

INDICE

Editoriale

Le malattie dell'interstizio polmonare dei primi due anni di vita

Valentina Ferraro, Silvia Carraro, Stefania Zanconato

Genetica e Discinesia Ciliare Primitiva

Martina Rinelli, Marco Poeta, Francesca Santamaria, Antonio Novelli

L'Ecografia Polmonare: quale ruolo in Pneumologia Pediatrica?

Alessandro Volpini, Vittorio Romagnoli, Federica Zallocco, Salvatore Cazzato

Broncomalacia e Tracheomalacia

Ambra Nicolai, Fabio Midulla

Utilizzo off-label dei farmaci nelle patologie respiratorie del bambino

Gabriella di Mauro, Annalisa Capuano

L'infezione da nuovo Coronavirus in età pediatrica

Maria Laura Conelli, Riccardo Scotto, Alessia Morlando, Maria Cristina Fedele, Francesco Nunziata, Antonio Riccardo Buonomo, Biagio Pinchera, Andrea Lo Vecchio, Ivan Gentile

Pneumologia Pediatrica

Volume 20, n. 78 - giugno 2020

Direttore Responsabile

Francesca Santamaria (Napoli)

Direzione Scientifica

Stefania La Grutta (Palermo)

Nicola Ullmann (Roma)

Segreteria Scientifica

Marco Poeta (Napoli)

Comitato Editoriale

Angelo Barbato (Padova)

Filippo Bernardi (Bologna)

Alfredo Boccaccino (Misurina)

Attilio L. Boner (Verona)

Mario Canciani (Udine)

Carlo Capristo (Napoli)

Fabio Cardinale (Bari)

Salvatore Cazzato (Bologna)

Renato Cutrera (Roma)

Fernando M. de Benedictis (Ancona)

Fulvio Esposito (Napoli)

Mario La Rosa (Catania)

Massimo Landi (Torino)

Gianluigi Marseglia (Pavia)

Fabio Midulla (Roma)

Luigi Nespoli (Varese)

Giorgio L. Piacentini (Verona)

Giovanni A. Rossi (Genova)

Giancarlo Tancredi (Roma)

Marcello Verini (Chieti)

Editore

Giannini Editore

Via Cisterna dell' Olio 6b

80134 Napoli

e-mail: editore@gianninisp.it

www.gianninieditore.it

Coordinamento Editoriale

Center Comunicazioni e Congressi Srl

e-mail: info@centercongressi.com

Napoli

Realizzazione Editoriale e Stampa

Officine Grafiche F. Giannini & Figli SpA

Napoli

© Copyright 2020 by SIMRI

Finito di stampare nel mese di luglio 2020

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, lettere al Direttore, recensioni (da libri, lavori, congressi), relativi a problemi pneumologici e allergologici del bambino. I contributi devono essere inediti, non sottoposti contemporaneamente ad altra Rivista, ed il loro contenuto 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. 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 di eventuali modifiche richieste ed al parere conclusivo del Direttore.

NORME EDITORIALI GENERALI

Il **testo** in lingua italiana, deve essere materialmente digitato col programma Microsoft Word® 2004 e successivi (per Mac OS X e Windows) e corredato di:

- (1) nome, cognome e affiliazione degli Autori, evidenziando per ciascun autore l'affiliazione in apice con numeri cardinali;
- (2) titolo del lavoro in italiano va scritto in grassetto, quello in inglese in corsivo grassetto;
- (3) Il riassunto va scritto in italiano e in inglese, così come le parole chiave (la somma delle battute, spazi inclusi, non deve superare i 1700 caratteri ciascuno, comprendendo in esse anche le parole chiave);
- (4) nome, cognome, ed e-mail dell'Autore referente per la corrispondenza;
- (5) bibliografia completa con voci numerate progressivamente con richiami univoci nel testo tra parentesi tonde;
- (6) Le tabelle e le figure integrate da didascalie e legende vanno numerate ed indicate nel testo progressivamente.

Il testo va preparato secondo le norme internazionali (Vancouver system) per garantire l'uniformità di presentazione (BMJ 1991; 302: 338-341). È dunque indispensabile dopo un'introduzione, descrivere i materiali e i metodi, l'indagine statistica utilizzata, i risultati, e la discussione con una conclusione finale. Gli stessi punti vanno riportati nel riassunto.

Le quantità editoriali devono essere le seguenti:

ARTICOLO	CASO CLINICO
Al massimo 20.000 caratteri spazi inclusi esclusa la bibliografia e le tabelle	Al massimo 15.000 caratteri spazi inclusi esclusa la bibliografia e le tabelle
Al massimo 4 figure o tabelle	Al massimo 4 figure o tabelle
Al massimo 23 referenze bibliografiche	Al massimo 15 referenze bibliografiche

Le tabelle devono essere materialmente digitate in numero contenuto (evitando di presentare lo stesso dato in più forme).

Le figure vanno fornite su supporto digitale in uno dei seguenti formati: .tif, .jpg e .eps e con una risoluzione adeguata alla riproduzione in stampa (300 dpi) oppure file vettoriali generati da Adobe Illustrator®.

Sono riproducibili, benché con bassa resa qualitativa, anche documenti generati da Microsoft PowerPoint® e da Microsoft Word®. Al contrario, non sono utilizzabili in alcun modo le immagini generate da CorelDRAW®.

Le dimensioni massime da rispettare per tabelle e figure sono: centimetri 8x6; centimetri 8x11,5 (in verticale); centimetri 16x11,5 (in orizzontale).

La Redazione si riserva di rifiutare il materiale iconografico ritenuto tecnicamente non idoneo.

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 fino a tre si riportano tutti; se sono quattro o più si riportano solo i primi tre seguiti da "et al."

Esempi di come citare la bibliografia:

ARTICOLI E RIVISTE

1) Zonana J, Sarfarazi M, Thomas NST, et al. *Improved definition of carrier status in X-linked hypohydrotic 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, Kostovis I, Rudan P. *Aging changes of the form and infrastructure of the external nose and its importance in rhinoplasty*. In: Conly J, Dickinson JT, (eds). "Plastic and reconstructive surgery of the face and neck". New York, NY: Grune and Stratton 1972: 84-95.

Ringraziamenti, indicazioni di grant o borse di studio, vanno citati al termine della bibliografia. Termini matematici, formule, abbreviazioni, unità e misure devono conformarsi agli standard riportati in "Science" (1954; 120: 1078). I farmaci vanno indicati col nome del principio attivo.

I Lavori vanno inviati a:

Center Comunicazione e congressi all'indirizzo

email: redazionePP_SIMRI@centercongressi.com.

QUESITI DI NATURA SCIENTIFICA VANNO INDIRIZZATI A:

Prof.ssa Francesca Santamaria

e-mail: santamar@unina.it

RICHIESTA ESTRATTI

L'Editore si impegna a fornire agli Autori che ne facciano richiesta un pdf del proprio Articolo.

Editoriale

Cari colleghi,

sono lieta di presentarvi questo numero della rivista dedicato allo “State-of-the art” in Pneumo-logia Pediatrica. Abbiamo deciso di chiedere agli esperti un aggiornamento sulla ricerca e sulle conoscenze raggiunte ad oggi, lo “State-of-the art” appunto, di argomenti, che sebbene possano sembrare distanti tra loro, risulteranno di sicuro interesse non soltanto per gli esperti del settore ma di certo per tutti i pediatri.

Gli argomenti scelti includono sia malattie spesso poco conosciute o comunque non sempre approfondite da chi non si occupa direttamente di pneumologia (malattie interstiziali, tracheobroncomalacia e Discinesia Ciliare Primitiva), sia argomenti emergenti di cui le conoscenze sono in continua e rapida evoluzione (infezione da SARS-CoV-2, ecografia polmonare, utilizzo di farmaci off-label).

L’aggiornamento continuo è alla base della professione medica e con il numero proposto crediamo di poter dare un contributo significativo a questo fine, confidando nell’interesse dei lettori.

Buona lettura e aggiornamento a tutti!

Francesca Santamaria e Marco Poeta

Le malattie dell'interstizio polmonare dei primi due anni di vita

Interstitial lung diseases in the first two years of life

Valentina Ferraro, Silvia Carraro, Stefania Zanconato

Dipartimento per la Salute della Donna e del Bambino, Università degli studi di Padova

Corrispondenza: Stefania Zanconato **e-mail:** stefania.zanconato@aopd.veneto.it

Riassunto: Le patologie che colpiscono l'interstizio polmonare in età pediatrica (*Children interstitial lung disease*, chILD) sono un gruppo eterogeneo di malattie rare, la cui classificazione nei bambini di età inferiore ai 2 anni include: anomalie diffuse dello sviluppo polmonare, anomalie della crescita alveolare, condizioni specifiche di non chiara eziologia (iperplasia infantile delle cellule neuroendocrine, glicogenosi interstiziale polmonare) e anomalie delle proteine del surfattante polmonare. Tali condizioni presentano manifestazioni cliniche eterogenee, dalla paucisintomaticità al distress respiratorio severo, e una prognosi molto variabile. Più comunemente i pazienti presentano segni e sintomi respiratori aspecifici quali dispnea, polipnea, tosse secca, respiro sibilante, infezioni respiratorie ricorrenti e limitazione nello svolgere le normali attività. Nell'approccio diagnostico, l'esecuzione della TC del torace ad alta risoluzione e l'analisi genetica giocano un ruolo centrale, eventualmente affiancate solo in un secondo momento da indagini invasive quali la laringotracheobroncoscopia e la biopsia polmonare. L'approccio terapeutico al paziente affetto da chILD si basa sulla terapia di supporto e sull'utilizzo di farmaci introdotti nel tempo in maniera empirica, sulla base della loro azione anti-infiammatoria e immunomodulatrice, ovvero corticosteroidi, idrossiclorochina ed azitromicina. Nonostante la loro rarità è molto importante che lo pneumologo pediatra conosca queste condizioni in modo da avviare tempestivamente l'iter diagnostico e terapeutico.

Parole chiave: Malattie dell'interstizio polmonare, surfattante, TC del torace, indagine genetica.

Summary: Children interstitial lung disease (chILD) is a heterogeneous group of rare diseases, classified in children younger than 2 years in: diffuse developmental disorders, alveolar growth abnormalities, specific conditions of undefined etiology (neuroendocrine cell hyperplasia of infancy and pulmonary interstitial glycogenosis) and surfactant disorders. The clinical manifestations range from pauci-symptomatic presentation to severe respiratory distress and prognosis greatly varies. Most commonly, chILD manifests with nonspecific respiratory signs and symptoms, such as dyspnea, polypnea, dry cough, wheezing, recurrent respiratory infections and activity limitation. In the effort to identify the specific chILD disease, high resolution chest CT and genetic tests play a central role. Then, if diagnostic uncertainty persists, laryngotracheobronchoscopy and lung biopsies are needed. Treatment in chILD is generally supportive and based on different drugs which have been adopted empirically into practice, mainly because of their anti-inflammatory and immunomodulatory effects, such as steroid, hydroxychloroquine and azithromycin. Despite their overall rarity, Pediatric Pulmonologist must be familiar with these diseases in order to carry out a timely diagnosis and patient management.

Keywords: Children interstitial lung disease, surfactant, chest CT, genetic tests.

INTRODUZIONE

Le patologie che colpiscono l'interstizio polmonare in età pediatrica (*Children interstitial lung disease*, chILD) sono un gruppo eterogeneo di malattie rare. La prevalenza riportata in letteratura per tali patologie è piuttosto variabile (da 0,13 a 16,2 per 100.000 bambini anno), come effetto delle difficoltà correlate alla diagnosi (1). Mancano infatti criteri diagnostici standardizzati, spesso il quadro clinico e anatomo-patologico è molto eterogeneo tale da non essere correttamente inquadrato e talvolta possono non essere disponibili adeguati test diagnostici. Nonostante la letteratura scientifica utilizzi convenzionalmente il termine di pneumopatia interstiziale dell'infanzia (*Children interstitial lung disease*, chILD), sarebbe più corretto parlare di pneumopatia diffusa (*Diffuse Lung Disease*), in quanto il processo patologico non coinvol-

ge necessariamente solo le strutture di supporto del sistema respiratorio, ovvero l'interstizio polmonare, ma può coinvolgere anche gli alveoli, le piccole vie aeree distali e/o i bronchioli terminali (2). In questo articolo utilizzeremo il termine chILD per identificare le patologie che coinvolgono in maniera diffusa il polmone in età pediatrica.

CLASSIFICAZIONE

La classificazione delle chILD è stata più volte rivista negli ultimi venti anni (3). Nel 2004 *Clement et al.* (4) hanno proposto la prima classificazione delle chILD su base eziologica e fisiopatologica, successivamente ampliata da *Deutsch et al.* nel 2007 (5), grazie allo studio delle biopsie polmonari di bambini di età inferiore ai 2 anni. Dal 2010 (6–8), inoltre, è stata introdotta un'importante suddivisione tra i disordini prevalenti nell'infanzia e i disordini non specifici dell'infanzia, sempre mantenendo il criterio eziologico ed istopatologico per la classificazione. In questo articolo analizzeremo le patologie ad esordio neonatale o che comunque si manifestano nei primi 2 anni di vita e che, sulla base della classificazione proposta da *Rice et al.* nel 2013 (7), possono essere suddivise in:

- anomalie diffuse dello sviluppo polmonare: displasia acinare, displasia congenita alveolare, displasia alveolo-capillare;
- anomalie della crescita alveolare: ipoplasia alveolare, pneumopatia cronica alveolare, pneumopatie associate a cromosomopatie o a cardiopatie congenite;
- condizioni specifiche di non chiara eziologia: iperplasia infantile delle cellule neuroendocrine, glicogenosi interstiziale polmonare;
- anomalie delle proteine del surfattante polmonare (dovute a mutazioni genetiche a carico di SPFTB, SPFTC, ABCA3).

