to choice is not protected *per se*, in that compensation is granted not for the lack of information but for the physical damage.

For instance, lack of information about alternative therapies, which do not essentially differ from the proposed procedure in their risk/benefit profile, does not lead to tort liability in that the damage would not have been less probable if the patient would have chosen one of these alternatives.

This setting models the doctor-patient communication as a risk transfer transaction rather than as a counseling relationship, where information for decision is a value *per se*.

The counseling relationship is precisely fostered by the extension of compensation duties for moral damage also to contract liability. In fact, within this framework information about therapy and alternatives is due to the patient not as a legitimization of bodily intrusion, but as a consequence of the asymmetric relationship with the patient and therefore as part of his professional duty. Compensation is granted also for the simple violation of the right to self-determination independently of health damage.

1.2 Communicative status of therapeutic information under tort and contract liability

In the informed consent model entailed by the tort liability regime, doctor-patient communication serves the purpose of legitimizing the medical procedure. In the counselling model inherent to contract liability, communication should enable freedom of choice. Consequently, the reason for which the patient shoulders the risks connected to the therapy differs in the two settings: in the IC model, the patient is supposed to shoulder the risks connected to the procedure *because, having being informed about them, he is aware of them*; in the counselling model, rather than merely consenting to a proposal, the patient *actively participates in the decision*, and shoulders eventual damage because he takes on co-responsibility for the medical treatment, and bears the risks which do not fall under the medical control.

Following this analysis, given that liability for product instruction faults falls under tort liability (chapter 2), PL information ends up to conform to the IC model of therapeutic information and thereby to serve the purpose of residual risk reallocation. This task qualifies it as a risk disclaimer with the additional drawback that no comparative data about therapeutic alternatives are given.

With this argumentation, the court finally establishes the doctor's duty to inform not as a requirement for not incurring in an illegitimate battery, but as a consequence of the asymmetric relationship to the patient and therefore as part of his professional duty.

2. Responsibility spheres regarding the information of residual risk

Consent to the doctor equates to a global approval to therapy. However, the doctor's information duty does not include all possible residual risks, but only those considered relevant for the patient's decision. Detailed information, which cannot and need not be disclosed by the doctor is also part of the consent and is provided by the PL. By taking the drug, the consumer accepts also the risks enlisted in the PL warnings and not mentioned during consultation.

Whenever damage follows, which does not result from prescription errors, and the mention of which was not part of doctor's professional duties, the patient has no right to compensation, if it is included in PL information (See Fig. 2).

From this it results that, the residual risk disclosed in the PL and which is not part of the doctor's information duties, totally falls on the patient's shoulders.

II. Normative evaluation of PL information

Once it has been established that PL information is not only a means of safety protection, but also part of the therapeutic informed consent, the point is then to evaluate whether PL information can be considered adequate for consent to be "informed", i.e. valid.

1. *Prima facie* objections to PL information as a valid basis for informed consent.

The legal and socio-psychological literature has advanced different objections to PL information as an adequate basis for informed consent. They are presented and commented in the following.

1.1. Lack of timeliness of PL information. PL information comes on principle too late, when consent has already been given to the doctor. A solution to this problem has been proposed by Koyuncu with his bi-phased model: preliminary consent to the doctor, conclusive consent through drug intake.²⁷

1.2. Possible conflict between the doctor's and the patient's risk/benefit assessment made on the basis of PL information. If the PL brings an autonomous element to the patient's decision, then it should do it by providing him with a different basis for choice than that provided by the doctor (risk/benefit assessment). This brings a contradiction within the decision process: either should the patient rely on the doctor's risk/benefit assessment; or else make a personal risk/benefit assessment on the basis of PL information, perhaps also different from the doctor's one.

1.3. Absolute lack of information about alternatives. If consent to doctor has been given with little or no knowledge of alternatives, consent to PL is given exclusively with information related to the prescribed product. As Wolz puts it: „When the user has it [PL] in his hands, then a decision about a specific treatment has already been made. Alternative drugs are not available or only with difficulty, so that often the decision reduces to a choice between taking this pharmaceutical product or not ... *Even optimal designed PLs cannot warrant the user an adequate ground for decision*”.²⁸

1.4. “Non-tailoredness” of PL information. A decision can be considered self-determined, only if made on the basis of personally relevant information.²⁹ PL information grounds on a toxicological-statistical concept of risk, which needs to be integrated with the patient's personal data on the basis of the doctor's tailored evaluation of therapeutic risk. Therefore the PL cannot substitute the doctor as a source for self-determination information, in that the principle of self-determination requires that the individual is made knowledgeable of *his personal* risk/benefit profile, whereas product information is necessary general and abstract.³⁰

1.5. Risk information overload and lay incompetence to discern personally relevant from irrelevant information. In general it can be said that given the high preponderance of risk information³¹ in relation to data about benefit, any decision-maker should decide not to take the drug. The main difficulties lie indeed in selecting the items of information which are personally relevant and material to the decision. This can be a source of paralyzing uncertainty or non-compliance, when it does not lead to the general refusal of PL information.³²

The delivery of perfectly tailored information would require a pharmaco-genomics screening and is not feasible at the moment, therefore it cannot be demanded from a stan-

²⁷ Koyuncu, 2006: 344; 2005a: 76; 2005b: 291 ff.

²⁸ Wolz, 1988: 15, 16: “Hat der Verbraucher erst einmal in der Hand, so ist die Entscheidung für ein bestimmtes Medikament bereits gefallen. Alternativpräparate werden nicht oder nur unter Schwierigkeiten erreichbar sein, so das oft nur die Entscheidung zwischen Einnahme und Nichteinnahme dieses Arzneimittels bleibt ... Auch inhaltlich optimal gestaltete Gebrauchsinformationen garantieren also nicht den Entscheidungsspielraums des Verbrauchers”.

²⁹ “Selbstbestimmt ist die Entscheidung dann, wenn die aus der Sicht des Patienten entscheidungsrelevanten Informationen zur Verfügung stehen”: Hart, 2003: 605.

³⁰ See Hart, 2003: 605; Krudop-Scholz, 2005: 156. See also Stöhr, 2006: 148.

³¹ There are PLs with more than 80 side-effects: Grandt et al., 2005: 511. See also Schlund, 1999 for a juridical perspective on this particular issue.

³² See Krudop-Scholz, 2005: 159-162.

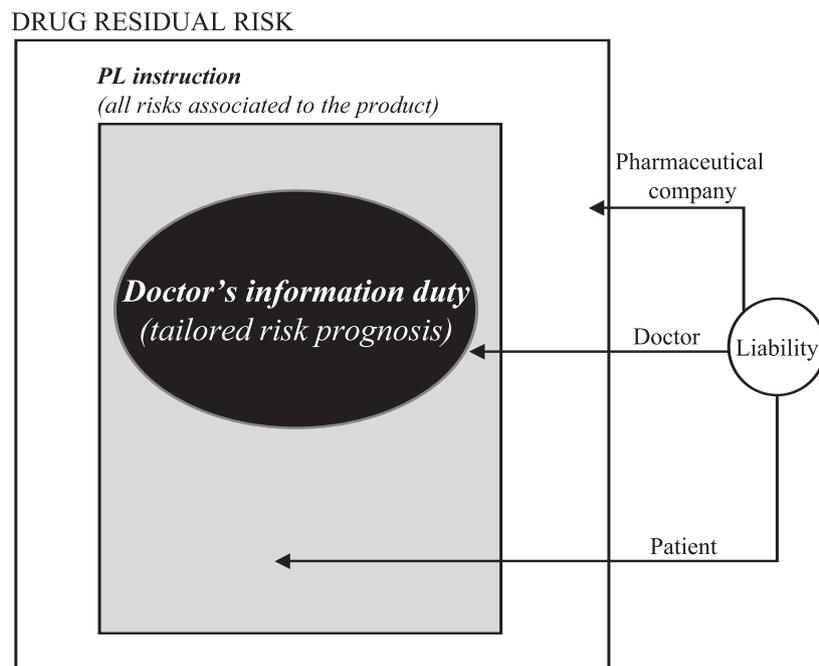


Figure 2. Liability distribution for residual risk among pharmaceutical firm (white), patient (grey), and doctor (black). By consenting to the therapy, the patient shoulders all the residual risk mentioned in the PL which does not belong to the realm of doctor's information duty.

standardized means of risk disclosure such as PL information.³³ Also adverse drug reactions which can be traced back to particular ethnic, morbidity, and environmental conditions³⁴ detected in observational studies and pharmacosurveillance cannot be always adequately addressed in the PL. The point at issue is however that precisely because of this inadequacy, PL information should not be legitimized as a source of responsibility offload for the pharmaceutical firm.

1.6. Risk assessment uncertainty due not only to incomprehensibility, but to a general incapacity to understand the health implications related to the information items contained in the PL.

The prima facie objections presented in this paragraph touch epistemological aspects of PL information as a basis

for knowledge updating, risk/benefit assessment and therapeutic decision.

Therefore the evaluation of PL information must go beyond its linguistic and communicative aspects and investigate the role of PL information in the therapeutic decision. The methodological tool adopted for this analysis is Bayesian theory in that it has been developed for the analysis of the relationship between information and decisions under uncertainty, such as therapeutic decisions typically are.³⁵ The Bayesian approach to informed consent seems to underlie also the regulation of PL risk disclosure, as can be evinced from article 13.1 of the 1994 BfArM recommendations for PL information, which suggests to *give frequency of side effects whenever possible, in order to ease the risk estimation of the patient.*³⁶

³³ I thank an anonymous referee for pointing out this issue and providing important and valuable suggestions on this and other relevant topics addressed in the article.

³⁴ See for instance: Goldstein et al., 2007; McDowell et al., 2006; Menezes de Pádua et al., 2005; Waller, Evans, 2003; Aronson, Ferner, 2003; Schwartz et al. 2001; Aronson, 2001; Henry et al., 1996; Spielberg, 1993. Clericetti, Beretta-Piccoli, 1991; Hasselstrom et al., 1990; Dickinson et al., 1989; Mulhall et al., 1983; Greenblatt et al., 1981; Batchelor et al., 1980. For the implications related to the communication of risk probability in these settings see Calman, 1996.

³⁵ The pioneering and influential article by Arrow (1963) has first emphasized the presence of uncertainty in choices related to health. Grossman (1972) has settled the principles for the tradition of studies on health demand. See for an introduction to the topic: Lindgren (2002) and Andersson and Littkens (2002) with related literature references.

³⁶ "die Häufigkeit bei allen Nebenwirkungen, bei denen es möglich ist, [soll] in der Packungsbeilage angegeben werden. Damit soll dem Patienten die Einschätzung des Nebenwirkungsrisiko erleichtert werden". Cited in Scheu, 2003: 705-06 (my emphasis).

2. Bayesian analysis of PL information

Bayesian theory comprehends three distinct but interconnected fields of research which are all relevant to the analysis of PL information:

- 1) the theory of *knowledge updating* through probabilistic induction;
- 2) the theory of *decision optimization* through maximization of the expected utility;
- 3) the theory of *expected value of information* as dependent on the expected reward in terms of contribution to decision optimization.

These three fields jointly aim to describe the management of decisions under uncertainty.³⁷

“Uncertainty” means in this framework an epistemic state of less than perfect knowledge about the actual state of affairs, which is modeled by a probability distribution/function over a state partition.

Decisions are modeled in Bayesian theory as the selection of the act which brings the highest outcome sum, where each outcome is weighted by the probability of the related state of an affair: this is said to be the act which

maximizes the subjective expected utility. “Expected” refers to the probability distribution over the possible outcomes that the act could bring, “subjective” to the fact that this probability distribution results from the decision maker’s knowledge of the state of affairs at the time of decision. The maximization formula reads as follows:

$$(1) \max \{ \sum_{i=1} P(S_i)U(a_j) \}.$$

An example may help illustrate the principle. Listening to the weather forecast on different channels, and relying on the sky at sunset, an agent planning his week-end judges the probability of rain rather low (1/3 of the probability of variable weather). Sunny weather should be twice as probable as variable weather. Therefore the probability distribution about the agent’s weather forecast would look like the following: sunny weather: .6; unsettled weather: .3; rain: .1.

The probability distribution applied to the possible weather conditions for the decision gives the following matrix:

| | \prod S_1 .6 | \cdot S_2 .3 | \leftarrow S_3 .1 |
|----------------------------|--------------------------------|-----------------------------|-------------------------------|
| a_1 picnic | Outcome ₁₁ 100 | Outcome ₁₂ 0 | Outcome ₁₃ -100 |
| a_2 big-town-sightseeing | Outcome ₂₁ 0 | Outcome ₂₂ 70 | Outcome ₂₃ - 20 |
| a_3 museum | Outcome ₃₁ - 100 | Outcome ₃₂ 0 | Outcome ₃₃ 80 |

Figure 2. Decision matrix: columns represent relevant state of affairs with associated probabilities. The partition exhausts all possible events and events are mutually exhaustive (i.e. the sum of the individual probabilities equals 1). Rows represent alternative actions leading to different outcomes depending on the state of affair which comes to be true.

³⁷ Indeed, the emergence of decision theory is intrinsically intertwined with the evolution of subjective probability theory. Whereas first mathematicians and philosophers of science and than logicians have developed a probability calculus, economists and philosophers of mathematics (Frank Ramsey, Leonard Savage, Harold Jeffreys, Rudolf Carnap, Richard Jeffrey, to mention but a few) have developed a theory of rational decision and action on the basis of probabilistic knowledge: Bayesian theory. The connection between probability and decision has been modelled by Neumann and von Morgenstern (von Neumann, Morgenstern, 1944). The integration of the probability calculus into the Bayesian theory of belief has been carried out by Frank Ramsey

in his intent to demonstrate the epistemic reality of probability as a measure of the degree of belief upon which one is ready to act. In his account, probability is not functional to decision, but rather the contrary: decisional behavior is the observable effect of the extent to which specific beliefs are entertained by the agent (Ramsey, 1931: 173 ff). This assumption is formalized in Jeffrey’s system, in that the probability is identified with the readiness to act on the basis of a belief and its welcomeness: the technical term used by Jeffrey is: “desirability”. See for instance Jeffrey, 1965, 1968. Savage develops the “subjective utility principle” for maximizing decision, by applying Ramsey’s subjective probability system to von Neumann and Morgenstern model (Savage, 1954).

The expected utility formula gives following results for each act under consideration:

$$SEU(a_1): \sum P(S)U(a_1) = 100(.6) + 0(.3) + (-100)(.1) = 50 \leftarrow \max$$

$$SEU(a_2): \sum P(S)U(a_2) = 0(.6) + 70(.3) + (-20)(.1) = 19$$

$$SEU(a_3): \sum P(S)U(a_3) = -100(.6) + 0(.3) + (80)(.1) = -52$$

The maximum result is 50: the principle of expected utility maximization prescribes to choose act a_1 : going out for a picnic.

Of course different weather forecasts would lead to different results. Therefore further information can eventually lead to a decision change. The expected value of further information to the decision will depend on its expected epistemic impact on the probability distribution related to the relevant states.

Bayesian theory provide the framework for analyzing PL information:

- as a basis for knowledge updating (probability of side effects occurrence) for a risk/benefit assessment about the drug;
- as a support for decision optimization based on the expected reward of taking the drug vs. not taking it;
- finally, its perceived value as a function of its expected contribution to decision optimization.

The normative analysis of PL information is articulated into two points:

1. What requirements the legislator establishes for consent to be qualified as informed;
2. Whether PL information fulfils these requirements.

1. As for the first point, the requirements are derived from the right which the institute of informed consent should honour, i.e. the right to self-determination: Information prior to consent should enable the patient to make an autonomous choice and therefore provide him with relevant data about the intervention/therapy and the risks and benefits involved. In order to allow a risk/benefit prognosis also probabilistic data about the healing effect and potential damage should be given.

2. In order to analyze whether PL information can be an adequate basis for consent to be valid, the PL role as a contributor to epistemic accuracy within the therapeutic choice has been evaluated on the benchmark of a model deriving from the decision constraints pertaining to the lay therapeutic decision.

The model is constituted by a two-components function (Andersson and Littkens, 2002). The first component is a traditional expected utility function (where utilities are weighted by probability assignments, as in the example above); the second is a generalized expected utility where

health states (utilities) are surrounded by uncertainty and cannot be assigned firm probabilities:³⁸

$$U(a) = \gamma(a) \cdot \sum_s \pi_s(a) u(h^s, a) + (1 - \gamma(a)) \cdot u_0(a).^{39}$$

Both the utility and the probability function depend from the vector of activities (a):

- the probability function because of state-act dependency,
- the utility function because of the subjective cost associated to these activities.

The second component is a generalized expected utility. It refers to health states $S + 1, \dots, S + S'$, for which the individual is not able to assign firm probabilities and $u_0(a)$ is a reduced form of the expected utility over these states:⁴⁰

$$u_0(a) = \tilde{E} \{ u(h, a) \mid S + 1, \dots, S + S' \}.$$

The weighting factor γ allows accounting for the effect of risk information which can simultaneously make people more genuinely uncertain (decrease of γ) and more pessimistic regarding the probability of a specific disease (higher probabilities are associated to less preferred states

³⁸ Andersson and Littkens (2002): 42; 45: “The interaction between risk and uncertainty aspects of the model seems to capture an important element in decisions about health related activities. Even when we are dealing with risk – so that an individual is implicitly thinking in terms of probability for, say, lung cancer – it seems reasonable to argue that he is often unsure about whether he has in fact the correct probability (π_s) and about the effect of his actions on the probability of ill health ($\partial\pi_s/\partial a$), e.g. the effect of smoking on the probability of lung cancer. The size of γ reflects the degree to which the individual is confident about π_s and $\partial\pi_s/\partial a$ (though we cannot separate the two attitudes)”.

³⁹ Andersson and Littkens (2002): 42. Andersson’s and Littkens’ analysis investigates the mathematical implications of this functions as for the effect of exogenous factors on the vector of activities a_1 (information gathering), a_2 (prevention), a_3 (consumption), and on their reciprocal influence. For the present purpose I consider a simplified interpretation of the function, where “a” stays for the act of taking the drug and the associated health implications: health state in terms of (quality adjusted) healthy days.

⁴⁰ Andersson and Littkens (2002): 43 and related footnote 5. These states are such that the agent does not have the roughest idea whether any preventive activity would influence their probability of occurrence: “As soon as the individual believes that it is possible to influence the probability of health outcomes – even if it is a very vague belief or hope – the probabilistic part of the function is involved”. Andersson and Littkens (2002): 46. *Uncertainty aversion* (ignorance denial) is captured by the assumption that states $S + 1, \dots, S + S'$ are assigned probabilities that need not sum to 1. When the estimation is computed however these are “normalized” and transformed into weights summing to 1: $u_0(a) = \sum v_s u(h^s, a)$.

in $\pi_1(a), \dots, \pi_s(a)$.⁴¹ In general it serves to measure the degree of confidence in the probability distribution of firm states (h_1 through h_s).

An activity (a) makes the distribution more favourable if it induces a shift in the distribution in the direction of stochastic dominance.⁴²

Along this model, consent has been defined to be informed to the extent that it approaches a decision under risk (known probabilities), i.e. to the extent that the decision maker can assign a probability measure to each health status in a ranking from the most favourable to the worst – being health states nothing else than quantities of quality adjusted healthy days – and that he knows whether the act of taking the drug (a) shifts the probabilistic distribution towards stochastic dominance with respect to the act of not taking the drug.

This means that the weight factor associated to the first component of the utility function (which assigns a probability measure to each health state) tends to 1 ($\gamma \rightarrow 1$).

Provided the principle of proportionality for risk disclosure, the amount of γ should be greater,

1. the greater the therapy risk is;
2. the less severe the illness is;
3. the less probable the benefit is.

Against the framework of this model, PL information reveals to decrease rather than increase the γ factor: i.e. to boost uncertainty. This is due both to the non-tailoredness of its probabilistic data for the individual prognosis, and to the lack of risk magnitude indexing.

There are in fact no legitimate epistemic grounds for directly assuming that the statistical frequency accompanying each side effect can be considered a reliable prognostic judgment about the probability that the single user might be concerned by the side effect.

In order for it to ground the prognostic assessment, PL information should be integrated with other parameters such as personal susceptibility given dosage/duration. The doctor's task is precisely to combine both knowledge of the drug and of the patient in order to predict the risk level which the patient is exposed to by taking the drug.

⁴¹ "If for example an exogenous event – like the alarm about the mad cow disease in Britain in 1996 – simultaneously makes people more genuinely uncertain and more dismal regarding the probability of brain disease, this is captured perfectly well by a simultaneous shift in the degree of uncertainty (γ) and in the probabilities (π)". Andersson and Littkens (2002): 43.

⁴² i.e. if the cumulative distribution dependent on the activity a_i is such that:

$$F_{ai}(h; a) = \frac{\partial F(h; a)}{\partial a_i} \leq 0.$$

One distribution stochastically dominates another if for each outcome, h , something less preferred is less probable. The corresponding cumulative distribution functions for each should be such that for each h , $G(h) \leq F(h)$. Andersson and Littkens, 2002: 45.

Furthermore the probabilistic assessment should be combined with the perceived importance of the eventual damage (subjective disutility), the evaluation of which is most of the times hindered by the lay incompetence to appraise the magnitude and health implications of the risks mentioned in the PL.

This means that consent on the basis of PL information rather approaches a decision under ignorance than one under risk. This is a fundamental objection to the *legitimation of this instrument as a valuable basis for informed consent*. In fact, the legislator implies that consent is given with knowledge of the probabilities of risks and benefits.

PL information about side effects rather represents the hypotheses to be confirmed, than the answer to them: each side effect mentioned in the list generates uncertainty as to its possible occurrence, which the probabilistic data associated to it cannot substantially reduce: as a prognostic device, PL information fundamentally asks more questions than it answers.

Different considerations regard the safety function which PL information should also accomplish. The contribution of PL information in this respect does meet minimal requirements, in that the drug consumer can actually profit from it in order to use the product correctly and safely. In this respect, also information about residual risk (side effects) accomplishes a safety function in that it might help the consumer identify eventual unexpected symptoms as side effects, whenever they are already listed in the text. Side-effect information can be validly used for diagnostic rather than for prognostic assessments.

The legislator should account for this asymmetry and regulate liability based on information consequently: the consumer should not be considered committable to residual risk on the basis of PL information, but instead it should be emphasized his contributory negligence whenever safety aspects of PL information are not sufficiently taken into account by him.

III. Empirical findings

The normative analysis of PL information has been devoted to illustrate its specific *epistemic* nature and to demonstrate its insufficiency and redundancy at the same time.

The common objection to the qualification of PL information as a valid source for an autonomous decision moved in the legal literature and jurisprudence does not touch its epistemic foundations though, but rather takes into account psychological considerations related to the effective fruition of this sort of information by the lay user.⁴³

⁴³ See also the list of *prima facie* objections presented above (especially points 1.5 and 1.6).

This type of objection is echoed for instance in court decisions which consider invalid the consent obtained through standardized formularies and generally written pre-drafted communication.⁴⁴ In the specific case of PL information, this attitude is mirrored in the latest pronouncement of the BGH concerning health damage compensation on the basis of information insufficiency: the information contained in the PL is not considered information for self-determination, so that the doctor is cautioned that a simple reference to the PL does not absolve him from the duty to inform the patient personally, because he cannot take for granted that *the patient will read and follow the instructions contained in the PL*.⁴⁵

On the other side, legal theorists and the health professional alike raise a somehow opposite objection to PL information: this regards the frightening potential of PL information and its detrimental effects on compliance and therapeutic safety. Patients are assumed to get anxious about the therapy *by reading the PL* and consequently suspend the therapy.

Indeed, as already emphasized by the analyses conducted by linguists,⁴⁶ given the uncertainty sources identified at all discourse levels (lexical, semantic, and pragmatic) an ideal reader, should at least loose part of his confidence in the therapy, when not straightforwardly refuse it.

Empirical data about drug waste could be an indirect evidence of this reaction: each year 100 tons of pharmaceuticals for a value of 500 Mio. Euros go into the garbage. It is estimated that 1/5 to 1/3 of the prescribed drugs are thrown away without even opening the blister.⁴⁷

However, a variety of responses to PL information or health risk information has been empirically observed.

Information about side effects is generally considered very important among drug consumers: when asked, 90% of patients express desire to receive information on side effects, which they consider the most important aspect of drug information (McGavock 1998). Furthermore, information about adverse drug reaction is among the highest ranked when compared to other pieces of information related to the therapy (van Grootheest et al. 2004; Laaksonen et al. 2002; Bouvy et al. 2002; Åström et al. 2000; Howard

et al. 1999; Vigilante, Wogalter 1997). Moreover, risk issues are the most recurring concerns when evaluating drugs (Kare, Kucukarslan, Birdwell 1996).⁴⁸

But, on the other hand, in a study on Intrinsic Desire for Information (IDI; Åstrom et al. 2000) a correlation between IDI low scores and anxiety was observed, either coped with by trusting the health professional or by predominantly looking for reassuring information. The intrinsic desire for health information (factor 1) was distinguished from the expressed desire of information (factor 2) in order to account for inhibition in information request. The subgroups emerging from factor 2 were obtained through a qualitative analysis of open answers: no expressed desire; expressed desire but no expressed purpose; expression of both desire and purpose.

