

PNEUMOLOGIA PEDIATRICA

Studio della risposta immunitaria
nei pazienti pediatrici con Long COVID

Ruolo della Galectina-10 nel rimodellamento
dell'epitelio nasale di pazienti pediatrici
con rinite allergica stagionale

Analisi dei composti organici volatili su matrice
urinaria mediante naso elettronico in pazienti
pediatrici sottoposti a trapianto allogenico
di cellule staminali ematopoietiche
in follow-up pneumologico

Equazioni di riferimento device-specifiche
per la predizione dei valori normali dei parametri
di oscillometria forzata nei bambini

Impatto degli indici di adiposità
sulla funzionalità polmonare in bambini
con malattie allergiche respiratorie

Correlazione tra microbiota orale e polmonare

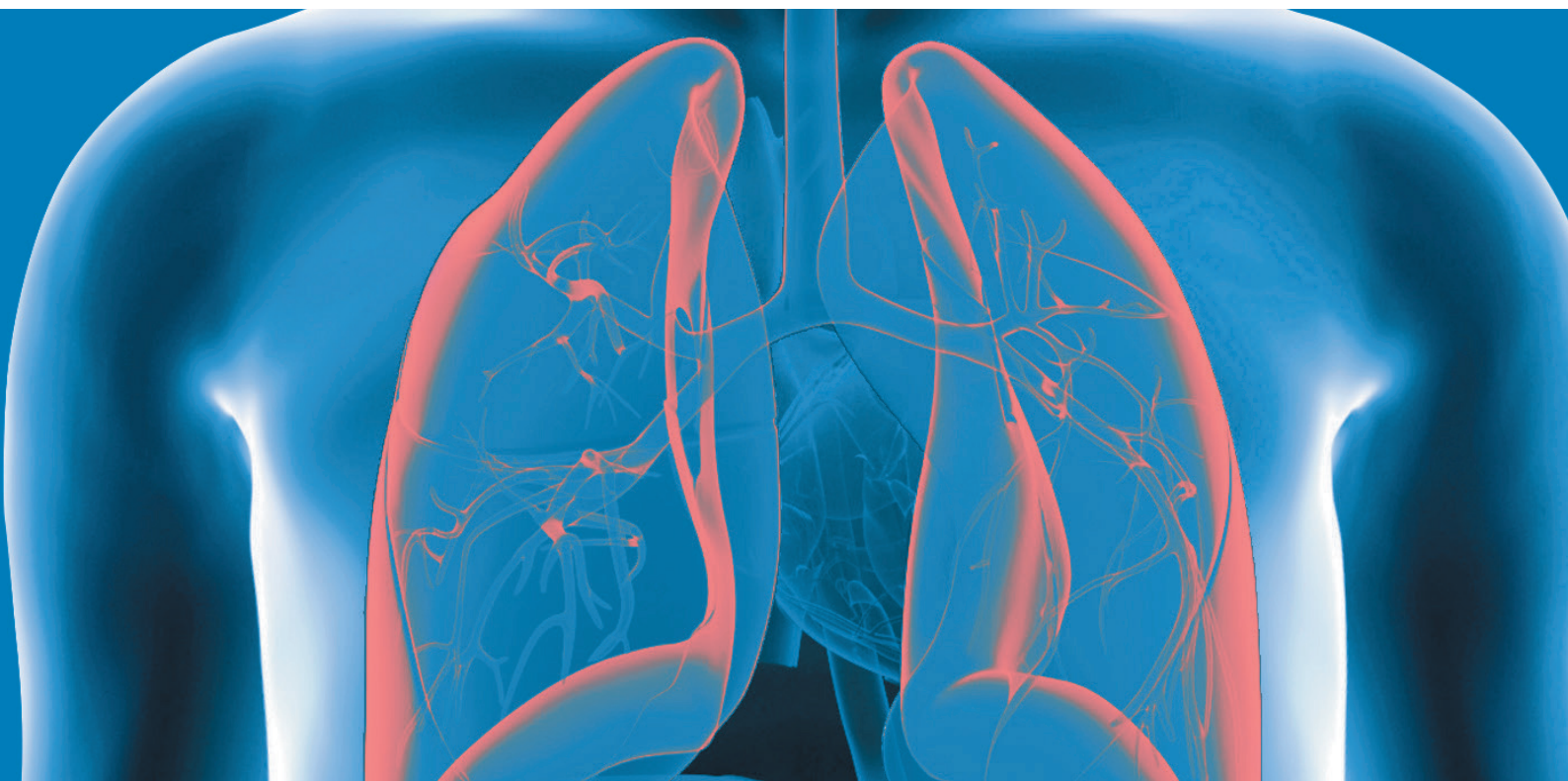
Diagnostica funzionale ed imaging
in pneumologia pediatrica: follow-up a lungo
termine delle malattie respiratorie croniche

I corticosteroidi nelle malattie respiratorie

Novità dalla biologia molecolare

Le emorragie polmonari in età pediatrica

Le nuove minacce per la salute respiratoria:
il fumo elettronico



INDICE

COMUNICAZIONI PREMIATE

Studio della risposta immunitaria nei pazienti pediatrici con Long COVID 4
Enrica Mancino, Raffaella Nenna, Luigi Matera, Domenico Paolo La Regina, Laura Petrarca, Elio Iovine, Greta Di Mattia, Antonella Frassanito, Maria Giulia Conti, Carolina Scagnolari, Alessandra Pierangeli, Matteo Fracella, Federica Frasca, Fabio Midulla

Ruolo della Galectina-10 nel rimodellamento dell'epitelio nasale di pazienti pediatrici con rinite allergica stagionale 6
Olga Maria Manna, Stefania La Grutta, Velia Malizia, Alberto Fucarino, Salvatore Fasola, Mirella Profita, Fabio Bucchieri, Rosalia Gagliardo

Analisi dei composti organici volatili su matrice urinaria mediante naso elettronico in pazienti pediatrici sottoposti a trapianto allogenico di cellule staminali ematopoietiche in follow-up pneumologico 10
Vanessa Cecchin, Laura Tenero, Michele Piazza, Giuliana Ferrante, Giorgio Piacentini

Equazioni di riferimento device-specifiche per la predizione dei valori normali dei parametri di oscillometria forzata nei bambini 14
Salvatore Fasola, Giovanna Cilluffo, Velia Malizia, Enrico Lombardi, Alessandro Gobbi, Claudia Calogero, Grazia Fenu, Giuliana Ferrante, Laura Montalbano, Stefania La Grutta

Impatto degli indici di adiposità sulla funzionalità polmonare in bambini con malattie allergiche respiratorie 17
Rossella Lamberti, Valeria Calcaterra, Chiara Gasparini, Annalisa De Silvestri, Michele Ghezzi, Gian Vincenzo Zuccotti, Enza D'Auria

HIGHLIGHT

Correlazione tra microbiota orale e polmonare 21
Beatrice Polito, Diego Peroni

Diagnostica funzionale ed imaging in pneumologia pediatrica: follow-up a lungo termine delle malattie respiratorie croniche 23
Tommaso Zini, Riccardo Filice, Enrico Lombardi

I corticosteroidi nelle malattie respiratorie 25
Valentina Tranchino, Dora Alba Ciccarone, Riccardo D'Antonio, Giuseppe Verriello, Fabio Cardinale

Novità dalla biologia molecolare 28
Valentina Fainardi

Le emorragie polmonari in età pediatrica 30
Marta Piotto, Mara Lelii, Alessia Rocchi, Barbara Madini, Lucia Cerrato, Vittoria Hassan, Maria Francesca Patria

Le nuove minacce per la salute respiratoria: il fumo elettronico 33
Maria Elisa Di Cicco, Alessandra Beni, Margherita Sepich, Vincenzo Ragazzo, Diego Peroni

Pneumologia Pediatrica

Volume 22, n. 88 - dicembre 2022

Direttore Responsabile

Stefania La Grutta (Palermo)

Associate Editors

Maria Elisa Di Cicco (Pisa)
Enrico Lombardi (Firenze)
Raffaella Nenna (Roma)
Giampaolo Ricci (Bologna)
Giancarlo Tancredi (Roma)
Nicola Ullmann (Roma)

Editorial Board

Marina Attanasi (Chieti)
Silvia Bloise (Latina)
Valeria Caldarelli (Reggio Emilia)
Antonino Francesco Capizzi (Empoli)
Carlo De Pieri (Treviso)
Emanuela di Palmo (Bologna)
Paola Di Filippo (Chieti)
Valentina Fainardi (Parma)
Salvatore Fasola (Palermo)
Grazia Fenu (Firenze)
Giuliana Ferrante (Verona)
Antonella Frassanito (Roma)
Maria Furno (Empoli)
Michele Ghezzi (Milano)
Mara Lelii (Milano)
Giuseppe Fabio Parisi (Catania)
Laura Petrarca (Roma)
Marianna I. Petrosino (Latina)
Federica Porcaro (Roma)
Giulia Roberto (Pavia)
Valentina Tranchino (Bari)
Alessandro Volpini (Ancona)

Editore

Giannini Editore
Via Cisterna dell'Olio 6b
80134 Napoli
e-mail: editore@gianninispa.it
www.gianninieditore.it

Coordinamento Editoriale

Center Comunicazione e Congressi Srl
e-mail: info@centercongressi.com
Napoli

Impaginazione e Stampa

Officine Grafiche F. Giannini & Figli SpA
Napoli

© Copyright 2022 by SIMRI
Finito di stampare nel mese di agosto 2022

Registrazione del Tribunale di Pisa
n. 12 del 2002

Informazioni per gli autori e norme per la preparazione degli articoli

La Rivista pubblica contributi redatti in forma di editoriali, articoli d'aggiornamento, articoli originali, casi clinici, rubriche, recensioni (da libri, lavori, congressi), relativi ad argomenti di **pneumologia pediatrica**.

I contributi devono essere inediti, non sottoposti contemporaneamente ad altra Rivista, ed il loro contenuto deve essere conforme alla legislazione vigente in materia di etica della ricerca.

Gli Autori sono gli unici responsabili delle affermazioni contenute nell'articolo e sono tenuti a dichiarare di aver ottenuto il consenso informato per la sperimentazione e per la riproduzione delle immagini, soprattutto se coperte da Copyright, in forma scritta. La redazione accoglie solo i testi conformi alle norme editoriali generali e specifiche per le singole rubriche. La loro accettazione è subordinata alla revisione critica di esperti, all'esecuzione delle eventuali modifiche richieste ed al parere conclusivo del Direttore.

Le figure vanno fornite su supporto digitale in uno dei seguenti formati: .tif, .jpg e con una risoluzione adeguata alla riproduzione in stampa (300 dpi) oppure file vettoriali generati da Adobe Illustrator® o in .eps. Nelle foto di pazienti va oscurato il volto. La Redazione si riserva di rifiutare il materiale iconografico ritenuto tecnicamente non idoneo. Le dimensioni massime per le immagini sono in cm: 8x6; 8x11.5 in verticale; 16x11.5; 7x14.5 in orizzontale.

Il **testo** in lingua italiana deve essere digitato con un programma di video scrittura (per Mac OS X e Windows) e deve contenere:

- (1) nome, cognome ed affiliazione di ogni autore, evidenziando per ciascuno di essi l'affiliazione in apice con numeri cardinali; è possibile indicare 2 primi autori (con il simbolo * in apice) e 2 senior come ultimi autori (con il simbolo & in apice); email dell'autore di riferimento per la corrispondenza;
- (2) il titolo del lavoro in italiano va scritto in grassetto, quello in inglese in corsivo grassetto;
- (3) L'abstract va scritto in italiano ed in inglese, (non deve superare le 500 battute – spazi inclusi – sia in italiano che in inglese); le parole chiave devono essere al massimo cinque, sia in italiano sia in inglese;
- (4) le tabelle e le figure, integrate da didascalie e legende, che vanno scritte in grassetto per la parte in italiano ed in corsivo grassetto per la parte in inglese, devono essere progressivamente numerate con numeri cardinali ed indicate nel testo.

Il testo va preparato secondo le norme internazionali (Vancouver system) per garantire l'uniformità di presentazione (BMJ 1991; 302: 338-341). Per i lavori di revisione sistematica è indispensabile, dopo un'introduzione, descrivere i materiali ed i metodi, l'analisi statistica utilizzata, i risultati e la discussione, con una conclusione finale.

La bibliografia va limitata alle voci essenziali, identificate nel testo con numeri cardinali tra parentesi ed elencate nell'ordine in cui sono state citate. Se gli autori sono più di uno, va citato solo il primo seguito da "et al."

Ringraziamenti, indicazioni di *grant* o borse di studio, vanno citati al termine del manoscritto, prima della bibliografia. Termini matematici, formule, abbreviazioni, unità di misura devono conformarsi agli standard riportati in "Science" (1954; 120: 1078).

I farmaci vanno indicati col nome del principio attivo.

Esempi di come citare la bibliografia:

ARTICOLI E RIVISTE

1) Zonana J., et al. *Improved definition of carrier status in X-linked hypohidrotic ectodermal dysplasia by use of restriction fragment length polymorphism-based linkage analysis*. J. Pediatr. 1989; 114: 392-395.

LIBRI

2) Smith DW., *Recognizable patterns of human malformation*. Third Edition. Philadelphia: WB Saunders Co. 1982.

CAPITOLI DI LIBRI O ATTI DI CONGRESSI

3) Krmpotic-Nemanic J., et al. *Aging changes of the form and infrastructure of the external nose and its importance in rhinoplasty*. In: Conly J., Dickinson J.T., (eds). "Plastic and reconstructive surgery of the face and neck". New York, NY: Grune and Stratton 1972: 84-95.

Eventuali citazioni di siti web vanno riportate nel testo tra parentesi.

NORME EDITORIALI PER RUBRICHE SCIENTIFICHE

CON assegnazione codice DOI: Articoli di Revisione – Caso Clinico – Articolo di Aggiornamento – max 15.500 battute (spazi inclusi); abstract, max 500 battute per ciascuna lingua; max 4 figure o tabelle; max 20 referenze bibliografiche.

SENZA assegnazione codice DOI: Novità dalla letteratura – Largo ai Giovani – Bacheca della pneumologia pediatrica – Cosa dicono gli altri (società scientifiche ed associazioni): Novità dalla letteratura – max 5.000 battute (spazi inclusi); max 2 figure o tabelle; max 3 referenze bibliografiche da includere nel testo (Esempio: "Zimmermann P., et al. BMJ 2022;376:0143").

Largo ai Giovani – Bacheca della pneumologia pediatrica – Cosa dicono gli altri – max 3.000 battute, spazi e bibliografia inclusi nel testo (Esempio: "Zimmermann P., et al. BMJ 2022;376:0143"), senza figure o tabelle.

NORME EDITORIALI PER ALTRE RUBRICHE

Novità dal mondo – Rubrica Educazionale – Impariamo a... – Brevi pillole – Ask the expert – L'intervista/Sezioni Regionali SIMRI

Novità dal mondo – max 8.800 battute (spazi inclusi); max 2 figure o tabelle; max 5 referenze bibliografiche da includere nel testo (Esempio: "Zimmermann P., et al. BMJ 2022;376:0143").

Rubrica Educazionale – Impariamo a... – Brevi pillole – max 5.500 battute (spazi inclusi); max 2 figure o tabelle; max 3 referenze bibliografiche da includere nel testo (Esempio: "Zimmermann P., et al. BMJ 2022;376:0143").

Ask the expert – L'intervista/Sezioni Regionali SIMRI – max 3.300 battute (spazi inclusi) – non sono previste figure o tabelle o referenze bibliografiche.

I LAVORI VANNO INVIATI A:

Redazione di Pneumologia Pediatrica
e-mail redazionePP_SIMRI@centercongressi.com

QUESITI DI NATURA SCIENTIFICA VANNO INDIRIZZATI A:

Prof.ssa Stefania La Grutta
e-mail: stefania.lagrutta@cnr.it

Cari Amici e Colleghi,

con piacere presento il numero della nostra Rivista dedicato ad alcuni contributi del XXVI Congresso Nazionale, svoltosi a Palermo dal 27-29 Ottobre 2022.

Il fascicolo si apre con gli articoli dei giovani ricercatori vincitori dei 5 premi per le migliori comunicazioni, confermando l'impegno della nostra Società sui giovani che si sono distinti per la qualità dei lavori di elevato valore scientifico.

Anche quest'anno abbiamo dovuto selezionare solo i contributi di alcuni relatori, che vorrei ringraziare per la grande disponibilità dimostrata.

In particolare, è stata affrontata la tematica della *“Correlazione tra microbiota orale e polmonare”* di estrema attualità ed interesse comune, considerando che negli ultimi anni è stato approfondito lo studio e l'impiego di agenti probiotici ad effetto locale, per valutarne l'azione in termini di prevenzione e trattamento delle infezioni respiratorie, attraverso la preservazione e la restaurazione della composizione della nicchia biologica.

Il lettore troverà molto utile il contributo della *“Diagnostica funzionale ed imaging in pneumologia pediatrica: follow-up a lungo termine delle malattie respiratorie croniche”*, che schematizza le procedure di gestione nella pratica clinica, partendo da “cosa si può fare, cosa si deve fare e cosa è stato fatto” con uno sguardo al futuro su “cosa ancora manca” riguardo a nuove tecniche “fattibili” e “ripetibili” nel bambino “non collaborante”, “parzialmente collaborante” e “collaborante”, fino all'età adulta.

L'approfondimento su *“I corticosteroidi nelle malattie respiratorie”* è sempre complesso, soprattutto all'interno della gestione dell'asma, considerando che questi farmaci hanno radicalmente cambiato la prognosi dell'asma, riducendo in modo significativo la mortalità, migliorandone il controllo e la qualità di vita dei pazienti. Il contributo fornisce un utile aggiornamento sui meccanismi di azione e le indicazioni più comuni in pneumologia pediatrica.

Un tema di frontiera è quello descritto in *“Novità dalla biologia molecolare”*, nel quale la conoscenza dei meccanismi alla base dell'endotipo può consentire alla medicina molecolare di individuare una terapia personalizzata per le caratteristiche proprie di ogni paziente.

Il contributo *“L'emorragia polmonare in età pediatrica”*, condizione rara ed eterogenea in età pediatrica, descrive con accuratezza gli aspetti fisiopatologici, l'eziologia e gli aspetti clinici, soffermandosi sul workup diagnostico razionale ed articolato, prioritario per individuare la causa eziologica sottostante al sanguinamento.

Completa questo numero l'ultimo highlight dal Congresso *“Le nuove minacce per la salute respiratoria: il fumo elettronico”*, che conferma quanto la nostra Società continui ad accendere i riflettori sul fenomeno dello svapo, che si sta diffondendo moltissimo soprattutto tra i giovanissimi, sottolineando che il Pediatra Pneumologo riveste un ruolo cruciale per tentare di invertire questa tendenza, avendo un duplice compito: prevenire il tabagismo, educando i propri pazienti sui rischi e le conseguenze del fumo e individuare i pazienti che già fumano o che sono esposti a fumo, per fornire aiuto e supporto nel trattamento della dipendenza.

Buona lettura a tutti ed arrivederci al prossimo Congresso Nazionale SIMRI che si terrà a Roma il 21-23 settembre 2023.