MANIFESTAZIONE CLINICA

La presentazione clinica è molto variabile: in alcuni casi è subdola e aspecifica ma generalmente è tanto più grave quanto più l'esordio è precoce. Se l'esordio dei sintomi è insidioso, esso può portare ad una diagnosi tardiva, talvolta diversi anni dopo l'insorgenza dei primi sintomi. I neonati affetti da chILD, sono generalmente nati a termine che presentano un distress respiratorio neonatale di non chiara eziologia, che può necessitare di intubazione e ventilazione meccanica (9). Meno frequentemente i neonati affetti da chILD nascono prematuri, ma in questo caso l'insufficienza respiratoria acuta risulta più grave rispetto alle tipiche connotazioni legate alla prematurità.

Nei primi due anni di vita (1, 10) le manifestazioni cliniche delle chILD variano dalla asintomaticità al distress respiratorio severo inaspettato innescato da un'infezione virale. Più comunemente i pazienti presentano segni e sintomi respiratori aspecifici quali dispnea, polipnea, tosse secca, respiro sibilante, infezioni respiratorie ricorrenti e limitazione nello svolgere le normali attività fisiche. L'esame obiettivo rivela nella maggior parte dei casi la presenza di crepitii all'auscultazione toracica, talvolta associati a sibili; un terzo dei bambini affetti da chILD può comunque presentare un'auscultazione toracica negativa. Inoltre, generalmente negli stadi più avanzati della malattia, si riscontra *clubbing* digitale, ridotta saturazione ossiemoglobinica e/o cianosi durante l'esercizio fisico oppure a riposo.

DIAGNOSI

L'approccio diagnostico al neonato a termine con distress respiratorio ad eziologia non nota oppure al lattante/bambino con sintomi respiratori cronici (ad esempio: tachipnea, tosse, ipossiemia) associati ad infiltrati radiologici diffusi, prevede in primo luogo l'esclusione delle più comuni cause di pneumopatie diffuse come la fibrosi cistica, le cardiopatie congenite, la discinesia ciliare primitiva, le immunodeficienze, le infezioni e l'aspirazione ricorrente (11).

Successivamente, una volta esclusi questi quadri clinici, è necessario verificare se il caso può essere inquadrato come sindrome chILD (1, 8, 11), in presenza di almeno tre dei seguenti quattro criteri (9, 11):

- sintomi respiratori: tosse, polipnea oppure intolleranza allo sforzo fisico;
- segni respiratori: tachipnea a riposo, riscontro di rumori all'auscultazione toracica in assenza di infezione, segni di dispnea (retrazioni intercostali e al giugulo), *clubbing* digitale, scarsa crescita;
- ipossiemia;
- alterazioni radiologiche diffuse.

Per quanto riguarda la diagnosi radiologica della chILD, il *gold standard* è la TC del torace ad alta risoluzione (9), che permette di valutare il danno a carico del parenchima polmonare sia qualitativamente, definendone le caratteristiche, che quantitativamente, stimandone l'estensione. In particolare, tipico è il riscontro di diffuse zone di attenuazione a vetro smerigliato (*ground-glass*) talvolta associate alla possibilità di identificare linee intralobulari e setti interlobulari ispessiti; potrebbero inoltre essere riconosciute cisti d'aria subpleuriche nei lobi polmonari superiori, generalmente a ridosso delle opacità a vetro smerigliato. Il corretto timing di esecuzione della TC del torace ad alta risoluzione nel neonato/lattante in cui

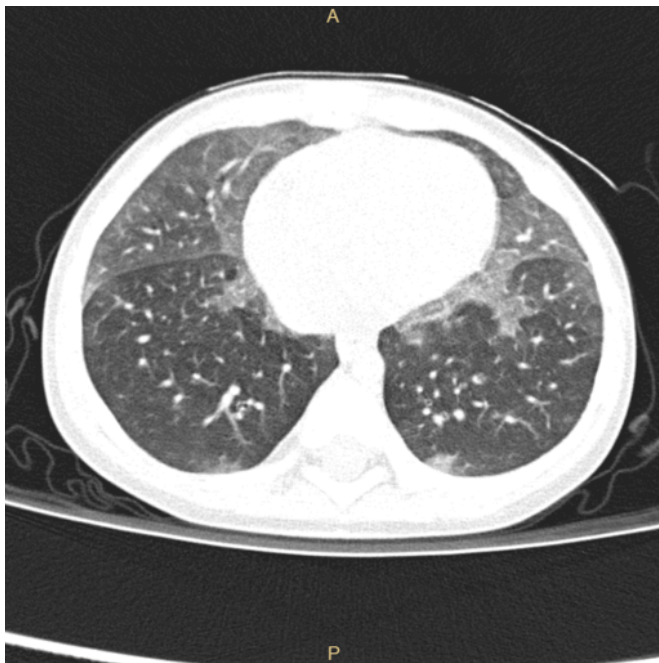


Fig. 1: opacità a vetro smerigliato principalmente localizzate nel lobo medio e nei segmenti lingulari in lattante di 10 mesi affetta da Iperplasia infantile delle cellule neuroendocrine.

si sospetta una chILD è ad oggi ancora oggetto di dibattito. Innanzitutto, per sottoporre precocemente il paziente a tale indagine è necessario ricorrere alla sedazione, condizione che può portare alla formazione di probabili aree non adeguatamente ventilate e pertanto di difficile interpretazione. Inoltre, l'esecuzione troppo precoce della TC del torace può non consentire di ottenere informazioni dirimenti dal punto di vista diagnostico, esponendo pertanto inutilmente il neonato/lattante ai rischi correlati all'esposizione alle radiazioni.

In alcune situazioni la TC del torace permette di identificare un pattern diagnostico. In particolare tale indagine ha una specificità del 78% e sensibilità del 100% nell'individuare l'iperplasia infantile delle cellule neuroendocrine (NEHI, *neuroendocrine cell hyperplasia of infancy*), caratterizzata da opacità a vetro smerigliato localizzate al lobo medio e alla lingua (Figura 1) (12).

Per quanto riguarda invece le chILD associate ad anomalie delle proteine del surfattante polmonare, è stato descritto in letteratura un pattern di opacità a vetro smerigliato diffuso e la presenza di un aspetto reticolare del parenchima polmonare, anche se non è stata attualmente quantificata né sensibilità né specificità di tale quadro radiologico nell'identificare le anomalie delle proteine del surfattante.

Accanto all'indagine radiologica, nell'iter diagnostico del neonato/lattante affetto da sindrome chILD, un ruolo fondamentale è svolto dall'analisi genetica, che consente di rilevare le mutazioni genetiche note associate ad una specifica tipologia di ChILD (Tabella 1) (13).

Tab.1: Mutazioni genetiche associate alle chILD.		
Gene mutato	Ereditarietà	Condizione clinica associata
ABCA3 (<i>ATP-binding cassette-family A-member 3</i>)	Autosomica recessiva	Anomalie delle proteine del surfattante polmonare
COPA (<i>coatamer associated protein subunit alpha</i>)	Autosomica dominante	Condizione associata a patologia sistemica, coinvolgente il polmone, le articolazioni, il rene
CSF2RA (<i>colony stimulating factor 2 receptor α</i>)	X-linked	Proteinosi alveolare polmonare
CSF2RB (<i>colony stimulating factor 2 receptor β</i>)	Autosomica recessiva	Proteinosi alveolare polmonare
FLNA (<i>Filamin A</i>)	X-linked recessiva	Condizione associata a patologia sistemica, coinvolgente il polmone, il sistema cardiovascolare, l'apparato scheletrico, la coagulazione
FOXF1 (<i>forkhead box F1</i>)	Autosomica dominante	Anomalie diffuse dello sviluppo polmonare, ovvero displasia alveolo-capillare con disallineamento delle vene polmonari
GATA2 (<i>GATA Binding Protein 2</i>)	Autosomica dominante	Immunodeficienza con proteinosi alveolare polmonare
MARS (<i>metionil-transfer RNA sintetasi</i>)	Autosomica recessiva	Proteinosi alveolare polmonare
NKX2-1 (<i>NK2 homeobox 1</i>)	Autosomica dominante	Condizione associata a patologia sistemica detta "sindrome cervello-polmone-tiroide", ovvero caratterizzata da ipotiroidismo congenito, ipotono e corea, interstiziopatia
NSMCE3 (<i>Non-structural maintenance of chromosomes element 3 homolog</i>)	Autosomica recessiva	Immunodeficienza
OAS1 (<i>oligoadenylate synthetase 1</i>)	Autosomica dominante	Proteinosi alveolare polmonare associata ad ipogammaglobulinemia e splenomegalia
SFTPB (<i>Surfactant protein B deficiency</i>)	Autosomica recessiva	Anomalie delle proteine del surfattante polmonare
SFTPC (<i>Surfactant protein C mutation</i>)	Autosomica dominante	Anomalie delle proteine del surfattante polmonare
SLC7A7 (<i>solute carrier family 7 member 7</i>)	Autosomica recessiva	Proteinosi alveolare polmonare associata ad intolleranza alle proteine con lisinuria
TBX4 (<i>T-box transcription factor 4</i>)	Autosomica dominante	Displasia acinare
TMEM173 (<i>transmembrane protein 173</i>)	Autosomica dominante	Fibrosi polmonare associata ad infiammazione sistemica

Qualora la TC del torace ad alta risoluzione e l'analisi genetica non consentano di giungere ad una diagnosi specifica, è necessario procedere all'esecuzione di indagini invasive quali la laringotracheobroncoscopia (LTBS) e la biopsia polmonare. La LTBS risulta dirimente nell'identificare eventuali anomalie anatomiche delle vie aeree. Inoltre, l'analisi del Liquido di Lavaggio Broncoalveolare (BAL) permette di escludere eventuali infezioni, emorragie, aspirazione cro-

nica o altre condizioni associate alla presenza di cellule specifiche all'analisi citologica su BAL (ad esempio istiocitosi a cellule di Langherans). Per quanto riguarda la biopsia polmonare, nel paziente affetto da sindrome chILD essa risulta l'ultimo step diagnostico, talvolta il solo in grado di condurre ad una diagnosi eziologica definitiva tramite l'utilizzo di classificazioni istopatologiche sempre più dettagliatamente caratterizzate (7). La sede più corretta per il prelievo istologico viene definita assieme a Chirurgo Pediatra e Radiologo, sulla base del pattern di distribuzione del danno polmonare e viene generalmente eseguita in due aree polmonari distinte in modo tale da evitare errori diagnostici o prelievi istologici non adeguati. Le tecniche chirurgiche attualmente più utilizzate sono l'approccio open oppure l'approccio transtoracico video-assistito. In Figura 2 riportiamo una *flow-chart* riassuntiva per la diagnosi delle chILD.

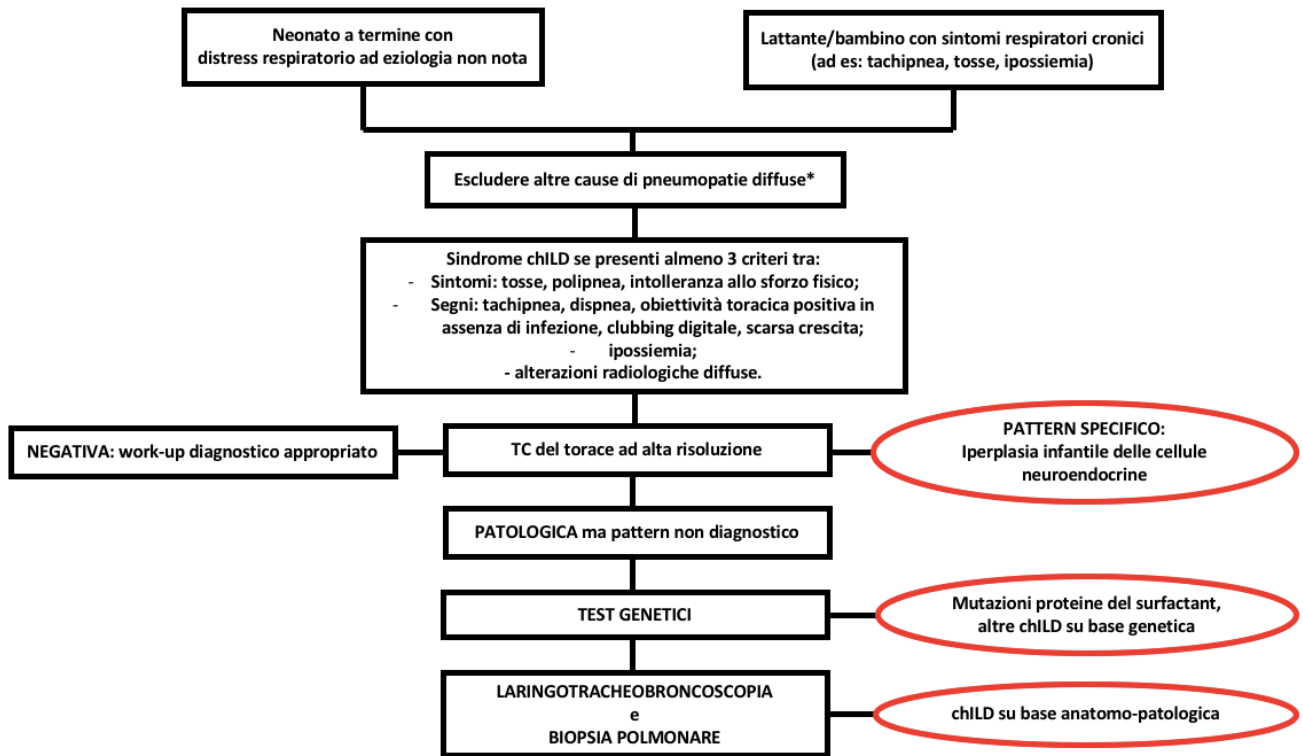


Fig. 2: Flow-chart per la diagnosi delle chILD. * fibrosi cistica, cardiopatie congenite, discinesia ciliare primitiva, immunodeficienze, infezioni, aspirazione ricorrente

FOLLOW-UP E PROGnosi

L'approccio multidisciplinare di fronte ad un paziente in cui si sospetta una chILD è imprescindibile, non soltanto per quanto riguarda la diagnosi, ma anche nel seguire il paziente nel *follow-up*. Lo Pneumologo Pediatra risulta in questo scenario il protagonista, affiancato da Radiologo, Genetista, Anatomo-patologo, Immunologo (1). Il *timing* del *follow-up* non è ad oggi standardizzato e dipende dalla specifica chILD di cui il paziente soffre, dalle condizioni cliniche del paziente e dal numero e dall'entità delle riacutizzazioni.