IDI high scorers tended to express desire of factual information in order to make an autonomous judgment, instead low scorers tended to seek for reassuring information or to avoid information and rather rely in the health professional as a delegate for decision. In general, low scorers were more concentrated on benefit information, whereas high scorers were interested in data about the risk associated to the treatment and eventual alternatives (p. 161-162).

Previous work of the same group has shown that providing information about medicines to patient who desires it makes them more satisfied and empowered, whilst providing the same information to those who do not want it makes them more anxious and less empowered (Duggan, Bates 2000).

Laaksonen, Duggan, Bates (2002) have found information seeking attitudes to be positively related to *past experience with side effects*. Moreover, high scorer were not only aware of side effects but also of the drug being helpful: "It's about a balance between the good and bad effects", while low scorers manifested the tendency to take the medicine for duty and to lack any information need: "I just don't know if knowing will help ... I mean, a bad effect is a bad effect."

What emerges from these studies is that information insufficiency and the desirability of health information do not necessarily associate. The perceived knowledge gap and the desire to become knowledgeable about health risks do not necessarily go hand in hand.

⁴⁴ BGH NJW 2000, 1784, 1787, f; BGH NJW 1985, 1399; BGH VersR 1973, 244 (246); VersR 1985, 361 (362).

⁴⁵ BGH 15. 3. 2005, NJW 2005, 1717

⁴⁶ Linguistic analyses of PL information range from text typology (Bock 1994; Donscheva 1990; Ehlich 1994; Ehlich/Noack/Scheiter 1994; Eckkrammer 1995, 1998, 1999, 2002, 2002b; Fickermann 1994; Grosse/Mentrup 1982; Hoffmann et al. 1998, 1999; Langer 1995; Mohn 1991; Nickl 2001; Werner/Heyne 1989) to lexicography (Mentrup 1982, 1988), and pragma-linguistics (Hensel 1989; Hoffmann, 1983; Saile 1984; Schuldt, 1992, 1998, Völzing, 1976, Zacharias, 1986).

⁴⁷ Bronder, Klimpel: 2001.

⁴⁸ Indeed discontinuation of drug treatment as a reaction to development of side effects, occurs particularly in cases when no information on side effects has been given by the practitioner (Enlund et al. 1991). This means that confidence in the health professional and in his decision is not shaken when the drug consumer knows that side effects are "part of the bargain" and are under control. In fact satisfaction with the information received has been found to affect adherence (O'Brien et al. 1990; Coulter et al. 1999).

A recent study on PL information evaluation conducted by the Wissenschaftliches Institut der AOK (WidO) reported 29% of the participants being less confident (“verunsichert”) after reading the PL.⁴⁹ This is a considerable figure, but does not provide adequate ground for assuming that PL information invariably increase uncertainty.

In order to cast some light on this fragmented scenery, empirical findings are presented at the end of the thesis. The last part of the work consists in fact of a quantitative study (a survey with $n = 55$ sample size), and a think aloud experiment ($n = 15$). Participants for both studies were recruited among drug consumers with the aim to investigate the role of PL information in their therapeutic decision.

1. Survey

The survey was designed as a paired comparisons test, where participants were asked to give their risk and benefit assessments about the drug before and after reading the PL (chapter 7).

The information impact was measured by the difference between risk/benefit assessment before and after reading the PL.

The main result deriving from this study is the gap between increased perceived level of information and

- i. impact variance on benefit and risk assessments;
- ii. absolute no impact on the decision.

PL reading has practically no average impact on the risk/benefit assessment. This is not only due to the lack of a systematic change direction (e.g. risk perception increase and decrease), but also to the considerable proportion of no change responses in the sample. The expected frightening effect is not systematically observable: some respondents have a decreased instead of an increased risk perception after reading the PL (and the same is valid for all other parameters). Little more than one third of the sample respondents (36.4%) have become more aware of the risks associated to the therapy after reading the PL. An equally consistent part of participants (30,3%) have delivered the same risk assessment before and after reading the PL. And, for another considerable portion of the participants (33,3) the perceived personal risk has even diminished, so that it can be said that PL information produces all three possible effects in the same measure.

However, the presence of a specific topic of concern seems to have some effect on the degree of confidence in choice and on the personal benefit assessment before reading the PL. In the post-PL phase the persistence or emergence of a specific topic of concern is associated with lower degree of confidence in choice, less favourable risk/benefit assessment, lower benefit assessment (both general and personal), and higher desire to further enquire about the drug.

The fact that no overall increased risk perception can be associated to PL reading, and that nonetheless the presence of specific topic of concern is indeed associated with different risk and benefit perception patterns can be interpreted as a sign of no “spill-over effect”:⁵⁰ *participants do not take seriously any item of risk information contained in the PL, but only specific items.*

Yet neither the presence of a specific topic of concern nor the change in risk/benefit assessment seem to influence the final decision, which remains as definite as before (100 score for all participants).

Considering the generally positive evaluation of PL information and the increased perceived level of information after PL reading observed in the sample, these data support the hypothesis that the therapeutic decision concerning prescription drugs is rather insensitive to PL information. The concept of decision sensitivity to incoming information can indeed provide an explanatory framework for the discrepancy between increased level of knowledge after PL reading and lack of impact on the therapeutic decision.

2. Think-aloud experiment: the relevance paradox

The qualitative study (chapter 8) investigates the dynamics underlying PL information selection and processing.

In general a certain reluctance to read the entire text has been observed in the sample. On the other side, PL information is perceived as highly important. This schizophrenic attitude has been explained by the relevance paradox phenomenon: any piece of information contained in it has virtually extreme importance and cannot be done away unless one feels justified in neglecting it for some reason. On the other hand, the probability that all the items of information will jointly concern the reader is extremely low. Indeed only a minor proportion of the information items do refer to the special health condition in which the reader finds himself. This leads the single user to consider the text as *constitutively over-informative*.

The key for the selection of relevant information is constituted by two filters:

1. Connection with doctor’s information.
2. Counterfactual neglect;

2.1 Connection with doctor’s information

The selection of PL information is a function of its familiarity with old knowledge, especially if previously acquired from the doctor in the prescription phase. In this sense the PL can be also said to function as a co-text to what already learned during the consultation.

⁴⁹ Nink, Schröder, 2006: 76.

⁵⁰ See Viscusi, Magat, Huber, 1987: 169

In the interviews this phenomenon especially comes to light either through explicit text account on the light of doctor's quotations or through discrepancies noted between instructions given by the doctor and the terminology used in the PL.

PL information which can be connected to what the doctor has already communicated is considered relevant; the remaining data tend to be considered as not personally relevant and are therefore neglected.

Without the cues provided by the doctor's information, the reader would find himself in front of an amount of unmanageable information, which only becomes intelligible through the knowledge previously acquired in the consultation.

2.1 Counterfactual neglect

When information is encountered which not only 'sounds new' because it has not been mentioned by the physician, but which is also incomprehensible, either literally or in its health implications, then incomprehensibility of words or text passages is taken as an instruction to skip the text. In combination with the "co-textuality phenomenon" evidenced in the preceding paragraph, the reader might consider that information which he does not understand does not concern him, because otherwise he would have been informed about it by the doctor.

Counterfactual neglect can be considered as a pragmatic inference about health communication in the PL context: "if I cannot understand this piece of information, this means that it does not address me; therefore I can skip it". In this case the conviction is entertained, that *what cannot be understood lies in the doctor's responsibility.*

2.3 Strategies for coping with uncertainty

A space of uncertainty opens for risk information which has not been previously addressed by the doctor and is comprehensible: in this case uncertainty arises as to its possible occurrence. Different strategies to cope with uncertainty are then activated: reappraisal, uncertainty neglect and cognitive dissonance selection play an important role in explaining information seeking/avoidance in the health setting in general and in relation to PL information in particular.

The adoption of such biased heuristics and selection filters raises some doubts about the legitimacy of PL information as a risk disclaimer also on empirical grounds.

However, PL information has indispensable safety functions, which also the lay reader recognizes.

Rather than being a basis for an evaluation of the treatment choice, the PL is conceived as a modular reference text to be consulted at the beginning for precautionary reasons, and then during the therapy in order to identify eventual side effects.

At the end of the investigation, some suggestions for improvements are proposed to the legislator and the text designer.

Suggestions for the legislator

The contribution of PL information within the institute of informed consent should be more clearly defined.

This demands an examination of the concept of autonomous decision in the health context, and a definition of the PL binding force on the basis of its actual contribution to autonomy rights. Following questions could guide the discussion:

- 1) The institute of "informed consent" should protect the right to self-determination and autonomous choice: does the communication model fostered by it really warrant these rights?⁵¹
- 2) What is an autonomous choice at all? What does the autonomous choice of a lay decision maker in a highly specialist sector consist of? Is it at all possible?
- 3) If yes, does PL information provide an independent contribution to the information provided by the doctor?
- 4) Does the liability setting determined by the institute of informed consent correspond to the real responsibilities ascribable to the stakeholders involved in therapeutic decision making (pharmaceutical firm, doctor, drug consumer)?

The regulation of pharmaceutical risk communication in particular and medical risk disclosure in general should take into account these issues in an interdisciplinary perspective. Precisely, it is proposed to analyze the communicative nature of medical risk information by integrating legal concepts with categories devised by communication and decision theories.

A possible consequence of this examination could be the partial disentanglement of PL risk disclosure from risk responsibility reallocation. Flexible legal tools are needed in order to account for the specific risk inherent to drug usage.

Patient's responsibility should be therefore articulated as follows:

- The patient's contributory liability for damage caused by non-compliance to safety instructions should be maintained. Indeed along the analysis proposed in the thesis, this sort of information can be validly used by drug consumers for averting or minimizing risk.

⁵¹ See Klemperer, 2003; Jotterand, 2001. Socio-psychological contributions to the debate can be found in van den Brink et al., 2006; Murray et al., 2006; Flynn et al., 2006; trevena et al., 2006; Woolf et al., 2005; Stalmeier et al., 2005; Steckelberg, 2005; Epstein et al., 2004; Whitney et al., 2003; Coulter et al., 1999; Charles et al., 1999; Gafni et al., 1998; Ubel, Loewenstein, 1997.

- Instead PL information cannot be considered adequate for consent to be valid. Therefore it cannot offload the pharmaceutical firm from the responsibility related to residual drug risk, whenever the doctor cannot be considered liable for it. For some types of adverse drug reactions, it could be suggested, that pharmaceutical firm takes on damage liability, even if declared in the PL and do not exceed the tolerability threshold but can be considered relevant. As a consequence strict liability of pharmaceutical firms should be extended to damage which is below the tolerance threshold level, but which is nevertheless relevant for the damaged person.

These claims can be also supported by the consideration that damage liability is only a monetary compensation for injuries which touch high valued goods such as psychophysical wellbeing.

Liability threshold lowering from intolerable to relevant damage should not be felt as a punitive measure, but rather as an incentive for the overall system, so that more “virtuous” enterprises are not damaged by unfair concurrence of reckless ones.

Moreover, given the declared low incidence of adverse reactions in comparison to market turn-over, this would not constitute a severe economic loss for pharmaceutical companies – at least not comparable to the loss suffered by the user.

From the perspective of law steering functions, an extension of pharmaceutical strict liability would increment efforts towards a more systematic approach towards safety research within pharmaceutical research innovation.

A “damage warranty” would on the other side greatly contribute to the restoration of the reputation and image loss suffered by firms on the wave of pharmaceutical injuries.

To the patient’s responsibility should instead be ascribed the duty to check consistency of doctor’s with PL information, and to control if some important information should be delivered to the doctor before taking the drug, in consideration of the safety instructions contained in the PL: hypersensitivity to components about which the doctor is not aware; interference with drugs, of which the doctor might have no knowledge, etc. up to the verification of dosage correspondence.

This task corresponds to the cooperation duty entailed by the doctor-patient reciprocal contractual obligations.

More generally, with an explicit separation of the safety and self-determination aspects related to PL information, patient’s contributory negligence in safety issues could be more clearly emphasized and contribute to balance the distribution of responsibilities around drug consumption.

Proposals for text improvement

1. In addition to the uncertainty generated by the probabilistic assessment of side effects occurrence, also the disutility associated to each of them is difficult to evaluate for the lay user. This is mainly due to the incompetence perceived by the lay reader in appraising the importance of the drug effects mentioned in the PL.

There is widespread opinion which considers PL texts overwhelming and redundant. The relevance paradox shows that this overload sensation would be overcome precisely by adding explanatory information, rather than reducing its volume. A description of the health implications and importance of side effects and symptoms should be provided. This “indexing” procedure would constitute a valuable interpretation key for selecting information and appraising the risk magnitude. This would also promote compliance, when this is caused by over-alarm.

2. Furthermore, countermeasures should be associated to each side-effect as exemplified below:

Transitory side effect → keep on with the therapy;

Important side effect → call the doctor;

Severe side effect → stop the therapy and call for the doctor;

Severe to fatal side effect → stop the therapy, emergency measures are required, go to hospital immediately.

3. Iconic – eventually standardized – signs could beneficially accompany the verbal text.

4. Finally, more transparency on the communication point in general (prohibition, advice, precaution, disclosure of unavoidable risks, countermeasures to side effects, etc.) would certainly contribute to enhance PL comprehensibility and applicability. This is eased by letting the grammatical form adhere to the substance of the message (instructions and prohibitions in imperative form, risk disclosure in assertive form) and by avoiding to connect messages which bear underlying opposite presuppositions or implications.

Also the avoidance of redundancies and an improved textual design as recommended by the EU readability guidelines would significantly enhance PL readability and user-friendliness.

Notwithstanding communication improvements, there is a limit to patient friendliness though: it is the limit imposed by the margin of risk which is inherent to drug use itself. However comprehensible and well designed no package leaflet could cancel the uncertainty induced by information about side effects.⁵²

⁵² No matter how readable, comprehensible and well designed, no PL could promise a risk-free therapy: “Trotz aller Bemühungen, die Patienteninformationen besser verständlich zu machen,

In this perspective, the role of PL information as a distributor of responsibility about residual risk should be reconsidered in the light of the observations presented in this research.

Conclusion

This paper has presented the results of an investigation on the legal function, communicative status, normative evaluation and psychological effects of PL information.

The legal analysis identifies two main functions of PL information: warranty of the consumer's right to safety and of his right to choice. Within this second task, PL information comes to be a risk disclaimer in analogy to the information provided by the physician within the institute of informed consent.

The normative evaluation proceeds then in the examination of PL contribution to the accuracy of the risk/benefit prognosis as a measure of decision optimization. It results that PL information cannot provide tailored data as to the risk and benefit probability and is therefore an unreliable basis for the risk/benefit prognosis. Moreover, the lack of any magnitude indexing hinders any appraisal of the risks faced by the drug user because of his incompetence in dealing with medical information in general and in gauging the health implications in the medium-to-long term of some specific side effects. It must be concluded that the therapeutic decision based on PL information rather approaches a decision under ignorance than one under risk. Therefore consent obtained on these grounds should be considered invalid in that it cannot be considered informed.

The empirical analysis shows discrepant phenomena. In general PL information is selected through biased filters and this constitutes an objection to its validity as a basis for informed consent also on empirical grounds.

Finally some suggestions for text improvement and, more importantly, for the legislator are given. In particular, it is proposed to clearly distinguish the safety and the self-determination function of PL information especially in the articulation of liabilities. This distinction would emphasize the consumer's contributory liability in matters of compliance with safety information, and extend strict liability of pharmaceutical firms to relevant damage independently of the tolerability threshold. Such a strategy would stimulate patient's empowerment and pharmaceutical safety at the same time.

darf nicht übersehen werden, dass die *Patientenfreundlichkeit dieser Texte ihre Grenzen hat*. Sie haben den unterschiedlichen Vorstellungen der Beteiligten zu genügen. *Haftungsfragen spielen eine Rolle*; Verbraucher haben den berechtigten Anspruch auf umfassende Information, gleichzeitig wird aber die Fülle der Angaben, insbesondere der als abschreckend empfundenen Risikoangaben, beklagt. Dieses Dilemma wird kaum aufzulösen sein, und vermutlich wird die Diskussion um verbraucherfreundliche Packungsbeilagen nie ganz verstummen": Schraitle, 2006: 4 (my emphasis).

References

1. Andersson F, Lyttkens CH. Health, genuine uncertainty, and information. In: Lindgren B. (ed.) Individual decisions for health. London and New York, Routledge, 2002: 41-69.
2. Aronson JK, Ferner RE. Joining the DoTS: new approach to classifying adverse drug reactions. *BMJ* 2003; 327: 1222-1225.
3. Arrow K. Uncertainty and the welfare economics of medical care. *American Economic Review*. 1963; 53: 941-73.
4. Åstrom K, Carlsson J, Bates I, Webb DG, Duggan C, Sanghani P, McRobbie D. (2000) Desire for information about drugs. A multi-method study in general medical inpatients. *Pharm World Sci*. 2002; 22 (4): 159-164.
5. Aumiller J. Therapieversager durch Beipackzettel? *Münchner Medizinische Wochenschrift* 1978; 34, 1078.
6. Aumiller J. Beeinflussung der Compliance durch die Packungsbeilage. In: Philipp Th, Holzgreve H, Vaitl D, Schrey A. [Hrsg.] Compliance. Probleme zwischen Arzt und Hochdruckpatient. Ein interdisziplinäres Symposium. München, 1982: 169-174.
7. Batchelor JR, Welsh KI, Tino RM, Dollery CT, Hughes GR, Bernstein R Ryan P, Naish PF, Aber GM, Bing RF, Russell GI.
8. Hydralazine-induced systemic lupus erythematosus: influence of HLA-DR and sex on susceptibility. *Lancet*. 1980 May 24;1(8178): 1107-9.
9. Bergmann KO. Patientenaufklärung im Spiegel der Rechtsprechung des Jahres 2005. *Das Krankenhaus* 2006; (5): 447-451.
10. Blasius H. Patientenschutz durch Aufklärung. Die Packungsbeilage, eine kritische Bestandsaufnahme. *Deutsche Apotheker Zeitung*, 2005; nr. 20: 58-66.
11. Bock G. Testen von Gebrauchsanleitungen. In: Ehlich/Noack/Scheitner 1994: 175-193.
12. Bouvy ML, van Berkel J, de Roos-Huisman CM, Meijboom HB. Patients' drug information needs: a brief view on questions asked by telephone and on the internet. *Pharm World Sci*. 200; 24 (2): 43-45.
13. Bovbjerg R, Sloan FA, Blumstein J. Valuing life and limb in tort: scheduling 'pain and suffering'. *Northwestern Law Rev*. 1989; 83 (4): 908-72.
14. Bronder E, Klimpel A. Unverbrauchte Arzneimittel. *DAZ* 2001; 141, 6: 677-682.
15. Calman KC. Cancer: science and society and the communication of risk. *BMJ* 1996;313:799-802.
16. Charles C, Gafni A, Whelan T. Decision-making in the physician-patient encounter: revising the shared treatment decision-making model. *Soc Sci Med* 1999; 49 (5): 651-656.
17. Clericetti N, Beretta-Piccoli C. Lithium clearance in patients with chronic renal diseases. *Clin Nephrol*. 1991; 36: 281-9.
18. Coulter A, Entwistle V, Gilbert D. Sharing decisions with patients: is information good enough? *BMJ* 1999; 318: 318-22.
19. Degner F. Störungen der Arzt-Patient-Beziehung durch Packungsbeilagen und ihre Verbesserung aus Ärztesicht. In: Grosse/Mentrup 1982: 56-68.
20. Dickinson RG, Hooper WD, Wood B, Lander CM, Eadie MJ. The effect of pregnancy in humans on the pharmacokinetics of stable isotope labeled phenytoin. *Br J Clin Pharmacol*. 1989; 28: 17-27.
21. Donscheva G. Typkonstituierende Merkmale von Bedienungsanleitungen. Analyse unter illokutivem und thematischem Aspekt. Diss. A. Humboldt-Universität, 1990.
22. Duggan C, Bates I. Development and evaluation of a survey tool to explore patients perceptions of their prescribed drugs and their need for drug information. *Int J Pharm Pract*. 2000; 8: 42-52.
23. Eckkrammer EM. Are texts of daily use really useful? A contrastive analysis of text-creation strategies in German and Portuguese patient package inserts. In: Gerhard Budin, (ed.) *Metalinguism in Specialist Communication*. Proceedings of the 10th European Symposium on Language for Special Purposes, 1995, Wien: Universität Wien, SS. 183-203.

24. Eckkrammer EM. Das Dilemma mit dem Beipackzettel: Ein italienisch-deutscher Vergleich der (fach)sprachlichen Verunsicherungsfaktoren. In Cordin P, Iliescu M, Siller-Runggaldier H. (Hrsg.) Akten des VII Treffens der italienischen und österreichischen Linguisten, Trento: Dipartimento di Scienze Filologiche e Storiche, SS. 1998: 347-370.
25. Eckkrammer EM. Die Packungsbeilage von Medikamenten im diachronischen und intersprachlichen Vergleich. In Eckkrammer, Eva Martha, Nicola Hödl, Wolfgang Pöckl Kontrastive Textologie, 1999, Wien: Ed. Praesens, SS. 1999: 77-127.
26. Eckkrammer EM. Textsorten im interlingualen und -medialen Vergleich: Ausschnitte und Ausblicke. In Drescher M. (ed.) Textsorten im romanischen Sprachvergleich, Tübingen: Stauffenberg, SS. 2002: 15-39.
27. Ehlich K. Verweisungen und Kohärenz in Bedienungsanleitungen. Einige Aspekte der Verständlichkeit von Texten. In: Ehlich/Noack/Scheiter 1994: 116-149.
28. Ehlich K, Noack C, Scheiter S. (eds.): Instruktion durch Text und Diskurs. Zur Linguistik "Technischer Texte". Opladen 1994.
29. Enlund H, Vainio K, Wallenius S, Poston JW. Adverse Drug Events and the Need for Drug Information. *Med Care* 1991; 29 (6): 558-564.
30. Epstein RM, Alper BS, Timothy EQ. Communicating Evidence for Participatory Decision Making. *Jama* 2004; 291(19): 2359-66.
31. Faden RR, Beauchamp TL. *A History and Theory of Informed Consent*. New York: Oxford University Press 1986.
32. Fergusin PR. Liability for Pharmaceutical Products: A Critique of the 'Learned Intermediary Theory'. *Oxford Journal of Legal Studies* 1992; 12 (1): 59-82.
33. Fickermann I. Mündliche und schriftliche Instruktionen. In: Ehlich/Noack/Scheiter 1994: 79-99.
34. Flynn KE, Smith MA, Vanness D. A typology of preferences for participation in healthcare decision making. *Soc Sci Med*. 2006; 63 (5): 1158-69.
35. Francke R, Hart D. Charta der Patientenrechte. Nomos: Baden-Baden, 1998.
36. Fries S. Rechtssicherheit und Rechtspraxis bei der Risikoaufklärung von Arzneimittelgabe. Bericht zum Symposium des Postgraduierten-Kollegs der Kliniken St. Antonius, Wuppertal, am 27.1.2006. *Medizinrecht*. 2005; (8): 504-506.
37. Gafni A, Charles C, Whelan T. The physician-patient encounter: the physician as a perfect agent for the patient versus the informed treatment decision-making model. *Soc Sci Med*. 1998; 47(3): 347-54.
38. Gärdenfors P, Sahlin N-H. Unreliable probabilities, risk taking, and decision making. In: *Synthese* 1982; 53: 361-386. Reprinted in Gärdenfors P, Sahlin N-H. *Decision, Probability, and Utility*. Selected Readings. Cambridge: Cambridge University Press 1988: 313-339.
39. Gaßner M, Reich-Malter M. Die Haftung bei fehlerhaften Medizinprodukten und Arzneimitteln - Recht und Rechtsprechung. *MedR*. 2006; (3): 147-152.
40. Giebel GD, Wienke A, Sauerborn J, Edelmann M, Mennigen R, Dievenich A. Das Aufklärungsgespräch zwischen Wollen, Können und Müssen. Wege vom richterrechtlichen Aufklärungspflichtverschulden zum ärztlichen Aufklärungsstandard. *NJW* 2001; 12: 863-868.
41. Goldstein DB, Need AC, Singh R, Sisodiya SM. (2007) Potential causes of heterogeneity of treatment effects. *Am J Med*. 2007; 120: 21-25.
42. Grandt D, Friebel H, Müller-Oerlinghausen B. Arzneimitteltherapie(un)sicherheit. Notwendige Schritte zur Verbesserung der Patientensicherheit bei medikamentöser Therapie. *Deutsches Ärzteblatt*, Jahrgang 2005: 102, 8: 509-517.
43. Greenblatt DJ, Divoll M, Harmatz JS, MacLaughlin DS, Shader RI. Kinetics and clinical effects of flurazepam in young and elderly non-insomniacs. *Clin Pharmacol Ther*. 1981; 30: 475-86.
44. Grosse S, W. Mentrup (eds.) *Anweisungstexte*. Tübingen: Narr (Forschungsberichte des Instituts für deutsche Sprache 54), 1982.
45. Grossman M. On the concept of health capital and the demand for health. *J Political Economy*, 1972;80: 223-55.
46. Hart D. Arzneimittelinformation zwischen Sicherheits- und Arzthaftungsrecht. Fach- und Gebrauchsinformation, ärztliche Aufklärung und Pflichtverletzung. *MedR*. 2003; 11: 603-609.
47. Hasselstrom J, Eriksson S, Persson A, Rane A, Svensson JO, Sawe J. The metabolism and bioavailability of morphine in patients with severe liver cirrhosis. *Br J Clin Pharmacol*. 1990; 29: 289-97.
48. Hensel C. Produktbegleitende Texte - der Versuch einer Analyse unter illokutionärem Aspekt. In: *Beiträge zur Erforschung der deutschen Sprache* 9 1989; 138-157.
49. Hoffmann L. Arzneimittelgebrauchsinformationen: Struktur, kommunikative Funktionen und Verständlichkeit. *Deutsche Sprache*, 1983;11: 138-159.
50. Hoffmann L, Kalverkämper H, Wiegand HE. (eds.) *Fachsprachen. Languages for Special Purposes*. Ein internationales Handbuch zur Fachsprachenforschung und Terminologiewissenschaft. 1. Halbbd. Berlin, New York 1998.
51. Hoffmann L, Kalverkämper H, Wiegand HE. (eds.) *Fachsprachen. Languages for Special Purposes*. Ein internationales Handbuch zur Fachsprachenforschung und Terminologiewissenschaft. 2. Halbbd. Berlin, New York, 1998.
52. Jeffrey RC. *The Logic of Decision*. New York: McGraw-Hill, 1965.
53. Jeffrey RC. Probable knowledge. In Lakatos I. (ed.) *The problem of inductive logic*. Amsterdam, North-Holland publishing company, 1968: 166-180. Reprinted in Gärdenfors P, Sahlin N-E. (eds) *Decision, Probability and Utility*. Cambridge: CUP, 1988: 86-100.
54. Jottrand F. (2001) *Medicine as Moral Practice: reconsidering The Role Of Moral Agency in the Patient-physician Relationship*. *The Internet Journal of Law, healthcare and Ethics* 2001; 1(2):
55. <http://www.ispub.com/ostia/index.php?xmlFilePath=journals/ijl-he/vol1n2/moral.xml>
56. Kare A, Kucukarslan S, Birdwell S. Consumer perceived risk associated with prescription drugs. *Drug Information J*. 1996; 310: 465-472.
57. Karpa J. Kranke kommen mit dem Beipackzettel nicht klar. Große Unsicherheit/Rat bei Experten am WP-Telefon gefragt. In: *Westfalen Post* 89 vom 17.04.1991.
58. Kepplinger HM. Gutachten zur Verständlichkeit der Mustergebrauchsinformationen (Packungsbeilagen) des Bundesgesundheitsamtes (BGA) im Auftrag des Bundesverbandes der Pharmazeutischen Industrie e.V. (Juli 1991). In: *Pharmazeutische Industrie* 53/1991: 886-895.
59. Kepplinger HM. Advertising - To inform or to Communicate? How far can advertising be used to inform? *Swiss Pharma* 1-2, nr. 5a 1990: 73-77.
60. Klemperer D. *Wie Ärzte und Patienten Entscheidungen treffen. Konzepte der Arzt-Patient-Kommunikation*. Berlin: Veröffentlichungsreihe der Arbeitsgruppe Public Health Forschungsschwerpunkt Arbeit, Sozialstruktur und Sozialstaat Wissenschaftszentrum Berlin für Sozialforschung (WZB) 2003: http://www.uke.uni-hamburg.de/-studierende/downloads/zg-studierende/Klemperer_SDM_Artikel.pdf
61. Koyuncu A. Der pharmaceutical informed consent. Das Modell zur Aufklärung und Information des Patienten vor der Arzneitherapie. *PharmaR* 2006;(8): 343-348.
62. Koyuncu A. Die Aufklärung des Patienten vor der Arzneitherapie durch Arzt und pharmazeutischen Unternehmer und dem Patient. *KHuR* 2005a;(4): 75-81.
63. Koyuncu A. Die Rechtsnatur der Packungsbeilage. *Gesundheitsrecht* 2005b;(7): 289-294.
64. Koyuncu A. Die Aufklärung vor der Arzneimitteltherapie: Eine Gemeinschaftsleistung von Arzt, pharmazeutischem Unternehmer und dem Patient. *PatR* 2005c; (5): 106-113.
65. Koyuncu A. Haftung für Arzneimittelschäden. Das Haftungsdreieck Pharmaunternehmen - Arzt - Patient. *RPG* 2005d;(11) 3: 69-74.