Studio della risposta immunitaria nei pazienti pediatrici con Long COVID

Immune response in children with Long COVID

Enrica Mancino^{1*}, Raffaella Nenna¹, Luigi Matera¹, Domenico Paolo La Regina¹, Laura Petrarca¹, Elio Iovine¹, Greta Di Mattia¹, Antonella Frassanito¹, Maria Giulia Conti¹, Carolina Scagnolari², Alessandra Pierangeli², Matteo Fracella², Federica Frasca², Fabio Midulla^{1&}

¹Dipartimento Materno-Infantile e Scienze Urologiche, "Sapienza" Università di Roma

²Dipartimento di Medicina Molecolare, Laboratorio di Virologia, "Sapienza" Università di Roma

*primo autore; &autore senior

Corrispondenza: Enrica Mancino **e-mail:** enricamancino@gmail.com

Riassunto: Studiare la risposta immunitaria nei bambini con Long COVID potrebbe rivelarsi utile per comprendere i meccanismi patogenetici alla base della persistenza dei sintomi. Abbiamo per questo studiato l'interferone I e i microRNA in bambini con Long COVID. Sono stati arruolati dieci pazienti con Long COVID, dieci senza sintomi di Long COVID e dieci controlli negativi. I Long COVID avevano una significativa downregolazione degli Interferoni rispetto ai non Long COVID e una maggiore espressione dei miR-141.

Parole chiave: Long COVID, bambini, risposta immunitaria.

Summary: *Interferon response and inflammation-related miRNAs could play a fundamental role in Long COVID symptoms. We analyzed type I IFNs and miRNAs in children with Long COVID. Ten patients with Long COVID, ten patients without Long COVID symptoms and ten children negative controls were enrolled in this study. We found a significant downregulation of type I IFNs in children with Long COVID and an over activation of miR-141.*

Keywords: Long COVID, children, immune response.

INTRODUZIONE

Sin da subito è risultato chiaro che l'infezione da SARS-CoV-2 in età pediatrica ha un andamento asintomatico o paucisintomatico nella maggior parte dei casi (1). Quello che sta emergendo è che i sintomi di Long COVID sono presenti anche nei bambini (2). Molto spesso i genitori e i piccoli pazienti riferiscono infatti sintomi persistenti a distanza dall'infezione acuta che non possono essere spiegati diversamente. Questi sintomi sono più frequenti tra gli adolescenti e sono spesso ascrivibili alla sfera neurologica (3). Tuttavia, le caratteristiche immunopatologiche di questa entità non sono state ancora spiegate in modo univoco. Sicuramente la risposta immunitaria gioca un ruolo importante perché contribuisce all'instaurarsi di un'inflammatione cronica che potrebbe essere responsabile dei sintomi a distanza (4). In tale contesto, analizzare la risposta degli interferoni e l'espressione dei microRNA coinvolti nell'inflammatione potrebbe rivelarsi molto utile.

L'obiettivo dello studio è dosare l'interferone di tipo I e valutare l'espressione di alcuni microRNA nelle cellule mononucleate del sangue periferico (PBMC, *peripheral blood mononuclear cell*) di bambini con sintomi persistenti a distanza di 3 mesi dall'infezione acuta da SARS-CoV-2 (Long COVID).

MATERIALI E METODI

Presso il Servizio di Pneumologia Pediatrica del Policlinico Umberto I, sono stati valutati 589 bambini tra 0 e 18 anni con pregressa infezione da SARS-CoV-2, nell'ambito dell'iniziativa promossa dalla SIMRI "COVID-19: conoscere per prevenire". Di questi bambini circa un quarto presentava sintomi persistenti. Abbiamo quindi deciso di analizzare un campione di sangue periferico a distanza di 3-6 mesi dalla diagnosi di COVID-19 in due gruppi di bambini, il primo costituito da pazienti con pregresso COVID-19 e con sintomi di Long COVID e il secondo da bambini con pregresso COVID-19 ma senza sintomi di Long COVID. Tutti i bambini con Long COVID presentavano sintomi neurologici. Abbiamo analizzato anche campioni di sangue da pazienti che non avevano mai presentato l'infezione da SARS-CoV-2 (controlli negativi). L'RNA isolato dalle PBMC è stato utilizzato per valutare l'espressione dei microRNA (miR-141, miR-155, miR-146a) e degli interferoni di tipo I (alfa, beta, epsilon, omega). Il protocollo di studio è stato approvato dal Comitato Etico dell'Azienda Policlinico Umberto I (RIF.CE 0399/2021).

RISULTATI

Sono stati arruolati dieci pazienti con pregresso COVID-19 e con sintomi di Long COVID (5 maschi, 50%; età media 8,5 anni, DS 1,7), dieci pazienti con pregressa infezione da SARS-CoV-2 ma senza sintomi di Long COVID (5 maschi, 50%; età media 9,1 anni, DS 2,1) e dieci pazienti che non avevano mai presentato l'infezione (5 maschi, 50%; età media 10,8 anni, DS 2,9). I Long COVID hanno presentato una significativa downregolazione di IFN α , IFN β e IFN ϵ rispetto ai pazienti non Long COVID (rispettivamente $p=0.048$; $p=0.049$; $p=0.032$). Inoltre, i Long COVID e i pazienti con pregresso COVID-19 ma senza sintomi di Long COVID avevano una maggiore espressione dei miR-141 rispetto ai controlli negativi ($p=0.004$). Nessuna differenza significativa per quanto riguarda invece i miR-155 e miR-146a.

DISCUSSIONE

Questo studio pilota dimostra che i sintomi descritti da bambini e adolescenti a distanza dall'infezione acuta da SARS-CoV-2 potrebbero essere legati all'instaurarsi di uno stato infiammatorio cronico, indipendente dall'azione diretta del virus, e che alcuni microRNA dell'infiammazione e gli interferoni di tipo I potrebbero avere un ruolo importante. I miRNA sono considerati dei potenti modulatori dell'infezione da SARS-CoV-2 ed in particolare i miR-141 sembrano avere un ruolo importante nell'attivazione dell'inflammosoma NLRP3 (Nucleotide-binding oligomerization domain (NOD)-like receptor family pyrin domain containing 3) (5). Gli interferoni di tipo I sono implicati nella difesa dalle infezioni virali. Recentemente sono stati pubblicati lavori che dimostrano che il SARS-CoV-2 attiva la cascata di trasduzione del segnale che porta alla produzione degli interferoni di tipo I e di citochine proinfiammatorie atte a neutralizzare il virus (6).

Questi primi dati sono molto incoraggianti, ma è necessario ampliare il campione per poterli confermare.

CONCLUSIONI

Lo stato infiammatorio prolungato, legato ad una disregolazione della risposta dell'interferone e dei microRNA coinvolti nell'infiammazione, potrebbe essere responsabile dei sintomi di Long COVID.

BIBLIOGRAFIA

- (1) Howard-Jones A.R., *et al.* COVID-19 in children. II: Pathogenesis, disease spectrum and management. *J. Paediatr. Child Health.* 2022;58:46-53.
- (2) Haddad A., *et al.* Long COVID symptoms in exposed and infected children, adolescents and their parents one year after SARS-CoV-2 infection: A prospective observational cohort study. *EBioMedicine.* 2022;84:104245.
- (3) Molteni E., *et al.* Illness duration and symptom profile in symptomatic UK school-aged children tested for SARS-CoV-2. *Lancet Child Adolesc. Health.* 2021;5:708-718.
- (4) Lee W.S., *et al.* Antibody-dependent enhancement and SARS-CoV-2 vaccines and therapies. *Nat Microbiol.* 2020;5:1185-1191.
- (5) Kucher A.N., *et al.* MicroRNAs as the Potential Regulators of SARS-CoV-2 Infection and Modifiers of the COVID-19 Clinical Features. *Mol. Biol.* 2022;56:29-45.
- (6) Sa Ribero M., *et al.* Interplay between SARS-CoV-2 and the type I interferon response. *PLoS Pathog.* 2020. 29;16:e1008737.

Ruolo della Galectina-10 nel rimodellamento dell'epitelio nasale di pazienti pediatrici con rinite allergica stagionale

Role of Galectin-10 in nasal epithelium remodeling of pediatric patients with seasonal allergic rhinitis

Olga Maria Manna^{1*}, Stefania La Grutta², Velia Malizia², Alberto Fucarino¹, Salvatore Fasola², Mirella Profita², Fabio Bucchieri^{1,2}, Rosalia Gagliardo^{2&}

¹Dipartimento di Biomedicina, Neuroscienze e Diagnostica Avanzata (BiND), Università degli Studi di Palermo

²Istituto di Farmacologia Traslazionale (IFT), Sede secondaria di Palermo, Consiglio Nazionale delle Ricerche, Palermo

*primo autore; & autore senior

Corrispondenza: Olga Maria Manna **e-mail:** olga.manna5g@gmail.com

Riassunto: Ad oggi non sono disponibili evidenze sulle interazioni tra Gal-10 ed i mediatori delle risposte Th1, Th2 e Th17 nel lavaggio nasale di pazienti pediatrici con rinite allergica stagionale (SAR).

Lo scopo di questo studio è stato quello di valutare la correlazione di Gal-10 ed altri marcatori di infiammazione nel lavaggio e nella citologia nasale di pazienti con SAR. I risultati ottenuti hanno mostrato una significativa correlazione positiva tra Gal-10 e IL-5 e tra Gal-10 e Muc-5AC.

Parole chiave: Rinite allergica Stagionale (SAR), infiammazione nasale, rimodellamento.

Summary: *There is no evidence currently available on the interactions between Gal-10 and mediators of Th1, Th2 and Th17 responses in the nasal wash of pediatric patients with Seasonal Allergic Rhinitis (SAR). The purpose of this study is to evaluate the correlation of Gal-10 with other inflammatory markers in the nasal wash of patients with SAR. The results showed a significant correlation between Gal-10 and IL-5 and between Gal-10 and Muc-5AC.*

Keywords: *Seasonal Allergic Rhinitis (SAR), nasal inflammation, nasal remodeling.*

INTRODUZIONE

Studi precedenti sulla mucosa nasale in pazienti pediatrici affetti da rinite allergica stagionale (SAR, *seasonal allergic rhinitis*) hanno evidenziato una risposta polarizzata di tipo Th2 con un aumento di IL-5 (1, 2). Recentemente, il riscontro di aumentati livelli di IL-17 nel lavaggio nasale di pazienti adulti e pediatrici con SAR, ha mostrato il coinvolgimento del pathway Th17 nella progressione dell'infiammazione nasale (2, 3). Inoltre, in pazienti pediatrici affetti da SAR il coinvolgimento di IL-23 nella patogenesi della malattia è stato confermato dal progressivo decremento dell'espressione dell'mRNA IL-23p19 dopo immunoterapia sub-linguale (4). Infine, in pazienti pediatrici con SAR sono stati riscontrati bassi livelli di Interferon INF- γ (IFN-gamma) a livello della mucosa nasale, e ciò indica una risposta immune di tipo Th1 non significativa (5).

La Galectina 10 (Gal-10), glicoproteina della famiglia delle lectine e attualmente riconosciuta come biomarcatore dell'infiammazione eosinofila di tipo 2, è la proteina costituente dei cristalli di Charcot-Leyden (CLCs) ed è prodotta da eosinofili, basofili e alcune cellule T (6). Gal-10 è nota per la capacità di andare incontro a cristallizzazione rapida e spontanea in specifiche condizioni, quali l'esocitosi dall'eosinofilo in ambiente extracellulare (7). Tuttavia, i processi che conducono alla cristallizzazione di questa proteina nei CLCs in ambiente extracellulare ed il ruolo di Gal-10 nella regolazione dei processi infiammatori risultano ancora poco chiari. La formazione dei CLCs induce il danno tissutale caratteristico di patologie quali l'asma (8), e si è rivelata un potente stimolo immunitario, poiché induce la rapida produzione di citochine pro-infiammatorie (IL-1 β , IL-6, TNF- α , *tumor necrosis factor- α*) ed il reclutamento di neutrofili, monociti e cellule dendritiche (9, 10). Oltre a reclutare ed attivare le cellule del sistema immunitario, i CLCs possono indurre la produzione di muco da parte delle cellule epiteliali ed hanno la capacità di interagire con il muco prodotto a livello delle vie aeree attraverso un dominio di riconoscimento dei carboidrati, fornendo un'impalcatura che rende il muco più denso e difficile da espettorare (11).

Nella rinite allergica l'eccessiva produzione di mucina può rompere l'equilibrio fluido delle vie aeree ostacolando la clearance mucociliare, con conseguente ostruzione ed infezione. In modelli sperimentali di rinite allergica è stato dimostrato che l'ipersecrezione di Mucina 5AC (MUC5AC, *mucin glycoprotein 5AC*) è indotta dal *nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells* (NF- κ B) attraverso le citochine infiammatorie TNF- α e IL-6, confermando così il ruolo di MUC5AC come principale mu-

cina delle vie aeree (12). Ad oggi, non vi sono dati a supporto di una relazione tra MUC5AC e Gal-10 in pazienti con rinite allergica. Complessivamente, è noto che l'infiammazione in corso di rinite allergica sia caratterizzata dall'attivazione di un complesso network immunologico ed infiammatorio, tuttavia non vi sono evidenze sulle interazioni tra Gal-10 ed alcuni mediatori delle risposte Th1, Th2 e Th17 nel lavaggio nasale di pazienti pediatriche con SAR.

Lo scopo di questo studio è stato di valutare, durante il periodo di esposizione allergica, il ruolo di Gal-10, nella regolazione dei meccanismi di infiammazione, produzione di muco e rimodellamento dell'epitelio nasale in pazienti con rinite allergica stagionale.

MATERIALI E METODI

Pazienti

Studio *cross-sectional*, approvato dal Comitato Etico Palermo 1 (verbale 08/2014), su 31 bambini con rinite allergica stagionale di età compresa tra i 6 ed i 16 anni reclutati durante la stagione pollinica delle graminacee (marzo-luglio; www.pollnet.it). I criteri di inclusione sono stati i seguenti: diagnosi di rinite allergica da almeno un anno; mono-sensibilità alle graminacee identificata tramite positività al Prick Test (Graminacee Mix) e Immunoglobuline E Specifiche (IgE > 0.70 kU/l). I criteri di esclusione sono stati i seguenti: infezioni respiratorie delle alte vie nelle precedenti 4 settimane; uso di corticosteroidi sistemici/topici, uso di decongestionanti o antistaminici sistemici/topici nelle 4 settimane precedenti all'inizio dello studio; fumo attivo; storia di asma o segni e sintomi di patologie respiratorie; malformazioni maggiori del setto nasale o polipi nasali.

Parametri Nasali

La sequenza temporale delle procedure nasali è stata la seguente: ossido nitrico nasale (nasal Nitric Oxide, nNO), citologia nasale e lavaggio nasale. Le misurazioni di nNO sono state effettuate utilizzando un sensore elettrochimico (Hypair FeNO, MediSoft, Belgium), secondo le indicazioni ATS/ERS (13). La citologia nasale è stata effettuata in rinoscopia anteriore, a livello della porzione mediana del turbinato inferiore, utilizzando curette in plastica (Rhinoprobe TM). Le cellule sono state strisciate su vetrino e sottoposte a colorazione secondo metodo May-Grünwald-Giemsa per la successiva valutazione del rinocitogramma (14). Il lavaggio nasale è stato ottenuto dai pazienti selezionati iniettando, tramite una siringa, 3 ml di soluzione salina isotonica, pre-riscaldata a 37°C, in ciascuna narice; dopo dieci secondi il fluido del lavaggio nasale è stato raccolto in un contenitore di propilene sterile (percentuale di recupero della soluzione iniziale di circa il 70%). I campioni ottenuti sono stati processati secondo la metodica precedentemente descritta da Pizzichini et al. (15), con lievi modifiche (16). I surnatanti ottenuti sono stati conservati a -80°C per le successive analisi dei marcatori di interesse. I livelli dei mediatori Gal-10, MUC-5AC, IL-5, IL-17, IL-23, e INF- γ nel lavaggio nasale dei pazienti con SAR sono stati misurati attraverso saggio ELISA, utilizzando kits commerciali, in accordo con le istruzioni dei produttori (Novus Biologicals, Novus, USA per il dosaggio di Gal-10 e MUC5AC; R&D Systems, Oxon, UK per il dosaggio di IL-5; Invitrogen, Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, per il dosaggio IL-17; Affimetrix, eBioscience, part of Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, per il dosaggio di IL-23; Abcam, Cambridge, MA, per il dosaggio di INF- γ).

Analisi Statistica

I dati ottenuti sono presentati come n (%) o media \pm SD. Le correlazioni sono state valutate in accordo al test del coefficiente di correlazione per ranghi di Spearman e sono mostrate in Figura 1.

RISULTATI

Trentuno bambini con SAR sono stati inclusi nello studio e sottoposti alla misurazione di nNO e ad analisi del profilo infiammatoria nella citologia nasale e nel lavaggio nasale.

Le caratteristiche demografiche dei pazienti selezionati, le misurazioni di nNO, i valori di eosinofili provenienti dall'analisi della citologia nasale, e le determinazioni dei mediatori Gal-10, MUC-5AC, IL-5, IL-17, IL-23, e INF- γ nel lavaggio nasale sono mostrati in Tabella 1 (n % o media \pm SD).

Le correlazioni statisticamente significative identificate sono riportate in Figura 1.

CARATTERISTICHE DEMOGRAFICHE DEI PAZIENTI E PROFILO INFIAMMATORIO DEL LAVAGGIO NASALE	
Età, anni, media (SD)	10.47 (2.40)
Genere, n (%)	
Maschio	23 (71.88)
Femmina	9 (28.12)
Durata malattia, anni, media (SD)	5.00 (2.82)
Eosinofili (%), media (SD)	5.12 (3.40)
Gal-10, ng/ml, media (SD)	0.40 (0.28)
Muc5AC, ng/ml, media (SD)	0.72 (0.48)
IL-5, pg/ml, media (SD)	14.38 (11.78)
IFNγ, pg/ml, media (SD)	7.56 (2.70)
IL-17, pg/ml, media (SD)	2.59 (3.50)
IL-23, pg/ml, media (SD)	7.76 (4.11)
nNO, ppb, media (SD)	1495.76 (617.20)

Tab. 1: La tabella mostra le caratteristiche demografiche dei pazienti (età; genere; durata malattia) e profilo infiammatorio del lavaggio nasale raccolto.

The table shows patients' demographic characteristics (age; gender; disease duration) and inflammatory profile of the collected nasal lavage.

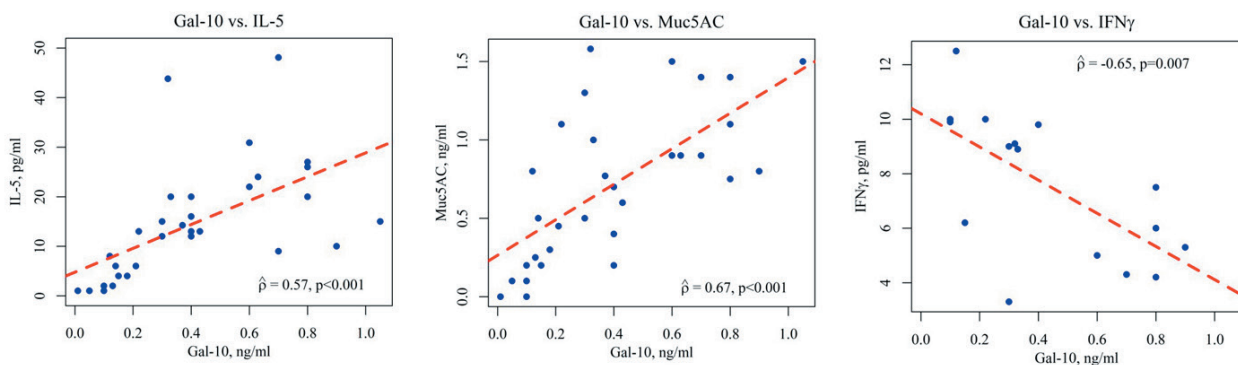


Fig. 1: Le correlazioni statisticamente significative identificate, ovvero quelle positive tra i valori di Gal-10 ed IL-5 ($Rho=0.57$; $p<0.001$), e tra Gal-10 e Muc-5AC ($Rho=0.67$; $p<0.001$), e quella negativa tra i valori di Gal-10 ed INF- γ ($Rho= - 0.65$; $p=0.007$) misurati nel lavaggio nasale dei pazienti pediatrici con rinite allergica stagionale (Spearman Rank Test).