La prognosi delle chILD è molto eterogenea, variando dalla quasi completa risoluzione, nell'iperplasia infantile delle cellule neuroendocrine e nella glicocenosì interstiziale polmonare, fino alla prognosi infausta della displasia alveolo-capillare. Riportiamo una schematizzazione in Tabella 2.

Tab.2: Caratteristiche cliniche e prognosi delle chILD che si manifestano nei bambini di età <2 anni.

chILD		Presentazione clinica e prognosi
Anomalie diffuse dello sviluppo polmonare	Displasia acinare	Cianosi alla nascita con sopravvivenza per poche ore (16)
	Displasia congenita aveolare	Presentazione clinica e prognosi variabili (16)
	Displasia alveolo-capillare	Esordio nelle prime 24 ore di vita, descritta la morte nell'arco di giorni-settimane dopo l'esordio (17). Meno frequentemente (più del 10%) il quadro clinico può esordire anche ad alcuni mesi di vita (16).
Anomalie della crescita alveolare	Ipoplasia alveolare	Presentazione clinica e prognosi variabili
	Broncodisplasia	Presentazione clinica e prognosi variabili
	Associate a cromosomopia	Presentazione clinica e prognosi variabili in base alla cromosomopia di cui il paziente soffre
	Associate a cardiopatia congenita	Presentazione clinica e prognosi variabili in base alla cardiopatia congenita di cui il paziente soffre
Condizioni specifiche di non chiara eziologia	Iperplasia infantile delle cellule neuroendocrine	Esordio nei primi mesi di vita, i sintomi respiratori possono persistere anche per anni con ampia variabilità per quanto concerne la gravità; non sono stati descritti casi di morte né pazienti che hanno necessitato di trapianto polmonare (18,19)
	Glicogenosi interstiziale polmonare	Esordio subito dopo la nascita. Senza gravi comorbidità, generalmente la prognosi è buona con sintomi respiratori che possono comunque persistere fino all'adolescenza (20)
Anomalie delle proteine del surfattante polmonare	Mutazioni SPFTB	Generalmente esordio in età neonatale con prognosi sfavorevole, anche se talvolta il paziente affetto può sopravvivere più a lungo (21)
	Mutazioni SPFTC	Presentazione clinica e prognosi variabili (22)
	Mutazioni ABCA3	Presentazione clinica e prognosi variabili (23)

STRATEGIE TERAPEUTICHE

L'approccio terapeutico al paziente affetto da chILD si basa sulla terapia di supporto, ovvero ossigenoterapia, ventilazione, adeguato *intake* calorico-nutrizionale, fisioterapia respiratoria, e sull'utilizzo di farmaci introdotti nel tempo in maniera empirica sulla base della loro azione anti-infiammatoria e immunomodulatrice, ovvero corticosteroidi, idrossiclorochina e azitromicina. Inoltre, nella fase terminale dell'insufficienza respiratoria cronica deve essere considerato tra le scelte terapeutiche anche il trapianto di polmone.

L'ossigenoterapia associata o meno a ventilazione meccanica, si rende necessaria nella maggior parte delle chILD fin dalle prime giornate di vita e nelle forme con buona prognosi può progressivamente essere ridotta e/o sospesa in base all'andamento clinico.

Ad oggi non esistono trial randomizzati controllati sui farmaci da somministrare in pazienti affetti da chILD, che molto spesso vengono prescritti sulla base di pochi studi osservazionali. Nella pratica clinica i primi farmaci che vengono somministrati nel paziente affetto da chILD sono i corticosteroidi, che risultano efficaci nei pazienti con un quadro infiammatorio alla base dell'interstiziopatia polmonare, mentre non portano significativo beneficio nelle condizioni senza una sostanziale infiammazione (ad es. l'iperplasia infantile delle cellule neuroendocrine). Data la diversa risposta clinica agli steroidi in base al tipo di chILD di cui il paziente soffre, è attualmente oggetto di dibattito se iniziare la loro somministrazione soltanto dopo una diagnosi eziologica certa, condizione tuttavia che si verifica il più delle volte diversi mesi dopo l'esordio dei sintomi. Nel 2015 è stato pubblicato un consensus della *chILD-EU Collaboration* sul tipo e sulle dosi dello steroide da somministrare nel paziente affetto da chILD, che conclude suggerendo l'utilizzo di boli endovena (Metilprednisolone 10 mg/kg oppure 500 mg/m², in alcuni centri 30 mg/kg) nella fase acuta, seguiti dalla somministrazione per via orale nell'uso cronico (9).

L'idrossiclorochina è un immunosoppressore (inibisce la funzione delle cellule T) e, nonostante anche il suo uso non sia supportato da trial randomizzati controllati, essa risulta efficace in alcuni casi di anomalie delle proteine del surfattante polmonare da mutazione di SFTPC (14) e da mutazione ABCA3 (15).

L'azitromicina agisce come antibiotico, anti-infiammatorio e immunomodulatore, e la sua efficacia nel paziente affetto da chILD è difficile da determinare, in quanto utilizzato quasi sempre in combinazione con steroide e/o idrossiclorochina.

Strategie terapeutiche che stanno emergendo e sulle quali si investirà nel futuro riguardano la terapia genica e i farmaci antifibrotici (1). In particolare, la terapia genica ha iniziato a muovere i primi passi nel trattamento della proteinosi alveolare polmonare da mutazione di CSF2RA e nel deficit delle proteine del surfattante (ad es nel deficit della proteina B del surfattante), mentre i farmaci antifibrotici (pirfenidone and nintedanib) sono stati studiati per la loro già nota capacità nel paziente adulto affetto da fibrosi polmonare idiopatica di rallentare il declino della capacità vitale forzata.

CONCLUSIONI

In conclusione, le patologie che colpiscono l'interstizio polmonare in età pediatrica sono un gruppo di malattie rare che presentano manifestazioni cliniche eterogenee, dalla paucisintomaticità al distress respiratorio severo, e una prognosi molto variabile. Nonostante la loro rarità è molto importante che lo pneumologo pediatra conosca queste condizioni in modo da avviare tempestivamente l'iter diagnostico e terapeutico in presenza di quadri clinici suggestivi.

BIBLIOGRAFIA

- (1) Cunningham S, Jaffe A, Young LR. *Children's interstitial and diffuse lung disease*. Lancet Child Adolesc Health 2019; 3: 568-577.
- (2) Nathan N, Berdah L, Borensztajn K, et al. *Chronic interstitial lung diseases in children: diagnosis approaches*. Expert Rev Respir Med 2018; 12: 1051-1060.
- (3) Hime NJ, Zurynski Y, Fitzgerald D, et al. *Childhood interstitial lung disease: A systematic review*. Pediatr Pulmonol 2015; 50: 1383-1392.
- (4) Clement A, ERS Task Force. *Task force on chronic interstitial lung disease in immunocompetent children*. Eur Respir J 2004; 24: 686-697.
- (5) Deutsch GH, Young LR, Deterding RR, et al. *Diffuse lung disease in young children: application of a novel classification scheme*. Am J Respir Crit Care Med 2007; 176: 1120-1128.
- (6) Clement A, Nathan N, Epaud R, et al. *Interstitial lung diseases in children*. Orphanet J Rare Dis 2010; 5: 22.
- (7) Rice A, Tran-Dang M-A, Bush A, et al. *Diffuse lung disease in infancy and childhood: expanding the chILD classification*. Histopathology 2013; 63: 743-755.
- (8) Kurland G, Deterding RR, Hagood JS, et al. *An official American Thoracic Society clinical practice guideline: classification, evaluation, and management of childhood interstitial lung disease in infancy*. Am J Respir Crit Care Med 2013; 188: 376-394.
- (9) Bush A, Cunningham S, de Blic J, et al. *European protocols for the diagnosis and initial treatment of interstitial lung disease in children*. Thorax 2015; 70: 1078-1084.
- (10) Clement A, de Blic J, Epaud R, et al. *Management of children with interstitial lung diseases: the difficult issue of acute exacerbations*. Eur Respir J 2016; 48: 1559-1563.
- (11) Spagnolo P, Bush A. *Interstitial Lung Disease in Children Younger Than 2 Years*. Pediatrics 2016; 137.
- (12) Brody AS, Guillerman RP, Hay TC, et al. *Neuroendocrine cell hyperplasia of infancy: diagnosis with high-resolution CT*. AJR Am J Roentgenol 2010; 194: 238-244.

- (13) Saddi V, Beggs S, Bennetts B, et al. *Childhood interstitial lung diseases in immunocompetent children in Australia and New Zealand: a decade's experience*. Orphanet J Rare Dis 2017; 12: 133.
- (14) Avital A, Hevroni A, Godfrey S, et al. *Natural history of five children with surfactant protein C mutations and interstitial lung disease*. Pediatr Pulmonol 2014; 49: 1097-1105.
- (15) Williamson M, Wallis C. *Ten-year follow up of hydroxychloroquine treatment for ABCA3 deficiency*. Pediatr Pulmonol 2014; 49: 299-301.
- (16) Bush A, Griese M, Seidl E, et al. *Early onset children's interstitial lung diseases: Discrete entities or manifestations of pulmonary dysmaturity?* Paediatr Respir Rev 2019; 30: 65-71.
- (17) Slot E, Edel G, Cutz E, et al. *Alveolar capillary dysplasia with misalignment of the pulmonary veins: clinical, histological, and genetic aspects*. Pulm Circ 2018; 8(3): 2045894018795143.
- (18) Nevel RJ, Garnett ET, Schaudies DA, et al. *Growth trajectories and oxygen use in neuroendocrine cell hyperplasia of infancy*. Pediatr Pulmonol 2018; 53: 656-663.
- (19) Gomes VCC, Silva MCC, Maia Filho JH, et al. *Diagnostic criteria and follow-up in neuroendocrine cell hyperplasia of infancy: a case series*. J Bras Pneumol 2013; 39: 569-578.
- (20) Liptzin DR, Baker CD, Darst JR, et al. *Pulmonary interstitial glycogenosis: Diagnostic evaluation and clinical course*. Pediatr Pulmonol 2018; 53: 1651-1658.
- (21) Chakraborty M, Kotecha S. *Pulmonary surfactant in newborn infants and children*. Breathe 2013; 9: 476-488.
- (22) Kazzi B, Lederer D, Arteaga-Solis E, et al. *Recurrent diffuse lung disease due to surfactant protein C deficiency*. Respir Med Case Rep 2018; 25: 91-95.
- (23) Kröner C, Wittmann T, Reu S, et al. *Lung disease caused by ABCA3 mutations*. Thorax 2017; 72: 213-220.

Genetica e Discinesia Ciliare Primitiva

Genetics and Primary Ciliary Dyskinesia

Martina Rinelli¹, Marco Poeta², Francesca Santamaria², Antonio Novelli¹

¹Laboratorio di Genetica Medica, Ospedale Pediatrico Bambino Gesù, Roma

²Dipartimento di Scienze Mediche Traslazionali, Sezione di Pediatria, Università Federico II, Napoli

Corrispondenza: Antonio Novelli **e-mail:** antonio.novelli@opbg.net

Riassunto: La Discinesia Ciliare Primitiva (DCP) è una rara malattia autosomica recessiva determinata da anomalie dell'ultrastruttura e della funzionalità ciliare, con notevole eterogeneità genotipica e fenotipica. Negli ultimi anni sono stati identificati un numero crescente di geni associati alla malattia, codificanti proteine assone-miche, citoplasmatiche e regolatorie coinvolte nell'assemblaggio, nella struttura e nella funzione ciliare. Questi progressi hanno modificato l'approccio ai test diagnostici per DCP, ciononostante considerate le difficoltà nella diagnosi e la rarità del disordine si conosce ancora poco riguardo le associazioni tra specifici genotipi e le manifestazioni cliniche della malattia, se non per le più comuni mutazioni.

Parole chiave: Discinesia Ciliare Primitiva, Genetica, *Next Generation Sequencing*, Sindrome di Kartagener

Summary: Primary Ciliary Dyskinesia (PCD) is a rare genetic disease characterized by ultrastructure and ciliary function abnormalities, with remarkable genotype and phenotype heterogeneity. In last years an increasing number of causative genes have been identified, encoding axonemic, cytoplasmic and regulatory proteins involved in assembly, structure and function of cilia. These advances have changed the approach to PCD diagnosis, however, given the rarity of the disorder, little is known about correlations between specific genotypes and clinical manifestations, except for the most frequent mutations.

Keywords: Primary Ciliary Dyskinesia, Genetics, Next Generation Sequencing, Kartagener Syndrome.