66. Krudop-Scholz K. Die ärztliche Aufklärungspflicht bei der Arzneibehandlung. Sicherungs- und Selbstbestimmungsaufklärung auch bei Routinebehandlungen. Frankfurt am Main: Peter Lang, 2005.
67. Laaksonen R, Duggan C, Bates I. Desire of information about drugs: relationships with patients' characteristics and adverse effects. *Pharm World Sci.* 2002; 24 (5): 205-210.
68. Langer G. Textkohärenz und Textspezifität. Textgrammatische Untersuchung zu den Gebrauchstextsorten Klappentext, Patienteninformation, Garantieerklärung und Kochrezept. Frankfurt/M: Peter Lang, 1995.
69. Lindgren B. (ed.) *Individual Decisions for Health.* New York: Routledge, 2002.
70. McDowell SE, Coleman JJ, Ferner R.E. (2006) Systematic review and meta-analysis of ethnic differences in risks of adverse reactions to drugs used in cardiovascular medicine. *BMJ.* 2006 May 20;332-(7551):1177-81
71. McGavock H. Noncompliant patients: causes and solutions. *Prescriber.* 1998;19: 117-20.
72. Menezes de Pádua CA, Schmuck A, Lessmann H, Geier J, Pfahlberg A, Uter W. Contact allergy to neomycin sulfate: results of a multifactorial analysis. *Pharmacoepidemiology Drug Saf* 2005; 14: 725-733.
73. Mentrup W. Gebrauchsinformation - sorgfältig lesen! Die Packungsbeilage von Medikamenten im Schaltkreis medizinischer Kommunikation: Handlungsausschnitt. In: Grosse, Mentrup 1982: 9-55.
74. Mentrup W. Zur Pragmatik einer Lexikographie. Bd. 1: Prinzipien der Sprachforschung und einer Lexikographie. Handlungsausschnitt: Fachexterne Anweisungshandlungen. Bd. 2: Sprachauschnitt: Medizin. Wörterbuchauschnitt. (Forschungsberichte des Instituts für deutsche Sprache 66.1/66.2) Tübingen: Gunter Narr Verlag, 1988.
75. Möhn D. Instruktionstexte - ein Problemfall bei der Textklassifikation. In: *Germanistische Linguistik* 106/107, 1991:183-212.
76. Mulhall A, de Louvois J, Hurley R. Chloramphenicol toxicity in neonates: its incidence and prevention. *BMJ* 1983; 287: 1424-7.
77. Murray E, Charles C, Gafni A. Shared decision-making in primary care: tailoring the Charles et al. model to fit the context of general practice. *Patient Educ Couns.* 2006; 62 (2): 205-211.
78. Neumann J. von, Morgenstern O. *Theory of Games and Economic Behavior.* Princeton, NJ: Princeton University Press, 1944.
79. Nickl M. Gebrauchsanleitungen. Ein Beitrag zur Textsortengeschichte seit 1950. Tübingen: Forum für Fachsprachen-Forschung, Bd. 52, 2001.
80. Nink K, Schröder H. Zu Risiken und Nebenwirkungen: Lesen Sie die Packungsbeilage? - Studie zur Lesbarkeit und Verständlichkeit von Arzneimittel-Gebrauchsinformationen. *WidO: Wissenschaftliches Institut der AOK.*, 2006.
81. Nöthlich S. Beipackzettel gefährden Compliance. In: *Techniker Krankenkasse aktuell*, 1991; 1, 4-7.
82. O'Brien B, Elswood J, Calin A. Perception of drug risks: A survey of patients with ankylosing spondylitis. *J Rheumatol.* 1990, 17: 503-507.
83. Oehlschläger M. Vorsicht bei der Aufklärung über medikamentöse Nebenwirkungen. *Gynäkologe* 2005;(38): 939-940.
84. Osimani, B. Probabilistic information and decision making in the health context. The package leaflet as a basis for informed consent. PhD Dissertation, University of Lugano, 2007.
85. O'Brien B, Elswood J, Calin A. Perception of drug risks: A survey of patients with ankylosing spondylitis. *J Rheumatol*, 1990; 17: 503-507.
86. Ramsey FP. (1926) *Truth and Probability.* In B. Braithwaite (ed.) (1931) *Foundations of Mathematics and other Essays.* London: R. Routledge & P. Kegan: 156-198; reprinted in H. E. Kyburg, Jr., H. E. Smokler (eds.) (1980) *Studies in Subjective Probability,* Melbourne, Florida: R. E. Krieger Publishing Company: 23-52; reprinted in D. H. Mellor (ed.) (1990) *Philosophical Papers,* Cambridge: Cambridge University Press.
87. Rappé T. Das Verbot bedenklicher Arzneimittel. Eine Kommentierung zu § 5 AMG. Nomos Verlagsgesellschaft. Baden-Baden, 1998.
88. Rieger H-J. Aufklärung des Patienten über Risiken und Nebenwirkungen eines Medikaments. *Arztrecht in der Praxis* 2005: 1656-57.
89. Saile G. Sprache und Handlung. Eine sprachwissenschaftliche Untersuchung von Handhabe-Verben, Orts- und Richtungsadverbialen am Beispiel von Gebrauchsanweisungen. Braunschweig: Vieweg, 1984.
90. Savage LJ. *The Foundations of Statistics.* John Wiley: New York, 1954.
91. Scheu G. In Dubio Pro Securitate. Contergan, Hepatitis-/AIDS-Blutprodukte, Spongiformer Humaner Wahn und kein Ende? Grundrechtliche Gefahrenvorsorge für Leib und Leben im Recht der Produkt- und Arzneimittelsicherheit - auch unter Aspekten der Europäisierung und Globalisierung. Nomos: Baden-Baden, 2000.
92. Schlund GH. (1999) Reflexionen eines Juristen zum »Beipackzettel« (Gebrauchsinformation) im Sinne des AMG. In Ahrens H. Bar J, Fischer CV, Spickhoff G, Taupitz A. (Hrsg) *Festschrift für Erwin Deutsch.* Zum 70. Geburtstag. Carl Heymanns Verlag, Köln, 1999: 757-772
93. Schraitle R. Vorlage von Ergebnissen von Bewertungen der Packungsbeilage, die in Zusammenarbeit mit Patienten-Zielgruppen durchgeführt wurden: Vorschläge für die Umsetzung. In: *BfArM im Dialog zur Packungsbeilage* 15. 2. 2006.
94. Schuldt J. Den Patienten informieren. Beipackzettel von Medikamenten. Tübingen: Gunter Narr (Forum für Fachsprachen-Forschung 15) 1992.
95. Schuldt J. Sorten fachbezogener Vermittlungstexte IV: Beipackzettel. In Hoffmann, Kalverkämper, Wiegand 1998: 583-587.
96. Schwartz E, Potasman I, Rotenberg M, Almong S, Sadetzki S. Serious adverse events of mefloquine in relation to blood level and gender. *Am J trop Med Hyg* 2001; 65: 189-92.
97. Stalmeier PF, Roosmalen MS, Verhoef LC, Hoekstra-Weebers JE, Oosterwijk JC, Moog U, Hoogerbrugge N, van Daal WA. The decision evaluation scales. *Patient Educ Couns* 2005; 57 (3): 286-293.
98. Steckelberg A. Bereitstellung und Vermittlung evidenzbasierter Patienten-/Verbraucherinformation am Beispiel des Screenings auf kolorektale Karzinome: Ansätze zur Optimierung der informierten Entscheidung. Dissertation. Universität Hamburg, 2005.
99. Stöhr K. Patienteninformation über Arzneimittel - eine arztethischen Betrachtung. *GesundheitsRecht* 2006; (4): 145-149.
100. Trevena LJ, Dave HM, Barrat A, Butow P, Caldwell P. A systematic review on communicating with patients about evidence. *J Eval Clin Pract.* 2006;12 (1): 13-23.
101. Ubel PA, Loewenstein G. The role of decision analysis in informed consent: Choosing between intuition and systematicity. *Soc Sci Med.* 1997;44(5): 647-656.
102. van den Brink-Muinen A, van Dulmen S.M, de Haes HC, Visser AP, Schellevis FG, Bensing JM. Has Patients' involvement in the decision-making process changed over time? *Health Expect.* 2006; 9 (4): 333-342.
103. Van Grootheest K, van Puijenbroeck EP, de Jong-van den Berg LTW. Do pharmacists reports of adverse drug reactions reflect patients' concerns? *Pharm World Sci.* 2004; 26: 155-59.
104. Vigilante WJ, Wogalter M. The preferred order of over-the-counter (OTC) pharmaceutical label components. *Drug Information J.* 1997; 31: 973-988.
105. Viscusi WK, Magat WA, Huber J. The Effect of Risk Information on Precautionary Behavior. In Viscusi WK, Magat WA. (eds.) *Learning about Risk. Consumer and Worker Responses to Hazard Information.* Cambridge, Massachusetts: Harvard University Press, 1987: 60-82.
106. Völzing PL. Gebrauchstexte, Linguistik und perlokutive Akte. In: Fischer, L., K. Hickethier, K. Riha. *Gebrauchsliteratur. Methodische Überlegungen und Beispielanalysen.* Stuttgart: Metzlersche Verlagsbuchhandlung, 1976: 99-113.

107. Wagner G. Münchner Kommentar zum BGB, 4. Edition, Vol. 5, Schuldrecht: Besonderer Teil III, § 823. München, 2004.
108. Waller PC, Evans SJ. A model for the future conduct of pharmacovigilance. *Pharmacoepidemiol Drug Saf* 2003; 12: 17-29.
109. Wenzel KH. Arzneimittelrisiken. Sachliche Hinweise statt Trümmereinforation. In: *Kassenarzt*. 1985; 44, 48-50.
110. Werner GW, Heyne W. Bedienungs- und Instandhaltungsanleitungen. - Inhalt, Form, Gestaltung. Berlin: Verl. Technik, 1987.
111. Whitney SN, McGuire AL, McCullough LB. A Typology of Shared Decision Making, Informed Consent, and Simple Consent. *Ann Intern Med*. 2003; 140: 54-59.
112. Winckelmann HJ. Information oder Horrorstory? Der Beipackzettel. *Meine Gesundheit* 1983; 2: 24-25.
113. Wolff HP. Non-Compliance als Problem bei chronischen Erkrankungen. In Philipp T, Holzgreve H, Vaitl D, Schrey A.[eds.]. *Compliance. Probleme zwischen Arzt und Hochdruckpatient. Ein interdisziplinäres Symposium*. München, 1982: 11-18.
114. Wolz B. Bedenkliche Arzneimittel als Rechtsbegriff. Frankfurt am Main, 1988.
115. Woolf SH, E.C.Y Chan, R. Harris, Sheridan SL, Braddock III CH, Kaplan RM, Krist A, O'Connor AM, Tunis S. Promoting Informed Choice: Transforming Health Care To Dispense Knowledge for Decision Making *Ann Intern Med*. 2005; (143): 293-300.
116. Zacharias S. Arzneimittelzulassung und Verbraucherschutz. Packungsbeilagen zwischen wirksamer Warnung und trickreicher Tarnung. *Europäische Hochschulschriften: Politikwissenschaft Bd. 96*. Frankfurt a/M: Peter Lang, 1986.
117. Zink KD. (1985) Beipackzettel und Nebenwirkungen. So nehme ich meinen Patienten die Angst. *Medical Tribune* 21a 1985; 28. 05, 22.
118. Zylka V. Der ungehorsame Patient. Compliance - ein Problem für den behandelnden Arzt und Gefahr für den Kranken. *WELT-Report* 217, 18.09.1986, II.
119. Nickolaus B. Informieren statt abschrecken. In: *Die Welt*, 26.03.1991.
120. Müller N. Aufklärung. *Arzt und Krankenhaus*, 2006; 2: 58-59.
121. Aronson JK. Forbidden fruit. *Nature Med*. 2001; 7: 7-8.

Progettazione e Sperimentazione di un Piano di Valutazione di un Corso di Formazione

Experiment of an Evaluation Plan for Educational Courses

MARIA MICHELA GIANINO*, IVANA FINIGUERRA**, LUCA MAINA**, MARILENA AVANZATO**, DANIELA FIORINA**, G RENGA*

*Dipartimento di Sanità Pubblica e Microbiologia-Università degli Studi di Torino

** Presidio San Giovanni Bosco ASL 4 Torino

Premessa Per valutare la ricaduta nel tempo di corsi di formazione intitolati “La persona con lesioni cutanee croniche: approccio multidisciplinare” sugli operatori che ne hanno fruito e sull’organizzazione, la Direzione dell’ASL 4 di Torino ha proceduto a distanza di 4 anni alla progettazione ex post e attuazione di un piano di valutazione. **Obiettivi.** Descrivere la metodologia seguita per costruire ed attuare un piano di valutazione ex post, presentare i risultati raggiunti e le proposte di revisione dei corsi realizzati.

Metodi La metodologia prevede le seguenti tre fasi:

1. identificazione degli obiettivi formativi: di reazione, apprendimento, comportamento, risultato finale;
2. identificazione degli strumenti per la valutazione del loro raggiungimento;
3. applicazione degli strumenti di valutazione sulle coorti di discenti dei corsi.

Nelle diverse fasi si è utilizzata la tecnica del Focus Group attuata da un team di formatori e progettisti del corso originario.

La valutazione ha coinvolto il personale infermieristico discente nei corsi del 2003-2004-2005 (140 soggetti).

Risultati Questa sperimentazione ha permesso di misurare le ricadute dei corsi di formazione sugli operatori e sull’organizzazione, ha evidenziato come un piano di valutazione sia uno strumento utile per misurare in modo corretto, strutturato e sistematico i livelli di performance dei discenti e un mezzo per identificare miglioramenti nel piano formativo originario.

Parole indice Formazione, Valutazione ex-post, Strumenti di valutazione

Introduction *In order to evaluate learning courses titled “Chronic skin lesions: a multidisciplinary approach” about workers and organization, the Local public health authority number four committee in Turin (Piedmont Region, Italy) projected an evaluation plan in four years. **Objectives.** Describing the methodology to realize an former post evaluation plan, presenting reached results and revised proposals as far as attended courses are concerned.*

Methods. *The methodology provides for three phases:*

1. *to detect learning objectives (reaction, learning, behaviour, final result);*
2. *to detect evaluation tools;*
3. *to apply these tools on learners grads.*

*Focus Group technique has been used at different phases and it has been applied by a teachers’ group. Evaluation involved nurses attending courses between 2003 and 2005 (140 individuals). **Results.** This experiment allowed to measure learning courses effects on workers and organization, pointed out an evaluation plan as a useful tool to correctly measure learners’ performance levels and to detect their improvements.*

Index Terms *Education, former post evaluation, Evaluation tools*

Il lavoro spetta in pari misura agli autori
All authors participated equally in this work

Indirizzo per la corrispondenza
Address for correspondence

Dott.ssa Maria Michela Gianino
Dipartimento di Sanità Pubblica e Microbiologia
Università degli Studi di Torino
Via Santena 5 bis - 10138 Torino
e-mail mariola.gianino@unito.it

Introduzione

Le lesioni cutanee da pressione rappresentano un evento molto frequente nelle persone ricoverate in strutture preposte alle cure sanitarie e comportano elevati costi sia in termini di sofferenza umana che di impiego di risorse (1,2). Per tali ragioni è importante attuare strategie capaci di prevenire la formazione di lesioni, evitare deterioramento di quelle già esistenti e promuoverne la guarigione (3).

All'interno di queste strategie, è riconosciuto il ruolo centrale di corretti ed efficaci programmi educativi e, a tale proposito, le *Linee Guida Integrali dell'AHRQ per la Prevenzione e il Trattamento delle Lesioni da Decubito* (4) evidenziano l'importanza di strutturare e organizzare interventi educativi orientati alla prevenzione e trattamento delle lesioni da pressione e ne prevedono l'aggiornamento con continuità e regolarità, non solo integrando le nuove conoscenze e tecnologie ma anche introducendo modifiche in termini di contenuto e/o modalità didattiche, secondo le indicazioni derivanti dalla valutazione degli interventi stessi.

In tale contesto si colloca l'esperienza condotta dal Gruppo di Lavoro Aziendale Multidisciplinare per la prevenzione e il trattamento delle lesioni cutanee croniche del Presidio Ospedaliero San Giovanni Bosco dell'ASL 4 di Torino.

Nel corso del 2003, dopo una temporanea sospensione, il Gruppo ha ripreso il monitoraggio sulle lesioni cutanee da pressione (LdP) insorte in ospedale. Scopo del monitoraggio effettuato era:

- individuare la prevalenza complessiva dei pazienti con lesione da pressione insorte in ospedale;
- quantificare la prevalenza di lesioni da pressione nelle differenti categorie di rischio individuate secondo la scala di Braden¹ (5,6);
- identificare la distribuzione delle lesioni da pressione per sede e gravità secondo la classificazione NPUAP² (7);

¹ La scala di Braden è una scala di valutazione del rischio che tiene conto di alcuni fattori e consente di assegnare un punteggio a ciascun paziente a cui viene applicata. In conformità con le Linee Guida sulla prevenzione e trattamento delle lesioni da decubito redatte dall'Azienda Sanitaria di Bologna Policlinico Sant'Orsola si evidenzia una situazione di rischio quando il punteggio è < o = a 16 e si sono adottate le seguenti tre classi di rischio: =rischio altissimo <8, rischio alto/medio 8-11, rischio medio/ basso 12-16.

² Il sistema di classificazione di NPUAP (National Pressure Ulcer Advisory Panel) consente la stadiazione delle lesioni secondo il grado di danno del tessuto e prevede.

- stadio 1: eritema di pelle intatta che non scompare alla digitopressione;
- stadio 2: perdita parziale di spessore cutaneo, che coinvolge l'epidermide, il derma o entrambi; l'ulcera è superficiale e si presenta clinicamente come una abrasione, una vescicola;

- valutare l'utilizzo degli ausili antidecubito in base al rischio individuato;
- valutare la completezza e la tempistica della compilazione della scheda di identificazione dei pazienti che al momento del ricovero non erano autonomi nella mobilizzazione. La scheda doveva essere redatta entro 48 ore dal ricovero.

Da tale rilevazione erano emersi i seguenti dati:

- il tasso di prevalenza ospedaliera delle LdP sul totale dei pazienti ricoverati nel giorno indice era del 6% a fronte di un atteso del 8,3% (8),
- le lesioni da pressione erano presenti nel 18% della popolazione a rischio (punteggio Braden ≤ 16) a fronte di un atteso del 15%³,
- la zona sacrale e i talloni sono risultate le sedi più frequenti delle lesioni da pressione (dato complessivo pari al 74%). Il 14% di tutte le LdP presentava caratteristiche di elevata severità (3° e 4° stadio della scala NPUAP),
- al 41% dei pazienti definiti a rischio non era stato posizionato un ausilio antidecubito a fronte di un atteso del 25%³,
- tutti gli ausili antidecubito posizionati risultavano comunque appropriati al rischio del paziente,
- la compilazione della scheda di identificazione del paziente a rischio risultava effettuata (entro 48 ore dal ricovero) nel 48% dei casi a fronte di un atteso di 100%⁴.

L'analisi dei dati ha messo in luce una prevalenza ospedaliera complessiva del 6% che risultava più bassa rispetto al dato europeo di prevalenza pari all'8,3%, ma evidenziava comunque alcune criticità, tra le quali spiccavano: la mancata compilazione, entro le 48 ore, della scheda di valutazione del paziente non autonomo nella mobilizzazione (nel 52% dei casi); il non utilizzo degli ausili antidecubito nel 41% dei pazienti che ne avevano in realtà bisogno e una percentuale, pari al 18%, superiore all'atteso del 15%, di pazienti a rischio che aveva sviluppato LdP.

La discussione dei dati ha portato il Gruppo di Lavoro Aziendale ad individuare 3 cause principali:

- stadio 3: perdita totale di spessore cutaneo che comporta il danneggiamento o la necrosi del tessuto sottocutaneo;
- stadio 4: perdita di spessore cutaneo con distruzione estesa, necrosi del tessuto o danneggiamento del muscolo, osso o struttura di supporto (tendine - capsula articolare).

³ Standard definito dal gruppo di lavoro aziendale multidisciplinare per la prevenzione e il trattamento delle lesioni cutanee croniche e riferito al dato rilevato nell'indagine di prevalenza immediatamente precedente (1999).

⁴ Standard definito dal gruppo di lavoro aziendale multidisciplinare per la prevenzione e il trattamento delle lesioni cutanee croniche.

- l'introduzione di nuove tecnologie (ausili antidecubito a pressione alternata per pazienti a basso rischio) e nuovi strumenti di valutazione del rischio (Scala di Braden) senza alcun intervento informativo e /o formativo,
- l'elevato turn over del personale infermieristico con livelli formativi diversi,
- l'assenza di incontri di "ripresa" dell'esperienza formativa di base per il personale già inserito nel contesto operativo.

Poiché queste 3 cause sembravano avere come elemento comune una carenza di conoscenza e di abilità degli operatori su diversi ambiti (nozioni generali, strumenti a disposizione, tecniche assistenziali, ecc.), è stata individuata come azione risolutiva la progettazione e conseguente somministrazione di un corso di formazione mirato.