The statistically significant correlations identified, in particular the positive ones between Gal-10 and IL-5 values ($Rho=0.57$; $p<0.001$), and between Gal-10 and Muc-5AC ($Rho=0.67$; $p<0.001$), and the negative one between Gal-10 and INF- γ values ($Rho= - 0.65$; $p=0.007$) measured in the nasal lavage of pediatric patients with seasonal allergic rhinitis (Spearman Rank Test).

CONCLUSIONI

Questo studio ha valutato le interazioni tra Gal-10 ed alcuni mediatori delle risposte infiammatorie di tipo Th1, Th2 e Th17, e Muc5AC nel lavaggio nasale di pazienti pediatrici con SAR durante il periodo di esposizione allergica.

La correlazione positiva tra i valori di Gal-10 e quelli di IL-5 conferma precedenti evidenze ottenute da studi *in vitro* e condotti in pazienti adulti, ed estende ai pazienti pediatrici con SAR la stretta relazione funzionale tra la risposta immunologica di tipo Th2 e la potenziale formazione di CLCs nelle alte vie aeree. Inoltre, la correlazione positiva tra Gal-10 e Muc-5AC, mucina la cui espressione è aumentata nell'epitelio respiratorio dei soggetti con asma (17), indica che la loro concomitante presenza nei fluidi del lavaggio nasale dei pazienti studiati è un potenziale indicatore di infiammazione eosinofila e iperproduzione di muco.

La correlazione negativa tra Gal-10 e INF- γ potrebbe indicare un'assenza di interazione tra questi due marcatori nel complesso meccanismo di cristallizzazione di Gal-10 e formazione di CLCs nella SAR.

Tali risultati indicano che l'interazione tra Gal-10 e mediatori come IL-5 e Muc-5AC nella mucosa nasale di bambini affetti da rinite allergica stagionale potrebbe promuovere l'infiammazione di tipo Th2 e l'aumento della produzione di muco, favorire la formazione di CLCs e condurre al rimodellamento dell'epitelio nasale.

BIBLIOGRAFIA

- (1) Ciprandi G., et al. *Relationships between allergic inflammation and nasal airflow in children with seasonal allergic rhinitis*. Ann. Allergy Asthma Immunol. 2005; 94:2; 58–61.
- (2) Malizia V., et al. *Endotyping Seasonal Allergic Rhinitis in Children: A Cluster Analysis*. Front. Med. (Lausanne). 2022;8:806911.
- (3) König K., et al. *Cytokine profiles in nasal fluid of patients with seasonal or persistent allergic rhinitis*. Allergy Asthma Clin. Immunol. 2015; 11:26.
- (4) Nieminen K., et al. *Clinical outcome and IL-17, IL-23, IL-27 and FOXP3 expression in peripheral blood mononuclear cells of pollen-allergic children during sublingual immunotherapy*. Pediatr. Allergy Immunol. 2010; 21:e174–84.
- (5) Sogut A., et al. *Regulatory- T, T-helper 1, and T-helper 2 cell differentiation in nasal mucosa of allergic rhinitis with olive pollen sensitivity*. Int. Arch. Allergy Immunol. 2012;157:349–53.
- (6) Ueki S., et al. *Eosinophil ETosis and DNA Traps: a New Look at Eosinophilic Inflammation*. Curr. Allergy Asthma Rep. 2016;16:54.
- (7) Delemarre T., et al. *A substantial neutrophilic inflammation as regular part of severe type 2 chronic rhinosinusitis with nasal polyps*. J. Allergy Clin. Immunol. 2021;147:179-188.e2.
- (8) Choi Y., et al. *Biological function of eosinophil extracellular traps in patients with severe eosinophilic asthma*. Exp. Mol. Med. 2018; 50:1-8.
- (9) Persson E.K., et al. *Protein crystallization promotes type 2 immunity and is reversible by antibody treatment*. Science. 2019;364:eaaw4295.
- (10) Gevaert E., et al. *Charcot-Leyden crystals promote neutrophilic inflammation in patients with nasal polyposis*. J. Allergy Clin. Immunol. 2020;145:427-430.e4.
- (11) Lachowicz-Scroggins M.E., et al. *Extracellular DNA, neutrophil extracellular traps, and inflammasome activation in severe asthma*. Am. J. Respir. Crit. Care Med. 2019;199:1076-1085.
- (12) Wang W., et al. *Mucin 5 subtype AC expression and upregulation in the nasal mucosa of allergic rhinitis rats*. Otolaryngol. Head Neck Surg. 2012;147:1012-9.
- (13) Dweik R.A., et al. *Applications ATSC on I of ENOL (FENO) for Clinical Applications. An official ATS clinical practice guideline: interpretation of exhaled nitric oxide levels (FENO) for clinical applications*. Am. J. Respir. Crit. Care Med. 2011; 184:602– 15.
- (14) Heffler E., et al. *Nasal cytology: methodology with application to clinical practice and research*. Clin. Exp. Allergy. 2018; 48:1092–106.
- (15) Pizzichini E., et al. *Indices of airway inflammation in induced sputum: reproducibility and validity of cell and fluid-phase measurements*. Am. J. Respir. Crit. Care. Med. 1996; 154:308–17.
- (16) Albano G.D., et al. *Th17 immunity in children with allergic asthma and rhinitis: a pharmacological approach*. PLoS ONE. 2013; 8:1–13.
- (17) Santus A., et al. *Mucins and Asthma: are we headed to the revolutionary road?* J. Clin. Med. 2019; 8:1955.

Analisi dei composti organici volatili su matrice urinaria mediante naso elettronico in pazienti pediatrici sottoposti a trapianto allogenico di cellule staminali ematopoietiche in follow-up pneumologico

Analysis of urinary volatile organic compounds by electronic-Nose in paediatric patients undergoing allogeneic haematopoietic stem cell transplantation in pulmonary follow-up

Vanessa Cecchin^{1*}, Laura Tenero², Michele Piazza¹, Giuliana Ferrante¹, Giorgio Piacentini^{1&}

¹Dipartimento Scienze Chirurgiche, Odontostomatologiche e Materno Infantili, Sezione di Pediatria, Università di Verona

²Dipartimento Materno Infantile, Pediatria C, AOUI Verona

*primo autore; &autore senior

Corrispondenza: Vanessa Cecchin **e-mail:** vanessa.cecchin@gmail.com

Riassunto: L'analisi dei composti organici volatili su matrice urinaria mediante naso elettronico rappresenta un nuovo approccio clinico non invasivo, che potrebbe consentire di identificare precocemente alterazioni polmonari in pazienti in età pediatrica sottoposti a trapianto di cellule staminali ematopoietiche allogenico, e di standardizzare il follow-up pneumologico.

Parole chiave: naso elettronico, TCSE, bronchiolite obliterante.

Summary: *The analysis of urinary volatile organic compounds by electronic nose represents a new non-invasive clinical approach that could allow early identification of pulmonary impairment in children undergoing allogeneic haematopoietic stem cell transplantation and could have a central role in pulmonary follow-up after HSCT.*

Keywords: *electronic nose, HSCT, bronchiolitis obliterans.*

INTRODUZIONE

Il trapianto di cellule staminali ematopoietiche (TCSE) allogenico rappresenta un'opzione terapeutica per varie patologie oncoematologiche, immunologiche e metaboliche dell'età pediatrica. Negli ultimi anni si è assistito ad un progressivo miglioramento del tasso di sopravvivenza post-trapianto (1). Per tale motivo è importante conoscere e diagnosticare precocemente le complicanze a medio e lungo termine correlate che rappresentano ad oggi importanti cause di morbilità in questa categoria di pazienti. Da qui emerge come il follow-up rivesta un ruolo fondamentale nella pianificazione del percorso clinico (2).

Dal punto di vista pneumologico, la Graft versus Host Disease (GvHD) cronica rappresenta un importante fattore di rischio per lo sviluppo di bronchiolite obliterante (BO) che si manifesta, solitamente nei primi 2 anni dopo il trapianto, con un'incidenza variabile dal 2 al 6% (3,4).

Il monitoraggio della funzionalità polmonare nei pazienti in età pediatrica sottoposti a TCSE è fortemente raccomandato, tuttavia non risulta essere ancora standardizzato: infatti la diagnosi delle complicanze polmonari, in particolar modo la bronchiolite obliterante, avviene spesso tardivamente (3). Inoltre, l'esecuzione delle prove di funzionalità respiratoria (PFR) non è semplice da ottenere in quanto richiede la collaborazione del paziente che spesso non è in condizioni cliniche adeguate, oppure per limiti di età, non permette di raccogliere dei dati attendibili.

I composti organici volatili (VOCs) sono derivati del carbonio che originano da processi metabolici dell'organismo umano e sono rilevabili in varie matrici organiche (urine, feci, aria esalata) attraverso l'impiego di uno strumento chiamato naso elettronico (e-Nose) (5). Il dispositivo utilizzato in questo studio è il Cyranose 320® (Pesadena, California, USA), uno strumento dotato di un *array* di 32 nano sensori di polimeri di carbonio in grado di rilevare gruppi di VOCs presenti nelle matrici organiche. Successivamente, attraverso algoritmi di *pattern recognition system* (6) lo strumento è in grado di elaborare una sorta di "impronta olfattiva" (*breathprint*) caratteristica per ognuno dei campioni analizzati. Questa tecnica emergente in campo biomedico, non invasiva, di facile utilizzo e con costi relativamente contenuti è impiegata in differenti branche della medicina per discriminare i soggetti malati rispetto ai soggetti sani (7-10).

Lo scopo di questo studio è analizzare mediante e-Nose i VOCs presenti nella matrice urinaria di una coorte di pazienti pediatrici sottoposti a TCSE allogenico e valutare la relazione con le prove di funzionalità respiratoria nella fase pre-trapianto e nel follow-up.

MATERIALI E METODI

Lo studio è di tipo longitudinale prospettico monocentrico approvato dal Comitato Etico per la Sperimentazione Clinica delle Province di Verona e Rovigo (CESC 3047).

Sono stati inclusi, previa firma del consenso informato, pazienti di età pediatrica tra 0 e 18 anni sottoposti a TCSE allogenico secondo i protocolli di trattamento di riferimento (1), tra gennaio 2020 e agosto 2021. Lo studio coordinato dal Servizio di Broncopneumologia Pediatrica è stato condotto in collaborazione con il Servizio di Oncoematologia Pediatrica dell'Ospedale della Donna e del Bambino, Azienda Ospedaliera Universitaria Integrata di Verona (AOUI-Verona).

Sono stati esclusi i pazienti precedentemente esposti a radioterapia polmonare, con coesistente malattia polmonare interstiziale, o che abbiano assunto steroidi sistemici (a dosaggio uguale o superiore a 2 mg/kg/die) nella settimana precedente l'avvio del protocollo per TCSE allogenico.

In Tabella 1 sono rappresentati i principali timing di raccolta dei campioni, in linea con le più recenti raccomandazioni per il follow-up pneumologico nei pazienti sottoposti a TCSE allogenico (11).

L'arruolamento dei pazienti (T0) è avvenuto una settimana prima del trapianto e prima dell'avvio del regime terapeutico di condizionamento. I timing successivi sono stati impostati a 6 settimane dal trapianto e successivamente ogni 3 mesi. Ad ogni rilevazione è stata effettuata raccolta dei campioni uri-

TIMING	GIORNI DA TCSE	RACCOLTA URINE	PFR
T0	-7	X	X
TCSE	0		
T6	+42	X	X
T10	+90	X	X
T13	+180	X	X
T16	+270	X	X
T19	+365	X	X
T20	+455	X	X
T21	+545	X	X

Tab. 1: Flow chart delle rilevazioni da effettuare nei pazienti dei gruppi di studio; TCSE: trapianto di cellule staminali ematopoietiche; PFR= prove di funzionalità respiratoria; x= esame da eseguire.

Flow-chart of timing and detections carried out in the study group.

nari stoccati a -20°C in attesa di essere analizzati con e-Nose.

Nei pazienti collaboranti con età superiore a 5 anni sono state eseguite inoltre le seguenti PFR: spirometria (Jaeger-Carefusion®) con test di broncodilatazione (400mg di salbutamolo), oscillometria ad impulsi (MasterScreen, Jaeger-Carefusion®) con test di broncodilatazione (400mg di salbutamolo) ed infine l'analisi di LCI (Lung Clearance Index) tramite N2-multiple breath washout (N2-MBW) (Exhalyzer-D, Eco-Medics®).

Le variabili continue sono presentate come valore medio e deviazione standard, mentre le variabili ordinali e nominali sono presentate con la frequenza ed il valore percentuale.

Per ogni campione di urina raccolto è stata eseguita un'analisi in triplicato, ed è stato considerato il valore medio delle misure. La relazione tra l'intensità di segnale dei sensori e le variabili dei dati di funzionalità respiratoria sono stati indagati applicando il test di Spearman o il test di Pearson. La significatività statistica è stata considerata per un valore di $p < 0.05$.

RISULTATI

Sono stati arruolati 21 pazienti (10 maschi e 11 femmine) con un'età media di 9 anni. Le PFR sono state eseguite in 12 pazienti. Il follow-up medio è stato di 10 mesi (range 1-18 mesi).

Dieci pazienti hanno sviluppato GvHD acuta e tre hanno manifestato segni di GvHD cronica.

Dall'analisi dei dati ottenuti mediante Cyranose 320® sono emerse differenze statisticamente significative tra le impronte olfattive appartenenti ai diversi campioni e alcuni parametri di funzionalità respiratoria.

Si evidenzia una correlazione inversa tra il parametro $\Delta FEV_1\%$ ($FEV_1\%$ prima e dopo somministrazione di 400µg di salbutamolo) e i sensori S5, S10, S12 e S31 (rispettivamente $p=0.032$, $p=0.02$, $p=0.028$, $p=0.016$). Inoltre, si evidenzia una correlazione inversa tra il valore di $\Delta FEV_{25-75}\%$ (prima e dopo somministrazione di 400µg di salbutamolo) e i sensori S5, S12, S21 e S26 ($p=0.022$, $p=0.022$, $p=0.026$, $p=0.022$, rispettivamente).

Nella valutazione attraverso l'oscillometria ad impulsi, è emersa una correlazione diretta tra il parametro D5-20% e i sensori S1, S3, S27, S28 ($p=0.004$, $p=0.001$, $p=0.003$, $p=0.005$, rispettivamente) (Figura 1).

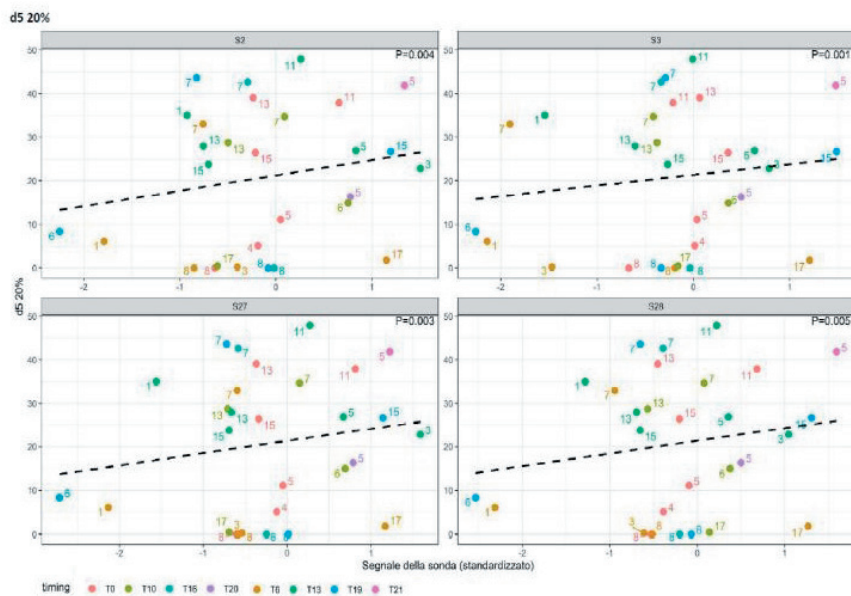


Fig. 1: Scatter plot per l'associazione tra alcuni sensori di e-Nose e D5-20%.
Scatter plot for the relationship between e-Nose and D5-20%.

Infine, LCI 2.5% ottenuto tramite N2-MBW mostra una correlazione inversa con i sensori S1 e S27 (rispettivamente $p=0.004$ e $p=0.001$) (Figura 2).

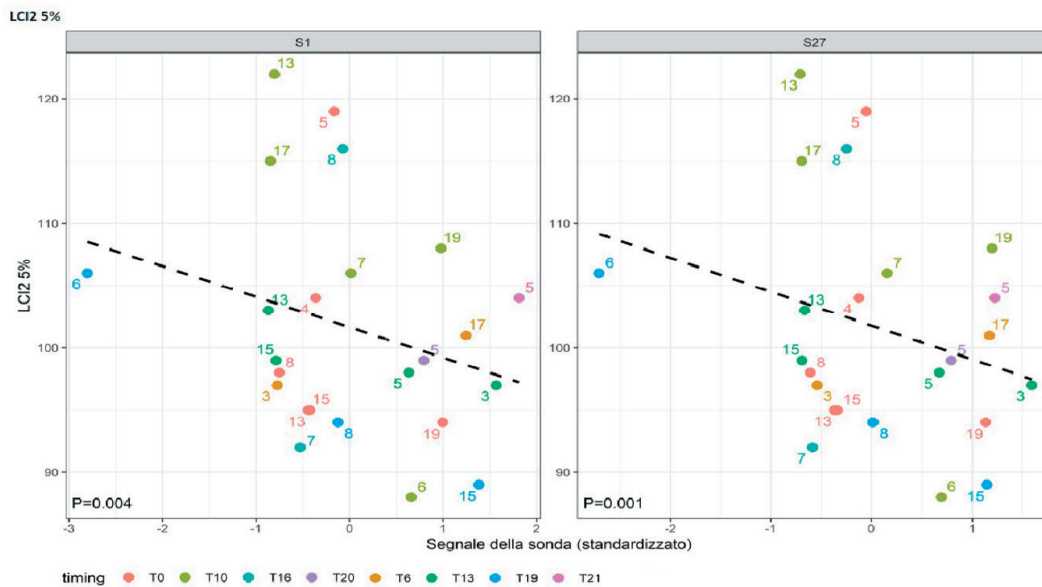


Fig. 2: Scatter plot per l'associazione tra alcuni sensori di e-Nose e LCI 2.5%.
Scatter plot for the relationship between e-Nose and LCI 2.5%.

DISCUSSIONE

Ad oggi lo studio è il primo ad analizzare i VOCs urinari tramite e-Nose in pazienti in età pediatrica sottoposti a TCSE allogenico. L'analisi dei VOCs mediante e-Nose è oggetto di crescente interesse scientifico, in quanto ha permesso di ottenere risultati promettenti nello studio di *biomarker* per la caratterizzazione di differenti patologie (respiratorie, infettive, gastroenterologiche, neoplastiche, etc). Inoltre, si evidenzia come questa tecnologia dall'approccio non invasivo sia di facile applicazione, in quanto la raccolta di campioni di urina è ben accettata dal paziente, e permette di mantenere il costo dell'analisi relativamente contenuto (7-10).