INTRODUZIONE

La Discinesia Ciliare Primitiva (DCP) è una malattia rara (MIM no. 244400), caratterizzata da anomalie ultrastrutturali ciliari e conseguente compromissione della clearance mucociliare, con estrema variabilità clinica ed eterogeneità genotipica, la cui modalità di trasmissione è prevalentemente autosomica recessiva. Si tratta di una condizione frequente soprattutto nelle popolazioni con elevato tasso di matrimoni tra consanguinei. L'incidenza è di 1:10.000-1:15.000 nati vivi, anche se la DCP è probabilmente fortemente sottostimata in molti paesi, specie in assenza di difetti di lateralità, a causa di sintomi respiratori aspecifici comuni in età pediatrica (1). Il quadro clinico è caratterizzato da distress respiratorio neonatale, infezioni respiratorie ricorrenti (rinosinusite, otiti, bronchiti, polmoniti e conseguenti bronchiectasie) e broncopneumopatia cronica progressiva ad esordio in età pediatrica. Nel 40-50% dei casi si associa a *Situs viscerum inversus*, configurando il quadro della Sindrome di Kartagener, o a difetti di lateralità parziali (*Situs ambiguous*) a causa di disfunzione ciliare del nodo embrionale. Altre manifestazioni comuni sono l'ipoacusia di tipo trasmissivo e l'ipo-infertilità maschile e femminile (2).

Oltre ad un test di screening, la misurazione dell'ossido nitrico nasale (nNO), non è disponibile al momento un unico metodo diagnostico per la DCP, ma diversi test che combinati alle manifestazioni cliniche permettono di definire la diagnosi sebbene con diversi gradi di specificità e sensibilità. Ad esempio, lo studio dell'ultrastruttura ciliare in microscopia elettronica (TEM) e i pannelli di *Next Generation Sequencing* (NGS) per la ricerca di mutazioni nei geni noti associati non sono in grado di identificare il 20-30% dei pazienti affetti con possibili falsi negativi. In tal senso nuove metodiche quali lo studio del pattern e della frequenza del battito ciliare in videomicroscopia ad alta velocità (HSVMA) e dell'ultrastruttura ciliare in immunofluorescenza (IF) ad alta risoluzione permettono di ridurre il numero di diagnosi mancate. Giungere alla

diagnosi non è pertanto semplice e anche tra le società internazionali non c'è ancora consenso sul migliore protocollo diagnostico da utilizzare (3).

GENETICA ED ULTRASTRUTTURA CILIARE

La DCP può essere causata da un difetto a livello dei polipeptidi dell'assonema delle ciglia o della coda dello spermatozoo, di proteine presenti nella membrana ciliare e nella matrice o di proteine necessarie per il corretto assemblaggio delle ciglia, influenzando la biogenesi e la motilità di queste strutture cellulari (4). Le ciglia mobili sono presenti sull'epitelio di tutto il tratto respiratorio e sono costituite da un assonema formato da nove coppie di microtubuli periferici che circondano un'unica coppia di microtubuli centrali. Ponti di nexina connettono coppie di micro-tubuli periferici adiacenti, ciascuna delle quali costituita da un microtubulo completo (microtubulo A) e da un microtubulo parziale (microtubulo B) e connessa mediante i *radial spokes* alla coppia di microtubuli centrali. Ogni microtubulo A ha due bracci, uno interno (*inner dynein arm*, IDA) ed uno esterno (*outer dynein arm*, ODA), formati dalla dineina, proteina motoria in grado di fornire energia per il movimento ciliare. Ogni ciglio è formato inoltre da un corpo basale che, connettendosi al centrosoma, permette di ancorare il ciglio al citoplasma apicale della cellula. A livello dell'epitelio respiratorio, questo tipo di ciglia facilita l'espulsione delle secrezioni mucose, svolgendo un importante meccanismo di difesa delle vie aeree.

Dall'analisi molecolare dei geni candidati, nel 1999 è stato possibile identificare il primo gene responsabile di DCP (5): *DNAI1* (dineina assomemale - catena intermedia 1). Le conoscenze sulla genetica della DCP si sono poi rapidamente evolute con l'identificazione continua di un numero crescente di geni (Tabella 1). La maggior parte dei geni causativi finora identificati codificano per componenti del braccio esterno della dineina (6-8): *DNAI* (10-12% dei pazienti), *DNAH5* (28% dei pazienti), *DNAI2* (2-4% dei pazienti), *DNAH11*, *TXNDC3*, *CCDC114* e *ARMC4* (identificati più raramente). Le mutazioni nei geni *LRRC50*, *DNAAF2*, *DNAAF3*, *CCDC103*, *HEATR2*, *LRRC6*, *ZMYND10* e *DYX1C1*, sono responsabili di difetti combinati dei bracci interno ed esterno della dineina (9-10). Mutazioni nei geni *RSPH9* e *RSPH4A* sono state descritte in soggetti affetti da DCP con assenza della coppia centrale (11-12). I difetti dei *radial spokes*, associati a mutazioni a carico dei geni *CCDC39* e *CCDC40*, coinvolgono il complesso regolatorio della dineina (DRC) ed i complessi regolatori della nexina (13-14). Infine, in pazienti con mutazioni a carico dei geni *HYDIN*, *CCDC164* e *CCDC65* le ciglia risultano normali o caratterizzate da anomalie ultrastrutturali molto lievi (15-16).

Tab.1: Geni noti associati a Discinesia Ciliare Primitiva e corrispettiva alterazione dell'ultrastruttura ciliare valutata in microscopia elettronica. ^a difetto solo delle sezioni ciliari distali; ^b ereditarietà X-linked; ^c TEM frequentemente normale o con sottili anomalie; ^d difetto evidenziato solo con tomografia.

Difetto del braccio esterno della dineina <i>DNAH5, DNAI1, DNAI2, DNALI1, NME8, DNAH9^a, CCDC114, ARMC4, CCDC151, TTC25, MNS1</i>
Difetto del braccio esterno e del braccio interno della dineina <i>DNAAF1, DNAAF2, DNAAF3, DNAAF4, DNAAH5, LRRC6, ZMYND10, SPAG1, C21ORF59, PIH1D3^b, CCDC103</i>
Difetto del braccio interno della dineina e disorganizzazione microtubulare <i>CCDC39, CCDC40</i>
Disorganizzazione microtubulare <i>CCDC164, CCDC65, GAS8</i>
Difetto della coppia centrale <i>RSPH1, RSPH3, RSPH4A, RSPH9, DNAJB13, HYDIN^c, STK36^c</i>
Assenza o ridotto numero di ciglia <i>CCNO, MCIDAS</i>
Ultrastruttura ciliare nella norma <i>CCDC11, ENKUR, GAS2L2, LRRC56, DNAH11^d</i>

INDAGINI GENETICHE

Alla luce di una eterogeneità genica estremamente elevata, la diagnosi di questa condizione risulta estremamente complessa, i metodi diagnostici si basano sull'analisi ultrastrutturale e funzionale delle ciglia, nonché sul corretto inquadramento genetico della condizione. Per differenziare difetti genetici congeniti da anomalie acquisite transitorie (discinesia secondaria), l'indagine genetica diventa fondamentale. Attualmente la diagnosi di DCP, che un tempo si basava principalmente sull'esame ultrastrutturale del ciglio mediante TEM, è supportata da test genetici specifici che sfruttano sofisticate tecniche di NGS, che consentono lo studio di molteplici geni in un'unica seduta analitica. L'analisi NGS si avvale di pannelli targhettati contenenti geni già descritti in associazione alla DCP. Tuttavia, qualora non emergano varianti associate nei geni noti, lo studio può essere ulteriormente esteso alla ricerca di varianti nell'intero esoma (*Clinical-Exome-Sequencing* e *Whole-Exome-Sequencing*). Seguendo tale approccio diagnostico, l'analisi dell'esoma clinico per la diagnosi di DCP non si limita a cercare varianti già conosciute e descritte, ma consente di identificare nuovi geni candidati ad oggi non ancora descritti in associazione ad uno specifico fenotipo clinico e verosimilmente correlabili alla patologia. La complessità di questo tipo di analisi risiede nella molteplicità di dati generati da ogni singolo esperimento, per cui sono necessari specifici software per il filtraggio e la prioritizzazione delle varianti. I geni associati al quadro clinico vengono selezionati sfruttando specifici database, OMIM (*Online Mendelian Inheritance in Man*) o *GeneReviews*, mentre le varianti vengono classificate in probabilmente benigne (classe 2), di significato incerto (VUS) (classe 3), probabilmente patogenetiche (classe 4) o patogenetiche (classe 5), secondo le linee guida dell'American College of Medical Genetics and Genomics (17). È noto che, ad influire sul quadro clinico e sulla presenza di segni clinici caratteristici, come il *Situs Viscerum Inversus*, concorre sia il tipo di gene coinvolto, sia la natura della variante genetica riscontrata. La maggior parte delle mutazioni ad oggi descritte come patogenetiche in associazione alla DCP sono *loss-of-function* (18) (non-senso o localizzate in un sito di *splicing* della proteina) e determinano l'assenza o la totale perdita di funzione della proteina con assente o ridotta motilità ciliare. Considerata la rarità della malattia è frequente il riscontro di varianti missenso di incerto significato. Per l'interpretazione di tali varianti e della loro effettiva associazione con il quadro clinico sono fondamentali il riferimento a precedenti casi descritti in letteratura, la ricerca delle varianti genetiche nei diversi database scientifici (*ClinVar*, *Human Gene Mutation Database*, *Leiden Open Variation Database*) e la frequenza allelica nella popolazione (*gnomAD - Genome Aggregation Database*), dalla cui analisi è possibile predire l'effetto della mutazione sulla proteina. In particolare per le varianti genetiche ad incerto significato clinico, i soli modelli predittivi *in silico* non sono sufficienti a predirne la patogenicità ed è fondamentale estendere il test ad altri componenti della famiglia. Considerate la modalità di trasmissione della patologia e la possibilità che due diverse varianti in uno stesso gene (eterozigosi composta) o in due geni differenti possano concorrere insieme nell'alterare la funzionalità della proteina, studiare la segregazione di specifiche mutazioni nei genitori del paziente con DCP diventa indispensabile per proseguire il corretto iter diagnostico.

CORRELAZIONE GENOTIPO-FENOTIPO

Il fenotipo così eterogeneo della DCP presenta una stretta relazione con i diversi difetti genetici: mutazioni di *CCDC39* e *CCDC40* si associano a peggiori funzione polmonare e parametri di crescita (19), mutazioni di *RSPH1* sono associate a *Situs solitus* e fenotipo respiratorio meno grave (20), mutazioni a carico di altri geni a normali livelli di nNO (*GAS8*, *RSPH1*), a specifici pattern di battito ciliare (*RSPH*, *CCDC39*, *CCDC40*, *DNAH11*), a disfunzione della ciliogenesi (*CCNO*, *MCIDAS*) o a difetti di lateralità (*CCDC11*) e disfunzione dei flagelli spermatici (*RSPH6A*) in assenza di manifestazioni respiratorie (1). Tali segnalazioni stanno rendendo più semplice lo studio dell'associazione genotipo-fenotipo, anche se, considerate le difficoltà

diagnostiche, la rarità della malattia e la presenza di geni causativi non ancora identificati tale correlazione non è ancora disponibile per tutti i casi.

TERAPIA GENICA

Attualmente non esiste un trattamento specifico per la DCP, gli individui affetti soffrono di infezioni respiratorie ricorrenti con possibile sviluppo di bronchiectasie e progressivo deterioramento della funzionalità polmonare. L'identificazione delle mutazioni genetiche responsabili e la caratterizzazione di specifici geni coinvolti, offre l'opportunità di utilizzare le tecniche di "trasferimento genico" per correggere il difetto e ripristinare la normale funzione ciliare e la salute polmonare dei pazienti. Tuttavia, la rarità della DCP e l'assenza di modelli animali adeguati rende difficoltoso l'approccio per questi nuovi modelli di terapia genica. A fare da apripista per possibili modelli *in vitro*, è uno studio del 2010 in cui è stato utilizzato un vettore di trasferimento genico per esprimere la normale proteina DNAI1 in un modello murino di DCP (21). Più recentemente è stato inoltre descritto un modello di terapia genica basato su *DNAH5*-shRNA per il silenziamento del gene nelle cellule dell'epitelio bronchiale. Le dimensioni molto grandi di questi geni infatti rendono difficoltoso l'utilizzo dei vettori virali comunemente utilizzati in terapia genica e le cellule vengono pertanto trasdotte con un lentivirus che esprime uno shRNA per *DNAH5* (22). Infine, l'utilizzo *ex-vivo* del *gene editing* è risultato in grado di determinare la normalizzazione del pattern del battito ciliare in caso di mutazioni di *DNAH11* (23).

LA NOSTRA ESPERIENZA

Si riporta l'esperienza del laboratorio di Genetica Medica dell'Ospedale Pediatrico Bambino Gesù di Roma che ha studiato 27 pazienti con caratteristiche cliniche di DCP, provenienti dall'unità di Pneumologia Pediatrica dell'AOU Federico II di Napoli. La diagnosi è stata confermata in 10 dei pazienti analizzati, mediante il riscontro di varianti genetiche a carico di uno o più geni associati a DCP (Tabella 2). L'analisi genetico-molecolare è stata eseguita mediante NGS, utilizzando un pannello targhettato (Roche NimbleGen, Madison, WI) che comprende 50 geni correlati a DCP. La *pipeline BaseSpace* (Illumina, <https://basespace.illumina.com>) e il *software TGex* (LifeMap Sciences, Inc.) sono stati utilizzati rispettivamente per la chiamata e l'annotazione delle varianti identificate. Le varianti riscontrate e classificate come patogene e le varianti a significato incerto (VUS) sono state confermate contestualmente all'indagine di segregazione familiare sui genitori, mediante sequenziamento Sanger. Dallo studio è emerso che un paziente presentava due mutazioni verosimilmente patogenetiche, in uno dei geni codificanti per le componenti del complesso regolatorio della dineina (DRC), *CCDC40*. In 4 pazienti, lo studio familiare ha permesso di identificare la presenza di due varianti diverse in uno stesso gene, confermando una condizione di eterozigosi composta. A conferma di quanto riportato in letteratura scientifica, i geni principalmente mutati codificano per componenti ODA (*DNAH5*, *DNAH11* e *DNAI*). Nei restanti 17 pazienti, è stata riscontrata una sola variante monoallelica o più di una variante, in geni diversi associati a DCP. In questi casi la possibilità di indagare eventuali delezioni o duplicazioni a carico dei geni coinvolti costituisce una possibile ipotesi per chiarire la natura di queste mutazioni e confermare o meno la diagnosi genetica. Questo studio ha permesso di confermare, in molti dei pazienti studiati, la presenza di mutazioni nei geni più frequentemente coinvolti nello sviluppo della malattia, consentendo inoltre l'identificazione di varianti ad oggi non descritte in letteratura scientifica e classificate come VUS in geni da poco associati alla DCP, ponendo le basi per successivi studi scientifici che potrebbero chiarire la funzione delle varianti sull'attività della proteina.