Il corso di formazione dal titolo "La persona con lesioni cutanee croniche: approccio multidisciplinare" è stato articolato in 10 edizioni nel periodo compreso tra Ottobre 2003 e Novembre 2005 e ha coinvolto 140 infermieri inseriti nelle strutture complesse di degenza ospedaliera.

A distanza di 4 anni la Direzione Sanitaria e la Direzione Infermieristica hanno deciso di attuare una valutazione dei risultati di questo intervento formativo per identificare eventuali azioni correttive del corso stesso e definire nuovi bisogni formativi su cui rimodellare gli obiettivi educativi.

Poiché nella progettazione del corso la parte relativa al piano di valutazione si limitava al questionario di "gradibilità" e di apprendimento di fine corso, si è deciso di procedere a distanza di 4 anni dall'inizio dell'intervento formativo alla progettazione ex post di un piano di valutazione.

L'obiettivo del presente lavoro è di descrivere la metodologia seguita per la costruzione e attuazione di tale piano di valutazione ex-post del corso di formazione aziendale intitolato "La persona con lesioni cutanee croniche: approccio multidisciplinare", presentare i risultati che si sono raggiunti con la sua adozione e le proposte di revisione del corso che si possono desumere dal quadro emerso al termine della sua applicazione. A conclusione viene tracciata una sintesi degli aspetti positivi del piano adottato e dei suoi elementi di criticità.

La progettazione del piano di valutazione ex-post e la sua applicazione ai corsi già somministrati

Per progettare ed applicare il piano di valutazione si è proceduto compiendo le seguenti tre fasi:

1. identificazione degli obiettivi formativi;
2. identificazione degli strumenti per la valutazione del raggiungimento di detti obiettivi;
3. applicazione degli strumenti di valutazione sulle coorti di discenti dei corsi.

Per la realizzazione delle diverse fasi si è utilizzata la tecnica del Focus Group (9) attuata da un team composto dai formatori e dai progettisti del corso originario. Sono stati effettuati incontri, della durata di 90 minuti l'uno, in cui è stata utilizzata la metodologia in oggetto. Ad ogni incontro era presente il moderatore, un osservatore esterno e 6 componenti individuati su base volontaria tra i formatori e progettisti del corso originario.

Di seguito viene esplicitata in dettaglio la metodologia per singola fase.

Fase 1: Identificazione degli obiettivi formativi

In linea con la letteratura (10-14) che afferma che i risultati di un intervento formativo possono essere riferiti a 4 diversi ambiti:

- **reazione:** insieme dei vissuti, delle percezioni e dei giudizi suscitati nei partecipanti dall'esperienza formativa;
- **apprendimento:** insieme delle conoscenze, tecniche e capacità apprese dai discenti;
- **comportamento:** influenza nella modalità di agire e nella condotta esercitata dall'apprendimento;
- **risultati finali:** ovverosia "... l'impatto che a livello più generale e attraverso i singoli individui si può ritenere che l'intervento formativo abbia avuto sulla realtà dell'organizzazione e sul suo funzionamento ..." (4). Tale impatto, non si limita ai soli aspetti legati al clima e alla cultura dell'organizzazione, ma si riferisce anche a risultati per così dire operativi, quelli che – nell'ambito dei programmi educativi sulle lesioni da pressione - le già citate Linee Guida dell'AHRQ identificano in:
 - attuazione dei consigli dei criteri-guida
 - guarigione delle lesioni esistenti
 - riduzione dell'incidenza di lesioni nuove o recidive
 - mancato deterioramento di lesioni esistenti,

gli obiettivi formativi sono stati identificati in termini di: reazione, apprendimento, comportamento e risultati finali e per ciascuna tipologia si è effettuata una ulteriore categorizzazione a seconda della specifica area di appartenenza (Tabella 1 prime due colonne).

Come illustra la Tabella 1, gli obiettivi da valutare annoveravano:

- obiettivi già previsti nel progetto formativo originario e misurati nell'immediato post-corso,
- obiettivi individuati nel progetto formativo originario ma non misurati nell'immediato post-corso,
- obiettivi identificati e misurati dal Focus Group per questo lavoro.

Table 1. Obiettivi formativi

| Obiettivi | Area | Obiettivi identificati nel progetto formativo originario e misurati nell'immediato post-corso | Obiettivi identificati nel progetto formativo originario ma non misurati nell'immediato post-corso | Obiettivi identificati successivamente dal Focus Group per questo lavoro e misurati |
|----------------------|--------------------------------|---|---|--|
| Reazione | Soddisfazione | <ol style="list-style-type: none"> 1. Trattare argomenti rilevanti rispetto alle necessità di aggiornamento 2. Somministrare eventi di qualità educativa 3. Somministrare eventi di efficacia per la formazione continua | | |
| Apprendimento | Cognitiva | <ol style="list-style-type: none"> 1. Acquisire conoscenze specifiche sulla fisiopatologia delle LdP 2. Identificare le caratteristiche di una lesione da pressione 3. Individuare le principali azioni per la prevenzione e per il trattamento locale | | <ol style="list-style-type: none"> 4. Valutare il rischio di insorgenza ospedaliera di LdP, utilizzando la scala di Braden e gli indicatori specifici, nel 100% dei pazienti che al momento del ricovero non erano autonomi nella mobilizzazione 5. Valutare lo stato di nutrizione al fine di evitare stati di malnutrizione in tutti i pazienti con punteggio Braden < 12 o portatori di lesione da pressione 6. Descrivere tutte le fasi delle tecniche di medicazione (rimozione, detersione, sbrigliamento) delle lesioni da pressione secondo il protocollo previsto. |
| | Delle abilità cognitive | <ol style="list-style-type: none"> 1. Valutare le lesioni da pressione 2. Descrivere i trattamenti specifici per la cura locale delle lesioni | | |
| | Delle abilità manuali | | <ol style="list-style-type: none"> 1. Attuare la corretta mobilizzazione del paziente * 2. Applicare i trattamenti specifici per la cura locale delle lesioni | |
| Comportamento | Dell'agire | | | <ol style="list-style-type: none"> 1. Identificare tutte le persone assistite a rischio (che al momento del ricovero non erano autonomi nella mobilizzazione) utilizzando la scala di Braden 2. Classificare correttamente le lesioni da pressione secondo la classificazione NPUAP le lesioni da pressione nel 100% dei casi 3. Scegliere e utilizzare i presidi antidecubito in base ai criteri definiti dal Corso nel 100% dei casi 4. Mobilizzare tutti i pz con LdP o a rischio (che al momento del ricovero non erano autonomi nella mobilizzazione) in base ai criteri definiti dal Corso nel 100% dei casi 5. Adottare in tutte le persone assistite con lesioni da pressione i trattamenti terapeutici previsti dalle Linee Guida AHRQ |

| | | | |
|-------------------------|--|--|---|
| Risultato finale | | | <ol style="list-style-type: none"> 1. Prevalenza ospedaliera delle LdP tra i pazienti ricoverati inferiore al 6% 2. Insorgenza di lesioni da pressione nella popolazione a rischio (che al momento del ricovero non erano autonomi nella mobilizzazione) inferiore al 18% 3. Posizionamento dell'ausilio antidecubito in relazione al rischio (che al momento del ricovero non erano autonomi nella mobilizzazione) in più del 41% dei pazienti 4. Compilazione entro 48 dal ricovero della scala Braden nei pz entrati Non Autosufficienti superiore al 48% 5. Documentazione del trattamento delle eventuali lesioni da pressione in più del 40% dei pazienti. |
|-------------------------|--|--|---|

*Secondo le indicazioni delle Linee Guida AHRQ

Quest' ultimo gruppo è costituito da quegli obiettivi che pur presenti in maniera implicita nei contenuti del corso stesso, non erano però stati formalizzati in modo esplicito e pertanto non erano stati oggetto di valutazione di apprendimento.

Fase 2 Identificazione degli strumenti di valutazione

In relazione a ciascuna tipologia di obiettivi da misurare sono stati identificati gli strumenti di valutazione: alcuni già predisposti nel progetto formativo originario ed altri formulati dal Focus Group. In particolare per gli:

- **obiettivi di reazione:** ci si è avvalsi del questionario di valutazione del gradimento ECM già previsto nel progetto formativo originario e utilizzato alla fine del corso.
- **obiettivi di apprendimento:** avendo distinto obiettivi rivolti all'area cognitiva e all'area delle abilità, si è scelto, per la prima, come peraltro previsto in letteratura (10,14), di usare un questionario per la misurazione delle conoscenze e delle tecniche. È stato pertanto adottato quello predisposto nel progetto formativo originario a cui sono state aggiunte domande relative agli obiettivi identificati successivamente dal Focus Group. Le abilità sono state invece distinte in:
 - cognitive
 - manuali.

Poiché l'abilità cognitiva sottintende la capacità di utilizzare le conoscenze acquisite per eseguire processi deduttivi o induttivi partendo da date informazioni, si è scelto di utilizzare il questionario già pre-

visto nel progetto formativo originario che prevedeva come fonte informativa delle immagini di lesioni da decubito; le abilità manuali sono invece state valutate attraverso una prova pratica preparata dai componenti del Focus Group.

- **obiettivi di comportamento:** è stata predisposta una griglia di osservazione diretta dai componenti del Focus Group.
- **obiettivi di risultato:** è stata predisposta una scheda di sorveglianza dai componenti del Focus Group.

Fase 3 Applicazione degli strumenti di valutazione

Gli strumenti di valutazione identificati sono stati applicati con le modalità di seguito descritte.

Questionario di valutazione del gradimento: il questionario è lo stesso previsto dalla Commissione Nazionale ECM che era stato somministrato nell'immediato post-corso a tutta la popolazione che aveva partecipato all'intervento formativo originario. Si è deciso di non somministrarlo durante l'attuale applicazione del piano di valutazione, ritenendo superflua un'indagine su questo ambito attuata a distanza di tempo e di utilizzare i risultati conseguiti allora.

Questionari di valutazione dell'apprendimento. I due questionari per la valutazione dell'area cognitiva e dell'area delle abilità cognitive sono stati somministrati a tutta la popolazione che aveva effettuato il corso di formazione originario i cui componenti sono ancora dipendenti del-

l'ASL 4. Si tratta di 40 Infermieri nel 2003, 60 Infermieri nel 2004 e 40 Infermieri nel 2005. Ad essi sono stati concessi 15 minuti di tempo per la compilazione, che è avvenuta alla presenza di almeno un componente del Focus Group.

Prova pratica. Tale strumento prevedeva l'utilizzo di un unico manichino, provvisto di LdP, fatto pervenire appositamente per l'effettuazione della prova e disponibile per un periodo di tempo limitato, su cui l'operatore doveva eseguire una serie di tecniche. Questa scelta ha comportato l'impossibilità di far effettuare la prova pratica a tutta la popolazione infermieristica che aveva frequentato il corso, sia per motivi di tempo, sia per la difficoltà ad allontanarli dal servizio, per cui è stato scelto un campione selezionato con metodo random utilizzando la funzione "CASUALE" del software excel. Il campione utilizzato era pari al 25% della popolazione di riferimento ed era composto da 35 soggetti, così suddivisi: 10 per l'anno 2003, 15 per l'anno 2004 e 10 per l'anno 2005.

Alla prova pratica erano presenti 2 componenti del Focus Group che avevano il compito di:

- verificare che tutti gli infermieri previsti eseguissero la prova;
- compilare la scheda di valutazione della prova pratica.

Osservazione diretta in reparto. L'osservazione del comportamento è avvenuta nelle Strutture Complesse in cui attualmente lavorano i discenti ed è stata condotta dai

componenti del Focus Group sullo stesso campione precedentemente selezionato. Per ogni discente del campione è stata compilata una Scheda di osservazione da parte degli osservatori. Le schede sono state compilate nel periodo compreso tra 23 gennaio 2006 e 28 febbraio 2006. Le osservazioni sono state effettuate singolarmente limitandosi a registrare quanto rilevato. Qualora le attività eseguibili non fossero tutte quelle previste dalla scheda, era prevista la ripetizione dell'osservazione. Eventuali domande erano poste solo al termine delle attività effettuate dagli infermieri.

Scheda di Sorveglianza. In un giorno prefissato è stata condotta da parte dei componenti del Focus Group, integrati da un medico di Direzione Sanitaria, l'*Indagine di Sorveglianza delle lesioni da pressione in Ospedale* in ogni struttura complessa del Presidio Ospedaliero. Gli osservatori, utilizzando la scheda di sorveglianza, hanno raccolto i dati lavorando a due a due, il che ha permesso di confrontarsi su eventuali incertezze insorte durante la rilevazione.

La determinazione dei risultati e l'identificazione delle possibili cause dello scarto eventuale tra obiettivi pianificati e risultati raggiunti (scarto atteso/osservato)

I risultati conseguiti sono riprodotti in Tabella 2 per tipologia di obiettivo ed area specifica.

Tabella 2. Risultati della valutazione articolati per obiettivi e aree

OBIETTIVI DI REAZIONE

1. Come valuta la rilevanza degli argomenti trattati rispetto alla sua necessità di aggiornamento?

- ⇒ La stragrande maggioranza dei discenti (86%) ha ritenuto rilevante o molto rilevante gli argomenti del corso
- ⇒ Nessuno ha dato un punteggio negativo

2. Come valuta la qualità educativa/di aggiornamento fornita da questo evento?

- ⇒ Tutti i discenti hanno giudicato sufficiente la qualità educativa
- ⇒ Il 90% ha valutato buona o eccellente la qualità educativa

3. Come valuta la efficacia dell'evento per la tua formazione continua?

- ⇒ La maggioranza dei discenti (83%) ha giudicato efficace o molto efficace l'evento formativo, dichiarando di essere stata stimolata a cambiare alcuni elementi della propria attività clinica anche in modo rilevante

OBIETTIVI DI APPRENDIMENTO Cognitiva

1. Acquisire conoscenze specifiche sulla fisiopatologia delle LdP

- ⇒ Nelle valutazioni pregresse, effettuate al termine del corso di formazione periodo 2003-2005, il 100% dei discenti aveva raggiunto la sufficienza
- ⇒ Nella valutazione attuale l'80% dei soggetti ha raggiunto la sufficienza
- ⇒ Tra coloro che hanno mantenuto la sufficienza il 64% ha comunque peggiorato la propria performance

2. Identificare le caratteristiche di una lesione da pressione

- ⇒ Nelle valutazioni pregresse, effettuate al termine del corso di formazione periodo 2003-2005, il 100% dei soggetti aveva raggiunto la sufficienza
- ⇒ Nella valutazione attuale l'80% dei soggetti ha raggiunto la sufficienza
- ⇒ Tra coloro che hanno mantenuto la sufficienza nessuno ha peggiorato la propria performance

3. Individuare le principali azioni per la prevenzione e per il trattamento locale

- ⇒ Nelle valutazioni pregresse, effettuate al termine del corso di formazione periodo 2003-2005, il 100% dei soggetti aveva raggiunto la sufficienza
- ⇒ Nella valutazione attuale il 94.3% dei soggetti ha raggiunto la sufficienza
- ⇒ Tra coloro che hanno mantenuto la sufficienza l'81.8% ha peggiorato la propria performance

4. Valutare il rischio di insorgenza ospedaliera di LdP, utilizzando la scala di Braden e gli indicatori specifici, nel 100% dei pazienti che al momento del ricovero non erano autonomi nella mobilizzazione

- ⇒ L'88.5% dei soggetti ha raggiunto la sufficienza

5. Valutare lo stato di nutrizione al fine di evitare stati di malnutrizione in tutti i pazienti con punteggio Braden < 12 o portatori di lesione da pressione

- ⇒ L'80% dei soggetti ha raggiunto la sufficienza

6. Descrivere tutte le fasi delle tecniche di medicazione (rimozione, detersione, sbrigliamento) delle lesioni da pressione secondo il protocollo previsto.

- ⇒ Il 40% dei soggetti ha raggiunto la sufficienza

OBIETTIVI DI APPRENDIMENTO Delle abilità cognitive**1. Valutare le lesioni da pressione**

- ⇒ Nelle valutazioni pregresse, effettuate al termine del corso di formazione periodo 2003-2005, il 100% dei soggetti aveva raggiunto la sufficienza
- ⇒ Nella valutazione attuale il 76 % è risultato sufficiente
- ⇒ Tra coloro che hanno mantenuto la sufficienza il 56% ha peggiorato la propria performance

2. Descrivere i trattamenti specifici per la cura locale delle lesioni

- ⇒ Nelle valutazioni pregresse, effettuate al termine del corso di formazione periodo 2003-2005, solo il 4% dei soggetti aveva raggiunto la sufficienza
- ⇒ Nella valutazione attuale il valore è salito al 12%

OBIETTIVI DI APPRENDIMENTO Delle abilità manuali**1. Attuare la corretta mobilizzazione del paziente**

- ⇒ La maggioranza dei soggetti (da 60 al 90%) ha seguito correttamente le diverse procedure previste e utilizzato gli ausili necessari ad eccezione del posizionamento degli archetti per sollevare le lenzuola; in questo caso solo il 30% dei soggetti ha utilizzato l'ausilio.

2. Applicare i trattamenti specifici per la cura locale delle lesioni

- ⇒ La maggioranza dei soggetti (dal 65 al 95%) ha seguito correttamente le diverse procedure previste. Il punto maggiormente critico appare la detersione della ferita all'inizio del trattamento e l'eliminazione dello spazio morto (procedure non attuate da circa il 30% dei soggetti)

OBIETTIVI DI COMPORTAMENTO**1. Identificare tutte le persone assistite a rischio (che al momento del ricovero non erano autonomi nella mobilizzazione) utilizzando la scala Braden**

- ⇒ Nel 90% dei casi l'operatore ha valutato il rischio di LdP utilizzando la scala di Braden
- ⇒ La scala di Braden è stata applicata correttamente nel 65% dei casi

2. Classificare correttamente le lesioni da pressione secondo la classificazione NPUAP le lesioni da pressione nel 100% dei casi

- ⇒ Le lesioni sono state classificate correttamente nel 70% dei casi
- ⇒ Nel 70% dei casi è stata programmata la rivalutazione delle LdP con frequenza almeno settimanale

3. Scegliere e utilizzare i presidi antidecubito in base ai criteri definiti dal Corso nel 100% dei casi

- ⇒ Il 90% dei soggetti nello scegliere i presidi antidecubito ha valutato sia il punteggio Braden sia l'età e il peso
 - ⇒ L'utilizzo del presidio è risultato corretto mediamente nel 70% dei casi
-

4. Mobilizzare tutti i pz con LdP o a rischio (che al momento del ricovero non erano autonomi nella mobilizzazione) in base ai criteri definiti dal Corso nel 100% dei casi

- ⇒ La maggioranza dei soggetti ha eseguito correttamente la mobilizzazione, con una percentuale che varia dal 60 al 90% a seconda della procedura considerata
 - ⇒ Solo una minoranza di operatori (circa il 35%) ha documentato per iscritto le manovre eseguite e solo il 15% ha stabilito un programma di mobilizzazione
 - ⇒ Da segnalare che solo il 10% dei soggetti ha mobilizzato la persona assistita in carrozzina in modo da spostare i punti sotto pressione almeno ogni ora
-

5. Adottare in tutte le persone assistite con lesioni da pressione i trattamenti terapeutici previsti dalle Linee Guida AHRQ

- ⇒ Con un range che va dal 70 al 90%, i soggetti hanno adottato correttamente i trattamenti di detersione e medicazione della lesione
 - ⇒ Solo nel 40% dei casi vi è stata l'esecuzione di medicazione pulita e asciutta dopo la procedura di sbrigliamento con strumento tagliente
-

OBIETTIVI DI RISULTATO FINALE

1. Prevalenza ospedaliera delle LdP tra i pazienti ricoverati inferiore al 6%

- ⇒ La prevalenza ospedaliera delle LdP tra i pazienti ricoverati, è stata inferiore al 6%
 - ⇒ Il giorno dello studio, su 292 pz ricoverati 13 presentavano lesioni da pressione insorte dopo il ricovero (4.4% a fronte di uno standard inferiore al 6%)
-

2. Insorgenza di lesioni da pressione nella popolazione a rischio (che al momento del ricovero non erano autonomi nella mobilizzazione) inferiore al 18%

- ⇒ Il giorno dello studio, su 125 pz non autonomi nella mobilizzazione al momento del ricovero, 13 presentavano lesioni da pressione (10.4% a fronte di uno standard inferiore al 18%)
-

3. Posizionamento dell'ausilio antidecubito in relazione al rischio (che al momento del ricovero non erano autonomi nella mobilizzazione) in più del 41% dei pz

Il giorno dello studio:

- ⇒ su 217 non a rischio, 9 utilizzavano un ausilio antidecubito (4.1%)
 - ⇒ su 33 pz a rischio alto
 - 5 non avevano ausilio antidecubito (15.5%) (2 pz non erano ancora stati valutati con la scala di Braden perché ricoverati da meno di 48h)
 - 7 avevano un ausilio antidecubito inadeguato (21%)
 - ⇒ su 76 pz ad alto e basso rischio
 - 52 avevano un ausilio antidecubito (68.5% a fronte di uno standard superiore al 41%)
 - 24 non avevano alcun ausilio antidecubito (31.5%) (5 pz non erano ancora stati valutati con la scala di Braden perché ricoverati da meno di 48h)
-

4. Compilazione entro 48 dal ricovero della scala Braden nei pz entrati Non Autosufficienti superiore al 48%

Il giorno dello studio:

- ⇒ su 125 pz entrati in reparto non autosufficienti
 - 43 non avevano documentazione della valutazione (34.4%) (8 pz erano ricoverati da meno di 48 ore)
 - 17 hanno fatto la valutazione dopo 48 ore (13.6%)
 - 65 hanno fatto la valutazione entro le 48 ore (52% a fronte di uno standard superiore al 48%)
-

5. Documentazione del trattamento delle eventuali lesioni da pressione in più del 40% dei pazienti.

- ⇒ Il giorno dello studio, su 30 pz con lesioni da pressione, 25 avevano documentazione del trattamento ricevuto (83% a fronte di uno standard superiore al 40%)
-

In merito alle eventuali differenze tra obiettivi pianificati e risultati raggiunti e alla identificazione delle possibili cause è emerso quanto segue.

Per i 3 obiettivi di reazione (Tab. 2) i risultati hanno evidenziato che i discenti hanno espresso un livello di gradimento medio-alto confermando che l'argomento è percepito come di grande rilevanza per la propria attività e capace di indurre riflessioni sul comportamento da adottare e di stimolare anche cambiamenti nella propria attività.

Relativamente agli obiettivi 1-2-3 di apprendimento dell'area cognitiva (Tab. 2), se nell'immediatezza del post-corso tutti i soggetti avevano raggiunto la sufficienza, a distanza di tempo, la maggioranza dei soggetti peggiora la propria performance (con variazioni dal 50 al 75% a seconda dell'ambito indagato) e circa il 20% non ha più raggiunto la sufficienza (solo le domande relative all'individuazione delle azioni per la prevenzione e trattamento locale hanno totalizzato il 5% di insufficienze). La causa individuata è stata la mancanza di un rinforzo a distanza nel tempo e a cadenza periodica.

Relativamente agli obiettivi 4 e 5 sempre di apprendimento dell'area cognitiva (Tab. 2) è risultato che la maggioranza dei discenti ha raggiunto la sufficienza (rispettivamente 88% e 80% dei soggetti) ma non è stato raggiunto l'atteso del 100%. Pur essendo un dato accettabile è altresì vero che per questi oggetti di valutazione è necessario tendere al 100%, poiché essenziale in una corretta ed efficace politica di prevenzione. La causa individuata è stata la mancanza di un rinforzo a distanza nel tempo e a cadenza periodica anche se non è da escludere una carenza informativa nel corso.

Infine per l'ultimo obiettivo di apprendimento dell'area cognitiva (Tab. 2) è emerso che solo il 40% dei soggetti ha raggiunto la sufficienza, palesando una carenza teorica delle tecniche di medicazione.

La causa individuata è stata soprattutto la carenza informativa nel corso.

Analizzando il primo obiettivo di apprendimento dell'area delle abilità cognitive (Tab. 2) è risultato che nella valutazione pregressa tutti i soggetti avevano raggiunto la sufficienza, mentre a distanza di tempo, poco più della metà dei soggetti ha peggiorato la propria performance (56%) e il 24% non ha più raggiunto la sufficienza. La causa probabile è stata la mancanza di un rinforzo a distanza nel tempo e a cadenza periodica.

Mentre per l'obiettivo 2 (Tab. 2) i risultati non hanno evidenziato variazioni significative tra la valutazione pregressa e quella attuale, risultando sempre insufficiente la maggioranza dei soggetti. Il dato estremamente negativo presente sia nell'immediato postcorso sia a distanza di

tempo, ha fatto ritenere insufficiente il tempo e lo spazio dedicati a questo argomento nel corso.

Per l'obiettivo 1 di apprendimento dell'area delle abilità manuali (Tab. 2) il risultato è apparso discreto; infatti a fronte di una maggioranza di soggetti sufficienti, con range dal 60% al 90% a seconda dell'ambito indagato, è risultata tuttavia ancora critica la percentuale di soggetti che non ha mobilitato correttamente il paziente, compromettendo la prevenzione primaria e secondaria. La causa è stata attribuita all'insufficienza delle prove pratiche durante il corso e alla mancanza di rinforzo nel tempo.