Dai risultati preliminari emergono relazioni significative tra alcuni parametri di funzionalità respiratoria che forniscono informazioni sulle piccole vie aeree, D₅-20% ottenuto dall'oscillometria ad impulsi e LCI 2.5% estrapolato da N₂-MBW. Recenti studi hanno messo in evidenza come nei pazienti affetti da BO vi sia un aumento di LCI e come questo parametro possa essere considerato un indicatore precoce di alterazione delle piccole vie aeree (12, 13). Tuttavia, l'esecuzione della metodica di N₂-MBW richiede una particolare collaborazione del paziente.

Alla luce di queste considerazioni, l'analisi dei VOCs urinari tramite e-Nose potrebbe rappresentare una metodica aggiuntiva da utilizzare nel follow-up pneumologico di pazienti pediatrici sottoposti a TCSE, in quanto permetterebbe di superare le difficoltà correlate all'esecuzione delle prove di funzionalità respiratoria stesse.

I limiti di questo studio riguardano la ridotta dimensione del campione analizzato e l'eterogenea durata del follow-up a causa del carattere prospettico e dell'arruolamento dei pazienti in tempi diversi. Inoltre, la pandemia da COVID-19 ha imposto la sospensione dell'esecuzione delle PFR per vari mesi, per cui la raccolta dati è stata parziale per alcuni pazienti coinvolti nel protocollo.

CONCLUSIONI

Dai risultati preliminari emerge la capacità di Cyranose 320® di identificare VOCs urinari correlati ad alterazioni polmonari delle piccole vie aeree.

Questo approccio clinico non invasivo, a costi contenuti potrebbe rappresentare uno strumento aggiuntivo da utilizzare nel follow-up pneumologico di pazienti pediatrici sottoposti a TCSE, consentendo di standardizzare in precisi timing il monitoraggio della funzionalità respiratoria e poter identificare precocemente un'alterazione polmonare.

E-nose potrebbe quindi acquisire un potenziale ruolo nella diagnosi precoce e non invasiva di alterazione polmonare, che potrebbe essere precursore di BO.

Sarà necessaria la prosecuzione dello studio in modo da aumentare la numerosità campionaria e la durata del follow-up per confermare tale ipotesi.

BIBLIOGRAFIA

- (1) Duarte R.F., et al. European Society for Blood and Marrow Transplantation (EBMT). *Indications for haematopoietic stem cell transplantation for haematological diseases, solid tumours and immune disorders: current practice in Europe*. Bone Marrow Transplant. 2019;54:1525-1552.
- (2) Thakkar D., et al. *Pediatric Hematopoietic stem cell transplantation - What a pediatrician should know?* J. Pediatr. Crit. Care 2018;5:51-54.
- (3) Duncan C.N., et al. *Bronchiolitis obliterans following pediatric allogeneic hematopoietic stem cell transplantation*. Bone Marrow Transplant. 2008;41:971-5.
- (4) Kurland G., et al. *Bronchiolitis obliterans in children*. Pediatr. Pulmonol. 2005;39:193-208
- (5) Amann A., et al. *The human volatilome: volatile organic compounds (VOCs) in exhaled breath, skin emanations, urine, feces and saliva*. J. Breath. Res. 2014;8:034001
- (6) Röck F., et al. *Electronic nose: current status and future trends*. Chem. Rev. 2008;108:705-25.
- (7) Dragonieri S., et al. *Electronic Nose Technology in Respiratory Diseases*. Lung. 2017;195:157-165.
- (8) Buijck M., et al. *Sniffing out paediatric gastrointestinal diseases: the potential of volatile organic compounds as biomarkers for disease*. J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr. 2016;63:585-591.
- (9) Dragonieri S., et al. *An electronic nose in the discrimination of patients with asthma and controls*. J. Allergy Clin. Immunol. 2007;120:856-62.
- (10) Tenero L., et al. *Electronic nose in discrimination of children with uncontrolled asthma*. J. Breath Res. 2020;14:046003.
- (11) Gassas A., et al. *Chest health surveillance utility in the early detection of bronchiolitis obliterans syndrome in children after allo-SCT*. Bone Marrow Transplant. 2013;48:814-8.
- (12) Lahzami S., et al. *Small airways function declines after allogeneic haematopoietic stem cell transplantation*. Eur. Resp. J. 2011;38:1180-1188.
- (13) Nyilas S., et al. *Inert gas washout in bronchiolitis obliterans following hematopoietic cell transplantation*. Chest. 2018;154:157-168.

Equazioni di riferimento device-specifiche per la predizione dei valori normali dei parametri di oscillometria forzata nei bambini

Device-specific reference equations for the prediction of normal parameters of forced oscillation in children

Salvatore Fasola¹, Giovanna Cilluffo², Velia Malizia¹, Enrico Lombardi³, Alessandro Gobbi⁴, Claudia Calogero³, Grazia Fenu³, Giuliana Ferrante⁵, Laura Montalbano¹, Stefania La Grutta¹

¹Istituto di Farmacologia Traslazionale, Consiglio Nazionale delle Ricerche, Palermo

²Dipartimento di Scienze della Terra e del Mare, Università degli Studi di Palermo

³Struttura Organizzativa Semplice Autonoma Broncopneumologia, Azienda Ospedaliero-Universitaria "Meyer", Firenze

⁴Restech Srl, Milano

⁵Dipartimento di Scienze Chirurgiche, Odontostomatologiche e Materno-Infantili, Università degli Studi di Verona

Corrispondenza: Salvatore Fasola **e-mail:** salvatore.fasola@ift.cnr.it

Riassunto: Per i bambini, l'oscillometria forzata può risultare più semplice da eseguire rispetto alla spirometria. L'obiettivo del nostro studio è stato quello di sviluppare delle equazioni di riferimento, per sesso ed altezza, in relazione ai parametri di resistenza e reattanza inspiratoria, espiratoria e totale ($\text{cmH}_2\text{O}\cdot\text{L}\cdot\text{s}^{-1}$), misurati con lo strumento Resmon Pro Full. Le equazioni di riferimento sono state derivate su 154 bambini di età 3-6 anni (frequenza 8 Hz) e 203 bambini di età 6-17 anni (5-11-19 Hz), usando modelli Lambda-Mu-Sigma.

Parole chiave: adolescenti, bambini, equazioni di riferimento, oscillometria forzata.

Summary: For children, forced oscillometry may be easier to perform than spirometry. The objective of our study was to develop reference equations, for sex and height, for the parameters of inspiratory, expiratory, and total resistance and reactance ($\text{cmH}_2\text{O}\cdot\text{L}\cdot\text{s}^{-1}$), measured through the Resmon PRO FULL device. The reference equations have been derived using measurements on 154 children aged 3-6 years (frequency 8 Hz) and 203 children aged 6-17 years (5-11-19 Hz), using Lambda-Mu-Sigma models.

Keywords: adolescents, children, forced oscillometry, reference equations.

INTRODUZIONE

I bambini possono trovare meno difficoltà ad eseguire l'oscillometria forzata a respiro spontaneo (FOT, *forced oscillation technique*) piuttosto che la manovra respiratoria forzata massimale (spirometria). Diverse tipologie di dispositivi per la misura dei parametri FOT sono disponibili in commercio, ed è quindi necessario poter disporre di equazioni di riferimento device-specifiche, per il corretto calcolo dei valori predetti e dei range di normalità, in funzione delle caratteristiche antropometriche dei bambini. L'obiettivo dello studio è stato quello di sviluppare delle equazioni di riferimento, in funzione di sesso e altezza, per i parametri di resistenza e reattanza respiratoria misurati con lo strumento Resmon Pro Full in bambini italiani.

MATERIALI E METODI

Lo studio cross-sectional è stato condotto su bambini reclutati tra febbraio 2015 e dicembre 2018 presso la popolazione pediatrica delle città di Palermo e Firenze. I criteri di inclusione erano i seguenti: 1) maschi e femmine di età compresa dai 3 ai 17 anni; 2) etnia caucasica; 3) spirometria normale. I criteri di esclusione erano: 1) obesità; 2) storia di fumo attivo e/o sintomi respiratori; 3) assenza di consenso informato. Lo studio è stato approvato dal comitato etico delle città di Palermo e Firenze.

Dati antropometrici quali l'altezza (cm) ed il peso (kg) sono stati rilevati in posizione eretta e a piedi nudi, usando rispettivamente uno statimetro (Wunder HR1, Monza, Italia) ed una bilancia elettronica (Seca, Amburgo, Germania). Le misurazioni dei parametri di resistenza e reattanza inspiratorie, espiratorie e totali ($\text{cmH}_2\text{O}\cdot\text{L}\cdot\text{s}^{-1}$) sono state eseguite con lo strumento Resmon Pro Full (Restech, Milano, Italia), previa calibrazione in condizioni ambientali stabili (T° , umidità, pressione). Per ciascun bambino è stata calcolata la media di tre misurazioni effettuate in sequenza, alle frequenze di 8 Hz (bambini di età 3-6 anni) e 5-11-19 Hz (bambini di età 6-17 anni). Le misurazioni sono state eseguite in accordo alle linee guida internazionali (1).

Per sviluppare le equazioni di riferimento saranno utilizzati modelli Lambda-Mu-Sigma (LMS), appartenenti alla classe dei modelli GAMLSS (2). Tali modelli forniscono tre equazioni: una per il valore predetto (location, ovvero M), una per la variabilità (scale, ovvero S) ed una per l'asimmetria della distribuzione (shape, ovvero L). In linea con quanto mostrato da studi precedenti (3–13), i predittori inclusi nelle equazioni di M ed S saranno rappresentati da altezza e sesso, mentre per L sarà stimata solo un'intercetta, per evitare di incorrere in problemi di corretta approssimazione dei percentili in seguito al troncamento della distribuzione normale sottostante alla trasformazione di Box-Cox (2).

I predittori da mantenere nelle equazioni di M ed S e la funzione di trasformazione di M (identità o esponenziale) sono stati scelti ottimizzando il valore dell'indice AIC. Le funzioni di trasformazione usate per S ed L saranno rispettivamente l'esponenziale (per garantire una stima sempre positiva della variabilità) e l'identità. Al valore delle reattanze sarà preventivamente sommato un valore di traslazione pari a T=20 al fine di ottenere una distribuzione a valori strettamente positivi, compatibilmente con le ipotesi del modello (per le resistenze si avrà T=0).

RISULTATI ATTESI

In totale, 357 bambini sono stati inclusi nello studio (181 della città di Palermo e 176 della città di Firenze). Di essi, 154 bambini di età compresa tra 3 e 6 anni hanno eseguito i test FOT alla frequenza di 8 Hz, mentre 203 bambini di età compresa tra 6 e 17 anni hanno eseguito i test FOT alle frequenze di 5-11-19 Hz.

I valori predetti, dato il sesso e l'altezza, saranno ottenibili come M-T (T=0 per le resistenze, T=20 per le reattanze). Gli z-score per una data misura potranno essere calcolati come

$$z\text{-score} = \{[(\text{misura}+T) / M]^L - 1\} / (L \times S),$$

mentre i limiti superiore (ULN, di interesse per le resistenze) ed inferiore (LLN, di interesse per le reattanze) di normalità potranno essere calcolati, rispettivamente, come

$$\begin{aligned} \text{ULN} &= M \times (1.64 \times S \times L + 1)^{1/L} - T \\ \text{LLN} &= M \times (-1.64 \times S \times L + 1)^{1/L} - T. \end{aligned}$$

DISCUSSIONE

Come sintetizzato in Tabella 1, la maggior parte degli studi ad oggi pubblicati ha fornito equazioni di riferimento per le misurazioni ottenute utilizzando il dispositivo MasterScreen IOS (3–8). Altre equazioni di riferimento sono state determinate per i dispositivi Quark i2m (9,10), tremoFlo™ C-100 (11,12), e Resmon Pro Full (12,13). Inoltre, come per altri parametri di funzione polmonare, ad esempio la spirometria, vi è la necessità che le equazioni di riferimento siano applicabili a popolazioni specifiche. Fasola et al., hanno riportato che le equazioni di riferimento GLI 2012 per la spirometria non sono risultate pienamente applicabili ad un campione rappresentativo della popolazione generale di bambini siciliani, esitando in una sovrastima/sottostima dei valori predetti ed in un allontanamento dall'ipotesi di normalità dei residui normalizzati (z-score) nelle bambine (14). Infine, sebbene siano stati applicati modelli avanzati di tipo GAMLSS (Generalized Additive Model for Location, Scale and Shape) per cogliere la riduzione della variabilità delle misure nei bambini molto alti¹² (modelli "location-scale"), nessuno studio ha finora fornito stime di parametri relativi alla forma della distribuzione (modelli "location-scale-shape") per cogliere eventuali allontanamenti dall'ipotesi di normalità.

CONCLUSIONE

Lo studio ha identificato una metodologia basata sui modelli LMS per sviluppare equazioni di riferimento in funzione di sesso e altezza, per i parametri di resistenza e reattanza respiratoria misurati con lo strumento Resmon Pro Full in bambini italiani a partire dai 3 anni d'età.

Studio	Popolazione	Strumento	Range età	N	Predittori	Metodo
AlBlooshi, 2018 (11)	Araba	tremoFlo™ C-100	4-12	291	altezza	Regressione lineare dopo trasformazione logaritmica
Amra, 2008 (6)	Iraniana	MasterScreen IOS	5-19	509	età, altezza, sesso	Regressione lineare
Calogero, 2013 (9)	Italiana	Quark i2m	2-13	760	altezza, sesso	Regressione lineare dopo trasformazione logaritmica / radicale
De, 2020 (13)	Indiana	Resmon Pro Full	5-17	320	età, altezza, sesso	Regressione lineare
Dencker, 2006 (4)	Finlandese / Svedese	MasterScreen IOS	2-11	360	altezza, peso	Regressione lineare con termini polinomiali
Ducharme, 2022 (12)	69% Canadese 8% Africana 23% Altro	Resmon Pro Full / tremoFlo™ C-100	3-17	299	altezza	GAMLSS dopo trasformazione logaritmica / radicale, con termini polinomiali
Frei, 2005 (3)	Statunitense	MasterScreen IOS	3-10	222	altezza	Regressione lineare
Gochicoa-Rangel, 2015 (8)	Messicana	MasterScreen IOS	2-15	283	età, altezza, sesso	Regressione lineare con termini polinomiali / logaritmici
Hall, 2007 (10)	Australiana	Quark i2m	2-7	158	altezza	Regressione lineare
Nowowiejska, 2008 (7)	Polacca	MasterScreen IOS	3-18	626	altezza, sesso	Regressione lineare con termini esponenziali / logaritmici
Park, 2011 (5)	Coreana	MasterScreen IOS	3-6	133	età, altezza, peso, sesso	Regressione lineare

Tab. 1: Equazioni di riferimento ad oggi pubblicate.
Reference equations to date published.

BIBLIOGRAFIA

- (1) King G.G., et al. *Technical standards for respiratory oscillometry*. Eur. Respir. J. 2020; 55: 1900753.
- (2) Rigby R.A., et al. *Smooth centile curves for skew and kurtotic data modelled using the Box-Cox power exponential distribution*. Stat. Med. 2004; 23: 3053-3076.
- (3) Frei J., et al. *Impulse oscillometry: reference values in children 100 to 150 cm in height and 3 to 10 years of age*. Chest. 2005; 128: 1266-1273.
- (4) Dencker M., et al. *Reference values for respiratory system impedance by using impulse oscillometry in children aged 2–11 years*. Clin. Physiol. Funct. Imaging. 2006; 26: 247-250.
- (5) Park J.H., et al. *Reference values for respiratory system impedance using impulse oscillometry in healthy preschool children*. Korean J. Pediatr. 2011; 54: 64-68.
- (6) Amra B., et al. *Respiratory resistance by impulse oscillometry in healthy Iranian children aged 5-19 years*. Iran J. Allergy Asthma Immunol. 2008; 7: 25-29.
- (7) Nowowiejska B., et al. *Transient reference values for impulse oscillometry for children aged 3–18 years*. Pediatr. Pulmonol. 2008; 43: 1193-1197.
- (8) Gochicoa-Rangel L., et al. *Values of impulse oscillometry in healthy Mexican children and adolescents*. Respir. Care. 2015;60: 119-127.
- (9) Calogero C., et al. *Respiratory impedance and bronchodilator responsiveness in healthy children aged 2–13 years*. Pediatr. Pulmonol. 2013; 48: 707-715.
- (10) Hall G.L., et al. *Respiratory function in healthy young children using forced oscillations*. Thorax. 2007; 62: 521-526.
- (11) AlBlooshi A., et al. *Respiratory function in healthy Emirati children using forced oscillations*. Pediatr. Pulmonol. 2018; 53: 936-941.
- (12) Ducharme F.M., et al. *Reference values for respiratory sinusoidal oscillometry in children aged 3 to 17 years*. Pediatr. Pulmonol. 2022; 57: 2092-2102.
- (13) De S., et al. *Regression equations of respiratory impedance measured by forced oscillation technique for Indian children*. Indian J. Pediatr. 2020; 87: 192-199.
- (14) Fasola S., et al. *Global Lung Function Initiative 2012 reference values for spirometry in South Italian children*. Respir. Med. 2017; 131: 11-17.

Impatto degli indici di adiposità sulla funzionalità polmonare in bambini con malattie allergiche respiratorie

The impact of adiposity indices on lung function in children with respiratory allergic diseases

Rossella Lamberti^{1*}, Valeria Calcaterra^{1,3}, Chiara Gasparini¹, Annalisa De Silvestri⁴, Michele Ghezzi^{1&}, Gian Vincenzo Zuccotti², Enza D'Auria^{1,2&}

¹Dipartimento di Pediatria "Ospedale dei Bambini Vittore Buzzi", Unità di Allergologia, Milano

²Dipartimento di Scienze Biomediche e Cliniche "Luigi Sacco", Università degli Studi di Milano

³Dipartimento di Medicina Interna e Terapia Medica, Unità di Pediatria e Adolescenza, Università degli Studi di Pavia

⁴Direzione Scientifica, Biometria ed Epidemiologia Clinica, Fondazione IRCCS Policlinico San Matteo, Pavia

*primo autore; &autore senior

Corrispondenza: Rossella Lamberti **e-mail:** rossella.lamberti@unimi.it

Riassunto: Lo studio ha selezionato retrospettivamente 200 bambini asmatici e 200 non asmatici. Massa magra stimata (eFM) e Body Mass Index (BMI) sono stati considerati come indici di adiposità. I parametri di funzionalità polmonare sono stati misurati tramite spirometria. Il BMI z-score correla significativamente con FVC e FEV₁ in entrambi i gruppi; eFM correla significativamente con FEV₁/FVC solo negli asmatici. eFM e BMI possono essere utilizzati nella pratica clinica per valutare l'impatto dell'eccesso ponderale sulla funzione respiratoria.

Parole chiave: malattie allergiche respiratorie, obesità, funzione polmonare

Summary: We performed a retrospective review of 200 asthmatic and 200 non asthmatic patients. eFM and BMI were considered as adiposity indices. Lung function parameters were measured by spirometry. A correlation between the BMI z-score and FVC and FEV₁ was found in both groups, while a correlation between eFM and FEV₁/FVC was detected in the asthma group only. eFM and BMI may be useful to evaluate the impact of adiposity on lung function.