Tab.2: Varianti genetiche riscontrate in 10 pazienti affetti da Discinesia Ciliare Primitiva seguiti presso l'AOU Federico II di Napoli e studiati presso il Laboratorio di Genetica Medica dell'Ospedale Pediatrico Bambin Gesù di Roma. In 4 dei pazienti analizzati l'assenza dei genitori non ha permesso di confermare l'eterozigosi composta. Alcune delle varianti sono riportate come verosimilmente patogenetiche/patogenetiche o VUS e sono principalmente varianti nonsenso o di *splicing*.

Chr	RefGene	Modifica Amminoacidica		Classificazione ACMG	Segregazione	Trasmissione
Chr7	DNAH11 - NM_001277115.1	p. Leu1546Pro	p.Ser1553Ter	VUS - Patogenetica		Eterozigosi composta
Chr9	DNAI1 - NM_001281428.1	p.Pro52LeufsTer		VUS	Non verificata	Omozigosi
Chr7	DNAH11 - NM_001277115.1	p.Ile1334Thr	p.Arg3888Cys	VUS	Non verificata	
Chr7	DNAH11 - NM_001277115.1	p.Gln1401Arg	p.Ser2863Thr	VUS	Non verificata	
Chr17	CCDC40 - NM_017950.3	c.856-18G>A	p.Thr864AsnfsTer10	VUS - Patogenetica	Non verificata	
Chr5	DNAH5 - NM_001369.2	p.Gln1450Ter	p.Arg1883Ter	Patogenetica		Eterozigosi composta
Chr17	CCDC103 - NM_213607.1	p.His154Pro		VUS	Non verificata	Omozigosi
Chr7	DNAH11 - NM_001277115.1	p.Val2745Asp	p.Pro4458Leu	VUS		Eterozigosi composta
Chr5	DNAH5 - NM_001369.2	c.3396+1G>T	c.7753-1G>T	Patogenetica		Eterozigosi composta
Chr9	DNAI1 - NM_001281428.1	p.Cys559Tyr	p.Gly515Ser	Probabilmente patogenetica	Non verificata	

CONCLUSIONI

La DCP è una condizione rara con coinvolgimento multisistemico, tuttavia l'identificazione della causa genetica può favorire la diagnosi precoce. Ad oggi non è disponibile un unico test per la diagnosi, ma questa può essere raggiunta solo dalla combinazione di diverse metodiche (nNO, TEM, HSVMA, IF) con i risultati delle indagini genetiche. Infatti, considerato il coinvolgimento di un elevato numero di geni e mutazioni, con possibili ulteriori geni coinvolti non ancora identificati, l'analisi genetico-molecolare da sola non può essere ancora considerata un test diagnostico definitivo per la DCP. Un corretto inquadramento clinico della condizione, con il supporto di una consulenza genetica pre- e post- diagnosi, può aiutare nella corretta gestione dei pazienti e delle loro famiglie. Sebbene la comprensione delle influenze del genotipo sul fenotipo della malattia sia in aumento, i progressi in tal senso sono limitati dall'esiguo numero di pazienti affetti da DCP, per cui si rendono sempre più necessari studi collaborativi multicentrici.

BIBLIOGRAFIA

- (1) Lucas JS, Davis SD, Omran H, et al. *Primary ciliary dyskinesia in the genomics age*. *Lancet Respir Med* 2020; 8: 202-216.
- (2) Mirra V, Werner C, Santamaria F. *Primary Ciliary Dyskinesia: An Update on Clinical Aspects, Genetics, Diagnosis, and Future Treatment Strategies*. *Front Pediatr* 2017; 5:135.
- (3) Shoemark A, Dell S, Shapiro A, et al. *ERS and ATS Diagnostic Guidelines for Primary Ciliary Dyskinesia: Similarities and Differences in Approach to Diagnosis*. *Eur Respir J* 2019; 54: 1901066.
- (4) Fassad MR, Patel MP, Shoemark A, et al. *Clinical utility of NGS diagnosis and disease stratification in a multiethnic primary ciliary dyskinesia cohort*. *J Med Genet* 2020; 57: 322-330.
- (5) Pennarun G, Escudier E, Chapelin C, et al. *Loss-of-function mutation in a human gene related to Chlamydomonas reinhardtii dynein IC78 result in primary ciliary dyskinesia*. *Am J Hum Genet* 1999; 65: 1508-1519.
- (6) Shoemark A, Dixon M, Corrin B, et al. *Twenty-year review of quantitative transmission electron microscopy for the diagnosis of primary ciliary dyskinesia*. *J Clin Pathol* 2012; 65: 267-271.
- (7) Hjeij R, Lindstrand A, Francis R, et al. *ARMC4 mutations cause primary ciliary dyskinesia with randomization of left/right body asymmetry*. *Am J Hum Genet* 2013; 93: 357-367.
- (8) Duriez B, Duquesnoy P, Escudier E, et al. *A common variant in combination with a nonsense mutation in a member of the thioredoxin family causes primary ciliary dyskinesia*. *Proc Natl Acad Sci USA* 2007; 104: 3336-3341.
- (9) Duquesnoy P, Escudier E, Vincensini L, et al. *Loss-of-function mutations in the human ortholog of Chlamydomonas reinhardtii ODA7 disrupt dynein arm assembly and cause primary ciliary dyskinesia*. *Am J Hum Genet* 2009; 85: 890-896.
- (10) Knowles MR, Leigh MW, Carson JL, et al. *Genetic Disorders of Mucociliary Clearance Consortium. Mutations of DNAH11 in patients with primary ciliary dyskinesia with normal ciliary ultrastructure*. *Thorax* 2012; 67: 433-441.
- (11) Castleman VH, Romio L, Chodhari R, et al. *Mutations in radial spoke head protein genes RSPH9 and RSPH4A cause primary ciliary dyskinesia with central-microtubular-pair abnormalities*. *Am J Hum Genet* 2009; 84: 197-209.
- (12) Kott E, Legendre M, Copin B, et al. *Loss-of-function mutations in RSPH1 cause primary ciliary dyskinesia with central-complex and radial-spoke defects*. *Am J Hum Genet* 2013; 93: 561-570.
- (13) Antony D, Becker-Heck A, Zariwala MA, et al. *Mutations in CCDC39 and CCDC40 are the major cause of primary ciliary dyskinesia with axonemal disorganization and absent inner dynein arms*. *Hum Mutat* 2013; 34: 462-472.
- (14) Merveille AC, Davis EE, Becker-Heck A, et al. *CCDC39 is required for assembly of inner dynein arms and the dynein regulatory complex and for normal ciliary motility in humans and dogs*. *Nat Genet* 2011; 43:72-78.
- (15) Knowles MR, Leigh MW, Carson JL, et al. *Genetic Disorders of Mucociliary Clearance Consortium. Mutations of DNAH11 in patients with primary ciliary dyskinesia with normal ciliary ultrastructure*. *Thorax* 2012; 67: 433-441.
- (16) Horani A, Brody SL, Ferkol TW, et al. *CCDC65 mutation causes primary ciliary dyskinesia with normal ultrastructure and hyperkinetic cilia*. *PLoS ONE* 2013; 8: e72299.
- (17) Richards S, Aziz N, Bale S, et al. *ACMG Laboratory Quality Assurance Committee Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology*. *Genet Med* 2015; 17: 405-424.

- (18) Pennarun G, Escudier E, Chapelin C, et al. *Loss-of-Function Mutations in a Human Gene Related to Chlamydomonas reinhardtii Dynein IC78 Result in Primary Ciliary Dyskinesia*. Am J Hum Genet 1999; 65: 1508-1519.
- (19) Davis SD, Ferkol TW, Rosenfeld M, et al. *Clinical features of childhood primary ciliary dyskinesia by genotype and ultrastructural phenotype*. Am J Respir Crit Care Med 2015; 191: 316-324.
- (20) Knowles MR, Ostrowski LE, Leigh MW, et al. *Mutations in RSPH1 cause primary ciliary dyskinesia with a unique clinical and ciliary phenotype*. Am J Respir Crit Care Med 2014; 189: 707-717.
- (21) Ostrowski LE, Yin W, Thompson KE, et al. *Pilot Studies Of Gene Therapy For Primary Ciliary Dyskinesia*. American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine 2010; 181: A6604.
- (22) Munye M, Hirst RA, O'Callaghan C, et al. *Towards gene therapy for primary ciliary dyskinesia*. Cilia 2012; 1: P109.
- (23) Lai M, Pifferi M, Bush A, et al. *Gene editing of DNAH11 restores normal cilia motility in primary ciliary dyskinesia*. J Med Genet 2016; 53: 242-249.

L'Ecografia Polmonare: quale ruolo in Pneumologia Pediatrica?

Lung ultrasound: is there a role in pediatric pulmonology?

Alessandro Volpini, Vittorio Romagnoli, Federica Zallocco, Salvatore Cazzato

SOD Pediatria ad indirizzo Pneumo-Endocrino-Reumato-Immuno-Infettivologico, Dipartimento Materno-Infantile, Presidio Ospedaliero di Alta Specializzazione "G. Salesi", AOU Ancona

Corrispondenza: Alessandro Volpini **e-mail:** alessandro.volpini@ospedaliriuniti.marche.it

Riassunto: L'ecografia rappresenta una metodica ancora relativamente giovane nel panorama diagnostico delle malattie polmonari. L'esame ecografico è eseguito ed interpretato dal clinico in "real time" e direttamente al letto del malato come un'estensione dell'esame fisico; questa metodologia è stata definita "point-of-care" US (POCUS). Si tratta di un esame non invasivo, privo di radiazioni ed a basso costo, fattori che rendono tale metodica molto attraente specialmente in età pediatrica. Molte sono le condizioni patologiche in cui viene applicata, ciononostante l'utilità dell'ecografia polmonare è tuttora oggetto di studio e sta progressivamente ampliando i suoi orizzonti.

Parole chiave: ecografia polmonare; bambini; POCUS; patologie polmonari.

Summary: Ultrasound represents a relatively young diagnostic tool in the panorama of lung diseases. The ultrasound examination is performed and interpreted by clinician in "real time" and directly at the patient's bedside as an extension of physical examination; this method has been called "point-of-care" ultrasound (POCUS). It is a non-invasive, radiation-free and low-cost exam, factors that make this method very attractive especially in children. There are many pathological conditions in which it is applied, nevertheless the usefulness of lung ultrasound is still being studied and is progressively expanding its horizons.

Keywords: children; lung ultrasound; point-of-care ultrasound; lung diseases.

INTRODUZIONE

L'uso dell'ecografia (US) in medicina si è sviluppato dalla seconda metà del secolo scorso. Negli ultimi anni l'ecografia viene eseguita ed interpretata in "real time" direttamente al letto del malato come un'estensione dell'esame obiettivo; questa metodica è definita "point-of-care" *ultrasound* (POCUS) (1).

I campi di applicazione della POCUS sono cresciuti negli anni e recentemente l'ecografia polmonare (*lung ultrasound* - LUS) *point-of-care* è diventata un argomento di grande interesse soprattutto in ambito pediatrico. Si tratta di un esame non invasivo, privo di radiazioni ed a basso costo eseguito a letto del malato, che può, in alcuni casi, sostituire la radiografia del torace (CR) e può ridurre l'uso della TC del torace in specifici scenari clinici (2). Poiché i bambini possono essere 10 volte più sensibili alle radiazioni ionizzanti rispetto agli adulti, l'uso della LUS in sostituzione della CR in campo pediatrico può costituire uno strumento diagnostico alternativo.

"IL LINGUAGGIO" IN ECOGRAFIA POLMONARE

Gli ultrasuoni si propagano attraverso i tessuti a velocità diverse a seconda del loro coefficiente di attenuazione. L'aria e l'osso hanno un alto coefficiente di attenuazione che provoca un grande riflesso degli ultrasuoni creando alcuni artefatti. A causa del suo elevato contenuto di aria, lo studio ecografico del polmone era considerato non realizzabile in passato. Lichtenstein et al. alcuni anni fa hanno descritto per la prima volta come è possibile studiare il polmone attraverso l'uso degli ultrasuoni (3). Dopo un periodo di resistenza da parte del mondo medico, l'utilità della LUS è stata riconosciuta a livello globale.

Nel 2012, Volpicelli et al. hanno pubblicato le raccomandazioni internazionali su come eseguire ed interpretare in maniera standardizzata l'esame ecografico del polmone (4). Una sonda *convex* a bassa frequenza (3–5 MHz) è in genere consigliata per la scansione dei polmoni negli adulti, mentre le sonde ad alta frequenza sono un'opzione non solo per la visualizzazione dettagliata degli strati pleurici e delle piccole lesioni sub-pleuriche, ma anche per l'intero esame nei pazienti pediatrici (Figura 1.a).