Per l'obiettivo 2, a fronte del dato negativo sulla valutazione delle conoscenze teoriche delle tecniche di medicazione, la valutazione delle abilità manuali in ambito di medicazione delle LdP ha dimostrato valori positivi per la maggioranza dei soggetti che ha eseguito correttamente le procedure previste, con dati meno brillanti nella detersione della ferita. I dati pur non essendo negativi nel loro complesso, hanno palesato la presenza di una discreta quota di soggetti che non hanno applicato correttamente alcune procedure. La causa è stata ricondotta all'insufficiente rinforzo nel tempo.

Per i primi tre obiettivi di comportamento (Tab. 2) è emerso che in circa il 70% dei casi è stata applicata in modo conforme la scala di Braden, con una corretta classificazione delle lesioni e adeguata scelta degli ausili antidecubito; sempre nel 70% dei casi è stata riprogrammata settimanalmente la valutazione delle LdP. È stato giudicato verosimile che la causa di tali risultati fosse l'insufficiente approfondimento degli argomenti durante i corsi di formazione.

Per gli altri obiettivi di comportamento, il 4 e 5 (Tab. 2), è risultato che in un range che varia dal 60% al 90% dei casi è stata attuata una corretta mobilitazione dei pazienti e sono stati adottati i corretti trattamenti di detersione e medicazione delle lesioni da pressione. Poiché i punti critici sono rappresentati dalla mancata definizione di un programma di mobilitazione, che ha interessato solo il 15% dei casi, e dalla mancata mobilitazione del paziente costretto in carrozzina (solo nel 10% dei casi) la ricerca delle cause si è concentrata sulle problematiche organizzative presenti comunemente in una struttura complessa ospedaliera (carenza numerica di personale di assistenza e di tempo a disposizione).

Infine per i 5 obiettivi di risultato finale (Tab. 2) è emerso che sono stati raggiunti tutti gli standard previsti, con performances decisamente superiori agli attesi (basti citare il dato della prevalenza ospedaliera pari al 4,4% rispetto al precedente 6%). Tuttavia si sono registrate ancora delle criticità quali ad esempio la percentuale eccessiva di pazienti ad alto rischio a cui è stato fornito un ausilio antidecubito inadeguato o assente (36.5%).

Le proposte di revisione del Corso di Formazione

L'applicazione del piano di valutazione ha fatto emergere una serie di necessità.

La prima è di intervenire sui contenuti del corso di formazione soprattutto in ambito di:

- identificazione del paziente a rischio attraverso la scala di Braden;
- trattamento delle lesioni in quanto vi è ancora una notevole discrepanza tra le abilità manuali e le conoscenze. È importante evitare che l'applicazione di trattamenti, anche se corretti, discenda dalla consuetudine o emulazione anziché da solidi presupposti teorici;
- mobilitazione dei pazienti, soprattutto quelli costretti in carrozzina;
- documentazione non solo della valutazione delle lesioni ma anche della programmazione della mobilitazione e dei trattamenti.

La seconda necessità consiste nell'incrementare il numero delle prove pratiche ed in particolar modo per la mobilitazione del paziente e trattamento delle LdP.

La terza implica la previsione di interventi periodici di rinforzo al corso base, organizzando dei brevi incontri di 2-3 ore a cui i discenti possono partecipare. Questo tipo di rinforzo dovrebbe prevedere dei rapidi spot di ripresa di argomenti già trattati nel corso base e giudicati come critici (identificazione caratteristiche delle LdP, trattamenti, utilizzo della Scala di Braden, mobilitazione) e di comunicazione di eventuali nuove tecniche/tecnologie o evidenze scientifiche.

Inoltre appare essenziale che nella riprogettazione del corso di formazione venga già predisposto un piano di valutazione dello stesso. Questo significa:

- definire correttamente gli obiettivi formativi;
- individuare gli strumenti di valutazione degli obiettivi;
- prevedere una valutazione a distanza nel tempo per misurare la ritenzione di quelle conoscenze e/o abilità che si ritengono essenziali. Sarebbe auspicabile poter valutare anche il comportamento nelle strutture complesse dove lavorano i discenti, quale misura della capacità di attuare nel quotidiano le conoscenze e abilità acquisite. La valutazione a distanza nel tempo può anche consentire di apportare eventuali modifiche agli incontri di rinforzo programmati, al fine di renderli ancor più mirati e rispondenti alle necessità formative della popolazione dei discenti.

Infine l'applicazione del piano e dei suoi strumenti evidenzia come l'attuazione periodica di un'indagine di sorveglianza sulle lesioni da pressione, possa permettere non solo di individuare eventuali aree critiche da affrontare in nuove edizioni del corso di formazione, ma anche di incrociare i dati con i risultati ottenuti nella valutazione dei discenti.

Discussione e Conclusioni

L'obiettivo del presente lavoro era di descrivere la metodologia seguita per la costruzione e attuazione di un piano di valutazione ex-post del corso di formazione aziendale intitolato "La persona con lesioni cutanee croniche: approccio multidisciplinare" e di presentare i risultati che si sono raggiunti con la sua adozione e le proposte di revisione del corso che si possono desumere dal quadro emerso al termine della sua applicazione. A conclusione viene tracciata una sintesi degli aspetti positivi dell'esperienza condotta e dei suoi elementi di criticità.

Per quanto riguarda i primi è possibile affermare innanzitutto che l'applicazione del piano di valutazione costruito ha messo in evidenza come questo non solo sia uno strumento utile per misurare in modo corretto, strutturato e sistematico i livelli di performance dei discenti e della loro capacità di ritenzione delle conoscenze e/o abilità acquisite, ma sia anche uno strumento prezioso per identificare miglioramenti nel piano formativo e identificare eventuali nuove aree di intervento.

In secondo luogo, la determinazione dei risultati conseguiti, l'analisi degli scostamenti rispetto all'atteso e l'indagine sulle possibili cause hanno rappresentato un punto di partenza importante per proporre modifiche nei contenuti e negli strumenti didattici da utilizzare nelle nuove edizioni del corso di formazione.

Inoltre l'attuazione periodica di un'indagine di sorveglianza sulle lesioni da pressione, permette non solo di individuare eventuali aree critiche da affrontare in nuove edizioni del corso di formazione, ma anche di incrociare i dati con i risultati ottenuti nella valutazione dei discenti.

Infine il piano di valutazione, così come è stato utilizzato, è stato ben accettato. Tutti i discenti contattati hanno aderito e hanno dimostrato molto interesse riguardo al fatto che si voleva valutare la capacità di ritenzione a distanza nel tempo. In tal senso ha giocato un ruolo positivo la presenza in ogni reparto di degenza di un infermiere con il ruolo di referente per il Gruppo di Lavoro sulle lesioni cutanee. Nella sperimentazione del piano, questa figura ha svolto un ruolo di facilitatore non solo nella raccolta dei dati ma anche nel coinvolgimento dei colleghi.

A fronte degli aspetti positivi non si può negare la presenza di alcune criticità la prima delle quali riguarda la progettazione del piano stesso che è apparsa complessa, poiché è stata fatta a posteriori rispetto all'erogazione dei corsi cui faceva riferimento. Naturalmente una sua progettazione in concomitanza con la programmazione dell'intero corso di formazione, di cui deve essere parte integrante, risulterebbe più semplice e permetterebbe anche ai formatori di poter meglio strutturare il corso stesso.

Un secondo punto di debolezza risiede nel considerevole impiego di risorse umane e di tempo che la sua ado-

zione comporta. A tale proposito occorre però precisare che nella esperienza descritta si è arruolato un numero elevato di discenti (140), pari a tutti quelli che avevano partecipato ai corsi realizzati nel triennio 2003-2005. Diversamente l'applicabilità di un piano di valutazione di tal tipo in una "condizione di normalità", comporterebbe un più modesto impiego di risorse umane e di tempo.

Bibliografia

1. Horn SD et Al. The National Pressure Ulcer Long-Term Care Study: Pressure Ulcer Development In Long Term Care Resident. *J Am Geriatr So.* 2004;52(3): 359-67.
2. Sidoli O, Ferrari A. Stato nutrizionale e ulcere da pressione: linee guida a confronto. *Rivista Italiana di Nutrizione Parenterale ed Enterale* 2005;1:26-35.
3. Moore Z, Price P. Nurses' attitudes, behaviours and perceived barriers towards pressure ulcer prevention. *J Clin Nurs* 2004;13(8):942 -951.
4. Colosso A, Zanetti E. Linee guida integrali dell'AHRQ per la prevenzione e il trattamento delle lesioni da decubito. Pavia: AISLeC, 2003:50-52.
5. European Pressure Ulcer Advisory Panel Guidelines. <http://www.EPUAP.org/gltreatment.html>.
6. Linee guida sulla prevenzione e trattamento delle lesioni da decubito, azienda ospedaliera di Bologna policlinico sant'Orsola Malpighi, Ottobre 2001. http://www.med.unibo.it/reparti_servizi/servinfer/homepage.html.
7. Bergstrom M, Demuth PJ, Braden PJ. A clinical trial of the Braden scale for predicting pressure sore risk. *Nurs Clin North Am* 1987; 22:417-28.
8. European Pressure Advisory Panel Summary Report on the Prevalence of Pressure Ulcers. EPUAP: Review 2002; 4:2.
9. Innecco A, Pressato L, Tognoni C, Zabeo M. Governare la formazione per la salute. Roma: Il Pensiero Scientifico Editore, 2005:251-258.
10. Quaglino GP. Il processo di formazione. Milano: Franco Angeli, 1998.
11. Gagliardi P, Quarantino L. L'impatto della formazione. Un approccio etnografico. Milano: Guerini e Associati, 2000.
12. Lattanzio E, Zuliani A. Programmare e valutare la formazione Milano: Lattanzio e Associati, 2004:159-220.
13. Finlay K, Smith J, Abrams S, Evangelista M. The impact of nursing education on pressure ulcer prevention. *The Journal of Wound, Ostomy and Continence Nursing* 2004, (31).
14. Bisio C. Valutare in formazione Milano: Franco Angeli, 2002:247-254.

Camillo Golgi: un Secolo dopo il Nobel

Camillo Golgi: a Century from his Nobel Prize

G DELVECCHIO,* LUISELLA BETTINESCHI**

*AO Ospedali Riuniti Bergamo, **ASL Bergamo

Camillo Golgi (1843-1926) medico e istologo, nel 1906 ottenne il Premio Nobel per la medicina in riconoscimento del suo lavoro sulla struttura del sistema nervoso. La tecnica della *reazione nera* da lui ideata permise di poter osservare in modo chiaro e distinto il neurone nella sua interezza contribuendo così alla completa comprensione del meccanismo di trasmissione dello stimolo nervoso. I progressi realizzati nella cura delle malattie nervose e mentali, e nello studio dei complessi processi che sono alla base del funzionamento della mente, sarebbero stati impensabili senza i lavori di Camillo Golgi e Ramon y Cajal con cui condivise il Nobel.

Parole Indice Storia della Medicina. Golgi, C. Biografia

Camillo Golgi (1843-1926) physician and histologist. In 1906 he obtained the Nobel Prize in medicine in recognition of his work on the structure of the nervous system. The technique he devised, the "black reaction", allowed a clear observation of neurons giving an enormous contribution to the comprehension of the nervous stimulus's transmission mechanism. The progress obtained in the treatment of nervous and mental diseases, and in the study of the complex process at the basis of brain's functioning, would have been unthinkable without the works of Camillo Golgi and Ramon y Cajal with whom he shared the Nobel Prize.

Index Terms History of Medicine. Golgi, C. Biography

Il lavoro spetta in pari misura agli autori
All authors participated equally in this work

Indirizzo per la corrispondenza
Address for correspondence

Professor Giacomo Delvecchio
Via Monte Bianco, 30
24020 Ranica (BG)

Come ci sono autori di molteplici opere d'arte una sola delle quali basterebbe alla gloria di un uomo, così ci sono scienziati famosi per molti contributi ognuno dei quali basterebbe alla gloria di un uomo solo.

È questo il caso di Camillo Golgi (1843-1926) il quale ha un posto nella storia della medicina per le tante scoperte da lui realizzate e per aver messo altri in condizione di fare altrettanto importanti scoperte.

Golgi non è partito scienziato ancor giovane secondo una precocità che in molti casi sgomenta quando non è genialità né è nato da famiglia che a tale strada lo avviò precocemente né ha potuto godere l'influsso di un ampio humus culturale indirizzante essendo nato e cresciuto in un luogo montano povero e disagiato lontanissimo da ogni centro cittadino e culturale, collocato là dove la Valcamonica incontra la Valtellina. Partito da quel luogo colla sola ambizione di diventare medico come il padre, Golgi ha però fatto della ricerca il suo lavoro.

Golgi arriva da giovane alla ricerca sperimentale in Università a Pavia partendo dalla psichiatria di Lombroso, con cui (forse) aveva discusso la tesi di laurea e avviato un cammino clinico in cui si scoprì favorevole ad una psichiatria positiva d'osservazione¹ e dalla istologia e dallo sperimentalismo di Bizzozero col quale strinse subito il felice sodalizio di una vita di lavoro, di amicizia e di famiglia. Da questi incontri importanti riceve qualcosa: da Lombroso la passione per il sistema nervoso; da Bizzozero il virtuosismo nella tecnica istologica.

Con questi due presupposti uniti alla costanza nella ricerca sistematica attraverso una lunga serie di tentativi, in condizioni quasi uniche² Golgi arriva alla reazione cromoargentea o *reazione nera* e tramite questa negli anni che vanno dal 1872 al 1875 mette le fondamenta della neurobiologia morfologica.

La reazione nera è la scoperta che gli varrà il Nobel nel 1906 e che, sia pure diffusasi con fatica, apre la strada ad un programma di ricerca della morfologia microscopica del sistema nervoso prima impensabile con le metodiche a disposizione. La neuroistologia, a questo punto resa possibile e percorribile, diventa con Golgi neurocitologia e neuroarchitettura tissutale.

In quell'epoca della scienza in cui, ancora per poco tempo, è possibile riconoscere i contributi individuali, maturano anni di fecondo lavoro per Golgi. Si aprono al microscopio la ulteriore definizione degli assoni, la descrizione delle cellule della glia, la differenziazione delle cellule di

Golgi di tipo I e di tipo II (interneuroni). Oltre agli studi sul sistema nervoso individua il ciclo del Plasmodium nelle emazie e lo correla l'accesso febbrile; differenzia la terzana dalla forma quartana di cui descrive il parassita³; favorisce l'uso del chinino nella malaria in modo che non si sa se dal punto di vista della storia sociale della sanità è più importante il Golgi malariologo⁴ di quanto per la storia delle cognizioni mediche lo sia il Golgi neuroistologo. Ma anche descrive i sensori tendinei chiamati corpuscoli di Golgi e individua l'organello intracitoplasmatico che porta ancora oggi il nome di apparato di Golgi né trascura di dedicarsi a studi sul rene.

Sono anche anni di fecondo lavoro per la sua scuola⁵ che, sebbene espressione di una medicina autarchica e periferica⁶, diventa crocevia per la medicina italiana e luogo di incontri internazionali nel passaggio verso il 900.

Dalla sua scuola passarono tra i più importanti medici dell'epoca con i quali mantenne rapporti di affetto e verso i quali fu prodigo di aiuti e di sostegni anche accademici al punto da farlo considerare un buon rappresentante dell'autoritarismo-paternalismo baronale⁷. Tra i molti allievi e collaboratori che passarono dall'istituto vanno ricordati almeno A. Negri il cui nome è legato agli studi sulla rabbia, GB. Grassi noto per le ricerche sul vettore della malaria, A. Carini legato alla descrizione del *Pneumocystis carinii*, E. Veratti che individuò il reticolo sarcoplasmatico. Con Golgi intrattennero rapporti clinici della levatura di C. Forlanini inventore del pneumotorace terapeutico e per questo da Golgi più volte proposto per il Nobel⁸ e C. Frugoni, a sua volta famoso tra i clinici medici del 900. L'agnosticismo religioso di Golgi non gli impedì di essere maestro a persone come il futuro padre Gemelli, fondatore dell'Università Cattolica, e ad E. Medea il quale lo conobbe da giovane, molto prima di essergli allievo, e che lo ricorderà sempre con parole molto affettuose⁹. Analogamente il suo moderatismo politico espresso nell'età della maturità non gli impedì di avere allieva alla scuola Anna Kulisciuff.

³ History of Malaria Scientific Discoveries http://www.malaria-site.com/malaria/history_science.htm

⁴ Cosmacini G. Storia della medicina e della sanità in Italia. Laterza, Roma-Bari 1987: 409-410.

⁵ Mazzarello P. La scuola scientifica di Camillo Golgi http://www.cisui.unibo.it/annali/07/testi/10Mazzarello_frame-set.htm

⁶ Cosmacini G. L'arte lunga. Storia della medicina dall'antichità ad oggi. Laterza, Roma-Bari 1997: 360-361.

⁷ Cosmacini G. Medici nella storia d'Italia. Laterza, Roma-Bari 1996: 115-116.

⁸ Carlo Forlanini <http://ppp.unipv.it/museo/Pagine/Medicina/Biografie/bForla.htm>

⁹ Zanarotti Tiranini E. La luce nella mente. Eugenio Medea precursore della neuropsichiatria e riabilitazione infantile. Edizioni La Nostra Famiglia, Ponte Lambro 2004: 74-75.

¹ Mazzarello P. Il Nobel dimenticato. La vita e la scienza di Camillo Golgi. Bollati Boringhieri, Torino 2006: 82.

² Mazzarello P. Premi Nobel italiani. Camillo Golgi in http://brunelleschi.imss.fi.it/nobel/foto_testicritici/golgi/golgi3.jpg&imgrefurl=http://brunelleschi.imss.fi.it/nobel/inob.asp%3Fc%3D703844xsl=1

Al termine della vita il bilancio professionale e umano di Golgi non può che essere lusinghiero.

È scienziato universalmente acclamato e premiato con un posto non effimero nella storia della medicina; ha fondato una delle poche vere scuole scientifiche italiane; è socio di innumerevoli accademie e società scientifiche internazionali; è ai vertici della carriera universitaria e a lungo come rettore è occupato in una tenace difesa della propria sede accademica; è presente nei momenti più importanti della vita della nazione così che durante la prima guerra mondiale, già anziano, si prodiga nella sanità militare pavese; è senatore del Regno; ha una cerchia di rapporti affettivi solidi; mantiene per tutta la vita una vicinanza continua col suo paese natale dove offre assistenza gratuita e che riconoscente assumerà nel suo il nome di Golgi diventando da allora Corteno Golgi¹⁰.

Si può dire che mai come in questo caso il successo sia il frutto dell'impegno costante di una intera vita trascorsa con modestia e semplicità edificandola al lavoro.

A distanza di un secolo dal Nobel quali insegnamenti dalla vicenda professionale di Golgi sono possibili per il medico di oggi?

Poco incline ai discorsi, Golgi era docente non entusiasta e noioso in aula, ma era investigatore tenace e brillante e, con le caratteristiche di un leader che non lesinava gli sforzi nell'aiutare gli allievi¹¹, ha fatto scuola vera nel laboratorio, tanto che la sua vicenda umana-professionale è ancora oggi testimonianza per un ammaestramento ai medici.

Primo insegnamento di Golgi è la via del successo.

Le scoperte di Golgi non sono nate a caso, né sono il frutto del genio o della fortuna. I successi di Golgi sono stati preparati e accompagnati dal costante impegno quotidiano. Dotazioni cognitive, virtuosismo operativo, lavoro tenace appartengono a Golgi e ai ricercatori di successo: non a caso fantasia creatrice, rigore logico, acume investigativo e abilità manuale sono attributi riconosciuti ad un altro grande scienziato dell'epoca: Louis Pasteur¹².

Le origini di Golgi ricercatore sono quelle della piccola scienza a dimensione domestica, che era la scienza dell'epoca¹³, dove il laboratorio era situato all'inizio della sua attività professionale nella cucina della sua abitazione nel Pio Luogo degli Incurabili ad Abbiategrosso prima di poterne disporre in Istituto a Pavia. Ciò non significa che l'impegno profuso nella ricerca fosse "domestico" o minore. Vi sono sempre cultura, passione, dedizione, costanza alla base del

risultato. Ma questi fattori, pur essenziali, non sono da soli bastevoli alla pienezza del successo: necessitano motivazione, metodo e contesto sociale favorevole.

La motivazione alla ricerca è il primo requisito. In Golgi, come del resto in molti tra i ricercatori, la motivazione al lavoro è privata ed è squisitamente cognitiva tant'è che si può chiamare epistemofilia. Ne è indicatore, per esempio, la varietà di interessi giovanili di Golgi il quale mentre matura il suo obiettivo dopo la laurea mantiene rapporti con più personalità e più campi di indagine: frequenta cliniche, corsie psichiatriche e laboratori passando dagli uni agli altri con estrema facilità. Intesa come caratteristica fondamentale l'epistemofilia ha in sé la ricerca di risposte a domande che sono sempre nuove per chi nella attività di ricerca, come dice Golgi, ricerca sé stesso¹⁴ nel lavoro di una vita che bisogna purtroppo abbandonare quando, arrivati alla fine, si è appena all'inizio della conoscenza.

L'epistemofilia genera cultura. La cultura non è mai un sapere esclusivamente contemplativo fine a sé stesso ma, in quanto permette di attribuire a singoli fatti e fenomeni nuove dimensioni interpretative, è matrice che genera apprendimento entro un processo attivo di ricerca che in Golgi trascende i limiti del singolo campo disciplinare per abbracciare insieme citologia, istologia, anatomia, patologia generale e pratica clinica. La cultura è così alla base di ogni progetto di ricerca perché con le parole di un altro grande dell'epoca, C. Bernard, chi non sa quel che cerca non comprende il significato di quel che trova¹⁵. In tal modo solo la cultura, infine, permette di rendere intelligibile e fruttuosa la scoperta fortuita, come è stata almeno in parte la scoperta della reazione nera¹⁶ avvenuta dopo una lunga serie di tentativi e di fallimenti.

Senza metodo, la cultura diviene erudizione. Nella scienza il metodo orienta la cultura. Il metodo è la sistematicità con cui si procede logicamente congiungendo tra loro i fatti con le teorie. Solo nell'ordine del metodo la serendipità poi trova quell'esito favorevole, lo si è visto, slegato dall'aleatorietà. In Golgi induttivista e positivista vi è sicuro possesso del metodo sperimentale che lo spinge prima a *riprovare* per riprodurre e controllare il dato osservativo raggiunto da altri e poi a *provare* il nuovo esperimento alla luce delle osservazioni e dei fatti raggiunti. Guidati dal metodo vi sono l'applicazione dello strumento e della metodica. Nella fattispecie, strumenti erano il microscopio ottico privo di aber-

¹⁰ Goldaniga G. Storia illustrata di Camillo Golgi. Edizioni Pro Loco, Corteno Golgi – Cooperativa di cultura "C. Golgi" Valle Canonica, Brescia 1997.

¹¹ Zanarotti Tiranini E. La luce nella mente. Eugenio Medea precursore della neuropsichiatria e riabilitazione infantile. Edizioni La Nostra Famiglia Ponte Lambro 2004:58

¹² Antiseri D. La grande svolta di Pasteur. KOS 2004; 226: 32-34.

¹³ Baldini M. Filosofia e scienza. Armando, Roma 1998: 67-72.

¹⁴ Goldaniga G. Storia illustrata di Camillo Golgi. Edizioni Pro Loco Corteno Golgi – Cooperativa di cultura "C. Golgi" Valle Canonica, Brescia 1997.

¹⁵ Bernard C. Introduzione allo studio della medicina sperimentale. Piccin. Padova 1994:13.

¹⁶ Villa L. Medicina oggi. Aspetti di ordine scientifico, filosofico, etico-sociale. Piccin, Padova 1980: 82.

razioni ottiche ed il microtomo per produrre sezioni seriate mentre la metodica era la reazione nera. Strumenti senza metodica o tecnica di colorazione che evidenziassero il tessuto nervoso erano poco produttivi. L'introduzione di una nuova metodica fa emergere tutta la potenza conoscitiva della tecnica¹⁷, rivoluziona profondamente e stravolge addirittura il campo disciplinare tradizionale creando fertili opportunità innovative alla costituzione di discipline autonome. È quello che è successo con la reazione nera.

In via del tutto secondaria poi, un altro fatto non andrebbe trascurato. Prima dell'introduzione della microfotografia dei preparati istologici, Golgi, come del resto tutti, compreso il suo maestro Bizzozero¹⁸, riproducono col disegno le innumerevoli immagini che vedono al microscopio. Il disegno scientifico vuole una rappresentazione completa ed esauriente di quanto osservato e può essere corretto pensare che nello sviluppare sempre più la sua capacità osservativa sia stata determinante anche l'esigenza di dover guidare puntigliosamente la mano che disegna. Mentre mano e cervello si perfezionano e si guidano l'un l'altro, nelle mani di Golgi metodo, strumento e metodica lasciano completamente trasformati i campi di ricerca cui sono applicati.

Sagacia, costanza, sistematicità e tenacia, che sono anche legate all'autoconsapevolezza del proprio valore che in Golgi non altera mai la modestia del carattere, non sono sufficienti per fondare e dirigere una scuola che è invece l'espressione più piena e riconosciuta autorevolmente di un contesto sociale che gli è favorevole.