Keywords: respiratory allergic diseases, obesity, pulmonary function

INTRODUZIONE

L'obesità è un problema emergente di salute pubblica in tutto il mondo (1). L'asma è la malattia allergica più comune in età pediatrica, associata a notevole morbilità, diminuzione della qualità della vita e impatto economico per il paziente e la famiglia (1).

Tra i fattori implicati nell'insorgenza dell'asma, l'obesità è sicuramente da menzionare (2,3). Diversi meccanismi patogenetici possono essere ipotizzati per spiegare la relazione bidirezionale tra asma e obesità (4,5). Sebbene l'indice di massa corporea (BMI) venga solitamente utilizzato come indice di adiposità, esso non discrimina tra massa magra e grassa. Recentemente, *Hudda e collaboratori* hanno elaborato (6) un modello basato su altezza, peso, età, sesso ed etnia per stimare la massa grassa nei bambini (eFM).

La relazione tra obesità e funzione polmonare nei bambini con malattie respiratorie, come valutato da una recente metanalisi è controversa (7). Nella popolazione pediatrica gli effetti del sovrappeso hanno dimostrato un effetto dannoso sul rapporto FEV₁/FVC (volume espiratorio forzato nel 1° secondo/capacità vitale forzata) (8). Lo scopo di questo studio è stato quello di valutare l'impatto degli indici di adiposità sulla funzione polmonare nei bambini con malattie allergiche respiratorie - rinite allergica - rispetto ai pazienti asmatici.

MATERIALI E METODI

I dati di 400 bambini (200 asmatici e 200 non asmatici) afferenti all'Unità di Allergologia dell'Ospedale Pediatrico Buzzi tra gennaio 2016 e dicembre 2019 sono stati valutati retrospettivamente.

Di tutti i pazienti sono stati considerati i parametri auxologici e i parametri di funzionalità polmonare.

Secondo le indicazioni GINA, l'asma è stata diagnosticata sulla base di sintomi respiratori (respiro sibilante, mancanza di respiro, costrizione toracica, tosse) associati a una limitazione variabile del flusso d'aria espiratorio, confermata dal test di reversibilità (9). Al contrario, la rinite allergica è stata diagnosticata sulla base di anamnesi, esame clinico e normale spirometria.

In entrambi i gruppi lo stato atopico è stato rilevato tramite prick test cutanei.

La terapia personalizzata è stata prescritta secondo le linee guida GINA (9) e ARIA (10).

I parametri di funzionalità polmonare, misurati mediante spirometro COSMED MicroQuark, sono stati:

capacità vitale espiratoria forzata (FVC), volume espiratorio forzato nel 1° secondo (FEV₁), rapporto FEV₁/FVC, flusso espiratorio forzato al 25-75% di FVC (FEF₂₅₋₇₅).

Il BMI è stato calcolato come rapporto tra peso corporeo (chilogrammi) e altezza (metri al quadrato) ed è stato convertito in z-score utilizzando la classificazione dell'Organizzazione Mondiale della Sanità (OMS) (11). Secondo i valori di riferimento di BMI z-score (11), tutti i soggetti sono stati classificati in normopeso (NW, $-2 \leq \text{BMI z-score} \leq 1$) e sovrappeso/obesi (BMI z-score >1 e ≥ 2 , rispettivamente).

L'eFM è stato calcolato utilizzando la formula: massa grassa = $8 - \exp(0,3073 \times \text{altezza}^2 - 10,0155 \times \text{peso} - 1 + 0,004571 \times \text{peso} + 0,01408 \times \text{BA} - 0,06509 \times \text{SA} - 0,02624 \times \text{AO} - 0,01745 \times \text{altro} - 0,9180 \times \ln(\text{età}) + 0,6488 \times \text{età} \times 0,5 + 0,04723 \times \text{sexo maschile} + 2,8055)$ (exp = funzione esponenziale, ln = trasformazione logaritmica naturale, punteggio 1 per provenienza da Africa (BA), Asia-meridionale (SA), resto dell'Asia (AO), punteggio 0 per altra origine) (6). Per l'analisi statistica, i pazienti sono stati suddivisi in quattro gruppi: pazienti normopeso (NW) e sovrappeso/obesi (OW/OB) asmatici e pazienti NW e OW/OB non asmatici.

ANALISI STATISTICA

I dati sono stati descritti come frequenze e percentuali in caso di variabili categoriche, e come media e deviazione standard (DS) o mediana e IQR (intervallo interquartile) se variabili continue. Il test Shapiro-Wilk è stato utilizzato per testare la normalità dei dati. Il test esatto di Fisher è stato utilizzato per valutare l'associazione tra variabili categoriche. Il T test è stato utilizzato per valutare le differenze dei parametri respiratori tra i gruppi. È stata eseguita un'analisi di correlazione (Pearson o Spearman in base alla normalità) per determinare le possibili relazioni tra indici di adiposità e parametri respiratori. Un p-value $<0,05$ è stato considerato significativo. Tutte le analisi statistiche sono state eseguite utilizzando il software *Stata v 16.1 (StataCorp USA)*.

RISULTATI

Le caratteristiche cliniche dei pazienti arruolati (258 maschi e 142 femmine; età media $9,55 \pm 0,13$ anni) sono riportate in Tabella 1. Nessuna differenza significativa è stata osservata negli indici di adiposità tra i due gruppi, con eccesso ponderale presente in 148/400 (37%) pazienti.

Tab. 1: Parametri clinici e respiratori nei pazienti asmatici e non asmatici.
Clinical and respiratory parameters in patients with and without asthma.

	Asmatici	Non asmatici	p*
Età (anni)	9.41±2.65	9.69±2.78	0.31
Sesso (M/F)	132/68	126/74	0.53
BMI z-score	0.64±1.31	0.53±1.23	0.38
eFM	10.0±5.27	9.82±5.43	0.68

BMI = Body Mass Index, eFM = massa grassa stimata, M = maschio, F = femmina.

Come riportato in Tabella 2, il gruppo OW/OB ha mostrato FVC basale ($p < 0,01$) e FEV₁ ($p = 0,07$) maggiore e rapporto FEV₁/FVC inferiore ($p < 0,004$) rispetto al gruppo NW. Non sono state osservate differenze significative nei parametri respiratori tra i gruppi NW e OW/OB, ad eccezione di FVC ($p < 0,01$).

Tab. 2: Caratteristiche cliniche e parametri di funzione polmonare (pre-broncodilatazione).
Clinical characteristics and lung function parameters (pre-bronchodilatation).

	Asmatici			Non asmatici		
	NW	OW/OB	p	NW	OW/OB	p
Età (anni)	9.57±2.81	9.14±2.35	0.26	9.65±2.98	9.75±2.41	0.80
Sesso (M/F)	73/52	53/22	0.08	83/44	49/24	0.79
BMI z-score	-0.16± 0.81	1.89± 0.78	<0.001	-0.20± 0.81	1.80± 0.69	<0.001
eFM	7.32± 2.98	14.58± 6.31	<0.001	7.09± 2.81	14.56± 5.64	<0.001
FVC (%)	89.25±10.73	93.90±11.67	<0.01	93.81±9.46*	96.04±11.28	0.13
FEV ₁ (%)	83.72±10.01	86.58±12.50	0.07	94.71±8.99*	96.39±10.86*	0.24
FEV ₁ /FVC (%)	82.00±9.73	79.51±11.44	0.10	88.82±5.39*	87.72±5.84*	0.18
FEF ₂₅₋₇₅ (%)	67.64±15.84	68.57±18.28	0.70	90.34±17.17*	90.97±21.22*	0.82

NW= normopeso; OW/OB= sovrappeso/obesi.

In entrambi i gruppi è stata osservata una correlazione tra i parametri di funzione polmonare e gli indici di adiposità (Tabella 3). Il BMI z-score correla significativamente con FVC ($r = 0,16$, $p = 0,01$ e $r = 0,18$, $p = 0,007$, rispettivamente) e FEV_1 ($r = 0,13$, $p = 0,05$ e $r = 0,18$, $p = 0,01$, rispettivamente) sia nel gruppo degli asmatici che dei non asmatici. Una correlazione significativa tra eFM e FEV_1/FVC ($r = -0,21$, $p = 0,007$) è stata trovata solo nel gruppo degli asmatici.

Tab. 3: Correlazione tra indici di adiposità e parametri di funzione polmonare.
Correlation between adiposity index and lung function parameters (pre-bronchodilatation).

	Asmatici				Non asmatici			
	BMI z-score		eFM		BMI z-score		eFM	
	r	p	r	p	r	p	r	p
FVC (%)	0.16	0.01	0.01	0.86	0.18	<0.01	0.08	0.20
FEV_1 (%)	0.13	0.05	-0.06	0.38	0.18	0.01	0.03	0.59
FEV_1/FVC (%)	-0.12	0.06	-0.21	0.007	-0.03	0.57	-0.10	0.15
FEF_{25-75} (%)	0.02	0.76	-0.10	0.15	0.09	0.17	0.003	0.95

DISCUSSIONE

L'obesità rappresenta un fattore di rischio riconosciuto per lo sviluppo di asma, con un rischio relativo stimato di 1.29 (IC 95%: 1.16–1.42). Dai dati della letteratura emerge che l'obesità è presente nel 23-27% dei bambini con asma (12).

I nostri risultati hanno dimostrato una differenza significativa nei parametri respiratori tra il gruppo OW/OB rispetto ai NW e nei soggetti asmatici rispetto ai non asmatici.

In accordo con i precedenti dati della letteratura (13-16), sono stati osservati valori maggiori di FVC nei bambini OW/OB rispetto ai bambini NW. Inoltre, i bambini OW/OB hanno mostrato valori di FEV_1 maggiori (senza raggiungere la significatività statistica) e un rapporto FEV_1/FVC significativamente minore rispetto ai bambini NW.

Rispetto agli adulti, i bambini con obesità mostrano una capacità residua funzionale e un volume corrente inferiori grazie alle variazioni delle proprietà elastiche strutturali della parete toracica. Nei bambini l'effetto più rilevante dell'adiposità è il declino del rapporto FEV_1/FVC senza una riduzione dei valori di FVC, che risulta addirittura aumentato (17). Questo dato potrebbe essere spiegato dal fenomeno della "airway dysanapsis", secondo il quale durante la crescita infantile, l'obesità influenza il volume polmonare con sproporzione tra la crescita del parenchima e il calibro delle vie aeree (12, 18).

Nel nostro studio è stata osservata una correlazione significativa tra indici di adiposità e parametri di funzione polmonare. È stato dimostrato che il BMI è correlato alla FVC ma non al FEV_1/FVC , mentre l'eFM è significativamente associato a FEV_1/FVC nel gruppo degli asmatici, suggerendo che questi indici di adiposità possono essere utilizzati in combinazione nella pratica clinica.

Lo studio ha alcune limitazioni. In primo luogo, si tratta di uno studio retrospettivo. In secondo luogo, non sono disponibili dati sulla distribuzione dell'adiposità: un confronto tra l'eFM e la massa grassa valutata tramite bioimpedenziometria potrebbe migliorare la validità del modello.

In conclusione, l'eccesso ponderale sembra avere un effetto negativo sulla funzione polmonare anche nei bambini con rinite allergica che non soffrono di asma.

Oltre al BMI, l'eFM può essere utile come indicatore di adiposità nella pratica clinica. Se questi risultati saranno confermati da ulteriori studi, gli indici di adiposità potrebbero essere presi in considerazione nella gestione delle malattie allergiche respiratorie in età pediatrica.

BIBLIOGRAFIA

- (1) Caballero B. *The global epidemic of obesity: an overview*. Epidemiol. Rev. 2007; 29:1-5.
- (2) Bhatt S.P., et al. *Metabolic alterations and systemic inflammation in overweight/obese children with obstructive sleep apnea*. PLoS One. 2021; 16:6.
- (3) di Palma E, et al. *Childhood Obesity and Respiratory Diseases: Which Link?* Children (Basel). 2021; 8:177.

- (4) Vijayakanthi N., et al. *Pediatric Obesity-Related Asthma: The Role of Metabolic Dysregulation*. Pediatrics. 2016; 137:5.
- (5) Calcaterra V., et al. *Pediatric Obesity-Related Asthma: The Role of Nutrition and Nutrients in Prevention and Treatment*. Nutrients 2021; 13:3708.
- (6) Hudda M.T., et al. *Quantifying childhood fat mass: comparison of a novel height-and-weight-based prediction approach with DXA and bioelectrical impedance*. Int. J. Obes. (Lond). 2021; 45:99-103.
- (7) Ferreira M.S., et al. *Lung function in obese children and adolescents without respiratory disease: a systematic review*. BMC Pulm. Med. 2020; 20:281.
- (8) Forno E., et al. *Health disparities in asthma*. Am. J. Respir. Crit. Care Med. 2012; 185:1033-5.
- (9) Global initiative for Asthma. *Global Strategy for Asthma Management and Prevention, 2021*. Available from: www.ginasthma.org, accessed on April 24, 2022
- (10) Bousquet J., et al. *Allergic Rhinitis and Its Impact on Asthma Working Group. Next-generation Allergic Rhinitis and Its Impact on Asthma (ARIA) guidelines for allergic rhinitis based on Grading of Recommendations Assessment, Development and Evaluation (GRADE) and real-world evidence*. J Allergy Clin. Immunol. 2020; 145:70-80.
- (11) WHO Multicentre Growth Reference Study Group. *WHO Child Growth Standards based on length/height, weight and age*. Acta Paediatr. Suppl. 2006; 450:76-85.
- (12) Lang J.E. *Obesity and childhood asthma*. Curr. Opin. Pulm. Med. 2019; 25:34-43.
- (13) Lazarus R., et al. *Effects of body fat on ventilatory function in children and adolescents: cross-sectional findings from a random population sample of school children*. Pediatr. Pulmonol. 1997; 24:187-94.
- (14) Forno E., et al. *Overweight, Obesity, and Lung Function in Children and Adults-A Meta-analysis*. J. Allergy Clin. Immunol. Pract. 2018; 6:570-581.
- (15) Ekström S., et al. *Body mass index status and peripheral airway obstruction in school-age children: a population-based cohort study*. Thorax. 2018; 73:538-545.
- (16) Jones M.H., et al. *Asthma and Obesity in Children Are Independently Associated with Airway Dysanapsis*. Front. Pediatr. 2017; 5:270.
- (17) Davidson W.J., et al. *Obesity negatively impacts lung function in children and adolescents*. Pediatr. Pulmonol. 2014; 49:1003-10.
- (18) Forno E., et al. *Obesity and Airway Dysanapsis in Children with and without Asthma*. Am. J. Respir. Crit. Care Med. 2017; 195:314-323.

Correlazione tra microbiota orale e polmonare

Beatrice Polito, Diego Peroni

Dipartimento di Medicina Clinica e Sperimentale, Sezione di Pediatria, Università di Pisa

Corrispondenza: Diego Peroni **e-mail:** diego.peroni@unipi.it

Il microbiota orale è un costituente importante del microbiota umano, secondo solo al microbiota intestinale in termini di vastità. Infatti, sebbene si tratti di un microbiota periferico, in una zona apparentemente di passaggio, conta almeno 700 specie batteriche, oltre a funghi e virus. Un ulteriore elemento di complessità è dato dalla conformazione della cavità orale, che appare caratterizzata da un insieme di nicchie ecologiche (denti, palato, tonsille, saliva...) diverse tra loro, con habitat microbiologici molto differenti che si ampliano e variano molto in corso di patologia (Priya N.D., *et al. J. Oral Maxillofac. Pathol.* 2019; 23: 122-128).

Nei primi 3 mesi post partum ha inizio il processo di colonizzazione precoce orale che vede coinvolti batteri del genere *Streptococcus* (i.e. *Streptococcus salivarius*, specie streptococcica molto rappresentata nel latte materno), *Fusobacterium* e *Staphylococcus*. Dal primo anno di vita la cavità orale risulta colonizzata principalmente da aerobi, potendo includere i generi *Streptococcus*, *Lactobacillus*, *Actinomyces*, *Neisseria* e *Veillonella*. Con l'eruzione della dentatura decidua si assiste ad un profondo rinnovamento della popolazione batterica in cui predominano lo *Streptococcus mutans* seguito dalla *Veillonella* che rappresentano la componente stabile, lo zoccolo duro o core, arricchito da una componente variabile. Dopo l'eruzione di tutti i denti si creano altre superfici per la colonizzazione; in particolare lo sviluppo delle fessure gengivali favorisce la colonizzazione dei microbi parodontali, mentre a livello di diversi siti del dente, come le superfici lisce e le fessure, si verifica l'accumulo della placca con l'insediamento di diverse colonie microbiche, ottenendo un'elevata diversità di specie batteriche (Priya N.D., *et al. J. Oral Maxillofac. Pathol.* 2019; 23: 122-128).

Essendo il cavo orale una zona di transizione, interposta tra le vie aeree e l'esterno, uno stato di eubiosi in questo distretto risulta di particolare interesse medico-scientifico per la prevenzione e la gestione terapeutica delle infezioni a livello di rinofaringe e tonsille a livello locale (i.e. carie, parodontiti, alitosi) e polmonare.

Per quanto concerne il microbiota polmonare, studi eseguiti a partire dal 2009/2010 mediante *next generation sequencing* hanno dimostrato che risulta essere costituito da batteri (in particolare *Bacteroides*, *Firmicutes*, *Proteobacteria* seguiti da *Veillonella*, *Prevotella*, *Fusobacteria* e *Streptococcus*, con la presenza di piccole quantità di potenziali patogeni come l'*Haemophilus*), virus e funghi (*Aspergillus*, *Cladosporium*, *Penicillium* e *Eurotium*); la sua formazione avviene entro i primi mesi di vita post-natale, modificandosi con l'età e la funzionalità respiratoria. Alcuni studi ne hanno inoltre analizzato le caratteristiche in condizioni di benessere, nonché le alterazioni in corso di patologia (Pelosi U., *et al. RIAP* 2019; 2-12). I fattori che ne influenzano la composizione sono rappresentati dalle caratteristiche anatomiche del polmone, dal tipo di alimentazione (allattamento al seno o con latte in formula), dall'utilizzo di antibiotici nelle prime settimane di vita, dai fattori ambientali (vivere in fattorie, numero di fratelli, presenza di animali domestici, esposizione al fumo di sigaretta). Inoltre, l'equilibrio tra le varie specie microbiche, che risulta alterato in corso di malattia, è condizionato da molteplici fattori, riassumibili in migrazione, eliminazione e proliferazione batterica (Figura 1) (Yagi K, *et al. Int. J. Mol. Sci.* 2021; 22: 10872).

Uno dei fattori che sembra maggiormente influenzare la composizione del microbiota polmonare è rappresentato proprio dal microbiota orale, soprattutto mediante il fenomeno della "microaspirazione": tale meccanismo consentirebbe non solo ai commensali (non patogeni) ma anche ai batteri patogeni e ai virus di essere veicolati dalla cavità orale alle basse vie respiratorie, grazie allo stretto rapporto di continuità tra queste, potendo dare l'avvio ad infezioni polmonari (Figura 2) (Yagi K., *et al. Int. J. Mol. Sci.* 2021; 22: 10872).