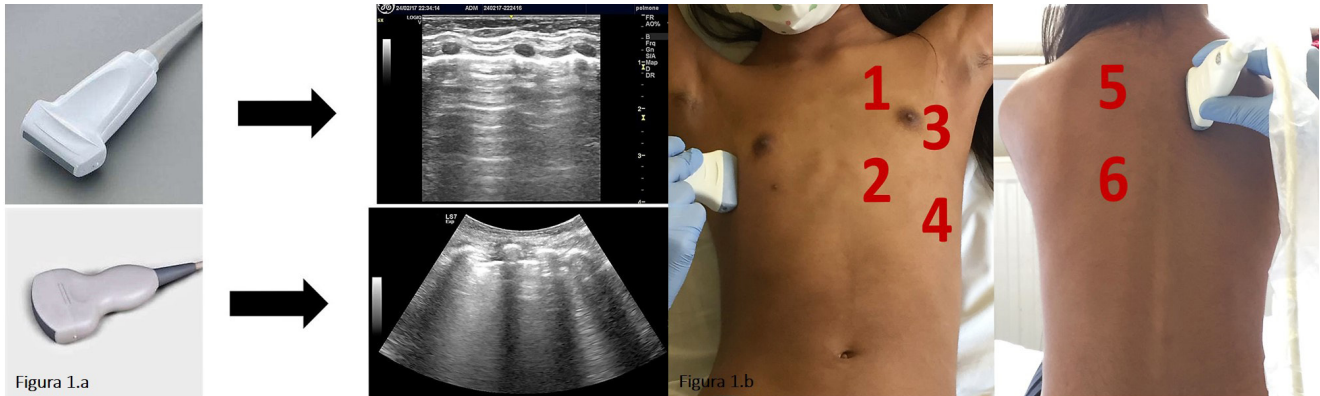


Fig. 1.a: Tipologie di sonde utilizzabili per la scansione del polmone e relative immagini: lineare ad alta frequenza (in alto) e *convex* a bassa frequenza (in basso). **Fig. 1.b:** aree di scansione. Aree 1 e 2: anteriore superiore e inferiore. Aree 3 e 4: laterale superiore e basale. Aree 5 e 6: posteriore superiore e inferiore. Ogni area va scansionata su entrambi i lati destro e sinistro.

I bambini devono essere posizionati supini e la sonda deve essere applicata perpendicolarmente alla parete toracica in direzione cranio-caudale, con il reperi della sonda sempre rivolto verso la testa del paziente. Vi è una vasta gamma di descrizioni della tecnica ecografica in letteratura, e la maggior parte di esse suggeriscono di scansionare le aree del torace seguendo le “linee anatomiche”, come mostrato in Figura 1.b. Nel paziente “critico” il torace dovrebbe essere diviso in otto zone, superiore e inferiore anteriormente e superiore e basale lateralmente su entrambi i lati. Nel paziente “stabile” invece è possibile eseguire un esame più completo (scansionando anche le aree posteriori), come mostrato nella Figura 1.b, soprattutto se l'obiettivo è escludere la presenza di consolidamenti nei campi posteriori (4).

Il primo passo in LUS è l'identificazione della linea pleurica, che è facilmente visibile come una linea iperecogena orizzontale posizionata tra due coste e leggermente più in profondità. Le coste e la linea pleurica delineano un pattern caratteristico noto come “*sliding pleurico*”, in cui le pleure viscerale e parietale scivolano l'una sull'altra durante la respirazione. Il polmone normalmente aerato è caratterizzato da un'immagine artefattuale chiamata linea A, una linea orizzontale generata dal riverbero dell'ultrasuono tra il tessuto polmonare aerato e la pleura. La linea pleurica è un forte riflettore che crea questi artefatti ripetitivi. Il pattern ecografico normale è definito dalla presenza dello “*sliding pleurico*” associato alla presenza di linee A, definite come una o più linee orizzontali (A-lines) che si trovano più in profondità rispetto alla linea pleurica (Figura 2.a) (4, 5).

La presenza di linee verticali note come linee B (*B-lines*) sono definite come artefatti di riverbero iperecogeni simili ad un laser ed indicano un processo alveolare o interstiziale (6). Alcune (meno di tre) linee B isolate possono essere presenti nel polmone normale e non avere alcun significato patologico. Le linee B si muovono con la respirazione e cancellano le linee A. La presenza di linee B numerose o confluenti assume un significato clinico che discuteremo di seguito (Figura 2.b).

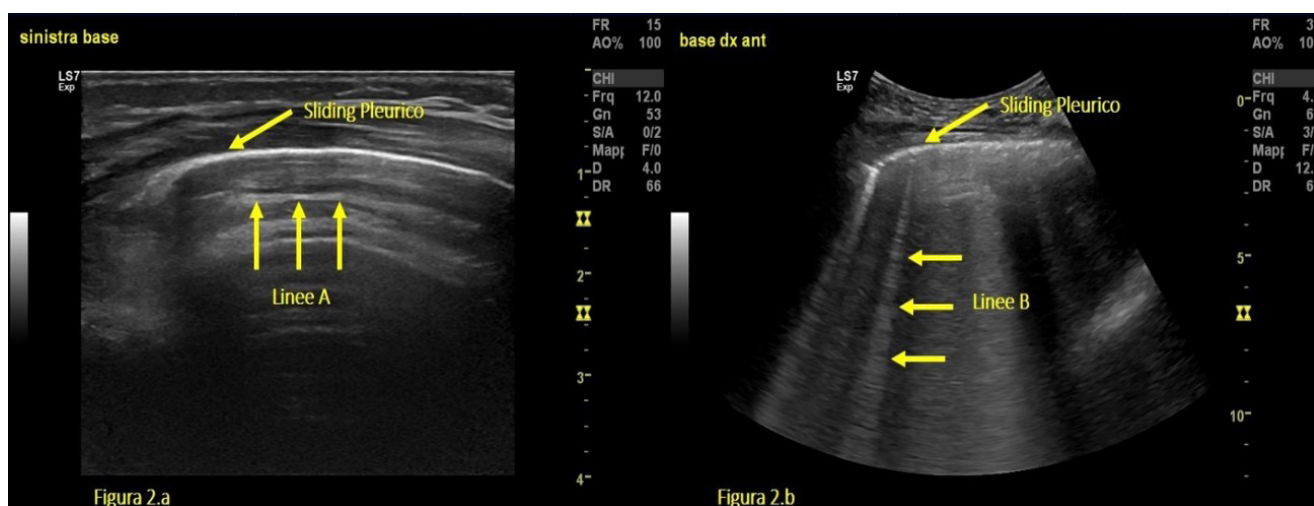


Fig. 2.a: “sliding pleurico” o *sliding sign*. Il movimento pleurico è sincrono con l’espansione del polmone quindi con la ventilazione. Le linee A sono costituite da riverberi orizzontali che si ripetono regolarmente in profondità, equidistanti come moltiplicazioni del piano pleurico stesso. **Fig. 2.b:** le linee B sono artefatti a coda di cometa iperecogene che originano dalla linea pleurica, cancellano le linee A e si muovono con lo *sliding*.

LA LUS NELLA PATOLOGIA POLMONARE INFETTIVA

La patologia polmonare infettiva costituisce tutt’oggi una delle principali cause di ospedalizzazione in età pediatrica e spesso necessita di ricorso alle tecniche di imaging tradizionali nel *work-up* diagnostico. Le lesioni polmonari riducono l’aerazione e la compliance del polmone, creando diversi tipi di artefatti. Artefatti specifici suggeriscono condizioni patologiche specifiche che possono essere sospettate in base alle caratteristiche fisiopatologiche ed ecografiche (7). Descriveremo di seguito alcune delle condizioni in cui l’ecografia polmonare può risultare un valido ausilio in età pediatrica, escludendo in questa sede la patologia neonatale di cui vi è ampia letteratura in merito.

BRONCHIOLITE

La bronchiolite rappresenta l’esempio più caratteristico di “sindrome interstiziale ecografica”. In questa condizione, l’interstizio è interessato da un aumento dell’acqua extravascolare, che comporta una perdita di aerazione. Potrebbe essere ancora presente un certo grado di aerazione data l’eterogeneità di questa patologia. La presenza di linee B (e la perdita di linee A) è altamente indicativa di una malattia polmonare interstiziale. Le linee B separate sono espressione di un edema interstiziale moderato, mentre le linee B coalescenti indicano un edema interstiziale grave (8). Una zona di polmone positiva per sindrome interstiziale è definita dalla presenza di tre o più linee B in un piano longitudinale tra due coste (corrispondente ad un’area di scansione). Gli studi hanno dimostrato che la LUS nella bronchiolite mostra un pattern bilaterale regolare caratterizzato dalla presenza di più linee B che tendono a fondersi. Uno studio osservazionale su 104 bambini ha mostrato che vi è corrispondenza tra la valutazione clinica e lo *score* ecografico. La diagnosi clinica e la gravità della malattia concordavano con i risultati ecografici nel 90,6% dei casi. L’ecografia ha anche consentito l’identificazione dei pazienti che necessitavano di supporto di ossigeno con alta specificità (98,7%) e sensibilità (96,6%) (9-10). Questo studio ha arruolato 52 bambini con diagnosi clinica di bronchiolite e 52 senza segni o sintomi di malattia (gruppo di controllo). Tutti i pazienti nel gruppo di controllo avevano una ecografia normale, mentre solo cinque pazienti con bronchiolite avevano l’esame normale. Tra i pazienti con bronchiolite, l’ecografia ha evidenziato che l’84% (44 su 52) dei bambini presentava consolidazioni polmonari sub-pleuriche ($P < 0,001$ vs. gruppo di controllo), il 65% (34 su 52) linee B compatte ($P < 0,001$ vs. gruppo di controllo), il 44% (23 su 52) aveva anomalie

della linea pleurica ($P < 0,001$ vs. gruppo di controllo), il 5% (3 su 52) un versamento pleurico minimo e solo il 2% (1 su 52) un piccolo pneumotorace. Lo studio ha evidenziato, specialmente nelle forme più gravi di bronchiolite, una migliore correlazione tra la gravità clinica ed i risultati dell'ecografia rispetto alla radiografia tradizionale (9).

Biagi e collaboratori in un recente studio prospettico hanno valutato l'accuratezza diagnostica e l'affidabilità della LUS nel rilevare la presenza di polmonite nei bambini ospedalizzati con bronchiolite. Sono stati valutati 87 bambini con bronchiolite e 25 bambini con sospetto di polmonite (29%). È stata eseguita la CR ed entro 12 ore una LUS da un pediatra esperto. Il "gold standard" era la diagnosi ex-post della polmonite fatta sulla base della presentazione clinica, dei test di laboratorio, della CR e del decorso clinico secondo le raccomandazioni delle *British Thoracic Society*. La sensibilità e la specificità della LUS per la diagnosi di polmonite sono state rispettivamente del 100% e dell'84%, mentre la CR ha mostrato una sensibilità del 96% e una specificità dell'87%. Quando sono stati considerati come polmoniti solo i consolidamenti > 1 cm, la specificità della LUS aumentava al 98% e la sensibilità diminuiva all'80% (11).

POLMONITI

Il quadro ecografico della polmonite è rappresentato da una regione ipoecogena sub-pleurica o con ecogenicità simile a quella di un tessuto (epatizzazione), che differisce dal pattern ecografico circostante costituito da tessuto aerato. Un confine irregolare separa il polmone consolidato da quello normalmente aerato. Spesso sono presenti broncogrammi aerei che possono essere dinamici o statici, contribuendo a distinguere tra polmonite e atelettasia. I broncogrammi aerei dinamici sono tipici delle polmoniti (Figura 3) (12). Il consolidamento alveolare deve raggiungere la pleura per essere identificato con l'ecografia ed essere visibile all'interno di una finestra intercostale. Yilmaz et al. hanno dimostrato che l'ecografia può essere un'alternativa alla CR come strumento diagnostico nei bambini con polmonite acquisita in comunità e appare leggermente più sensibile della stessa CR. In questo studio, i risultati della LUS erano compatibili con la diagnosi di polmonite in 142 (95,3%) dei 149 bambini con polmonite, mentre i risultati della CR in 132 (88,5%) (13). Un'altra meta-analisi ha confrontato invece l'uso della LUS con diversi standard di riferimento per diagnosticare la polmonite. La sensibilità della LUS (96%) è risultata buona e sovrapponibile a quella ottenuta utilizzando sia criteri clinici che radiologici, il che implica che la LUS è una tecnica affidabile quando si sospetta una polmonite (14). La LUS inoltre può essere eseguita quotidianamente e consente di monitorare l'effetto delle terapie antibiotiche ed il miglioramento della ventilazione polmonare senza la necessità di ricorrere ad indagini irradianti. La riparazione del tessuto polmonare può essere osservata attraverso una modifica del quadro ecografico che passa da un quadro di impegno alveolare a un quadro più interstiziale fino alla normalizzazione (Figura 3).