Per fondare e dirigere una scuola, queste caratteristiche vanno coniugate con quelle di una forte personalità dotata di leadership carismatica e devono poi essere arricchite da ulteriori capacità organizzative, di selezione, di coordinamento e di coesione tra persone diverse nonché dalla capacità di creare visibilità con pubblicazioni adeguate al valore dei risultati ottenuti e, in ultimo, dalla capacità di occupare spazi di potere accademico e istituzionale. Golgi ha saputo esprimere tutte queste caratteristiche per sé e per gli allievi che costituivano la scuola, ai quali con spirito di corpo chiedeva fedeltà alla scuola e fedeltà agli insegnamenti dottrinari peculiari della scuola. Anche in cattedre e sedi lontane da Pavia proseguiva quel legame benevolo che in Golgi legava a sé gli allievi oltre la scuola creando continuità tra l'ambiente di lavoro nel laboratorio e l'ambiente di svago e di riposo nella sua abitazione.

La tenacia nella via del successo non è disgiunta dall'errore. Anzi, nella scienza si avanza solo commettendo errori e la biografia di Golgi ne è esempio. È questo l'altro insegnamento.

¹⁷ Mazzeo P. Il Nobel dimenticato. La vita e la scienza di Camillo Golgi. Bollati Boringhieri, Torino 2006:112.

¹⁸ Mazzeo P. Il Nobel dimenticato. La vita e la scienza di Camillo Golgi. Bollati Boringhieri, Torino 2006: 72.

L'epoca di Golgi è quella in cui la teoria cellulare, considerata oggi la più importante generalizzazione della scienza morfologica¹⁹ si sta consolidando e diffondendo nel mondo medico. Tale teoria contrasta, col naturalismo e sperimentalismo calati entro la cornice del positivismo, i residui di vitalismo ancora presenti nella biomedicina. Anche per quanto riguarda il sistema nervoso l'entità cellulare è concetto che sta prendendo piede. Afferma al riguardo E. Ziegler, nel suo trattato di anatomia patologica tradotto in Italia nel 1884, che l'encefalo è composto da "cellule raccolte in ammassi e da fibre che formano reti"²⁰. Dietro l'apparente semplicità e neutralità, di questa affermazione vi è però un contenzioso, che oggi non si coglie. Questo abbracciava posizioni relative all'organizzazione funzionale del cervello che vedevano all'epoca scontrarsi unitaristi e localisti²¹. Per i primi il cervello era e funzionava come un tutt'uno; per i secondi vi erano invece localizzazioni funzionali specifiche. Ad indirizzare verso questa seconda che contrastava la prima prestigiosa interpretazione, a prescindere dalla poco sperimentale frenologia di Gall, già stavano i contributi di Broca il quale nel 1861 aveva identificato l'area che porta il suo nome. In questo modo, pur ancora in embrione, all'epoca la neurobiologia morfologica si incontrava con la neurobiologia funzionale.

In questo contesto in cui anatomicamente si parla di cellule ma anche di fibre e di reti, la reazione nera di Golgi colora a *random* solo il 2% di una sezione istologica. Questa selettività nella colorazione, non spiegata, impedisce di osservare al microscopio una compatta macchia nera ma soprattutto permette di evidenziare lo sviluppo delle cellule che si sono colorate nelle loro diramazioni più fini come un fitto reticolo arborescente. Un nuovo mondo viene alla luce e la reazione nera si comporta da spartiacque tra un prima e un dopo nella ricerca sui tessuti nervosi. In realtà nonostante la reazione nera, la questione cellulare è irrisolvibile con gli strumenti della sola istologia. Riconosciamo gli anatomisti contemporanei, ricchi dell'esperienza passata e dell'attuale, che nessun metodo è in condizione di fornire elementi completi e sicuri sui rapporti tra cellule; solo l'avvento della microscopia elettronica ha dimostrato l'individualità del neurone e ha mostrato gli effettivi rapporti esistenti tra gli elementi cellulari²².

¹⁹ Bloom W, Fawcett DW. Trattato di istologia. Piccin, Padova 1970: 1.

²⁰ Ziegler E. Trattato di anatomia patologica e patogenesi, II. Vincenzo Pasquale editore, Napoli 1884: 599.

²¹ Cimino G. Epistemologia: teoria, storia e prassi della scienza. Elementi di didattica. Le scienze della vita nell'ottocento. Università degli Studi di Roma Tor Vergata, Roma 2007:57-71.

²² Bairati A. Trattato di anatomia umana. Morfologia generale e sistematica dell'uomo, vol. 3 Sistema nervoso centrale. Minerva medica, Torino 1975: 90-91.

Visto che la tecnica istologica non permetteva di distinguere fattualmente tra le due opposte teorie –la reazione nera non fondava alcun esperimento cruciale- dei neuronisti e dei reticularisti, esempio locale della sottodeterminazione delle teorie ai fatti, Golgi di fronte alle due opportunità rimane suggestionato dalla teoria della rete del sistema nervoso e ne sarà tenace difensore fino alla fine. Per spiegare questo suo irremovibile attaccamento alla primigenia concezione, da un punto di vista metodologico si può dire che egli permane nell'innamoramento verso l'ipotesi iniziale mentre da un punto di vista cognitivistico si può dire che è preda del fenomeno dell'ancoraggio alla prima ipotesi. Ad ogni modo, quale ne sia la genesi, psicologica o dottrina, l'attaccamento alla sua teoria gli impedisce di accogliere la concezione alternativa, la dottrina del neurone. In questo Golgi ci è esempio di come la conoscenza di quanto è noto impedisce la conoscenza di quel che non è noto²³ così che si conosce contro una conoscenza anteriore²⁴ e ci è anche esempio di come sia faticoso abbandonare le proprie costruzioni, quelle cui si è dedicato una intera vita professionale, specie se queste vengono radicate entro un sapere precedente considerato solido sebbene a torto.

Santiago Ramon y Cajal, premiato col Nobel insieme a Golgi, è il grande antagonista col merito di riconoscere il suo debito verso il "savant di Pavia"²⁵. La contrapposizione con Cajal –così diverso per carattere e comportamenti e che forse interpreta la contrapposizione come competizione- vede Golgi sconfitto dopo una tenace battaglia. Golgi è determinato nella difesa delle sue convinzioni contro quella che chiama "la corrente opinione... che ha fatto una trionfale comparsa sulla scena scientifica"²⁶, riconoscendo così che la teoria del neurone, entità che del resto egli non misconosce affatto ma che relega in posizione di secondo piano rispetto alla rete così che il contenzioso tra i due non è, a questo punto, tanto sulle cellule nervose quanto sui legami, continui o discontinui, di tali cellule tra di loro²⁷, è già ben diffusa. Contro questa teoria proclama ancora il giorno del Nobel, momento di scontro e non di composizione tra i due premiati, di aver sempre considerato la rete nervosa come un'entità anatomica interamente distinta,

non una semplice ipotesi, che gioca una parte fondamentale nella funzione specifica del sistema nervoso²⁸. Coerente con la dottrina della rete, Golgi, pur accogliendo localizzazioni cerebrali intendendole come territori prevalenti, rifiuta l'azione individuale delle singole cellule e di gruppi di cellule a favore di un isomorfismo funzionale entro un'azione d'insieme di varie cellule²⁹ e fornisce base anatomica agli unitaristi contro i localizzatori.

È però una posizione ormai perdente quella che rigetta la teoria neuronale, perché dietro c'è una posizione epistemologica, che è di Golgi e della sua scuola, che alla lunga si dimostra una posizione di chiusura. Tale è da un punto di vista metodologico, perché centrata in assoluto sulla priorità concessa alla propria metodica; da un punto di vista epistemologico, perché riconducibile ad un'estrema forma di fisicalismo. In quest'ottica la *morfologia*, ovvero la struttura, indagata in ultimo con lo strumento microscopico secondo una tradizione che era già affermata a Pavia prima di Golgi e secondo l'esempio che Golgi stesso ne dà nello studio sulla malaria³⁰, piuttosto che la *funzione* è monopolio ontologico della vera scienza. Questa chiusura, che è chiusura di fronte ad altri campi di ricerca non morfologici come quelli oramai aperti dalla fisiologia, dalla biochimica e dalla genetica rese ciechi di fronte alla teoria del neurone e della sua polarizzazione intese piuttosto come descrizione semplificata e funzionale della complessa rete neurale³¹. Tutto ciò alla fine portò al declino della stessa scuola non ulteriormente vivificata nelle idee innovative che venivano avanti anche con l'aiuto di metodiche diverse da quelle prodotte nella scuola stessa.

Golgi afferma di essere induttivista e a difesa contro le ipotesi dichiara di porre fatti. Golgi vuole "fatti certi, puri, chiari, dimostrativi" senza i quali la ragione, con parole di G. Rasori, "riesce uno strumento inefficace e ben anco ingannatore"³². Così ricerca nella morfologia fatti anatomici inoppugnabili e li ricerca con pedanteria per sfuggire all'insidia degli artefatti; cerca e "trova" fatti concreti come la rete nervosa che, dichiara, chiaramente gli "indica il suo

²³ Grmek M.D. AIDS Storia di una epidemia attuale. Laterza, Roma-Bari 1989: 96.

²⁴ Strumia A. Introduzione alla filosofie delle scienze. Edizioni Studio Domenicano, Bologna 1992: 118.

²⁵ Bentivoglio M. Life and Discoveries of Santiago Ramón y Cajal. http://nobelprize.org/nobel_prizes/medicine/articles/cajal/index.html

²⁶ Camillo Golgi: The neuron doctrine – theory and facts. Nobel Lecture December 11, 1906 http://nobelprize.org/nobel_prizes/medicine/laureates/1906/golgi-lecture.html

²⁷ Lantéri-Laura G. Psiche e cervello. In Grmek M.D. (a cura di) Storia del pensiero medico occidentale. Vol. 3 Dall'età romantica alla medicina moderna. Laterza, Roma-Bari 1998:145.

²⁸ Camillo Golgi: The neuron doctrine – theory and facts. Nobel Lecture December 11, 1906 http://nobelprize.org/nobel_prizes/medicine/laureates/1906/golgi-lecture.html

²⁹ Camillo Golgi <http://ppp.unipv.it/museo/Pagine/Medicina/Biografie/bGolgi.htm>

³⁰ Mazzarello P. La scuola scientifica di Camillo Golgi http://www.cisui.unibo.it/annali/07/testi/10Mazzarello_frame-set.htm

³¹ Berlucchi G. Emilio Veratti and the king of the czarina. www.lincci.it/pubblicazioni/rendicontiFMN/rol/pdf/S2002.04.02.pdf

³² Rasori G. Teoria della flogosi. Ditta Angelo Bonfanti, Milano 1837: 6.

³³ Camillo Golgi: The neuron doctrine–theory and facts. Nobel Lecture December 11, 1906. http://nobelprize.org/nobel_prizes/medicine/laureates/1906/golgi-lecture.html

significato”³³ anche se è lui, piuttosto, ad essere guidato nella descrizione del fatto positivo da un’idea preconcepita, come l’avrebbe chiamata C. Bernard³⁴.

Anche Cajal a fondamento delle sue teorie pone fatti, per di più generati dalla stessa metodica di Golgi così che da una sola matrice come si è visto sembrerebbero venire alla luce due fatti diversi e contraddittori. In realtà, e la moderna epistemologia lo ha ben riconosciuto, la lettura del reale è guidata dalle teorie che costruiscono fatti e la riprova è proprio nella contrapposizione tra i due Nobel stante che l’interpretazione di Golgi e di Cajal potevano essere, quanto meno limitatamente a certi aspetti morfologici, altrettanto valide alla luce dei “fatti” allora messi in evidenza.

Se le sensate esperienze non possono essere l’esclusivo fondamento della conoscenza, anche in medicina tra empirismo e razionalismo va trovato un punto di equilibrio perché, come insegna A. Murri proprio in quegli anni, “cogli organi dei sensi si arriva ad un punto molto basso della verità. Conviene perciò ci sia un fattore più elevato che supplisca all’ignoranza delle determinate condizioni dei fatti”³⁵. L’elemento sensoriale, quando appercepito diventa fenomeno; il fenomeno significato alla luce di una teoria esplicativa diventa un fatto. In questo modo i fatti sono teorie reificate. Poiché le teorie variano, anche i fatti variano. Piuttosto che “fatti certi, puri, chiari, dimostrativi” i fatti sono costrutti soggetti a revisione perché altro non sono che proposizioni che, sulla scorta di quello che sappiamo, descrivono più o meno adeguatamente pezzi e aspetti della realtà.

Cajal, rapito dalla bellezza di quello che la reazione nera fa vedere, afferma che di fronte a tali immagini non vi è necessità di interpretare perché basta solo guardare per accertarsi³⁶. Anche questo è positivismo. Ma nella lettura per il Nobel tenuta il giorno successivo a quella di Golgi, Cajal afferma di non aver mai incontrato un “singolo fatto osservato contrario alle sue asserzioni”³⁷. Questa affermazione, al di là delle intenzioni di Cajal, è interessante, perché riconosce che i fatti non servono tanto per confermare la verità di una teoria, come è convinzione di Golgi quando afferma induttivamente che la struttura fattuale della rete gli parla della sua funzione. I fatti servono piuttosto per mettere alla prova e per cercare di contrastare la presunta verità di una teoria.

³⁴ Bernard C. Introduzione allo studio della medicina sperimentale. Piccin, Padova 1994.

³⁵ Murri A. Lezioni di clinica medica 1883-1884. Il lavoro editoriale Università degli Studi di Ancona, Facoltà di Medicina e Chirurgia 2001: 155.

³⁶ Camillo Golgi. In Storia della medicina, vol. 3. Fabbri editori, Milano 1964:530-532.

³⁷ Ramon y Cajal S.: The structure and connexions of neurons http://nobelprize.org/nobel_prizes/medicine/laureates/1906/cajal-lecture.pdf

Così la storia della medicina è ricca di fatti non più esistenti e tra questi la rete neurale, scomparsa dai moderni manuali, testimonia il suo tempo rimanendo nella storia delle idee.

Con un ulteriore insegnamento. A volte succede nella storia della conoscenza scientifica che le teorie, come i fatti e le tecniche di indagine, si diffondano lentamente come è avvenuto per la reazione nera in ambito scientifico internazionale e si consolidino progressivamente mentre lentamente –frenate da vincolo di fedeltà dottrina alla scuola di provenienza o da prudenza nell’accogliere il nuovo o da inerzia a favore della tradizione- si abbandonano le teorie falsificate anche se qualcosa, almeno a livello semantico non va mai perso del tutto.

Non è a caso che R. Fusari, cattedratico a Torino, allievo di Golgi a che a Golgi dedica il suo trattato di istologia uscito nel 1909 epoca in cui la maggioranza degli studiosi aveva sposato la teoria di Cajal³⁸ e in cui si introduce il termine di sinapsi, parla di cellule nervose come unità anatomiche³⁹. Ma, ancora nel 1948, non è a caso che P. Gomarasca apra il suo atlante del sistema nervoso con l’illustrazione del neurone, realizzata con la reazione nera, e subito dopo mostri nella successiva figura la rete diffusa di Golgi⁴⁰.

Sempre più vicino a noi, -celebrazione del paradigma dominante o retaggio di una dura recente contrapposizione?- vi è necessità di rimarcare agli studiosi due cose: prima la dottrina del neurone, componente singolo col quale è costruito l’intero cervello⁴¹; successivamente che le unità sovrastrutturali nervose sono una astrazione di modesto valore costruttivo e prive di valore funzionale⁴². Ciò associato, è interessante osservare come di nuovo, sia pure in un contesto completamente trasformato, si torni a parlare di sistema nervoso centrale come di un processore interattivo costituito da una *rete* neuronale discontinua⁴³.

Ma questo tema relativo alla diffusione, alla penetrazione e alla trasformazione delle nuove concezioni, non è più un argomento di metodologia, bensì di sociologia della conoscenza, così come l’invarianza semantica dei termini medici che trascina con sé nel tempo progressivi slittamenti concettuali non è più solo storia, ma è un affascinante argomento di archeologia linguistica.

³⁸ Assael BM, Avanzini G. Il male dell’anima. L’epilessia fra ‘800 e ‘900. Laterza, Roma-Bari 1997:137.

³⁹ Fusari R. Trattato elementare di istologia generale e di tecnica istologica. UTET, Torino 1909:286.

⁴⁰ Gomarasca P. Schemi anatomo-clinici del sistema nervoso. A. Corticelli, Milano 1948: 5.

⁴¹ Eccles JC. La conoscenza del cervello. Piccin, Padova 1976: 4.

⁴² Bairati A. Trattato di anatomia umana. Morfologia generale e sistematica dell’uomo, vol. 3. Sistema nervoso centrale. Minerva medica, Torino 1975: 95.

⁴³ Scarabino T, Duvernoy H, Rabischong P, Di Salle F, Salvolini U. Atlante morfo-funzionale del cervello. Idelson-Gnocchi, Napoli 2003: 5.

Bibliografia

1. Antiseri D. La grande svolta di Pasteur. *KOS* 2004; 226: 32-34
2. Assael BM, Avanzini G. Il male dell'anima. L'epilessia fra '800 e '900. Laterza, Roma-Bari 1997.
3. Bairati A. Trattato di anatomia umana. Morfologia generale e sistematica dell'uomo, vol. 3 Sistema nervoso centrale. Minerva medica, Torino 1975.
4. Baldini M. Filosofia e scienza. Armando, Roma 1998.
5. Bentivoglio M. Life and Discoveries of Santiago Ramón y Cajal. http://nobelprize.org/nobel_prizes/medicine/articles/cajal/index.html
6. Berlucchi G. Emilio Veratti and the king of the czarina. www.lincoi.it/pubblicazioni/rendicontiFMN/rol/pdf/S2002.04.02.pdf
7. Bernard C. Introduzione allo studio della medicina sperimentale. Piccin, Padova 1994.
8. Bloom W, Fawcett DW. Trattato di istologia. Piccin, Padova 1970.
9. Camillo Golgi <http://ppp.unipv.it/museo/Pagine/Medicina/Biografie/bGolgi.htm>
10. Camillo Golgi. In Storia della medicina, vol. 3. Fabbri editori, Milano 1964.
11. Camillo Golgi: The neuron doctrine - theory and facts. Nobel Lecture December 11, 1906 http://nobelprize.org/nobel_prizes/medicine/laureates/1906/golgi-lecture.html
12. Carlo Forlanini <http://ppp.unipv.it/museo/Pagine/Medicina/Biografie/bForla.htm>
13. Cimino G. Epistemologia: teoria, storia e prassi della scienza. Elementi di didattica. Le scienze della vita nell'ottocento. Università degli Studi di Roma Tor Vergata, Roma 2007.
14. Cosmacini G. L'arte lunga. Storia della medicina dall'antichità ad oggi. Laterza, Roma-Bari 1997.
15. Cosmacini G. Medici nella storia d'Italia. Laterza, Roma-Bari 1996.
16. Cosmacini G. Storia della medicina e della sanità in Italia. Laterza, Roma-Bari 1987.
17. Eccles JC. La conoscenza del cervello. Piccin, Padova 1976.
18. Fusari R. Trattato elementare di istologia generale e di tecnica istologica. UTET, Torino 1909.
19. Goldaniga G. Storia illustrata di Camillo Golgi. Edizioni Pro Loco, Corteno Golgi - Cooperativa di cultura "C. Golgi" Valle Canonica, Brescia 1997.
20. Gomasasca P. Schemi anatomo-clinici del sistema nervoso. A. Corticelli, Milano 1948.
21. Grmek M.D. AIDS Storia di una epidemia attuale. Laterza, Roma-Bari 1989.
22. History of Malaria Scientific Discoveries http://www.malariasite.com/malaria/history_science.htm
23. Lantéri-Laura G. Psiche e cervello. In Grmek M.D. (a cura di) Storia del pensiero medico occidentale. Vol. 3 Dall'età romantica alla medicina moderna. Laterza, Roma-Bari 1998.
24. Mazzarello P. Il Nobel dimenticato. La vita e la scienza di Camillo Golgi. Bollati Boringhieri, Torino 2006.
25. Mazzarello P. La scuola scientifica di Camillo Golgi. http://www.ci-sui.unibo.it/annali/07/testi/10Mazzarello_frameset.htm
26. Mazzarello P. Premi Nobel italiani. Camillo Golgi. http://brunelleschi.imss.fi.it/nobel/foto_testicritici/golgi/golgi3.jpg&imgrefurl=http://brunelleschi.imss.fi.it/nobel/inob.asp%3F%3D703844xsl=1
27. Murri A. Lezioni di clinica medica 1883-1884. Il lavoro editoriale Università degli Studi di Ancona, Facoltà di Medicina e Chirurgia 2001.
28. Ramon y Cajal S.: The structure and connexions of neurons http://nobelprize.org/nobel_prizes/medicine/laureates/1906/cajal-lecture.pdf
29. Rasori G. Teoria della flogosi. Ditta Angelo Bonfanti, Milano 1837.
30. Scarabino T, Duvernoy H, Rabischong P, Di Salle F, Salvolini U. Atlante morfo-funzionale del cervello. Idelson-Gnocchi, Napoli 2003.
31. Strumia A. Introduzione alla filosofie delle scienze. Edizioni Studio Domenicano, Bologna 1992.
32. Villa L. Medicina oggi. Aspetti di ordine scientifico, filosofico, etico-sociale. Piccin, Padova 1980.
33. Zandarotti Tiranini E. La luce nella mente. Eugenio Medea precursore della neuropsichiatria e riabilitazione infantile. Edizioni La Nostra Famiglia Ponte Lambro 2004.
34. Ziegler E. Trattato di anatomia patologica e patogenesi, II. Vincenzo Pasquale editore, Napoli 1884.
35. Murri A. Lezioni di clinica medica 1883-1884. Il lavoro editoriale Università degli Studi di Ancona, Facoltà di Medicina e Chirurgia 2001: 155.
36. Camillo Golgi. In Storia della medicina, vol. 3. Fabbri editori, Milano 1964: 530-532.
37. Ramon y Cajal S.: The structure and connexions of neurons. http://nobelprize.org/nobel_prizes/medicine/laureates/1906/cajal-lecture.pdf <http://nobelprize.org/nobel_prizes/medicine/laureates/1906/cajal-lecture.pdf> [marzo 2008].
38. Assael BM, Avanzini G. Il male dell'anima. L'epilessia fra '800 e '900. Laterza, Roma-Bari 1997:1-37.
39. Fusari R. Trattato elementare di istologia generale e di tecnica istologica. UTET, Torino 1909:286.
40. Gomasasca P. Schemi anatomo-clinici del sistema nervoso. A. Corticelli, Milano 1948: 5.
41. Eccles JC. La conoscenza del cervello. Piccin, Padova 1976: 4.
42. Bairati A. Trattato di anatomia umana. Morfologia generale e sistematica dell'uomo, vol. 3. Sistema nervoso centrale. Minerva medica, Torino 1975: 95.
43. Scarabino T, Duvernoy H, Rabischong P, Di Salle F, Salvolini U. Atlante morfo-funzionale del cervello. Idelson-Gnocchi, Napoli 2003: 5.

Costi del Trattamento del Carcinoma Gastrico in Stadio Avanzato

Economic Burden of Advanced Gastric Cancer

SIMONA RAVERA*, A FALCONE**

*Business Development – Health Economics. Roche S.p.A.

**Department of Oncology, Azienda USL6 of Livorno and University of Pisa, Livorno, Italy

Premessa Il carcinoma gastrico (CG) è il quarto tumore più frequentemente diagnosticato ed è la seconda causa di morte per neoplasia nel mondo. Poiché spesso la diagnosi è tardiva, vengono utilizzate cure con intento sintomatico o palliativo e la chemioterapia sistemica rappresenta quindi la principale opzione di trattamento. In Europa il regime chemioterapico prevalentemente utilizzato nella terapia della malattia avanzata comprende la combinazione 5-fluorouracile (5-FU)/cisplatino/antracicline, dove il 5-FU viene somministrato in infusione continua. Recentemente è stata autorizzata a livello europeo, in associazione a un composto a base di platino, anche la capecitabina, primo farmaco orale per il trattamento dello stadio avanzato di questo tumore. **Contributi** I dati presenti in letteratura sui costi del CG sono scarsi, spesso vecchi e incompleti. In generale, negli studi reperiti è stato messo in evidenza che i costi più elevati sono quelli correlati alle ospedalizzazioni. Uno studio giapponese del 2003 ha confrontato la terapia con una fluoropirimidina orale (TS-1) con quella infusionale a base di 5-FU, mettendo in luce che il risparmio era prevalentemente legato alla minore ospedalizzazione dei pazienti. Una valutazione economica molto recente, condotta secondo la prospettiva della Società italiana, ha evidenziato che l'uso di capecitabina orale al posto di 5-FU consente un risparmio in termini di costi diretti e indiretti in quanto riduce il numero di visite in ospedale legate alla somministrazione del farmaco e di conseguenza i costi di somministrazione per l'ospedale nell'ambito del Servizio Sanitario Nazionale, le spese di viaggio e la perdita di tempo e produttività per il paziente. **Conclusioni** Per poter valutare in modo completo i vantaggi associati a una terapia orale, servono ancora molti sforzi da parte di istituzioni, operatori sanitari e altre parti interessate per fornire ulteriori elementi che possano essere utilizzati dai diversi *decision maker* nella gestione del paziente oncologico.