Se è vero quindi che il microbiota polmonare è direttamente influenzato dal consorzio microbico orale è intuibile come un microbiota orale ottimale possa avere un ruolo nella protezione e nel mantenimento dell'eubiosi delle basse vie respiratorie. Uno studio condotto analizzando le regioni ipervariabili del 16S rRNA tramite PCR quantitativa su campioni di saliva in pazienti con fibrosi cistica ha permesso di affermare che la presenza di *Pseudomonas aeruginosa* a livello del cavo orale rappresenta un fattore di rischio per la riesacerbazione della patologia, mentre quella dello Streptococco (*Streptococcus salivarius* e *Streptococcus parasanguis* - specie tipicamente associate alla cavità orale- e le specie del gruppo *Streptococcus milleri*) si associa alla stabilizzazione della patologia, a un aumento della diversità dell'ambiente polmonare e ad una minore ricorrenza di infezioni da *Pseudomonas* (Filkins L.M., *et al. J. Bacteriol.* 2012; 194: 4709-17).

Dal momento che l'insorgenza, la progressione e la ricorrenza delle infezioni delle vie respiratorie sono accompagnate da alterazioni della composizione, dell'equilibrio e del metabolismo del microbiota orale, data anche la significativa interazione e influenza di quest'ultimo sul microbiota polmonare, sono auspicabili ul-

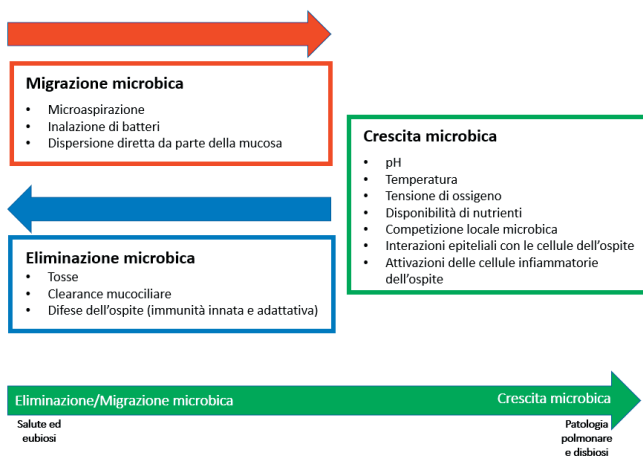


Fig. 1: In caso di benessere e di eubiosi si viene a creare una condizione di equilibrio in cui prevalgono i meccanismi di migrazione ed eliminazione microbica; viceversa, in corso di patologia respiratoria si verificano le condizioni che favoriscono la proliferazione microbica.

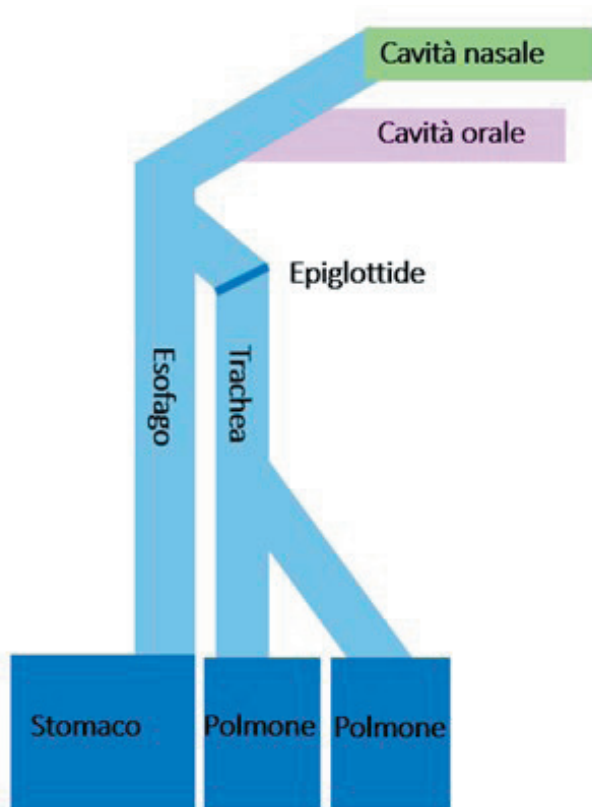


Fig. 2: Rappresentazione schematica dei rapporti di contiguità tra cavità nasale, orale e vie aeree inferiori; tali rapporti contribuiscono a spiegare l'influenza che il microbiota delle vie aeree superiori (in particolare della cavità orale) esercita su quello polmonare. Tale osservazione getta le basi biologiche per un potenziale approccio terapeutico volto a ripristinare un quadro di eubiosi a livello delle vie aeree inferiori andando ad agire sul microbiota orale.

dedere che la colonizzazione d'organo, facendo in particolare riferimento al cavo orale, con agenti commensali e non patogeni, in grado di produrre sostanze particolari come le batteriocine, ad azione naturale antibiotica, potrebbe rappresentare una vera misura di profilassi per evitare che la malattia infettiva si manifesti e soprattutto si ripresenti periodicamente.

teriori indagini sulla composizione della popolazione microbiologica del cavo orale e dei fattori che la condizionano. Negli ultimi anni è stato inoltre approfondito lo studio e l'impiego di agenti probiotici ad effetto locale per valutarne l'azione in termini di prevenzione e trattamento delle infezioni respiratorie, attraverso la preservazione e la restaurazione della composizione della nicchia biologica. Gli agenti microbici esterni, se patogeni, e gli interventi farmacologici, seppur mirati, possono stravolgere l'equilibrio microbiologico della flora saprofitica e determinare uno stato di disbiosi e resistenza ai farmaci. I nuovi approcci terapeutici e di prevenzione hanno l'obiettivo di ripristinare la microecologia senza necessariamente eliminare tutti i batteri, soprattutto i saprofiti. I meccanismi alla base della loro efficacia ed il loro razionale d'uso sono rappresentati dalla competizione per i siti di adesione, dall'antagonismo contro la crescita, dalla formazione di biofilm e dalla riduzione dell'espressione della virulenza dei patogeni e dalla regolazione della risposta immunitaria dell'ospite. L'azione di ceppi non ottenuti da derivazione intestinale e non necessariamente colonizzanti l'intestino, può offrire per l'ospite un'azione vantaggiosa di "interferenza batterica" a livello d'organo, risultato di un'azione di competizione recettoriale e/o battericida, contro microorganismi colonizzanti lo stesso tessuto.

Un esempio ben caratterizzato in letteratura è fornito dal genere *Streptococcus salivarius*, i cui ceppi sono saprofiti costituenti il microbiota del cavo orale nonché i membri dominanti dalla nascita.

Il ceppo *Streptococcus salivarius K12* (BLIS K12) esprime dei geni che codificano per batteriocine (Salivaricina A2 e Salivaricina B) che risultano innocue per l'uomo ma letali per altri patogeni, attraverso la penetrazione della membrana. Tale caratteristica ha permesso di considerarlo utile nella prevenzione delle infezioni ricorrenti delle vie respiratorie, non solo da streptococchi patogeni (i.e. *Streptococcus pyogenes* e *pneumoniae*), ma anche da altri microorganismi (i.e. *Moraxella catarrhalis* e *Haemophilus influenzae*). Oltre a fornire una protezione, in termini di prevenzione, in bambini e adulti noti per aver già presentato infezioni streptococciche ricorrenti, in uno studio randomizzato, lo *Streptococcus salivarius K12* è risultato efficace anche in bambini di 3 anni senza storia recente di tali infezioni; in particolare è stata osservata una significativa riduzione degli episodi di faringite streptococcica e di otite media, ma non di quelli di scarlattina. (Di Pierro F., et al. *Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci.* 2016; 20(21):4601-4606).

Alla luce di questi risultati è possibile quindi concludere

Diagnostica funzionale ed imaging in pneumologia pediatrica: follow-up a lungo termine delle malattie respiratorie croniche

Tommaso Zini^{1*}, Riccardo Filice¹, Enrico Lombardi^{2&}

¹Scuola di Specializzazione in Pediatria, Università degli Studi di Modena e Reggio Emilia

²Broncopneumologia, AOU-IRCCS Meyer Ospedale Pediatrico Firenze

*primo autore; &autore senior

Corrispondenza: Enrico Lombardi **e-mail:** enrico.lombardi@meyer.it

1) Cosa si può fare

Il *follow-up* delle malattie respiratorie croniche si avvale di test ripetuti per misurare la struttura e la funzione polmonare (Beydon N., *et al.* Am. J. Respir. Crit. Care Med. 2007;175(12):1304-1345). Le risposte alle domande "Quali test? In quali momenti?" dipendono dai quesiti clinici o di ricerca (Lombardi E., *et al.* Pneumologia Pediatrica 2006; 22:16-32).

Diagnostica funzionale e diagnostica per immagini in pneumologia pediatrica

Si elencano le possibilità di test di funzionalità polmonare (*pulmonary function testing, PFT*): tecniche per neonato / lattante / bambino sedato o "non collaborante"; misurazione delle resistenze con tecnica dell'interruzione (*Rint, interrupter resistance*) e delle oscillazioni forzate (*FOT, forced oscillation technique*) per il bambino "parzialmente collaborante"; spirometria per il bambino "collaborante"; test di broncodilatazione; test di provocazione bronchiale con stimoli meccanici/fisici/farmacologici tra cui il test alla metacolina; prove da sforzo tra cui test da sforzo cardiopolmonare, *6-minute walking test* o *6MWT*; pletismografia corporea per la misurazione dei volumi polmonari statici e resistenze (*sRaw*); diffusione alveolo-capillare della CO o *DLCO, diffusing capacity for carbon monoxide*; indici di *gas mixing - clearance (LCI)* basati su *multiple breath washout* o *MBW*. Indagini radiologiche (*imaging*): radiografia (RX); ecografia polmonare; tomografia assiale computerizzata (TC) tra cui protocolli *high-resolution computed tomography (HRCT)* per lo studio del parenchima; risonanza magnetica (RM); *positron emission tomography (PET)*. I protocolli TC sono il *gold standard* per la maggior parte dei quesiti sulla struttura del polmone, ma non si può prescindere dal principio di esposizione minima alle radiazioni, specie nel *follow-up* a lungo termine. Lo studio europeo *EPI-CT* per l'analisi del rischio di *radiation-induced cancer* da TC in età pediatrica ha dimostrato un significativo aumento nei soggetti esposti, specie entro i 5 anni successivi alla prima TC (Bernier M.O., *et al.* Int. J. Epidemiol. 2019;48(2):379-381g). Il documento SIRM 2022 "Protocolli di tomografia computerizzata per indicazione clinica" (<https://sirm.org/wp-content/uploads/2022/10/Protocolli-Tomografia-Computerizzata.pdf>) guida all'applicazione *real life* del principio di minima esposizione. Per ottimizzare la resa di TC (e RM), sono utili "procedure ibride" di *PFT* a supporto dello studio radiologico, come l'uso dello spirometro in TC/RM o *spirometer guided chest imaging* (Salamon E., *et al.* Pediatr. Pulmonol. 2017;52(1):48-56).

2) Cosa si deve fare

Sintesi di *best-practice* nel *follow-up* a lungo termine per alcune malattie respiratorie croniche.

Asma

A ogni controllo clinico, i bambini "collaboranti" dovrebbero eseguire una spirometria. Altri test come il *FeNO (fractional exhaled nitric oxide)* non sono raccomandati nel *follow-up*, ma possono rivelarsi utili per meglio inquadrare i soggetti con scarso controllo.

Oltre la fase diagnostica, non è raccomandata la ripetizione di *imaging* di routine, ma solo per complicanze o per approfondire la diagnosi differenziale.

Fibrosi cistica

Analogamente all'asma, il *follow-up* della funzione deve essere regolare, con spirometria. Le tecniche *MBW* trovano particolare indicazione in *CF, cystic fibrosis*.

Diversamente dall'asma, per *CF* è raccomandato un *follow-up* radiologico seriato, con ripetizione di RX; viceversa, controlli TC perlopiù dettati da variazioni cliniche o al *PFT*. Per il rilievo precoce delle bronchiectasie, tuttavia, è indicata anche la ripetizione di TC a tempi prestabiliti. Ad esempio, nel Centro Regionale Fibrosi Cistica di Firenze il protocollo di monitoraggio *imaging* per bambini con diagnosi precoce di *CF* da screening neonatale prevede, in fase diagnostica, l'esecuzione della prima RX-AP (antero-posteriore)

(lasciando a discrezione del radiologo l'esecuzione della proiezione RX-LL (latero-laterale)); per i successivi 5 anni, si ripete una RX a cadenza annuale. La prima TC è eseguita all'età di 6 anni; se negativa, viene ripetuta dopo altri 6 anni. Nell'intervallo tra gli *scan* TC, prosegue il *follow-up* RX ogni anno (o con 2 sole ripetizioni a 6-9 anni e a 9-12 anni) e si associa un controllo RM intermedio ai 9 anni. Viceversa, in caso di TC patologica all'età di 6 anni (bronchiectasie, ispessimento bronchiale, atelettasie), il *follow-up standard* prevede RX, RM e TC torace rispettivamente ai 7, 8 e 9 anni di età, ripetuti in sequenza ai 10, 11 e 12 anni. Oltre i 12 anni, è dato monitoraggio RM ogni 2 anni e TC ogni 4 anni. Questo *follow-up standard* viene personalizzato per ogni bambino e secondo i rilievi clinici, i *PFT* e l'*imaging*. Per le valutazioni seriate delle bronchiectasie è in uso un *global CT score* derivato dallo *scoring system* di Bhalla. (Bhalla M., et al. *Radiology* 1991;179(3):183-8.)

I farmaci con combinazione dei modulatori CFTR aprono a una nuova era, in cui verosimilmente saranno dilazionati i tempi del monitoraggio radiologico, o almeno TC. Le limitazioni alla prescrizione determinano la necessità e i tempi di un monitoraggio standard dei *PFT*. Ad esempio, l'eleggibilità al trattamento con *lumacaftor/ivacaftor* secondo criteri AIFA rende vincolante, di fatto, il *follow-up* con spirometria, *MBW*, *6MWT*.

Discinesia ciliare primitiva

Analogamente a *CF*, il *follow-up PCD (Primary Ciliary Dyskinesia)* prevede ripetizione di spirometrie (2-4/anno) e RX (ogni 2-4 anni dopo quella diagnostica, prima per esacerbazione di malattia). I controlli TC, viceversa, hanno tempistiche personalizzate. Si consideri che gli studi *imaging* per il rilievo di bronchiectasie consentono alle famiglie di acquisire consapevolezza di malattia, al fine di migliorare l'aderenza alla *clearance*. Ancora, l'evoluzione del *Forced Expiratory Volume in the 1st second, FEV₁* può predire variazioni maggiori in *imaging*, per cui la scelta per una TC di controllo può essere guidata da un attento *follow-up* clinico e dai *PFT*. Tuttavia, un peggioramento nella struttura non sempre correla con variazioni significative dei parametri spirometrici. Gli indici derivati dal *MBW* potrebbero trovare applicazione nel *follow-up PCD*, al pari di *CF*, per la dimostrazione precoce di malattia e come indicatore di esito per gli interventi terapeutici.

Bronchiectasie

Nelle linee guida ERS 2021 si raccomanda un *follow-up* ogni 3-6 mesi comprensivo di: spirometria, valutazione per nuove infezioni (colturale su espettorato ogni 6 mesi e alle esacerbazioni), studio delle comorbidità. I controlli TC devono essere giustificati da un deterioramento acuto o graduale, finalizzati a individuare una nuova malattia curabile o per trattamenti più intensivi.

Displasia broncopolmonare (BDP, *Bronchopulmonary dysplasia*)/ malattia polmonare cronica dei neonati pretermine

Le linee guida ERS 2020 raccomandano *long-term follow-up* con *PFT* a tutta la popolazione *BPD*, viceversa controlli *imaging* soltanto per sottogruppi: *BPD* grave, sintomi respiratori gravi, ricoveri ricorrenti.

Malattie polmonari interstiziali (*children's interstitial lung disease, chILD*)

La *HRCT* rimane il *gold standard* per lo studio *imaging* del parenchima. Per le *chILD*, la *RX* è un test di I livello a bassa sensibilità.

Malattie neuromuscolari

Le linee guida 2012 della *British Thoracic Society* raccomandano di routine, in tutti i pazienti in grado di eseguire la spirometria, la misurazione della capacità vitale forzata (*forced vital capacity, FVC*) e, sopra i 12 anni, del picco della tosse (*cough peak flow, CPF*), per valutare l'effettiva capacità di *clearance*. In caso di *VC* <60% la valutazione dei disturbi respiratori del sonno deve essere almeno annuale, analogamente ai bambini senza capacità di deambulare.

3) Cosa è stato fatto

Alcune novità *imaging* e *PFT* sono il presente della ricerca e devono essere trasferite alla pratica clinica. Sia data particolare attenzione alla RM (e a RM con ³He/¹²⁹Xe, *PET/MRI*). Le tecniche RM possono sostituire la TC senza rilevante perdita di capacità diagnostica in gran parte dei casi, con protocolli e sequenze dedicate all'età pediatrica (Hirsch F.W., et al. *Pediatr. Radiol.* 2020;50(5):734-749). L'implementazione della RM in pneumologia pediatrica modificherà i protocolli di *follow-up* a lungo termine.

4) Cosa ancora manca

È urgente che siano introdotte nei laboratori di struttura-funzione quelle tecniche e modalità di analisi indicate nei precedenti segmenti "allo stato dell'arte" e "cosa è stato fatto". Si attende lo sviluppo di tecniche "più fattibili" e "più sensibili" a piccole variazioni patologiche della funzione e della struttura. Per esposizione minima alle radiazioni, la ricerca deve orientarsi verso *imaging* alternativi alla TC. Non esiste, né mai esisterà, un test unico che dia risposta a tutti i quesiti clinici, ma sono auspicabili nuove tecniche "fattibili" e "ripetibili" nel bambino "non collaborante", "parzialmente collaborante" e "collaborante", fino all'età adulta.

I corticosteroidi nelle malattie respiratorie

Valentina Tranchino^{1*}, Dora Alba Ciccarone², Riccardo D'Antonio², Giuseppe Verriello², Fabio Cardinale^{1&}

¹UOC di Pediatria e PS ad indirizzo Allergo-Pneumologico e Immuno-Reumatologico, Azienda Ospedaliero-Universitaria "Policlinico - Giovanni XXIII", Bari

²Scuola di Specializzazione in Pediatria, Università degli Studi "Aldo Moro", Bari

*primo autore; &autore senior

Corrispondenza: Fabio Cardinale **e-mail:** fabiocardinale@libero.it

INTRODUZIONE

I corticosteroidi (CS) rappresentano i farmaci antinfiammatori più potenti, ma anche meno selettivi resi disponibili dalla farmacopea. Essi al tempo stesso costituiscono per lo pneumologo strumenti di imprescindibile importanza per patologie quali l'asma, il croup, o la rinite allergica; in altre hanno un ruolo più discusso, come ad esempio il wheezing prescolare; in altre ancora risultano assolutamente inefficaci, come ad esempio nella bronchiolite. Per quanto concerne l'asma, va ricordato che risale a circa 50 anni fa l'introduzione del primo CS inalatorio (CSI), rappresentato dal beclometasone dipropionato (BDP), nella terapia di fondo. Da allora ad oggi, questi farmaci hanno radicalmente cambiato la prognosi dell'asma, riducendo in modo significativo la mortalità, migliorandone il controllo e la qualità di vita dei pazienti.