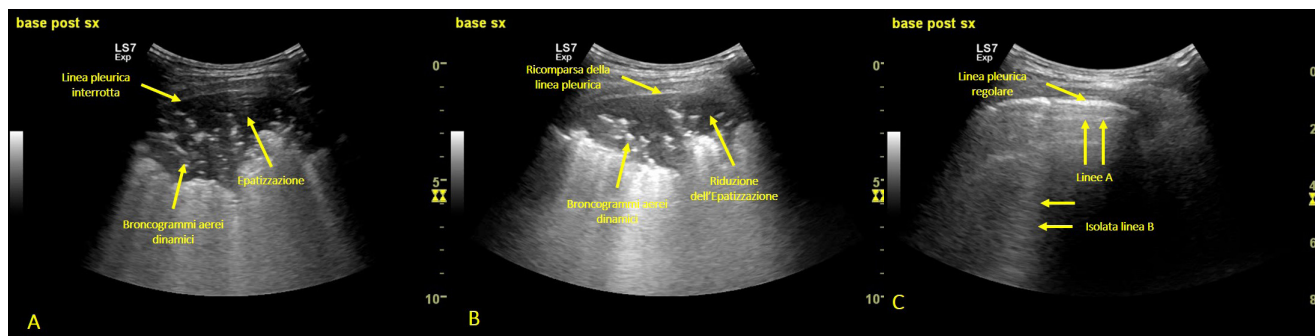


Fig. 3: bambina di 10 anni con polmonite lobare sinistra da *Streptococco Pneumoniae*. **A:** presenza di area di epatizzazione con scomparsa della linea pleurica e presenza di broncogrammi aerei dinamici. **B:** dopo 5 gg di terapia antibiotica si nota ricomparsa della linea pleurica e riduzione dell'epatizzazione. **C:** dopo 14 gg di terapia antibiotica si nota pressoché normalizzazione del pattern ecografico con linea pleurica regolare, presenza di isolate linee B nel contesto di regolari linee A.

VERSAMENTI PLEURICI

L'uso dell'ecografia per la valutazione dello spazio pleurico è una metodica ben consolidata. Nelle terapie intensive la POCUS può aggiungere preziose informazioni e consentire ai medici di prendere rapidamente decisioni come ad esempio eseguire la toracentesi, nonché di guidare la procedura in sicurezza. Un piccolo studio pediatrico ha dimostrato che la LUS è più sensibile rispetto alla CR nella diagnosi dei versamenti pleurici e dei consolidamenti. L'ecografia si è dimostrata diagnostica nel 68,1% dei bambini contro il 33,3% della CR. La LUS può evidenziare chiaramente anche piccole effusioni a livello degli sfondati costofrenici, specialmente nei bambini, grazie all'elevata risoluzione spaziale ottenuta dalle sonde ad alta frequenza (15). L'ecografia è inoltre in grado di fornire informazioni sulle caratteristiche del versamento (liquido, corpuscolato etc.) e sul grado di organizzazione dello stesso, elementi fondamentali nel contesto clinico per guidare i processi terapeutici.

LA LUS NELLA PATOLOGIA POLMONARE NON INFETTIVA

Atelettasie

L'atelettasia polmonare è una complicanza frequente in diverse patologie polmonari ed è uno dei motivi più comuni di difficoltà nello svezzamento dalla ventilazione meccanica. Il collasso polmonare può manifestarsi come una perdita da lieve a moderata dell'aerazione del polmone che si presenta ecograficamente con la presenza di linee B da isolate a coalescenti, fino alla completa atelettasia caratterizzata dalla presenza di consolidamenti sub-pleurici con broncogrammi aerei statici. Lichtenstein et al. hanno dimostrato come l'assenza dello "sliding pleurico" e la concomitante associazione delle vibrazioni sincronizzate dell'attività cardiaca sulla linea pleurica rappresentasse un quadro ecografico patognomonico, espressione di atelettasia completa (16). Tale segno, chiamato "Lung Pulse", ha una sensibilità del 93% e una specificità del 100% per la diagnosi di atelettasia sinistra completa evidenziata a seguito di intubazione bronchiale selettiva destra in pazienti senza precedenti malattie polmonari e riscontrabile in una fase molto precoce e prima rispetto alle alterazioni radiologiche. In un recente studio prospettico Ullmann et al. hanno valutato l'utilità della LUS rispetto alla CR nell'identificare le atelettasie in 40 bambini affetti da malattie neuromuscolari (NMD). L'atrofia muscolare spinale di tipo 1 era la NMD più comune, seguita dall'atrofia muscolare spinale di tipo 2 e dalle miopatie congenite. Più della metà dei soggetti presentava atelettasie, più spesso nel lobo polmonare inferiore sinistro. La LUS ha mostrato una sensibilità del 57% ed una specificità dell'82% con valore predittivo positivo dell'80% e valore predittivo negativo del 61% rispetto alla CR nell'identificare le aree atelettasiche. Gli autori hanno concluso che l'uso della LUS dovrebbe essere raccomandato per identificare precocemente le atelettasie nei bambini con NMD favorendo in questi pazienti fragili una riduzione dell'esposizione alle radiazioni ionizzanti (17).

Malattie Polmonari Interstiziali

Le malattie polmonari interstiziali (ILD) rappresentano un corteo ampio ed eterogeneo di malattie polmonari rare e complesse in età pediatrica, il cui iter diagnostico risulta spesso gravato dalla necessità di ricorrere ad esami invasivi come la biopsia polmonare e la TC torace ad alta risoluzione (HRCT) che tutt'oggi è considerata la tecnica di *imaging* di riferimento nei bambini. Urbankowska et al. in uno studio prospettico controllato hanno valutato l'utilità della LUS in 20 bambini con tachipnea persistente dell'infanzia (PTI), la più comune tra leILD dell'infanzia. In tutti i bambini la LUS è stata eseguita in tre momenti: al momento dell'inclusione (tempo 0), dopo 6 e dopo 12 mesi di *follow-up*. I risultati della LUS al tempo 0 sono stati quindi confrontati con le immagini HRCT (eseguita anch'essa al tempo 0), con una LUS eseguita in bambini sani della stessa età (gruppo di controllo) e con la LUS eseguita negli stessi pazienti a 6 e 12 mesi di *follow-up*. Le linee B sono state evidenziate in tutti i bambini con PTI ed in 11

(55%) soggetti di controllo ($P < .001$). Il numero totale delle linee B, il numero massimo di linee B in qualsiasi spazio intercostale, la distanza tra le linee B e lo spessore pleurico sono risultati significativamente aumentati nei bambini con PTI rispetto ai controlli. È stata riscontrata un'irregolarità della linea pleurica in tutti i pazienti con PTI ed in nessuno dei bambini sani. Il confronto tra i reperti HRCT ed i risultati della LUS ha rivelato una correlazione significativa inducendo gli autori a concludere che seppure la LUS non sia in grado di sostituire la HRCT per la diagnosi di PTI, l'integrazione della valutazione ecografica potrebbe essere utile nel *follow-up* di questi bambini (18).

LA LUS NEL BAMBINO CON CARDIOPATIA

Edema Polmonare Cardiogeno

Diversi studi hanno dimostrato che almeno il 58% dei pazienti pediatrici settici può presentare disfunzione cardiaca clinicamente rilevante (19). La presenza di linee B (e la perdita di linee A) è altamente suggestiva di edema polmonare interstiziale. L'entità clinica e radiologica dell'edema polmonare cardiogeno si identifica con la formazione di linee B che sono dapprima diradate, più numerose alle basi del polmone, successivamente estese su tutta la superficie polmonare e confluenti. Trattandosi di un edema idrostatico, le linee B compaiono dapprima alle basi e poi si estendono ai campi medi e superiori del polmone (*wet lung* cardiogeno). Per la stessa ragione nell'edema cardiogeno non si osservano "aree di risparmio" tipiche di altre forme di edema polmonare non cardiogeno (Figura 4) (20).

Inoltre, importante è il ruolo che la LUS riveste quando eseguita in associazione all'ecocardiografia. Una recente *consensus* di esperti ha confermato come, nei pazienti adulti con dispnea acuta, la LUS combinata con l'ecocardiografia sia utile nel formulare una diagnosi differenziale dell'edema. Secondo gli esperti l'utilizzo della LUS permette una migliore accuratezza diagnostica rispetto alla sola valutazione clinica e alla CR nell'identificazione dell'eziologia cardiogena dell'edema nei reparti di pronto soccorso (21).

Il Bambino Cardiochirurgico

L'incidenza postoperatoria di atelettasie nei bambini sottoposti a chirurgia per cardiopatie congenite è stata segnalata tra il 41% e il 71% dei casi a causa della complessa condizione cardiopolmonare sottostante, degli interventi chirurgici, del *bypass* cardiopolmonare e della gestione dell'anestesia (22).

Sebbene la maggior parte delle atelettasie indotte dall'anestesia nei bambini sottoposti a interventi chirurgici minori e con funzione polmonare e cardiaca relativamente normali non siano gravi e possano risolversi spontaneamente senza conseguenze avverse, le atelettasie gravi possono influire non solo sullo scambio dei gas, ma anche sugli esiti a lungo termine a causa di una ventilazione meccanica prolungata e dell'infiammazione polmonare. Una diagnosi precoce, una valutazione accurata ed interventi ottimali sono fondamentali per ridurre o eliminare il rischio di atelettasie. Sun et al. in un recente studio prospettico hanno valutato l'efficacia dell'utilizzo della LUS come strumento per determinare l'effetto delle manovre di reclutamento con pressione positiva di fine espirazione incrementale (iPEEPRM) nel ridurre l'incidenza

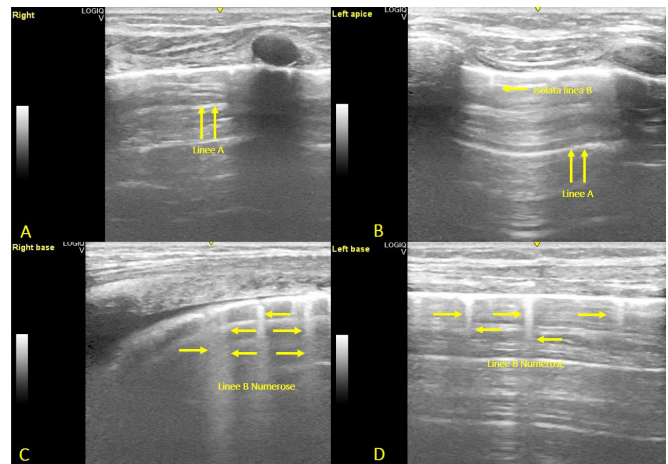


Fig. 4: bambina di 12 anni con edema polmonare acuto da insufficienza cardiaca. Si nota come trattandosi di un edema idrostatico, le linee B siano più evidenti alle basi polmonari (C, D) rispetto agli apici (A, B).

di atelettasie nei bambini con cardiopatia congenita sottoposti ad intervento chirurgico. Sono stati valutati 36 bambini di età compresa tra 3 mesi e 5 anni sottoposti ad intervento cardiocirurgico. L'iPEEPRM è stata eseguita con aumento graduale della PEEP (0-5-10-15 cmH₂O) prima e dopo l'intervento chirurgico. L'esame ecografico è stato eseguito da anestesisti esperti (con più di 50 LUS eseguite) 2 volte prima dell'intervento (1 minuto dopo l'inizio della ventilazione meccanica senza iPEEPRM e 1 minuto dopo l'inizio della ventilazione meccanica con iPEEPRM) e 2 volte dopo l'intervento (la prima subito alla fine dell'intervento chirurgico e la seconda 1 minuto dopo l'inizio della ventilazione meccanica con iPEEPRM). L'*outcome* primario era valutare l'incidenza di atelettasie. L'iPEEPRM è stata applicata con successo nel 92% (33/36) dei bambini prima dell'intervento e nel 71% (24/34) dopo l'intervento. L'incidenza di atelettasie è stata significativamente ridotta dall'iPEEPRM dal 76% al 15% prima dell'intervento e dal 92% al 38% dopo l'intervento (P < .001), quindi in questo lavoro l'iPEEPRM ha ridotto significativamente l'incidenza di aree atelettasiche valutate ecograficamente (23).

CONCLUSIONI

L'ecografia polmonare è una tecnica relativamente recente nel panorama diagnostico della pneumologia pediatrica ed ha dimostrato di essere efficace nella valutazione delle alterazioni polmonari. La *point-of-care* LUS sta cambiando il modo di esaminare, diagnosticare e curare i pazienti. La velocità di esecuzione, la qualità delle immagini e la possibilità di ripetere l'esame più volte in maniera sicura e confortevole per il paziente e l'operatore fanno in modo che l'ecografia polmonare rappresenti un esame diagnostico sempre più diffuso nella pratica clinica. Di sicuro rappresenta uno strumento economicamente valido che può migliorare l'assistenza, ma sono necessari ulteriori studi per dimostrarne la reale utilità in alcuni scenari, specialmente nei bambini.

BIBLIOGRAFIA

- (1) Dominguez A, Gaspar HA. *Point-of-care lung ultrasound in paediatric critical and emergency care*. J Paediatr Child Health 2018; 54(9): 945-952.
- (2) Lichtenstein DA. *Lung ultrasound in the critically ill*. Curr Opin Crit Care 2014; 20: 315-22.
- (3) Lichtenstein D, Mezière G, Biderman P, et al. *The comet-tail artifact: An ultrasound sign ruling out pneumothorax*. Intensive Care Med 1999; 25: 383-8.
- (4) Volpicelli G, Elbarbary M, Blaivas M et al. *International evidence-based recommendations for point-of-care lung ultrasound*. Intensive Care Med 2012; 38: 577-91.
- (5) O'Brien AJ, Brady RM. *Point-of-care ultrasound in paediatric emergency medicine*. J Paediatr Child Health 2016; 52: 174-80.
- (6) Volpicelli G, Cardinale L, Garofalo G, et al. *Usefulness of lung ultrasound in the bedside distinction between pulmonary edema and exacerbation of COPD*. Emerg Radiol 2008; 15: 145-51.
- (7) Xirouchaki N, Magkanas E, Vaporidi K et al. *Lung ultrasound in critically ill patients: Comparison with bedside chest radiography*. Intensive Care Med 2011; 37: 1488-93.
- (8) Arbelot C, Ferrari F, Bouhemad B, et al. *Lung ultrasound in acute respiratory distress syndrome and acute lung injury*. Curr Opin Crit Care 2008; 14: 70-4.
- (9) Caiulo VA, Gargani L, Caiulo S et al. *Lung ultrasound in bronchiolitis: Comparison with chest X-ray*. Eur J Pediatr 2011; 170: 1427-33.
- (10) Basile V, di Mauro A, Scalini E et al. *Lung ultrasound: A useful tool in diagnosis and management of bronchiolitis*. BMC Pediatr 2015; 15:63.
- (11) Biagi C, Pierantoni L et al. *Lung ultrasound for the diagnosis of pneumonia in children with acute bronchiolitis*. BMC Pulm Med 2018; 18(1):191.