Parole Indice Carcinoma Gastrico Avanzato. Costi. Chemioterapia

Introduction Gastric cancer (GC) is the fourth most diagnosed cancer and it is the second most common cause of cancer-related deaths worldwide. The most part of patients are diagnosed with advanced disease that is not amenable of curative resection and generally receive chemotherapy in order to obtain palliation of symptoms and improved survival. In Europe the most used chemotherapy regimen is based on 5-fluorouracil (5-FU)/cisplatin/ anthracycline combination, with 5-FU administered by continuous i.v. infusion. Recently capecitabine, an oral drug that mimics 5-FU activity, has obtained an authorization at European level for the first-line treatment of advanced gastric cancer, in combination with a platinum-based regimen. **Contribution** In literature there are few data on costs of GC and they are often old and incomplete. In general in available studies it has been highlighted that the highest costs are those related to hospital stay. A 2003 Japanese study compared oral TS-1 therapy with i.v. 5-FU, confirming that cost saving is related to less hospitalization of patients. A very recent economic evaluation, conducted from the point of view of Italian Society, demonstrated that oral capecitabine benefits advanced GC patients by reducing the number of infusion visits and time spent receiving treatment, and would produce significant direct and indirect cost savings for both Italian health service and society. **Conclusion** To completely assess the advantages of an oral therapy many efforts by health care institutions and providers are still needed to collect enough data that can be used by decision makers in the management of oncology patient.

Key Words Advanced Gastric Cancer. Costs. Chemotherapy

Il lavoro spetta in pari misura agli autori
All authors participated equally in this work

Indirizzo per la corrispondenza
Address for correspondence

Dott.ssa Simona Ravera
Roche S.p.A.
Viale G. B. Stucchi 110
Monza (MI) - Italy
e-mail: simona.ravera@roche.com

Il carcinoma gastrico (CG) è il quarto tumore più frequentemente diagnosticato ed è la seconda causa di morte per cancro nel mondo. È una neoplasia tipica dell'età medio-avanzata, con una tendenza all'aumento nei soggetti anziani, la cui incidenza e prognosi variano in base alle regioni geografiche considerate¹.

I tassi di incidenza più elevati si riscontrano in Giappone, Corea, Cina, Sud America ed Europa dell'Est, mentre quelli più bassi si ritrovano in Canada e negli Stati Uniti².

A livello mondiale, nel 2000, 880.000 individui hanno avuto una diagnosi di tumore gastrico e 650.000 pazienti sono morti per la malattia³.

In Europa si registrano circa 192.000 nuovi casi di CG ogni anno con un rapporto maschio:femmina di 1,6:1⁴.

In Italia, le neoplasie gastriche costituiscono la quarta causa di morte per tumore, nonostante la loro incidenza sia in diminuzione. Le stime per il nostro Paese indicano un totale di 12.833 nuovi casi per il 2007⁵. Esiste comunque un gradiente geografico nord-sud piuttosto spiccato, (il rischio è molto basso in tutte le regioni meridionali e insulari), con una concentrazione di aree ad alto rischio intorno al confine tra Toscana, Romagna, Marche e Umbria, e al confine tra Emilia e Lombardia. I tassi di incidenza forniti da numerosi Registri tumori confermano questo quadro⁶.

Nel periodo 1998-2002 il tumore allo stomaco è risultato al sesto posto, in termini di frequenza, fra le neoplasie diagnosticate nel sesso maschile (5,2% di tutti i tumori), e al quinto posto nel sesso femminile (4,5% di tutti i tumori).

In linea generale, e comunque nei casi di malattia in stadio iniziale o localizzata, la chirurgia rappresenta l'opzione terapeutica principale alla quale è possibile associare la radio e/o la chemioterapia a scopo adiuvante^{7,8}.

Nei Paesi occidentali la maggior parte dei pazienti con tumore gastrico viene diagnosticata quando il tumore è in stadio avanzato^{1,2,9} e, secondo stime AIOM (Associazione Italiana di Oncologia Medica), in Italia i pazienti diagnosticati in stadio avanzato sarebbero più del 60%⁶.

Un tumore avanzato è definito come un tumore che, alla diagnosi o in occasione della recidiva, presenta metastasi a distanza, oppure risulta localmente infiltrante, tale da non essere giudicato radicalmente operabile⁶.

Poiché spesso la diagnosi di carcinoma gastrico è tardiva, vi è l'impossibilità di applicare terapie con intento curativo ma solo di tipo sintomatico o palliativo.

Per i pazienti con malattia non operabile, perchè localmente avanzata o diffusa a livello metastatico, la chemioterapia sistemica rappresenta quindi la principale opzione di trattamento¹⁰.

Terapie attuali

Rispetto al suo utilizzo in monoterapia, dove i tassi di risposta sono solitamente inferiori al 20%, per terapie della durata di circa 4 mesi, il 5-fluorouracile (5-FU) usato in associazione ad altri chemioterapici ha fornito tassi di risposta più elevati nonostante gli esiti di trattamento risultino ancora insoddisfacenti⁹.

Le Linee Guida del *National Comprehensive Cancer Network* del 2006 affermano che diversi regimi possono essere utilizzati nella terapia di prima linea del carcinoma gastrico avanzato, anche se la combinazione di 5-FU con cisplatino è accettata da quasi tutte le Agenzie regolatorie come regime di riferimento².

Attualmente nel Regno Unito, in Canada e in Australia il 5-FU è usato prevalentemente in combinazione con epirubicina e cisplatino (schema ECF). Altri Paesi usano combinazioni di 5-FU con mitomicina e cisplatino (schema MCF) o con methotrexate e doxorubicina (schema FAMTX)¹¹.

Per quanto riguarda l'Italia, il trattamento chemioterapico del carcinoma gastrico rimane ancor oggi un problema aperto anche se vale quanto si osserva per l'Europa, ossia, viene utilizzata prevalentemente la combinazione 5-FU/cisplatino/antracicline. Nelle recenti linee guida dell'AIOM viene inoltre suggerito l'impiego dell'oxaliplatino in sostituzione del cisplatino, in considerazione della sovrapponibile efficacia e della minore tossicità⁶.

Tutte le tipologie di regime terapeutico sopra citate mostrano però dei limiti legati prevalentemente alla necessità di somministrare il 5-FU in infusione continua, imponendo al paziente l'uso di un accesso venoso centrale^{8,12-14}, a cui si associa il rischio di infezioni e trombosi, il regime di ricovero ordinario o di day-hospital, oppure l'impiego di una pompa infusoriale portatile da utilizzare continuamente, con conseguente riduzione della qualità di vita del paziente stesso.

Recentemente per capecitabina, fluoropirimidina disegnata per la somministrazione orale e capace di mimare l'infusione continua di 5-FU, è stata approvata dall'EMA (*European Agency for the Evaluation of Medicinal Products*) la nuova indicazione che prevede il suo utilizzo, in associazione a composti a base di platino, nel trattamento del carcinoma gastrico avanzato.

Capecitabina è il primo farmaco orale autorizzato in Europa per il trattamento di prima linea del CG avanzato. Tale molecola, assunta due volte al dì, viene assorbita immo-dificata a livello gastroenterico e successivamente convertita nel suo metabolita attivo. Questa biotrasformazione sequenziale enzimatica determina concentrazioni più elevate dell'agente citotossico all'interno delle cellule neoplastiche, rendendo così minima l'esposizione al farmaco dei tessuti sani.

Le stesse linee guida AIOM⁶ affermano che le fluoropirimidine orali possono sostituire il 5-FU, in considerazione della sovrapponibile attività e tollerabilità e del risparmio di accessi venosi centrali necessari per la somministrazione di 5-FU.

Costi legati alla gestione del carcinoma gastrico avanzato

La gestione di una malattia come il tumore è complicata e onerosa. Per determinare il peso economico e sociale di una patologia devono essere individuati e analizzati diversi tipi di costo: quelli diretti sanitari, legati alla gestione clinica della malattia, quelli diretti non sanitari correlati alle spese di viaggio, quelli indiretti e quelli intangibili legati rispettivamente alla perdita di produttività e alla riduzione della qualità di vita del paziente.

I dati presenti in letteratura sui costi del CG sono scarsi, spesso vecchi e incompleti.

I risultati dei pochi studi disponibili sono inoltre difficilmente confrontabili tra loro, a causa delle diverse metodologie impiegate per calcolare i costi.

Nel 1999 Elixhauser e colleghi¹⁵ hanno effettuato una revisione degli studi pubblicati che presentavano analisi economiche sul trattamento o sul *follow-up* di pazienti con carcinoma gastrico o pancreatico. Il costo del trattamento del carcinoma gastrico è risultato pari a 1,8 miliardi di dollari, che equivale all'1,3% del costo totale dei tumori negli U.S.A. Questo valore è in linea con quelli calcolati per altre malattie gastrointestinali come il tumore epatico (1.520 milioni di dollari) e quello pancreatico (1.370 dollari)¹⁶.

Un altro studio statunitense del 1993¹⁷ riporta, per la gestione del CG nei suoi differenti stadi, una spesa di 14.183 dollari per paziente da ascrivere ai costi diretti e di 1.296 dollari per i costi indiretti.

Una valutazione sui costi del trattamento del CG in Giappone condotta nel 2000 da Nishimura e colleghi¹⁸ ha mostrato che i costi che gli ospedali devono sostenere sono spesso alti a causa della elevata durata di degenza dei pazienti. Gli autori hanno infatti esaminato la variazione in termini di trattamento e costi per i pazienti con tumore gastrico negli ospedali giapponesi, rivelando che esiste una marcata differenza nella lunghezza della permanenza in ospedale, e quindi dei costi, determinata dal fatto che la malattia risulti o meno controllata.

Iijima e colleghi¹⁹ hanno confrontato i costi sanitari con il livello di rimborso e la lunghezza della permanenza in ospedale per i pazienti con carcinoma gastrico. Sono stati analizzati 158 pazienti in totale sottoposti a intervento chirurgico in un ospedale pubblico di Tokyo tra il 1995 e il 1997.

La durata media di degenza è stata di 52 giorni, con un costo medio di 2.034.000 yen. Anche in questo caso è sta-

ta rilevata un'alta correlazione tra il costo della gestione sanitaria e la durata della permanenza in ospedale.

In un'analisi di costo-efficacia del 1995, Glimelius e colleghi²⁰ hanno pianificato un trial controllato in cui 61 pazienti con tumore gastrointestinale non operabile (18 con carcinoma gastrico, 22 con carcinoma pancreatico o biliare e 21 con carcinoma coloretale) sono stati randomizzati a chemioterapia + *best supportive care* e a *best supportive care* soltanto. La chemioterapia comprendeva il regime ELF (etoposide, Leucovorin, 5-FU) per i pazienti con tumore gastrico con più di 60 anni, mentre tutti gli altri pazienti venivano trattati con 5-FU/Leucovorin. Per ciascun paziente sono state registrate tutte le prestazioni mediche, a eccezione dei farmaci prescritti per malattie concomitanti. I costi sono stati suddivisi in 6 classi (farmaci citostatici e somministrazione degli stessi, trattamento con radioterapia, chirurgia, visite ambulatoriali e ospedalizzazione) e calcolati in corone svedesi (valore del 1992). Come risultato è stato trovato che il costo medio per tutte le prestazioni sanitarie è stato del 50% circa superiore nel gruppo che faceva chemioterapia primaria rispetto a quello trattato con la *best supportive care* (143.100 vs 96.600 corone svedesi per paziente, rispettivamente), in seguito ai maggiori costi legati alla chemioterapia ma anche alla maggiore sopravvivenza. I costi per l'ospedalizzazione sono risultati quelli con maggior peso sui costi totali in entrambi i gruppi trattati.

Più recentemente Tanaka e colleghi²¹ hanno valutato l'impatto economico della TS-1 (una fluoropirimidina orale) nel trattamento del tumore gastrico e l'hanno confrontato con quello di una chemioterapia convenzionale. I costi sanitari mensili per 13 pazienti che avevano ricevuto TS-1 sono stati pari a 327.640 yen rispetto agli 852.874 yen per i 10 pazienti che erano stati sottoposti a chemioterapia convenzionale. I costi sanitari sono risultati ridotti in quanto la TS-1 è una preparazione orale che non deve essere somministrata in ospedale.

Il vantaggio di utilizzare una chemioterapia orale rispetto a una infusione è stato messo in evidenza anche in una recentissima analisi di minimizzazione dei costi²², presentata al Congresso ASCO (*American Society of Clinical Oncology*) 2007 e al Congresso ISPOR (*International Society for Pharmacoeconomics and Outcomes Research*) 2007, condotta dal punto di vista dell'ospedale, nell'ambito del Servizio Sanitario Nazionale (SSN) e della Società nel suo complesso, ed effettuata al fine di confrontare i costi delle due terapie capecitabina/cisplatino vs 5-FU/cisplatino in Italia.

L'analisi economica è stata condotta a partire dai risultati dello studio clinico registrativo ML17032, che ha dimostrato non inferiorità in termini di sopravvivenza libera da progressione e sopravvivenza complessiva, tra la combinazione capecitabina/cisplatino (XP) e 5-FU/cisplatino (FP) in pazienti affetti da carcinoma gastrico avanzato/metastatico.

L'orizzonte temporale dell'analisi è stato di 6 mesi.

Sono stati stimati i costi diretti sanitari (dosaggio effettivo e numero di somministrazioni di chemioterapia, frequenza e gestione di eventuali eventi avversi) e non sanitari (spese di viaggio del paziente per raggiungere l'ospedale), correlati ai due diversi regimi terapeutici sulla base del consumo di risorse derivante dallo studio clinico. Sono stati inoltre stimati i costi indiretti, correlati alla perdita di produttività per il paziente, calcolata sulla base dei dati del Ministero dell'Economia e della Finanze che riportano uno stipendio/ora medio di 13,1.

I pazienti nel braccio XP hanno ricevuto in media 5,2 cicli di terapia vs i 4,6 cicli di FP. La sostituzione di 5-FU infusione con capecitabina orale ha comportato una riduzione del numero di visite in ospedale pari a 17,6 (22,8 per FP vs 5,2 per XP).

I costi dei farmaci chemioterapici sono risultati essere maggiori di 1.200 nel braccio XP, dove tuttavia i costi di somministrazione della terapia sono risultati inferiori di 2.900, portando a un risparmio netto di 1.700 per paziente.

I profili relativi agli eventi avversi sono risultati simili nei due bracci: i costi necessari per trattare eventi avversi gravi (grado 3 e 4) sono risultati più bassi nel braccio XP.

A causa del numero maggiore di visite (17,6) in ospedale, legate alla somministrazione del farmaco in infusione, per i pazienti nel braccio FP si sono avute spese di viaggio più alte (differenza media di 379,80/paziente a favore dei soggetti trattati con capecitabina) e maggiore perdita di tempo e produttività con conseguente innalzamento dei costi indiretti (risparmio in termini di tempo e produttività pari a 2.264,21 a vantaggio dei pazienti nel braccio XP).

Nel complesso, considerando costi diretti e indiretti, si è ottenuto un risparmio netto totale, per paziente trattato con capecitabina/cisplatino, pari a 4.302, secondo la prospettiva più ampia che è quella della Società.

Dai risultati complessivi dello studio si può concludere che l'uso di capecitabina orale determina un beneficio per i pazienti con carcinoma gastrico avanzato in quanto riduce il numero di visite e il tempo utilizzato per ricevere il trattamento e determina un risparmio per il Servizio Sanitario italiano.

Dato infine il trend di maggiore efficacia di XP (derivante dai dati clinici dello studio ML17032), il risparmio previsto in termini di costi diretti e indiretti e la maggior praticità del trattamento orale, il regime capecitabina/cisplatino potrebbe essere considerato dominante (meno costoso e più efficace) rispetto a FP, nella terapia del carcinoma gastrico avanzato, da entrambi i punti di vista: SSN e Società nel suo complesso.

Discussione e Conclusioni

Nella maggior parte dei regimi a base di 5-FU, quest'ultimo viene somministrato in infusione continua e per l'infusione protratta sono necessari cateteri e pompe che richiedono frequenti visite in day-hospital/ambulatorio o addirittura ricovero, e che possono causare infezioni o complicanze al paziente. Tutti questi fattori determinano un aumento della morbilità e una bassa *compliance* al trattamento.

La disponibilità di una terapia orale, che può essere somministrata a domicilio, rappresenta un'alternativa più pratica per i pazienti e più conveniente, in termini di spesa, per il Servizio Sanitario stesso, rispetto alla somministrazione infusione.

Come emerge dagli studi sopra citati, un trattamento orale consente un significativo risparmio per la Società: per l'ospedale, e di conseguenza per l'SSN, si ha una riduzione dei costi legati al ricovero, alla preparazione e alla somministrazione del farmaco. Per il paziente una terapia orale significa una riduzione dei costi di trasferimento dalla propria abitazione al centro ospedaliero e non solo. La qualità di vita del paziente migliora, non soltanto in funzione dei disagi evitati (meno ricoveri e visite), ma soprattutto in funzione della riduzione degli aspetti psicologici negativi legati alla terapia infusione, anche quando quest'ultima impone l'utilizzo di una pompa infusione portatile che purtroppo risulta poco pratica per il paziente, vincolato in modo continuativo al dispositivo.

La somministrazione orale permette infine una migliore aderenza alla terapia e aumenta la praticità e la convenienza d'uso a favore dei pazienti. È stato infatti provato che la maggior parte dei pazienti preferisce la terapia orale a quella infusione, a parità di efficacia²³.

Per poter valutare in modo completo i vantaggi associati a una terapia orale, servono, tuttavia, ancora molti sforzi da parte di istituzioni, operatori sanitari e altre parti interessate per raccogliere i dati necessari a fornire ulteriori elementi che possano essere utilizzati dai diversi *decision maker* nella gestione del paziente oncologico.

Bibliografia

1. Plummer M, Franceschi S, Munoz N. Epidemiology of gastric cancer. IARC Sci Pub. 2004;(157):311-326.
2. Ajani, 2005 - Ajani JA. Evolving chemotherapy for advanced gastric cancer. *Oncologist*. 2005;10(suppl 3):49-58.
3. Crew KD, Neugut AI. Epidemiology of gastric cancer. *World J Gastroenterol*. 2006 Jan 21;12(3):354-62.
4. Catalano V, La Bianca R, Beretta GD, Gatta G, de Braud F, Van Cutsem E. Gastric cancer. *Oncology Hematology* 2005; 54:209-241.
5. Registro Tumori in Italia - Reparto Epidemiologia dei Tumori del Centro Nazionale di Epidemiologia Sorveglianza e Promozione della Salute dell'ISS.
6. Linee Guida AIOM (Associazione Italiana di Oncologia Medica). Neoplasie dello stomaco. Aggiornamento dicembre 2006.

7. Chu E, Mota AC, Fogarasi MC. Antimetabolites. In: *Cancer, Principles and Practice of Oncology*, 6th edition.
8. DeVita VT, Hellman S, Rosenberg SA (eds). *Cancer, Principles and Practice of Oncology*, Sixth Edition. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2001; 388-415.
9. Schipper DL, Wagener DJ. Chemotherapy of gastric cancer. *Anticancer Drugs*. 1996;7:137-149.
10. Wagner A. D., Grothe W., Haerting J., Kleber G., Grothey A, and FleigWagner W. E. Chemotherapy in Advanced Gastric Cancer: A Systematic Review and Meta-Analysis Based on Aggregate Data. *J Clin Oncol* 24:2903-2909.
11. Sumpter K, Harper-Wynne C, Cunningham D, Rao S, Tebbutt N, Norman AR, Ward C, Iveson T, Nicolson M, Hickish T, Hill M, Oates J. Sumpter et al. Report of two protocol planned interim analyses in a randomised multicentre phase III study comparing capecitabine with fluorouracil and oxaliplatin with cisplatin in patients with advanced oesophago-gastric cancer receiving ECF.B. *J. Cancer* 2005; 92(11):1976-83.
12. Chu E, Mota AC, Fogarasi MC. Antimetabolites. In: *Cancer, Principles and Practice of Oncology*, 6th edition.
13. Rougier P, Ducreux M, Mahjoubi M, Pignon JP, Bellefqih S, Oliveira J, et al. Efficacy of combined 5-fluorouracil and cisplatin in advanced gastric carcinomas. A phase II trial with prognostic factor analysis. *Eur J Cancer*. 1994; 30A(9):1263-1269.
14. Lacave AJ, Baron FJ, Anton LM, Estrada E, De Sande LM, Palacio I, et al. Combination chemotherapy with cisplatin and 5-fluorouracil 5-day infusion in the therapy of advanced gastric cancer: a phase II trial. *Ann Oncol*. 1991 Nov-Dec;2(10):751-754.)
15. Elixhauser A, Halpern MT: Economic evaluations of gastric and pancreatic cancer. *Hepatogastroenterology* (1999) 46:1206-1213.
16. Adis International, *Pharmacoeconomics and Outcomes News*, August 11, 2001 n. 325.
17. Decision Resources (Dbase), *Cancer costs in 7 countries*, Report, 1993.
18. Nishimura Y, Mitsutake N, Nakanishi S, Konishi T: Cost analysis of stomach cancer treatment in Japanese hospitals. *Gan To Kagaku Ryoho* (2000) 27:1360-1368.
19. Iijima S, Fukuda T, Kobayasi Y, Tamura Y: Resource utilization of gastric cancer patients aggregated item-by-item and comparison of the medical costs with the reimbursement level and length of hospital stay. *Nippon Koshu Eisei Zasshi* (2003) 50:314-324.
20. Glimelius B, Hoffman K, Graf W et al.: Cost-effectiveness of palliative chemotherapy in advanced gastrointestinal cancer. *Ann. Oncol.* (1995) 6:267-274.
21. Tanaka K, Kaetsu T, Suzuki S et al.: Pharmacoeconomic study of chemotherapy for gastric cancer: analysis of medical costs for oral fluoropyrimidine TS-1 and conventional i.v. therapy. *Gan To Kagaku Ryoho* (2003) 30:73-80.
22. Garrison L, Cirrincione A, Giuliani G. An Economic Evaluation of the Cost of Treating Advanced Gastric Cancer (AGC) with Capecitabine/Cisplatin (XP) vs. 5-FU/Cisplatin (FP) Regimens in an Italian Setting. *ISPOR 12th Annual International Meeting*; May 19-23, 2007, Arlington, USA.
23. Liu G, Franssen E, Fitch MI, Warner E. Patient preferences for oral versus intravenous palliative chemotherapy. *J Clin Oncol*. 1997;15: 110-115.

Scelte sulla Vita. L'Esperienza di Cura nei Reparti di Terapia Intensiva

BERTOLINI G (a cura di)

Guerini, Milano 2007

Il reparto di terapia intensiva è oggi sicuramente il luogo dove tecnica, medicina ed etica si pongono reciprocamente gli interrogativi più urgenti e dolorosi. Qui non si prestano semplicemente delle cure, ma si cerca di strappare alla morte il malato, in una lotta che solo nelle *fiction* assume toni epici, perché nella realtà si mostra come un miscuglio di desiderio di vivere, bisogno di compassione, fatica quotidiana e angoscioso senso del limite.

Il volume, curato da Guido Bertolini, responsabile del Laboratorio di Epidemiologia clinica all'Istituto di Ricerche Farmacologiche "Mario Negri" di Bergamo, è il frutto di una ricerca curata dal gruppo GiViTi (Gruppo Italiano per la Valutazione degli Interventi in Terapia Intensiva), attivo dal 1991. Obiettivo del gruppo di ricerca, cui aderiscono 320 terapie intensive italiane, è realizzare progetti per potenziare le conoscenze disponibili per il trattamento dei pazienti critici, in modo da migliorare effettivamente il processo di cura.

Sono qui raccolti i principali risultati di uno studio sui processi decisionali relativi alla fine della vita, condotto nel 2005. La novità dello studio sta nell'aver intrecciato in un unico progetto due approcci metodologici: una ricerca epidemiologica, con dati raccolti in 84 terapie intensive italiane, assieme a una ricerca qualitativa svolta in 6 reparti di terapia intensiva.

La ricerca epidemiologica, illustrata da Simona Boffelli e Guido Bertolini, ha coinvolto circa 3600 pazienti. Si è avvalsa della somministrazione al personale sanitario di un questionario, volto a esplorare vari aspetti: la capacità di consenso informato da parte del paziente; le decisioni prese nei momenti precedenti al decesso, il livello di vicinanza dei familiari e il loro coinvolgimento nelle decisioni, infine l'eventuale processo connesso alla donazione degli organi.

La ricerca qualitativa si è avvalsa del metodo della "clinica della formazione", attraverso tre incontri di gruppo, dove medici e infermieri sono stati invitati a individuare le aree di criticità della terapia intensiva e a riflettere su di esse, a partire dalla propria esperienza.