MECCANISMO DI AZIONE

I CS agiscono attraverso due tipi di meccanismi: genomico e non genomico. Il meccanismo genomico si esplica attraverso due differenti modalità: la transattivazione, ovvero l'attivazione di geni antinfiammatori, e la transrepressione, ovvero la repressione di geni con attività proinfiammatoria. In entrambe le modalità i CS si legano ad un recettore presente nel citosol, il quale migra nel nucleo, promuovendo o inibendo la trascrizione di geni coinvolti nell'infiammazione attraverso processi di acetilazione o deacetilazione del DNA. In particolare, nella transattivazione i CS provvedono alla acetilazione di geni codificanti per molecole antinfiammatorie come l'Annexina 1, l'MPK-1 (*Mitogen-activated protein kinase (MAPK) phosphatase 1*) e l'IκB-α (NF-κB inhibitor). L'annexina 1 ha la capacità a sua volta di down-regolare la fosfolipasi A2, deputata alla sintesi degli eicosanoidi; la MKP-1 inibisce invece la fosforilazione del GATA 3 (*GATA Binding Protein 3*), che a sua volta regola la trascrizione di citochine di tipo 2; l'IκB-α inibisce l'azione dell'NF-κB (*nuclear factor kappa B*). Nella transrepressione i CS agiscono attraverso l'attivazione della istone-deacetilasi che disattiva l'NF-κB, deputato alla trascrizione di citochine, chemochine, molecole di adesione, e fattori del complemento oltre che della ciclossigenasi 2, contribuendo all'effetto antinfiammatorio (De Benedictis

F.M., *et al.* Am. J. Respir. Crit. Care Med. 2012;185:12-23) (Figura 1).

I CS hanno inoltre la capacità di prevenire la down-regulation dei beta-2 recettori da parte dei SABA (*Short-Acting Beta Agonists*) e dei LABA (*Long-Acting Beta Agonists*). Esiste una complessa interrelazione tra beta-2 recettori, recettori dei CS e LABA. I CS promuovono l'espressione del beta-2 recettore e l'accoppiamento con le loro molecole di segnale. A loro volta i LABA esplicano un'azione antinfiammatoria in quanto,

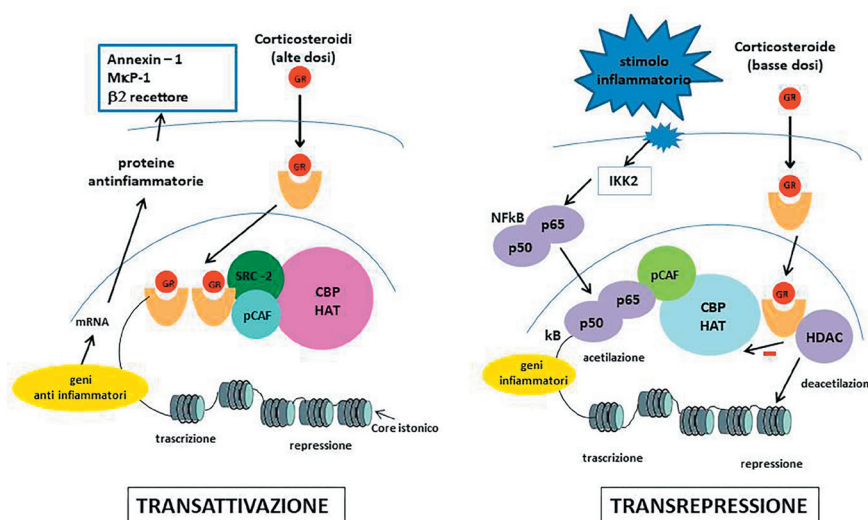


Fig. 1: Meccanismo di azione genomico dei corticosteroidi. (Modif. da Barnes P.J., Handbook of Experimental Pharmacology, 2016).

agendo sui beta 2 recettori, ne stimolano la traslocazione all'interno del nucleo e favoriscono il *binding* con le sequenze responsive. Ne consegue che LABA e CSI si potenziano reciprocamente. L'effetto non genomico, o di membrana, dei CS riguarda specialmente i CSI ed è un effetto vasocostrittore esercitato a livello della muscolatura liscia dei vasi dell'albero respiratorio; esso dipende dalla capacità dei CSI di inibire il *re-uptake* della noradrenalina da parte delle terminazioni nervose simpatiche e di concentrarne l'azione sugli α -recettori. A differenza dell'effetto genomico, l'effetto non genomico si esplica nell'arco di alcuni minuti. Questo effetto è comune a tutti i CSI, ma maggiormente presente per la budesonide rispetto al fluticasone e al BDP.

RESISTENZA AI CORTICOSTEROIDI

Il meccanismo di resistenza ai CS è multifattoriale, e comprende fattori genetici e fattori acquisiti, tra cui il microbiota delle vie aeree. È stato dimostrato ad esempio che lo stress ossidativo riduce l'attività e l'espressione dell'istone deacetilasi 2 (HDAC2), attraverso l'attivazione della fosfoinositide 3 chinasi delta (PI3K δ), andando quindi a contrastare l'attività dei CS. Sono noti inoltre anche dei fattori di resistenza su base genetica. In una coorte di asmatici adulti è stato dimostrato che la resistenza ai CS dipendeva da alcuni polimorfismi del gene HSD3B1, codificante per la 3β -idrossisteroide deidrogenasi-1 (3β -HSD1), responsabile del catabolismo del DHEA (deidroepiandrosterone). Il genotipo restrittivo surrenale HSD3B1(1245) è associato alla resistenza al CS; ciò è dimostrato dal fatto che i livelli ematici di DHEA correlano con il FEV₁ (Zein J., *et al.* PNAS 2020;117:2187-2193)

UTILIZZO DEI CORTICOSTEROIDI NELL'ASMA

I CS rappresentano farmaci di imprescindibile importanza nell'asma, essendo in grado di agire su tutti gli elementi cellulari coinvolti nell'infiammazione di tipo 2. Inibiscono infatti la fosfolipasi A2 (PLA2), riducono l'espressione della ciclossigenasi 2 (COX 2), la produzione ed il rilascio di citochine proinfiammatorie da parte di macrofagi e linfociti. Agiscono poi sulle molecole di adesione ICAM 1 (*Intercellular Adhesion Molecule 1*) e ELAM1 (*Endothelial leucocyte adhesion molecule-1*), inibiscono il rilascio IgE-dipendente di istamina e leucotrieni (LTC₄), favoriscono l'apoptosi degli eosinofili, riducono la densità mastocitaria e riducono la proliferazione dei fibroblasti. Tutte le linee guida internazionali mettono al centro del trattamento dell'asma acuto l'impiego del CS per via sistemica. È stato infatti ampiamente dimostrato che una singola dose di CS è in grado di ridurre i tassi di ospedalizzazione ed i tempi di degenza. In base all'emivita i CS si suddividono in steroidi a emivita breve, intermedia e lunga. La potenza antinfiammatoria corrisponde anche alla capacità di inibire l'asse ipotalamo-ipofisi-surrene. Molecole a lunga emivita, come il desametasone e il betametasone, hanno la capacità di inibire il surrene 50 volte maggiore rispetto all'idrocortisone; prednisolone, metilprednisolone, deflazacort e prednisone, steroidi ad emivita intermedia, con una media potenza di azione, ma anche una minore interferenza sul surrene, risultano i CS più indicati nell'attacco acuto di asma. Indipendentemente dalla molecola, l'azione dei CS si estrinseca nell'arco di ore, quindi essi vanno introdotti precocemente nel trattamento dell'attacco acuto dell'asma per ottimizzarne l'efficacia. È stato dimostrato che non vi sono sostanziali differenze tra la somministrazione di CS per via orale o parenterale. Tuttavia il metilprednisolone per via parenterale rappresenta il CS di riferimento per via iniettiva nell'asma grave, per via di una maggiore affinità per il tessuto polmonare. Nella scelta del CS vanno anche considerati gli effetti secondari. Il prednisolone ha un'attività immunosoppressiva 8 volte inferiore rispetto al metil-prednisolone e 3 volte inferiore rispetto al betametasone. Il deflazacort, un CS di sintesi ad emivita intermedia, è accreditato di una minore interferenza sul metabolismo osseo e di un minore effetto sulla secrezione di GH. Il rapporto di equipotenza tra deflazacort e prednisolone è di 1.5:1. Il dosaggio raccomandato per prednisone, prednisolone metilprednisolone e deflazacort è di 1-2 mg/Kg/die in 2-3 sottodosi (dose massima 80 mg) (Cutrera R., *et al.* Ital. J. Pediatr. 2017;43(1):31).

UTILIZZO DEI CS NEL WHEEZING PRESCOLARE

Ad oggi non esistono evidenze robuste circa l'efficacia dei CS nel wheezing prescolare. Tuttavia, una metanalisi del 2016 suggerisce che se ne può considerare l'utilizzo nei casi di maggiore gravità, nei *setting* ospedalieri e in pazienti con storia di wheezing ricorrente riacutizzato (Castro-Rodriguez J.A., *et al.* Pediatr. Pulmonol. 2016;51(8):868-76). La variabilità di risposta del wheezing prescolare ai CS risiede inoltre nel fatto che trattasi di un'entità eterogenea, che racchiude fenotipi diversi. Nella maggioranza dei bambini con wheezing prescolare prevale una infiammazione a livello delle vie aeree di tipo neutrofilo ed è noto che i CS non hanno la capacità di promuovere l'apoptosi dei neutrofili.

UTILIZZO DEI CS NEL CROUP

Per quanto riguarda l'impiego dei CS nel *croup*, è dimostrata l'efficacia della budesonide inalatoria a dosaggi elevati (2 mg in unica dose, eventualmente ripetuta) nel *croup* lieve-moderato, sovrapponibile a quella del desametasone. Il rationale risiede nell'effetto non genomico vasocostrittore ad alte dosi (c.d. effetto "bleaching"). Nelle forme severe comunque è preferibile l'utilizzo del desametasone per via sistemica, in associazione all'adrenalina. La co-somministrazione di CS per via orale e per via inalatoria non sembra aggiungere benefici.

UTILIZZO DEI CS NELLA BRONCHIOLITE

Tutte le LG concordano nel affermare che i CS non sono raccomandati nella bronchiolite, non riducendo il tasso di ospedalizzazione né la severità delle manifestazioni cliniche. Inoltre alcuni lavori dimostrano che i CS possono prolungare lo *shedding* virale e ostacolare la *clearance* del VRS (Dalziel S.L., *et al.* Lancet 2022;30;400:392-406).

Novità dalla biologia molecolare

Valentina Fainardi

Fisiopatologia Respiratoria Infantile, U.O. Fibrosi Cistica, Clinica Pediatrica, Dipartimento di Medicina e Chirurgia, Università di Parma

E-mail: valentina.fainardi@unipr.it

La medicina molecolare è definita come quella disciplina che studia la patogenesi cellulare delle malattie e le sue mutazioni genetiche. La medicina molecolare è anche sinonimo di medicina personalizzata o traslazionale, dal termine inglese *translational medicine*, in quanto mira al raggiungimento di una diagnosi e di una terapia per il singolo paziente trasferendo i risultati della ricerca “*from bench to bedside*”, dal banco di laboratorio al letto del paziente.

Se un tempo si credeva che ogni paziente con asma fosse uguale e che la terapia potesse essere la stessa per tutti (“*one size fits all*”), ora è noto che la patologia è molto eterogenea e che racchiude numerosi endotipi e fenotipi. È proprio con la comprensione dei meccanismi molecolari alla base dell’endotipo che la medicina molecolare mira ad individuare una terapia personalizzata per le caratteristiche proprie di ogni paziente. Per un approccio personalizzato alla patologia ed una medicina di precisione sono quindi necessari dei *biomarkers* specifici per ogni endotipo di asma. Il biomarker è un indicatore biologico come una sequenza di DNA o RNA o una proteina correlato ad una malattia o ad una risposta ad un trattamento; questo deve essere misurabile con precisione e in poco tempo e deve avere un alto valore prognostico predittivo. La medicina di precisione include le cosiddette scienze omiche. Gli studi omici investigano i meccanismi molecolari cellulari con il fine di riconoscere endotipi e di associarli ai fenotipi osservati (Ivanova O., *et al.* Allergy. 2019;74(11):2129-2145).

Gli studi omici includono:

- genomica, che si avvale dei *genomewide association studies* (GWAS), studi che ricercano associazioni tra singoli polimorfismi dei nucleotidi (*single nucleotide polymorphisms*, SNPs) e specifici fenotipi. In questo ambito la scoperta più significativa nel mondo dell’asma pediatrica è stata l’individuazione di diversi markers genetici (come, *sphingolipid biosynthesis regulator 3*, ORM-DL3) sul locus 17q12-21 che sono associati allo sviluppo di asma (Moffatt M.F., *et al.* Nature. 2007; 448(7152):470-3).
- epigenomica, che studia le modificazioni genetiche (metilazione di DNA, *non-coding RNA*) generate dall’ambiente. Questa dipende dall’esposoma e cioè da tutte le esposizioni interne ed esterne a cui l’individuo è sottoposto nel corso della vita. L’epigenetica può essere considerata come la risposta adattativa cellulare all’ambiente che cambia.
- trascrittomica, che studia tutti gli RNA messaggeri (mRNA) trascritti e presenti in una cellula in un determinato momento. Questi studi sono solitamente eseguiti su cellule del sangue (*peripheral blood mononuclear cells*, PBMCs), cellule epiteliali bronchiali o sull’espettorato.
- proteomica, che studia tutte le proteine presenti in una cellula in un determinato momento.
- metabolomica, che studia i composti di basso peso molecolare (<1500 Da) che originano dal metabolismo.

Promettenti *biomarkers* studiati dalla trascrittomica sono i microRNA (miRNA), frammenti di RNA che non codificano per molecole specifiche, ma che giocano una importante funzione nella regolazione post-trascrizionale in risposta all’ambiente. Le varie sottopopolazioni di linfociti T (Th1, Th2, Th17) esprimono per esempio specifici miRNA. Ogni miRNA può silenziare specifici geni o stimolare risposte cellulari, sono trasportati da esosomi o microvescicole. Le microvescicole fanno parte della famiglia delle vescicole extracellulari, vescicole derivate dalla membrana cellulare rilasciate nello spazio extracellulare che sembrano avere un ruolo importantissimo nella omeostasi tissutale e nella comunicazione tra le cellule, essendo in grado di trasportare citochine, enzimi, fattori di crescita, miRNA o antigeni atti a stimolare la risposta immunitaria (Cheng L., *et al.* Nat. Rev. Drug. Discov. 2022;21(5):379-399). Un esempio di come il miRNA può diventare un biomarker di patologia lo descrive un recente studio effettuato su aspirato nasofaringeo di lattanti con infezione respiratoria virale. Se in vitro l’infezione virale stimola nella cellula epiteliale il rialzo del miRNA miR-146a-5p e la riduzione dell’infiammazione, nei lattanti con bronchiolite questo risulta ridotto e permane ridotto anche dopo la risoluzione dell’infezione, suggerendo una alterazione epigenetica nella risposta immunitaria del soggetto infettato (Rodrigo-Muñoz J.M. *et al.* Cells, 2022;11(17):2746).

Nonostante negli ultimi anni la medicina molecolare sia cresciuta esponenzialmente e gli studi omici si siano moltiplicati con moltissimi risultati, questi sono tuttavia raramente applicabili alla pratica clinica. Queste alcune delle limitazioni: i risultati sono variabili e difficilmente interpretabili su larga scala, gli studi coinvolgono spesso pochi pazienti, i criteri e le caratteristiche sono molto eterogenei, la definizione stessa di asma e di severità dell'asma possono variare. Prospettive future includono la definizione di protocolli di studio condivisi, la standardizzazione delle metodiche e la creazione di biobanche che possano raccogliere dati di popolazione su larga scala.

In ambito di fibrosi cistica (FC) la medicina di precisione ha ottenuto risultati portentosi con i farmaci modulatori CF *Transmembrane Conductance Regulator* CFTR, proteina di membrana addetta al trasporto degli ioni ed in particolare del cloruro. I farmaci modulatori agiscono aumentando la quantità della proteina CFTR sulle membrane cellulari (correttori come *tezacaftor* e *tezacaftor*) e la sua attività (potenziatori come *ivacaftor*) con benefici significativi in termini di funzionalità respiratoria, stato nutrizionale e qualità della vita. Tuttavia, se ad oggi le mutazioni note del gene CFTR sono più di 2000, le mutazioni per cui questi farmaci modulatori possono essere prescritte ne rappresentano circa il 60%. Ne deriva che molti pazienti con mutazioni rare non possano accedere alla cura. Il *theratyping* ha l'obiettivo di ricercare un modulatore che possa essere efficace per una specifica mutazione. Una metodica utilizzata in alcuni laboratori è la creazione dell'organoide da biopsie rettali del paziente. Gli organoidi sono strutture tridimensionali creati in vitro dopo stimolazione con matrice extracellulare, che offrono un modello molto accurato e personalizzato di malattia su cui testare i modulatori. La proteina CFTR è espressa sulla membrana apicale dell'organoide e l'incubazione con *forskolina*, aumentando la concentrazione di cAMP intracellulare, attiva nelle cellule sane (senza mutazione CFTR) il trasporto di cloro nel lume dell'organoide al quale si accompagna il trasporto dell'acqua, con conseguente rigonfiamento dell'organoide stesso (*swelling*). Il rigonfiamento è quantificato microscopicamente con l'immunofluorescenza. L'organoide che proviene dal paziente con FC non presenterà rigonfiamento nelle condizioni di coltura sopra descritte, ma potrà essere messo in incubazione con uno specifico farmaco modulatore, per poi quantificare la risposta della proteina CFTR in termini di rigonfiamento e in termini di trasporto di cloro nel modello bidimensionale delle camere di Ussing, che rappresentano una misura integrata del funzionamento dei vari trasportatori presenti sulla membrana epiteliale apicale e basolaterale, responsabili del trasporto transepiteliale di sostanze (van Mourik P., *et al.* Eur. Respir. J. 2019; 54(1):1802379). I risultati di questi esperimenti permettono di dimostrare l'efficacia di un modulatore su una particolare mutazione e di giustificarne il rilascio al paziente con mutazione rara come terapia continuativa.

Le emorragie polmonari in età pediatrica

Marta Piotto^{1*}, Mara Lelii², Alessia Rocchi³, Barbara Madini², Lucia Cerrato¹, Vittoria Hassan¹, Maria Francesca Patria^{2&}

¹Scuola di Specializzazione in Pediatria, Università degli Studi di Milano

²Fondazione IRCCS Ca' Granda, SC Pediatria Pneumoinfettivologia, Ospedale Maggiore Policlinico Milano

³Fondazione IRCCS Ca' Granda, SC Pronto Soccorso Pediatrico, Ospedale Maggiore Policlinico Milano

*primo autore; &autore senior

Corrispondenza: Marta Piotto **e-mail:** marta.piotto@unimi.it

INTRODUZIONE

L'emorragia polmonare in età pediatrica è una condizione rara e spesso severa, sostenuta da un ampio spettro di cause. La fonte del sanguinamento può originare dalle arterie bronchiali o dal microcircolo polmonare e i quadri clinici che ne derivano sono riconducibili ad una condizione di emorragia focale o diffusa. Il segno clinico cardine è l'emottisi, tuttavia la presentazione clinica, specie in età pediatrica, può essere insidiosa, poiché il bambino può non espettorare e la sintomatologia respiratoria può essere aspecifica, con dispnea, distress respiratorio e anemizzazione di grado variabile (Mandal A., *et al.* *Pulm. Crit. Care Med.* 2016;1:1-6). Non sono ad oggi disponibili dati di incidenza e/o prevalenza e la scarsa letteratura degli ultimi anni non ha apportato sostanziali cambiamenti in termini di work-up diagnostico e terapeutico.