Dall'emergere dei diversi vissuti, affiora tutta la complessità di un ambito ad elevato livello di tensione e di responsabilità, dove da un lato vi è la solitudine del malato

–nel caso sia cosciente–, il mutato rapporto con la propria corporeità e una particolare percezione del tempo. Dall'altro vi è il bisogno di informazione e di condivisione da parte dei familiari, spesso disorientati o sospesi tra la fiducia e il sospetto nei confronti della medicina. Infine, vi è il carico di responsabilità del personale sanitario, che si trova spesso a prendere decisioni in situazioni di confine, dove la scelta è "tra grigio e grigio", per usare l'espressione di P. Ricoeur, in un andirivieni di dubbi e di domande. In questo sforzo di deliberazione, osserva giustamente Ivo Lizzola, che "occorre distinguere bene le domande circa la correttezza da quelle circa l'appropriatezza, dalle domande circa senso e valore" (p. 118). D'altra parte, è chiaro che nelle decisioni prese in coscienza e con coscienza le une sono inseparabili dalle altre, per cui risulta ineludibile non solo il richiamo all'etica, ma la questione stessa del bene del paziente.

Il contenuto dei saggi è, dunque, pratico e toccante, proprio per il carattere esperienziale dell'indagine. Desta forti perplessità, invece, il saggio conclusivo di G. R. Gristina, che sembra persino in contrasto con molti dati forniti dagli altri autori nelle pagine precedenti. Sorprende tra l'altro che tra i documenti citati non appaia nessun testo emanato in materia dal Comitato Nazionale per la Bioetica, come, ad esempio, quello di giugno 2002 sul testamento biologico. Pur senza voler presentare una soluzione definitiva, l'autore fa appello al diritto di morire, come espressione di autodeterminazione soggettiva e, prendendo le distanze dal principio di indisponibilità della vita umana, afferma che non esiste la distinzione tra trattamenti ordinari e straordinari, ma solo tra trattamenti utili e inutili (p. 249). Invece è proprio il principio di indisponibilità della vita umana a tutelare il paziente dai rischi di un paradigma basato solo sul calcolo costi/benefici. L'appello conclusivo a introdurre l'etica nelle scuole di specializzazione del personale sanitario suona condivisibile, ma non è sufficiente. L'etica risulta fragile, senza un'adeguata concezione della dignità della persona, che precede la sua autonomia.

Maria Teresa Russo

This book is a collection of essays, which are the result of work carried out by the Italian Group for the Evaluation of Intensive Care. The aims of this research group is to expand the knowledge available for the treatment of critically ill patients in order to improve the care process.

Vissuti di Cura. Competenze Emotive e Formazione nelle Professioni Sanitarie

D BRUZZONE, ELISABETTA MUSI

Guerini, Milano 2007

La nostra cultura si caratterizza per una crescente attenzione nei confronti della sensibilità e delle emozioni. Espressioni come intelligenza emotiva, empatia, gestione dei sentimenti, si ritrovano sempre più di frequente nei testi dedicati ai temi dell'educazione e della cura. Tradizionalmente attribuite all'indole femminile, queste competenze risultano preziose in un'epoca che rischia di conseguire alti livelli di prestazioni tecniche al prezzo di un'evidente impersonalità delle relazioni. La contraddizione è innegabile: da una parte si richiede e si promuove una maggiore risonanza alle tonalità affettive della vita, dall'altra si cade sempre più spesso nella cosiddetta "freddezza emozionale", come a limitare i danni collaterali che una sensibilità troppo acuta potrebbe provocare.

Questa preoccupazione giustifica l'abbondanza della bibliografia recente su tali questioni, che tuttavia rischia il più delle volte una certa banalizzazione, dovuta a scarso rigore metodologico, ma soprattutto all'assenza di fondazione antropologica. Non guasta, dunque, una maggiore consapevolezza, frutto di una riflessione più attenta a cogliere sfumature e implicazioni. È il caso del volume *Vissuti di cura. Competenze emotive e formazione nelle professioni sanitarie*, curato da Daniele Bruzzone ed Elisabetta Musi, entrambi docenti di Pedagogia presso l'Università Cattolica del Sacro Cuore. Il volume è il risultato del percorso formativo del Master in "Relazioni e sentimenti nelle professioni educative e di cura, attivo presso l'Università Cattolica di Piacenza dall'anno accademico 2004-2005. Come è illustrato nella prefazione da Vanni Iori, direttrice del Master, scopo del percorso è stato fornire "consapevolezze condivise sul valore della vita emotiva nelle professioni di cura, strumenti comuni per riflettere sulle tonalità emotive che si accompagnano alla malattia e alla salute, per rischiare zone d'ombra, per lasciare affiorare la fragilità e la forza di cui è intessuta la professionalità sanitaria" (p. 10). Ne è risultato un testo che si avvale di diversi contributi, dove la prospettiva pedagogica si unisce a quella più squisitamente sanitaria, per analizzare da punti di vista diversi questi aspetti del prendersi cura.

La prima parte del volume costituisce un'introduzione di carattere generale sulla vita emotiva e la possibilità di darle espressione. Si passa dal taccuino poetico di Vittoria Mamoli, che dà voce a una lettura sentimentale della quotidianità di

un reparto di riabilitazione, all'analisi che Isabella Casadio conduce riguardo al valore della narrazione, che consente di riflettere sul vissuto e di trasformarlo così in esperienza. Di pratica della narrazione, ci offre un esempio Cristina Veroni, partendo dalla sua esperienza infermieristica in un laboratorio di radioterapia, dove la freddezza della tecnica reclama a gran voce il calore del rapporto affettivo. Alessandra Augelli, Phd in Pedagogia, nel saggio *Narrare e ascoltare: per una poiesis nei luoghi di cura*, illustra il valore del metodo autobiografico come strumento di ascolto dell'alterità e di conoscenza di se stessi, particolarmente prezioso quando è necessaria un'elaborazione della propria malattia.

La seconda parte del volume, con i contributi di Giuliana Masera, Micaela Filippini, Nicoletta Vinsani, Antonella Gioia e Daniele Bruzzone, è dedicata all'etica della cura nelle professioni sanitarie, con approfondimenti sulla professionalità infermieristica, dove convergono la preparazione tecnica, la competenza emotiva e la responsabilità di carattere etico. Infine, la parte terza approfondisce la questione in prospettiva pedagogica, illustrando possibili percorsi di educazione delle capacità emotive, anche attraverso il ruolo del tutor e le pratiche di gruppi di lavoro.

Dai diversi contributi emerge tutta la complessità della vita emotiva, particolarmente messa alla prova dalla malattia. Tanto chi soffre come chi cura il sofferente è sollecitato a un'elaborazione delle proprie esperienze che chiama in causa non solo l'intelligenza e la volontà, ma anche la sensibilità e l'affettività. Forse proprio per questo, nell'analisi proposta sarebbe stata auspicabile una più estesa riflessione antropologica. Tutto sommato, la necessaria domanda posta da uno degli autori, *È possibile un'etica della cura senza principi universali?*, resta priva di una risposta adeguatamente argomentata. Non è, infatti, possibile rispondere alla domanda sui principi, o meglio sul bene umano, senza prima rispondere alla domanda sulla natura dell'uomo.

Maria Teresa Russo

The subject matter of this book is the education of emotional skills in the health professions. The book is divided in two parts, the first one is a more general introduction on emotional life and its possible expressions; the second one is devoted to the ethics of treatment in health care profession. Although this topic is tackled with methodological rigour it lacks a more extensive anthropological reflection which should instead form the basis of such topic.

Paziente e Medico. Fenomenologia e Prassi della Relazione Terapeutica

CAZZULLO C, POTERZIO F

CIC Edizioni Internazionali, Roma 2007

Il saggio, che verte su una questione molto frequentata dalla letteratura medica, spicca per una caratteristica che lo rende in qualche modo originale e nuovo: gli autori, entrambi psichiatri, espongono i risultati di un sapere non elaborato a tavolino, ma maturato -in particolare per il prof. Cazzullo, grazie a una lunga esperienza accademica e clinica. Non va dimenticato che la medicina in tutte le sue specializzazioni deve soprattutto alla psichiatria i contributi più significativi per quanto riguarda il rapporto paziente-medico. Alla conoscenza specifica dell'uomo e del funzionamento della mente umana, gli autori aggiungono una cospicua informazione sedimentata durante molti anni di pratica medica attenta ai movimenti affettivi e alle emozioni che si destano di fronte alla malattia e alle parole che paziente e medico si dicono.

La teoria che sostiene l'ampio spazio dedicato nel libro alle esemplificazioni cliniche del rapporto paziente-medico nelle situazioni più problematiche, si può riassumere nel criterio sostenuto da M. Balint, per il quale il primo farmaco è il medico. Da qui una medicina orientata sul malato e non soltanto sulla malattia, che esige dal medico una competenza umana ed esperienziale accanto alla competenza tecnica necessaria a ben diagnosticare e a ben curare. La medicina, non mancano di ricordare gli autori, è una scienza applicata all'uomo in tutta la sua dignità di persona nell'inscindibile contesto somatopsichico che lo contraddistingue.

Nel rapportarsi al paziente -ricorda P.L. Scapicchio nella sua presentazione- il medico deve prestare attenzione a tanti particolari: sapere quello che fa, perché lo fa e come lo fa, chi è il soggetto-oggetto della sua azione, quali obiettivi egli può realisticamente proporsi e quale deve essere la gestione dei problemi diagnostici, terapeutici, organizzativi, umani e interpersonali, che si esprimono sempre con modalità diverse da paziente a paziente. Infatti, la reazione all'evento morboso è un fenomeno strutturalmente individuale che si intreccia inscindibilmente con i sintomi manifesti dell'affezione. Tre sono i più importanti campi di conoscenza che medico e paziente, in misura e modi diversi, sono chiamati ad esplorare: a) una conoscenza più approfondita di quel determinato paziente; b) una conoscenza più precisa di quella determinata ma-

lattia; c) una conoscenza più esaustiva delle ripercussioni della malattia sul paziente e, spesso, sul suo ambiente familiare e sociale,

Il volume è diviso in tre parti, La prima è dedicata alla relazione del paziente con il medico, "luogo dove il 'sapere' scientifico del medico viene travasato nella realtà particolare e specifica di quel determinato paziente", caratterizzata dall'asimmetria, intimità, apertura a movimenti affettivi, significatività, flessibilità (vedi cap. 1). Nel secondo capitolo sono indicati gli strumenti della comunicazione: le parole, i simboli, i segni, il corpo, attraverso il sistema di comunicazione extra verbale. Per facilitare la raccolta dei dati nell'avvio del primo colloquio, sulla base di studi del prof. Cazzullo, viene suggerito di invitare il paziente a disegnare in libertà, consentendogli così di mantenere una certa privacy e di offrirsi in modo coperto al medico.

Nel terzo capitolo, "parole e farmaci", viene data particolare attenzione al colloquio intorno alla salute e alla persona del paziente: obiettivi, caratteristiche (direttivo, semidirettivo, non direttivo), funzioni (in primo luogo psicoterapeutica), presupposti (empatia, rispetto, interesse, professionalità, linguaggio, flessibilità, reciprocità, ecc.). Vengono segnalati anche alcuni problemi che potrebbero compromettere il raggiungimento delle necessarie mete conoscitive (simulazione, compiacenza, competitività, collusione, resistenze, manipolazione) e messa in risalto l'attenzione da dare alla fase conclusiva del colloquio. Per quanto riguarda i farmaci viene ricordato dagli autori che l'avvento degli psicofarmaci, in particolare gli antipsicotici, ha profondamente cambiato il rapporto medico-farmaco-paziente. Questo non è più unilaterale, come quando il medicamento era totalmente nelle mani del medico, ma chiama direttamente in causa il paziente, che collabora attivamente nei confronti dei medicinali prescritti: "il farmaco diviene oggi un personaggio attivo nella relazione medico-paziente-malattia dal quale non si può prescindere nello studio dell'intera dinamica della terapia e anche della fenomenologia delle relazioni sociali. La congiunzione farmacoterapia e psicoterapia conferma la necessaria utilità della intercomunicazione medico-malato, soprattutto nelle fasi precoci della malattia. La prima è spesso rimedio di urgenza; la seconda garanzia del rapporto consensuale, concorde e stabilizzato dei due interlocutori".

La parte seconda, "le esemplificazioni" è la più lunga e originale, dedicata -nel capitolo 4- all'esposizione delle particolari caratteristiche del rapporto paziente-medico

in alcune situazioni particolari la cui elencazione da sola fa capire il valore pratico del libro: disturbi di ansia, depressione, tentativo di suicidio, schizofrenia, disturbi del comportamento alimentare, sclerosi multipla, epilessia, malattia di Alzheimer, in oncologia, in neurochirurgia, in psicoterapia, nel contesto della perizia, di fronte alla morte del paziente, di fronte alla morte del medico curante, il rapporto medico-medico, i gruppi Balint. Il capitolo 5 si sofferma sul rapporto medico-paziente nelle situazioni di urgenza.

La parte terza è dedicata agli aspetti comunitari del rapporto paziente-medico: il ruolo della famiglia, dell'accompagnatore (*caregiver*), degli operatori sanitari, in particolare degli infermieri nel caso dei pazienti ricoverati (capitolo 6). Nell'ultimo capitolo, 7, "Nuove prospettive", si dedica un breve paragrafo ad "alcuni aspetti etici": sono

presenti generiche considerazioni sul consenso informato, sulla comunicazione della verità al paziente e sulla confidenzialità dei dati. Troppo poco a paragone dei temi trattati nel libro. Sarebbe stato auspicabile un maggiore approfondimento, proprio perchè il rapporto paziente-medico è, in tutti i suoi aspetti, intriso di eticità.

Michelangelo Peláez

The authors of this book, two psychiatrists, have put in this book a lot of their professional experience. Medical sciences owe significant contributions to psychiatry in the study of the doctor-patient relationship. Nevertheless a further insight on certain ethical aspects should have been desirable as this specific issue is permeated with ethics.

La Sfida della Bioetica. La Vita, la Libertà e la Difesa della Dignità Umana

Life, Liberty, and the Defense of Dignity: the Challenge for Bioethics

KASS LR

Lindau, Torino 2007

Leon R. Kass, medico di fama internazionale per le sue pubblicazioni e per il lavoro svolto nel campo della bioetica, è uno dei fondatori del *Hastings Center* ed è stato presidente per cinque anni del *President's Council on Bioethics*. In *La sfida della bioetica* raccoglie le sue riflessioni che sono frutto di un confronto decennale con le tematiche concernenti la vita umana e la sua tutela, in un paese liberale e tecnologicamente all'avanguardia come gli Stati Uniti. Una prosa fluida e coinvolgente conduce il lettore attraverso i temi più scottanti con cui la bioetica si deve cimentare oggi. *Siamo già infatti immersi per intero in quel bagno che si riscalda così impercettibilmente che non si sa quando urlare* (pagg. 189 e 278): questa è la situazione a cui l'autore fa ripetutamente riferimento, parafrasando un testo di Bertrand Russell.

Il libro, pubblicato in lingua originale nel 2002, si articola in tre parti. La prima evidenzia l'esigenza di una bioetica più ricca, a fronte di una tecnologia che in una democrazia liberale come quella statunitense può trasformare un "problema" in una "tragedia" per l'uomo. Nella seconda parte l'autore passa in rassegna le sfide etiche che sorgono dalle applicazioni della scienza e della tecnologia biomedica alla vita umana. Dalla prospettiva di immortalità e di una esistenza senza sofferenza che ci sembrano offrire, appare inquietante il destino delle future generazioni, dell'identità e della dignità del corpo umano, il trattamento che potrebbe essere riservato a quanti stanno per morire o più ancora la relazione con quanti, per le ragioni che siano (cloni, persone in stato vegetativo, poveri in cerca di denaro) possono essere potenziali donatori di organi. La terza parte infine sviluppa la tesi –sintetizzata nel titolo del libro– per cui la principale sfida della nuova biologia non proviene tanto dalla biotecnologia che cerca e promuove quanto dal pensiero che sottende, *in un approccio "oggettivante" alla vita che non rende giustizia al suo soggetto* (introduzione dell'autore, pag. 39). L'esigenza di recuperare il concetto di dignità umana –*che tanto per cominciare non è un'idea democratica* (ibidem, pag. 27)– come punto di riferimento reale e pertanto universalmente condivisibile, è in fine il messaggio che l'autore vuole trasmettere.

La trattazione di tutte queste tematiche scorre senza toni apocalittici, né si muove sullo sfondo di una visione oscurantista della vita e della storia umana, ma emerge da uno sguardo profondo e responsabile nei confronti delle implicazioni mediche ed etiche dell'innovazione biomedica dei nostri tempi. Il principio di autonomia e di giustizia, come inteso nella politica liberale americana, non sembrano avere più risposte da fornirci rispetto ai rischi della disumanizzazione del *mondo nuovo* (quasi profeticamente descritto da Huxley già nel 1932). La possibilità dell'allevamento di embrioni umani in laboratorio e dell'ectogenesi, le maternità surrogate, la clonazione, il diritto a morire o la vendita di organi sembrano infatti prospettive che stanno completamente a loro agio con quel tipo di morale. Il miraggio di una vita perfetta e senza dolore e il brindare ad ogni forma di progresso che migliori senza alcuna limitazione la nostra genetica, non fanno altro che rendere tragicamente evidente il rischio che stiamo correndo: sorpassare l'ultima frontiera della biotecnologia, attraverso il dominio della natura umana.

Se è vero come è vero che la bioetica è entrata a far parte dell'*establishment*, non solo di ospedali o università, ma anche di aziende e di catene di produzione televisiva, è urgente la necessità di recuperare un'etica capace di far fronte alle possibilità di azione sulla vita umana che stanno aumentando rapidissimamente. Dietro a temi che nuovi non sono, emergono infatti interrogativi pratici diversi. Con un grande realismo e una visione serena delle potenzialità insite nella natura sociale e nella capacità dell'uomo di coltivare valori che gli garantiscano una esistenza veramente umana, l'autore auspica che la *famiglia* e varie *strutture e istituzioni di mediazione* tornino a farsi carico di un ruolo educativo insostituibile per le nuove generazioni (cfr. pag. 109): di fronte alla sconcertante rapidità del progresso e alla spinta ormai diffusa verso un progresso senza etica, occorre *permettere alle più profonde intuizioni della mente di incarnarsi nelle più nobili abitudini del cuore*. Se il buon senso e una certa sensibilità appartengano intimamente alla nostra natura umana, occorre far riemergere riferimenti assiologici forti, e rinforzare una moralità che uscendo dagli orizzonti ristretti dell'individualismo e utilitarismo risvegli in ciascuno una più chiara responsabilità pubblica, sociale, professionale e personale.

Il desiderio di prendere in considerazione il significato e l'importanza delle varie proposte presenti nelle politiche

e nelle culture contemporanee, nonché il grande rispetto per quanto di veramente umano è presente in ciascuna, giustifica una trattazione non sistematica di alcuni aspetti più delicati della bioetica. Probabilmente per non pretendere di arrivare a motivazioni fondanti rispetto alle conclusioni, le argomentazioni addotte nell'analisi delle stesse non sempre risultano concludenti e univoche. Il giudizio morale viene spesso espresso in prima persona lasciando aperti interrogativi. Un esempio ne è la questione inerente al trattamento da riservare alle blastocisti, ultimo stadio dello sviluppo embrionale attualmente compatibile con la coltura in vitro, e il diritto al rispetto, ma non necessariamente alla vita delle stesse. Tuttavia, se *la blastocisti in vitro è esattamente ciò che un essere umano è in quella fase di sviluppo* (pag. 131), risulta davvero difficile appellarsi a questa discriminazione. Come l'autore stesso sostiene a continuazione, per regolamentare la produzione e coltivazione di zigoti, blastocisti, cellule staminali, ecc. occorre *trovare un limite* (discriminatorio nel processo morfogenetico) *accettabile dal punto di vista biologico e che si possa ritenere ragionevole e non arbitrario: cosa difficile, se non impossibile, data la continuità dello sviluppo dopo la fecondazione* (pag. 151).

Appare invece chiaro il rifiuto dell'uso indiscriminato delle tecniche di laboratorio di fecondazione in vitro per mantenere un controllo assoluto sul "prodotto" che inevitabilmente conduce alla spersonalizzazione di tutto il processo così tipicamente umano. Come l'autore acutamente osserva, *essere umani non significa soltanto avere forma e capacità umane: significa anche vivere in un contesto umano, contrassegnato da rapporti umani* (pag.139). Il diritto ad una maternità e ad una paternità biologica conosciuta e riconosciuta sono ampiamente difesi. Pur tuttavia, da questa e da altre considerazioni estremamente interessanti, non se ne deduce la necessità per il nascituro ad essere anche concepito all'interno dell'atto coniugale. È proprio infatti l'inscindibilità dell'atto unitivo e procreativo e il suo valore antropologico che permetterebbe di chiudere il cerchio che altrimenti rimane aperto.

Suggestive, ricche di buon senso e sana ironia, risaltano le pagine dedicate ai "pregi della mortalità". Che tale

stato abbia i suoi pregi è un'interessante considerazione su cui l'autore si sofferma: il desiderio di perpetuarsi nella prole, lo slancio di fronte alla possibilità di vivere con pienezza la sola vita che ci è data, le scommesse di fronte alle generazioni future e all'eredità che possiamo lasciare loro, sono manifestazioni concrete di come l'aspirazione umana non sia verso una vita senza fine, ma verso una vita pienamente vissuta. Abdicare all'umanità, seppur nella sua finitezza, nello sforzo di costruire una nuova natura più perfetta, non farebbe altro che farci sperimentare prima o poi la tragica storia del re Mida. Come lui, *l'uomo bioingegneristico sarà condannato a ottenere esattamente ciò che desidera, solo per scoprire –dolorosamente troppo tardi- che quel che desiderava non è esattamente ciò che voleva* (pag. 189).

Ma che l'uomo, come Edipo non abbia altra scelta che imparare attraverso la sofferenza, non vogliamo crederlo. Con L. R. Kass possiamo alimentare una speranza, *che in termini semplici si potrebbe esprimere così: se davvero capissimo la ricchezza e la complessità della natura umana, riusciremmo a discernere meglio in cosa consistono il progresso e il bene comune dell'uomo* (pag. 416). In fondo il messaggio dell'autore rimane un richiamo alla prudenza e alla saggezza, alla responsabilità, anche pubblica, di stanziare finanziamenti per una ricerca e una tecnologia che siano effettivamente a servizio dell'uomo e non solo di un'ambizione di progresso tecnologico che porterebbe imbarcarsi *in una potenziale pazzia solo per evitare di essere gli ultimi a compierla*.

Marta Bertolaso

Leon R. Kass is a world famous physician. In this book "Life, Liberty, and the Defense of Dignity: the Challenge for Bioethics" he reflects on the challenges bioethics has to confront: human life, its safeguard and technological progress in a highly advanced world. Published in the 2002 the issue is still of enormous relevance and offers substance for reflection.



Quando è in gioco la salute, il gioco non scherza.

Gratta e Vinci sostiene il progetto di ricerca dell'**Università Campus Bio-Medico di Roma** sui campi elettromagnetici e il loro impatto sulle funzioni cognitive di soggetti normali e pazienti affetti da Alzheimer. **Con Gratta e Vinci la ricerca è in salute.**



www.grattaevinci.com
Giocare senza esagerare.

PHARMACOTHERAPY

58. Cardiotoxicity of Antitumor Drugs

Tossicità Cardiaca dei Farmaci Antitumorali

P MENNA, G MINOTTI, EMANUELA SALVATORELLI

TROPICAL MEDICINE

67. Dalla Cina un Nuovo Farmaco Antimalarico e un Insegnamento per la Ricerca Biomedica

A New Antimalarial Drug from China and a Lesson for Biomedical Research

G MOTTINI

EDUCAZIONE MEDICA

MEDICAL EDUCATION

72. The Epistemic Nature of Package Leaflet Information: a Contribution to the Legal Debate on the Role of Package Leaflets in Therapeutic Consent

La Natura Epistemologica dei Foglietti Illustrativi: un Contributo al Dibattito Legale sul Loro Ruolo Relativamente al Consenso Informato

BARBARA OSIMANI

91. Progettazione e Sperimentazione di un Piano di Valutazione di un Corso di Formazione

Experiment of an Evaluation Plan for Educational Courses

MARIA MICHELA GIANINO, IVANA FINIGUERRA, L MAINA, MARILENA AVANZATO, DANIELA FIORINA, G RENGA

STORIA DELLA MEDICINA

MEDICAL HISTORY

102. Camillo Golgi: un Secolo dopo il Nobel

Camillo Golgi: a Century from his Nobel Prize

G DELVECCHIO, LUISELLA BETTINESCHI

CLINICA E RICERCA DI BASE

CLINICAL MEDICINE AND MEDICAL RESEARCH

109. Costi del Trattamento del Carcinoma Gastrico in Stadio Avanzato

Economic Burden of Advanced Gastric Cancer

SIMONA RAVERA, A FALCONE

RECENSIONI

BOOK REVIEWS

114. Scelte sulla Vita. L'Esperienza di Cura nei Reparti di Terapia Intensiva

G BERTOLINI (a cura di)

115. Vissuti di Cura. Competenze Emotive e Formazione nelle Professioni Sanitarie

D BRUZZONE, ELISABETTA MUSI

116. Paziente e Medico. Fenomenologia e Prassi della Relazione Terapeutica

C CAZZULLO, F POTERZIO

118. La Sfida della Bioetica. La Vita, la Libertà e la Difesa della Dignità Umana

Life, Liberty, and the Defense of Dignity: the Challenge for Bioethics

L R KASS