FISIOPATOLOGIA

I polmoni sono serviti da due circolazioni distinte: il circolo bronchiale (rami delle arterie bronchiali, a basso volume e alta pressione) e il circolo polmonare (rami dell'arteria polmonare, ad alto volume e bassa pressione). Nelle forme focali il sanguinamento origina per lo più da un danno di uno o più vasi della circolazione bronchiale, mentre nelle forme diffuse (*diffuse alveolar haemorrhage*, DAH) la causa è da ricercare in un sanguinamento della circolazione polmonare, spesso di lieve entità, ma ripetuto nel tempo. L'evento emorragico determina un'alterazione del rapporto ventilazione-perfusione di grado variabile, dipendente dall'area di superficie alveolare coinvolta, e che è a sua volta causa di ipossiemia e distress respiratorio, ulteriormente aggravati dalla anemizzazione. In caso di emorragie ricorrenti il polmone può andare incontro a fibrosi con conseguente deficit restrittivo e alterazione permanente degli scambi gassosi polmonari (Susarla S.C., *et al.* *Curr. Opin. Pediatr.* 2007;19:314-320).

EZIOLOGIA

Le cause di emorragie polmonari sono numerose (Figura 1). Tra le eziologie più frequenti di *emorragia focale* sono annoverate le infezioni broncopolmonari, in cui l'infiammazione della mucosa delle vie aeree può predisporre alla rottura di piccoli vasi sanguigni, in particolare durante la tosse. Le bronchiectasie correlate a Fibrosi Cistica (FC), a Discinesia Ciliare Primitiva (DCP), immunodeficit o idiopatiche, sono un'altra causa comune di emorragie focali, poiché l'infiammazione cronica delle vie aeree favorisce la neo-angiogenesi e il rimodellamento vascolare con sviluppo di vasi tortuosi ed ectasici, a rischio di rottura. Il sanguinamento che ne deriva, specie in caso di FC, può essere massivo e richiedere un intervento terapeutico urgente. L'inalazione di corpo estraneo, i traumi e le malformazioni vascolari e polmonari rappresentano altre possibili cause di emorragia focale. La DAH è invece manifestazione di un danno alveolare, che può essere su base immunologica, come nel caso delle vasculiti ANCA-associate, della sindrome rene-polmone di Goodpasture e di altre malattie da immunocomplessi, come il lupus eritematoso sistemico e la porpora di Henoch-Schonlein (Quadrelli S., *et al.* *Respir. Med.* 2017;129:59-62). Tra le cause non immunologiche di DAH si annoverano principalmente le cardiopatie che determinano un aumento della pressione nella circolazione polmonare, le polmoniti virali e le coagulopatie (malattia di Von Willebrand, emofilia, insufficienza epatica). L'emosiderosi polmonare idiopatica (*Idiopathic pulmonary hemosiderosis*, IPH) è una rara forma di DAH a eziologia sconosciuta, più frequente nei primi anni di vita, caratterizzata da episodi ricorrenti di emorragia alveolare, anemizzazione e addensamenti interstiziali diffusi all'esame radiografico del torace. Non essendo disponibile un esame patognomonico specifico, la diagnosi di IPH, che richiede l'esclusione

delle altre cause di DAH, è spesso tardiva, con il rischio di una progressiva fibrosi interstiziale ad elevato tasso di mortalità (Saha B.K. *Respir. Med.* 2021;176:106234).

CLINICA

Il segno clinico principale in corso di emorragia polmonare focale o diffusa è l'emottisi ovvero l'emissione con la tosse di sangue di origine sottoglottica. L'emottisi può essere lieve e intermittente, specie nelle DAH, oppure massiva e improvvisa con conseguente instabilità emodinamica, come nel caso di sanguinamento dalle arterie bronchiali in pazienti con FC.

Tuttavia nel bambino piccolo, che non è in grado di espettorare, la presentazione clinica può essere più subdola, con sintomi respiratori sfumati e aspecifici (tosse, wheezing e dispnea di grado variabile), associati o meno a segni di anemizzazione ingravescente (pallore, tachicardia, astenia) (Castellazzi L., *et al. Ital. J. Pediatr.* 2016;42:86). Nelle forme di DAH ad eziologia immunologica l'interessamento di altri distretti (rene, cute, SNC, articolazioni) è frequente e va sempre ricercato.

WORK UP DIAGNOSTICO

Per un corretto iter diagnostico è prioritaria un'approfondita **raccolta anamnestica**, per determinare l'entità del sanguinamento e distinguere l'emottisi dalle perdite ematiche di provenienza dal tratto gastrointestinale (ematemesi) o dalle alte vie aeree (epistassi). L'emottisi è abitualmente preceduta dalla tosse, il materiale espettorato è di colorito rosso acceso e schiumoso perché arterializzato, con pH alcalino; l'ematemesi è preceduta da vomito e si presenta con sangue di colore rosso scuro, spesso coagulato e con pH acido per la presenza contestuale di secrezioni gastriche. Va inoltre ricercata l'eventuale presenza di patologie di base (FC, DCP, immunodeficit, bronchiectasie, cardiopatie) o di terapie farmacologiche in corso, possibili fattori di rischio per sanguinamento. **L'esame obiettivo** deve valutare attentamente i parametri vitali, eventuali anomalie a carico delle alte e basse vie aeree, oltre che ricercare eventuali segni di interessamento extrapolmonare, in particolare di coinvolgimento renale, di vasculite sistemica (artralgie/artriti, sintomi neurologici o cutanei) o di coagulopatia (ecchimosi, ematroidi ecc). Oltre alla valutazione in urgenza, comprensiva dei fattori della coagulazione e di un esame urine chimico-fisico, **le indagini ematochimiche**, suggerite dal sospetto diagnostico, devono includere una valutazione sierologica completa, associata a Mantoux e Quantiferon, nel sospetto di infezione, e una valutazione immunologica ed autoanticorpale in caso di sospetta DAH (Tabella 2). La **valutazione cardiologica** con ecocardiogramma è un altro atto diagnostico prioritario per escludere anomalie cardiache in grado di sostenere un sanguinamento alveolare. **I test di funzionalità respiratoria**, se eseguiti in fase di malattia attiva possono mostrare variabilmente un pattern ostruttivo o restrittivo, ma hanno valenza soprattutto nel follow-up. La diffusione CO (DLCO) può risultare normale o addirittura aumentata in fase acuta, a causa di un aumento del legame del monossido di carbonio con l'emoglobina intra-alveolare. In caso di emorragia ricorrente, come nelle DAH e nella IPH, il parenchima polmonare può andare incontro a progressiva fibrosi interstiziale con conseguente sindrome restrittiva associata a riduzione della DLCO. Un corretto iter diagnostico non può prescindere da una **valutazione radiologica** e la radiografia del torace, esame di primo livello, può aiutare nella distinzione tra forme focali e diffuse, mentre la TAC con mezzo di contrasto ha una accuratezza diagnostica superiore ed è di maggiore ausilio nella diagnosi di infezioni, anomalie vascolari e nella diagnostica differenziale delle diverse forme di DAH. La **broncoscopia** è utile per confermare il sanguinamento dalle vie aeree, per individuarne la sede e/o evidenziare eventuali lesioni bronchiali o corpi estranei. Il **lavaggio bronco-alveolare** (BAL) risulta emorragico in aliquote successive in caso di DAH recente ed è in grado di individuare la presenza di siderofagi (macrofagi ricchi in emosiderina, patologici se > 20% dei macrofagi totali), segno di pregresso sanguinamento, fino a 60 giorni dall'evento acuto.

Con gli accertamenti sopra esposti si riesce ad individuare una causa di sanguinamento polmonare in più della metà dei casi; tuttavia, nelle situazioni in cui la diagnosi rimanga elusiva o non sia possibile biopsiare altri organi (vie aeree superiori nella granulomatosi con poliangerite, rene nella sindrome di Goodpasture), la **biopsia polmonare** può fornire una diagnosi istopatologica precisa nei bambini con DAH ed indirizzare alla terapia mirata (Saha B.K. *Respir. Med.* 2021;176:106234).

In conclusione, le emorragie polmonari in età pediatrica sono condizioni rare ed eterogenee. Per un corretto iter terapeutico è prioritario individuare la causa eziologica sottostante al sanguinamento attraverso un percorso diagnostico razionale e articolato.

Fig. 1: Principali cause di emorragia polmonare in età pediatrica.

Cause di emorragie polmonari localizzate	Cause di emorragie alveolari diffuse (DAH)
Infettive	Immuno-mediate (capillariti)
Bronchiectasie (FC, DCP, immunodeficit)	Vasculiti ANCA associate
Tubercolosi	Sindrome di Goodpasture
Polmoniti, ascessi polmonari	LES
Malformazioni congenite polmonari	Porpora di Shoenlein Henoch
CPAM, sequestro, cisti broncogena	Non immuno-mediate
Traumi polmonari/inalazione di corpi estranei	Polmoniti virali
Anomalie vascolari	Emosiderosi Polmonare Idiopatica
Angiomi	Coagulopatie
Malformazioni A-V	Graft Versus Host Disease in Tx midollare
Tromboembolie	Farmaci (amiodarone, penicillamina, sirolimus, farmaci citotossici)
Coagulopatie	Cause cardiache
Altre	Stenosi/insufficienza mitralica
Neoplasie	Ipertensione polmonare (primitiva o secondaria)
Patologie catameriali (endometriosi)	Insufficienza cardiaca congestizia

Fig. 2: Esami ematochimici da eseguire in caso di emorragia polmonare.

Routine
Emocromo + f, reticolociti, biochimica, VES, PCR, PCT, PT, PTT, fibrinogeno, D-dimero, Esame urine
Ematologia
Ferro, ferritina, LDH, Test Coombs, aptoglobina
Immunità
IgA, IgG, IgM, IgE totali + specifiche, sottoclassi IgG, sottopopolazioni linfocitarie, risposta vaccinale
Autoimmunità
ANA, Ab anti DNA, ENA, ANCA, Fattore Reumatoide, ASMA, Ab anti GBM, Ab anti cardiolipina, Ab anti CCP, Ab anti fosfolipidi, C3, C4, Ab anti transglutaminasi
Altre
Sierologie per virus e batteri (+ Mycoplasma, Chlamida, Legionella), Mantoux, Quantiferon, Ag galattomannano, IgE aspergillo

Le nuove minacce per la salute respiratoria: il fumo elettronico

Maria Elisa Di Cicco^{1,2*}, Alessandra Beni^{1,2}, Margherita Sepich^{1,2}, Vincenzo Ragazzo³, Diego Peroni^{1,2&}

¹Sezione di Allergologia Pediatrica, U.O. di Pediatria, Azienda Ospedaliero-Universitaria Pisana, Pisa

²Dipartimento di Medicina Clinica e Sperimentale, Università di Pisa

³U.O. di Neonatologia e Pediatria, Ospedale Versilia, Lido di Camaiore, Lucca

*primo autore; &autore senior

Corrispondenza: Maria Elisa Di Cicco **e-mail:** maria.dicicco@unipi.it

Le sigarette elettroniche (*e-cigarettes*, EC) sono arrivate sul mercato statunitense per poi diffondersi in tutto il mondo nel 2006: da allora si è assistito a una crescita esponenziale delle vendite, con stime che riferiscono di circa 80 milioni di utilizzatori a livello mondiale al 2023. In Italia sono già 1,2 milioni gli utilizzatori abituali o occasionali di EC, e a livello europeo 1 cittadino su 7 le ha provate almeno una volta. L'aerosol prodotto dalle EC e dagli altri dispositivi elettronici che permettono di erogare nicotina simulando il fumo tradizionale senza combustione del tabacco (*Electronic Nicotine Delivery Systems*, ENDS) viene chiamato "svapo" (*vape*) e appare più denso rispetto a quello prodotto dalle sigarette tradizionali (ST). Le EC hanno subito negli anni numerose evoluzioni, ma sono sostanzialmente tutte dotate di tre principali componenti: 1) una fonte di energia (di solito una pila al litio ricaricabile); 2) l'atomizzatore, fornito di resistenza che si riscalda al passaggio della corrente, permettendo di vaporizzare la soluzione (*e-liquid*) riscaldandola ad elevate temperature; 3) il serbatoio del liquido. Delle quattro generazioni di EC oggi note, la più recente è costituita da dispositivi che destano grande preoccupazione: i cosiddetti "pod-mods" che assomigliano a penne USB e sono molto popolari tra gli adolescenti per la possibilità di nascondere l'utilizzo. Questi dispositivi risultano particolarmente pericolosi, in quanto utilizzano una formulazione di nicotina derivata dai sali di nicotina, erogandone concentrazioni elevate senza provocare sensazione di asprezza o irritazione delle vie aeree, aumentandone quindi il quantitativo assunto in breve tempo.

Per quanto riguarda gli *e-liquids*, essi sono costituiti da una soluzione composta per l'80-95% da solventi come glicole propilenico (PG) o glicerina vegetale (VG); i restanti componenti sono rappresentati dagli aromi, che permettono di ottenere un vapore dal sapore distintivo, e dalla nicotina, che può anche essere assente, ma, quando presente, può arrivare a concentrazioni elevate, fino a più di 50 mg/mL (nell'Unione Europea è stato fissato un limite a 20 mg/mL). In commercio sono presenti più di 15.000 diversi tipi di aromi diversi, che vanno dall'aroma di tabacco agli aromi che ricordano cibo (frutta, dolci, caramelle) o bevande stimolanti (caffè, alcolici). Tutti questi composti sono generalmente riconosciuti come sicuri dalla FDA in quanto utilizzati ampiamente nell'industria alimentare e cosmetica, ma è necessario sottolineare che i loro effetti, se inalati ripetutamente, sono ancora solo parzialmente conosciuti. Tuttavia, era già noto che l'inalazione di PG e VG causa tosse secca in acuto e wheezing e riduzione della funzionalità respiratoria nel lungo periodo nei lavoratori di teatro e cinema esposti al fumo di scena prodotto riscaldando tali sostanze. Inoltre, l'inalazione del diacetile (2,3-butanedione), uno dei composti chimici più rappresentati negli aromi per EC e in particolare in quelli che ricordano il burro o i dolci, è stata dimostrata essere causa di una bronchiolite obliterante nei lavoratori delle ditte di pop-corn per microonde ("*Pop-corn worker's lung*"). Altri aromi, invece, contengono allergeni noti come la cinnamaldeide, eugenolo e benzaldeide. Purtroppo, la composizione dichiarata dalle ditte produttrici non è sempre veritiera, sia per quanto riguarda i livelli di nicotina, sia per la presenza di altre sostanze, anche tossiche, come alcaloidi del tabacco, composti organici volatili, etanolo, formaldeide, acetaldeide e acroleina (in concentrazioni diverse a seconda delle temperature a cui viene riscaldato il liquido). In generale, l'utilizzatore probabilmente inala una quantità inferiore di sostanze tossiche rispetto ai fumatori di ST, ma non è semplice valutare tale aspetto in quanto, sebbene gli studi vengano eseguiti su precise quantità di svapo prodotte e inalate in condizioni standardizzate, nella vita reale l'esposizione dipende anche e soprattutto dalle modalità di utilizzo (voltaggio, calore del liquido) e dalle abitudini del fumatore.

Considerando il fatto che gli *e-liquids* contengono sostanze irritanti e/o tossiche, non stupisce il numero crescente di studi che dimostrano effetti negativi dello svapo sulla salute (Figura 1).

Ad oggi, gli effetti dello svapo segnalati in vitro e in vivo sull'apparato respiratorio possono essere rias-



Fig. 1: Modalità di esposizione allo svapo di interesse pediatrico per i potenziali effetti nocivi sulla salute respiratoria.

sunti in: a) effetto pro-infiammatorio, b) stimolazione della iperreattività bronchiale e c) aumento della suscettibilità alle infezioni. Una recente analisi dei dati dello studio americano PATH (*Population Assessment of Tobacco and Health*) dimostra chiaramente come lo svapo rappresenti un fattore di rischio indipendente per lo sviluppo di sintomi respiratori, quali tosse e wheezing in giovani adulti altrimenti sani, compresi coloro che non hanno mai fumato le ST (Xie W., *et al.* Am. J. Respir. Crit. Care Med. 2022;205:1320-9). I dati per l'età pediatrica sono invece scarsi e basati su studi *cross-sectional* su adolescenti che dimostrano che l'utilizzo delle EC aumenta di circa 2 volte il rischio di sviluppare sintomi soggettivi riferibili a bronchite cronica e/o asma (Di Cicco M., *et al.* Curr. Opin. Allergy. Clin. Immunol. 2022;22:86-94). Infine, l'epidemia di EVALI (*E-cigarette or Vaping use-Associated Lung Injury*) verificatasi negli Stati Uniti nel 2019 ha dimostrato che lo svapo è associato a quadri di tossicità acuta mai descritti per la ST.

Per quanto riguarda le conseguenze dello svapo nel lungo periodo, la presenza di cancerogeni noti nello svapo e negli *e-liquids* suggerisce prudenza, ma non sono disponibili ancora studi in tal senso ad eccezione di alcuni lavori su topi che dimostrerebbero un aumentato rischio di adenocarcinoma polmonare. Rispetto al fumo di seconda mano, nel 2022 è stato pubblicato il primo lavoro scientifico che dimostra, in un campione di più di 2000 tra adolescenti e giovani adulti, una associazione tra l'esposizione al fumo passivo da EC contenente nicotina e aumento del rischio di sviluppare sintomi respiratori quali dispnea o bronchite (Islam T., *et al.* Thorax. 2022;77:664-9). Questo dato non sorprende, dal momento che era già stata segnalata la presenza di composti tossici nell'aria *indoor* delle case degli utilizzatori di EC, quali PM_{2.5}, PM₁₀, nicotina e composti organici volatili. Queste evidenze suggeriscono di non utilizzare le EC in casa, soprattutto in presenza di bambini e adolescenti, anche per evitare l'effetto di imitazione, già ben descritto per la ST. Non sono ad oggi disponibili dati relativi al fumo di terza mano, ma tracce di nicotina e particolato sono state rilevate sulle superfici esposte allo svapo. Rispetto alla gravidanza, iniziano ad emergere dati relativi alla nascita di neonati di basso peso da madri che avevano svapato durante la gestazione: di conseguenza, l'OMS ha dichiarato l'impiego degli ENDS come non sicuro in gravidanza (Mescolo F., *et al.* Front. Pediatr. 2021;9:711573).

Purtroppo, il fenomeno dello svapo si sta diffondendo moltissimo soprattutto tra i giovanissimi, che iniziano a svapare perché spinti dalla curiosità e dalla voglia di imitare i compagni e che spesso sono del tutto ignari dei rischi per la salute legati allo svapo o della presenza di nicotina negli *e-liquids*. In Italia l'1,7% degli adolescenti usa abitualmente le EC e il 41,5% le ha provate almeno una volta: tale dato preoccupa particolarmente considerando che l'utilizzo delle EC in adolescenti che non hanno mai fumato le ST, aumenta di 4 volte il rischio di diventare fumatori (O'Brien D., *et al.* BMC Public. Health. 2021;21:e1-10). Considerando, inoltre, i dati che dimostrano che più della metà dei fumatori attuali ha iniziato a fumare prima dei 18 anni, si comprende come il pediatra rivesta un ruolo cruciale per tentare di invertire questa tendenza, avendo un duplice compito: prevenire il tabagismo, educando i propri pazienti sui rischi e le conseguenze del fumo e individuare i pazienti che già fumano o che sono esposti a fumo, per fornire aiuto e supporto nel trattamento della dipendenza.