- (12) Pereda MA, Chavez MA, Hooper-Miele CC et al. *Lung ultrasound for the diagnosis of pneumonia in children: A meta-analysis*. Pediatrics 2015; 135: 714-22.
- (13) Yilmaz HL, Özkaya AK, Sarı Gökay S, et al. *Point-of-care lung ultrasound in children with community acquired pneumonia*. Am J Emerg Med 2017; 35: 964-9.
- (14) Hu QJ, Shen YC, Jia LQ et al. *Diagnostic performance of lung ultrasound in the diagnosis of pneumonia: A bivariate meta-analysis*. Int J Clin Exp Med 2014; 7: 115-21.
- (15) Iuri D, de Candia A, Bazzocchi M. *Evaluation of the lung in children with suspected pneumonia: Usefulness of ultrasonography*. Radiol Med 2009; 114: 321-30.
- (16) Lichtenstein DA, Lascols N, Prin S, et al. *The "lung pulse": An early ultrasound sign of complete atelectasis*. Intensive Care Med 2003; 29: 2187-92.
- (17) Ullmann N, D'Andrea ML et al. *Lung ultrasound: A useful additional tool in clinician's hands to identify pulmonary atelectasis in children with neuromuscular disease*. Pediatr Pulmonol 2020; 55(6): 1490-1494.
- (18) Urbankowska E, Urbankowski T, et al. *Lung ultrasound-a new diagnostic modality in persistent tachypnea of infancy*. Pediatr Pulmonol 2020; 55(4): 1028-1036.
- (19) Brierley J, Carcillo JA, Choong K et al. *Clinical practice parameters for hemodynamic support of pediatric and neonatal septic shock: 2007 update from the American College of Critical Care Medicine*. Crit Care Med 2009; 37: 666-88.
- (20) Soldati G, Copetti R. *Ecografia Toracica*. Seconda Edizione. Edizioni Medico-Scientifiche 2019: 152.
- (21) Price S, Platz E, Cullen L et al. *Expert consensus document: Echocardiography and lung ultrasonography for the assessment and management of acute heart failure*. Nat Rev Cardiol 2017; 14: 427-40.
- (22) Lagier D, Fischer F, Fornier W, et al. *PROVECS investigators. A perioperative surgeon - controlled open - lung approach versus conventional protective ventilation with low positive end - expiratory pressure in cardiac surgery with cardiopulmonary bypass (PROVECS): study protocol for a randomized controlled trial*. Trials 2018; 19(1): 624.
- (23) Sun L, Wu L, et al. *Lung ultrasound evaluation of incremental PEEP recruitment maneuver in children undergoing cardiac surgery*. Pediatr Pulmonol 2020; 55(5): 1273-1281.

Broncomalacia e Tracheomalacia

Bronchomalacia and Tracheomalacia

Ambra Nicolai¹, Fabio Midulla²

¹DAI Medicina Interna, Scienze Endocrino Metaboliche e Malattie Infettive – AOU Policlinico Umberto I Roma - Sapienza Università di Roma

²Dipartimento Materno Infantile e Scienze Urologiche – AOU Policlinico Umberto I Roma - Sapienza Università di Roma

Corrispondenza: Fabio Midulla **e-mail:** midulla@uniroma1.it

Riassunto: La broncomalacia e la tracheomalacia sono anomalie delle grandi vie respiratorie e possono essere associate ad un'ampia varietà di condizioni congenite e acquisite. I sintomi clinici includono lo stridore ad esordio precoce, la presenza di un sibilo fisso alla auscultazione del torace, le infezioni ricorrenti, la tosse metallica e la dispnea improvvisa con asfissia, a seconda del sito e della gravità della lesione. Il *gold standard* per la diagnosi rimane la broncoscopia flessibile in un bambino che respira autonomamente, ma può anche essere identificata con tecniche di *imaging* dinamiche come la broncografia volumetrica, la tomografia computerizzata o la risonanza magnetica. I test di funzionalità polmonare possono fornire prove di supporto, ma non sono considerati diagnostici. La gestione può essere medica o chirurgica, a seconda della natura e della gravità. Il trattamento farmacologico con broncodilatatori, agenti anti-muscarinici, mucolitici e antibiotici è supportato da scarse evidenze sul loro beneficio; anche la fisioterapia respiratoria è comunemente prescritta, soprattutto finalizzata alla clearance delle secrezioni. In caso di sintomatologia grave le migliori opzioni terapeutiche risultano essere quelle chirurgiche: l'aortopessia, la tracheopessia o il posizionamento di stent interni. Nei casi in cui si manifesti la necessità di un supporto respiratorio, la modalità più comunemente usata è la CPAP con maschera facciale o tramite tracheostomia nei pazienti che necessitano di ventilazione per molte ore al giorno.

Parole chiave: tracheomalacia, broncomalacia, bambini, sindromi congenite.

Summary: Bronchomalacia and tracheomalacia are abnormalities of the large respiratory tract and can be associated with many congenital and acquired conditions. Clinical signs include early-onset stridor, fixed wheezing, recurrent infections, metal cough and respiratory distress with asphyxia in more severe cases. The gold standard for the diagnosis is the flexible bronchoscopy in children who breathe autonomously, but can also be identified with dynamic imaging techniques such as volumetric bronchography, computed tomography or magnetic resonance imaging. Lung function tests may provide supportive evidence but are not considered diagnostic. Management can be medical or surgical, depending on the nature and clinical severity. Pharmacological treatment with bronchodilators, anti-muscarinic agents, mucolytic and antibiotics is supported by scarce evidence on their benefit; respiratory physiotherapy is also generally prescribed, especially aimed to the clearance of secretions. In case of severe symptoms, the best therapeutic options are surgical: aortopexy, tracheopexy or positioning of internal stents. In cases of need of respiratory support, the most used modality is CPAP with face mask or via tracheostomy in patients who need ventilation for many hours per day.

Keywords: tracheomalacia, bronchomalacia, children, congenital syndrome.

INTRODUZIONE

La tracheomalacia (TM) è una condizione caratterizzata da eccessiva flaccidità della trachea, dovuta a una sproporzionata lassità della parete posteriore (*pars membranacea*) o ad una compromissione dell'integrità della cartilagine. Di conseguenza, le pareti anteriore e posteriore della trachea si avvicinano tra loro durante la respirazione, riducendo l'apertura del lume tracheale. La TM può essere localizzata o generalizzata; se questa condizione coinvolge anche i bronchi prende il nome di tracheobroncomalacia (TBM). Il termine broncomalacia (BM) si utilizza quando l'eccessiva flaccidità è limitata ai bronchi principali e/o alle loro divisioni a livello dei bronchi lobari o segmentari. La BM isolata e la TM extratoracica/cervicale sono relativamente rare (1).

Nell'ultimo *statement* pubblicato dalla *Task Force* dell'*European Respiratory Society* (ERS) la malacia è definita come una riduzione espiratoria arbitraria >50% della sezione trasversale del lume tracheale durante la respirazione tranquilla (1, 2). Sebbene non esista un test diagnostico considerato "gold standard", la broncoscopia flessibile è la modalità più comunemente usata nell'ambito pediatrico. Il grado della TM/TBM può essere valutato con l'endoscopia o radiologicamente.

Inoltre, non esiste una classificazione di gravità globalmente condivisa. Nella pratica clinica, le alterazioni anatomiche sono arbitrariamente descritte come lievi (riduzione del 50-75%), moderate (riduzione del 75-90%) o gravi (>90%) alla visualizzazione broncoscopica (1). Questo sistema descrittivo di classificazione delle TM/TBM non riflette la gravità clinica e non è associata alla morbilità della malattia.

CLASSIFICAZIONE

Non esiste una classificazione universalmente accettata delle TBM in età pediatrica. La Task Force dell'ERS ha descritto la TBM primitiva (o congenita) dovuta a cause intrinseche alla cartilagine delle vie aeree e la TBM secondaria (o acquisita), nella quale la cartilagine è embriologicamente normale, ma si è sviluppata una malformazione durante lo sviluppo embrionale a causa della pressione esterna sulla parete oppure dovuta ad una patologia congenita delle vie respiratorie, come ad esempio la fistola tracheo-esofagea.

La classificazione delle TBM è riassunta nella Tabella 1. La TM congenita rientra nel corredo di molte sindromi rare, come mucopolisaccaridosi, disturbi ereditari del tessuto connettivo ed è descritta in circa il 5% dei bambini con acondroplasia. Alcune condizioni, come la fistola tracheo-esofagea, residuano in brevi tratti di malacia della trachea post operatoria (3).

CLINICA

Il tipo e l'insorgenza dei sintomi dipendono dall'estensione, dal sito e dalla gravità del segmento malacico; i sintomi possono essere persistenti o intermittenti e di gravità variabile (4).

Se la malacia è localizzata al segmento extratoracico della trachea può esserci uno stridore, mentre nel caso di TM del segmento intratoracico, è comune un sibilo espiratorio monofonico. In caso di una sovrapposizione di un'infezione respiratoria, potrebbe essere presente una tosse abbaiante, a lenta risoluzione, un *wheezing* espiratorio o sintomi simili al croup. I pazienti adulti spesso riferiscono una sensazione di incompleta e difficile espirazione (3).

Nei casi più gravi, lo stridore o il *wheezing* sono persistenti, le infezioni respiratorie sono frequenti e possono verificarsi episodi di difficoltà respiratoria. Il *wheezing* nei bambini con malacia si ausculta generalmente in posizione centrale anteriormente e si presenta acuto e monofonico; si distingue dal *wheezing* diffuso, acuto e polifonico tipico dell'asma. Un'altra caratteristica del *wheezing* dei pazienti con malacia è che esso rimane invariato o addirittura peggiora dopo inalazione di broncodilatatori. La TM e la BM dovrebbero essere sempre considerate nella diagnosi differenziale nei neonati e nei bambini in età prescolare con "wheezing atipico" (ad esempio bambini che non sono mai completamente privi di sintomi o neonati e lattanti con *wheezing* ricorrente). Tipico è anche il "segno della cornamusa", un sibilo espiratorio che persiste anche dopo la fine della espirazione (5).

Altro segno di una TM può essere lo scarso accrescimento del bambino, dovuto alla ridotta alimentazione e ad episodi di desaturazione che si manifestano durante i pasti a causa della compressione intermittente della trachea durante la progressione del bolo in esofago. Nei casi più gravi potrebbero verificarsi ostruzione delle vie aeree con cianosi, stridore inspiratorio ed espiratorio, apnea e persino arresto cardiaco o morte improvvisa del bambino. La malacia grave è in genere evidente clinicamente sin dalla nascita, ma molti bambini con TM o BM non mostrano alcun sintomo prima dei 2-3 mesi di età (4, 6).

Tab.1: Cause di tracheomalacia (TM), broncomalacia (BM) e tracheobroncomalacia (TBM).

<u>PRIMITIVE O CONGENITE</u>	<u>SECONDARIE O ACQUISITE</u>
<p>Idiopatiche congenite TM/BM idiopatica (probabili fattori genetici)</p> <p>Anomalie cartilaginee congenite Discondroplasia/condromalacia/acondroplasia Sindrome di Ehlers-Danlos Sindrome di Marfan Isomerismo bronchiale sinistro con normale arrangiamento atriale</p> <p>Anomalie congenite del tratto aerodigestivo Fistola tracheoesofagea Atresia esofagea (con o senza <i>cleft</i> laringeo)</p> <p>Anomalie dello sviluppo del tratto respiratorio Prematurità Displasia broncopolmonare</p> <p>Sindromi congenite associate con TBM Mucopolisaccaridosi (S. Hurler, S. Hunter) Sindrome CHARGE Anomalia VATER Trisomia 9 Trisomia 21 Sindrome Cri du chat Sindrome di Smith Sindrome Opitz Sindrome Goldenhaar Sindrome di Cotello Neurofibromatosi Sindrome di Allagille Artrogriposi Atelosteogenesi tipo 1 Sindrome Antley-Bixler; delezione 11p13; delezione 16p13.3; delezione 22q11 Traslocazione 18-22 Trisomia parziale dei bracci lunghi cromosomi 11 e 22 Sindrome Hallermann-Streiff Sindrome Pfeiffer Sindrome Blackfan-Diamond Sindrome Williams-Campbell Displasia Kniest Nanismo diastrofico Sindrome di DiGeorge Delezione 12q Sindrome Larsen e Sindromi Larsen-like Sindrome di Fryn Sindrome Brachmann-de Lange Displasia campomelica Displasia De la Chapelle Sindrome di Pierre-Robin Sindrome di Crouzon Sindrome di Noonan Sindrome Chitayat Displasia congenita spondiloepifisiale Disostosi spondilocostale Malattia di Pompe ad esordio tardivo Sindrome Loays-Dietz Mutazione della Filamina A Osteogenesi Imperfetta Sindrome cardiofaciocutanea</p>	<p>Anomalie cardiovascolari associate con TM/BM Doppio arco aortico Origine anomala dell'arteria innominata sinistra (arteria brachiocefalica) <i>Sling</i> polmonare (anomalia di origine dell'arteria polmonare di sinistra dalla destra) Arco aortico destroposto Arteria succlavia destra aberrante Ipertrofia atriale sinistra Ingrandimento atriale sinistro Tetralogia di Fallot con agenesia della valvola polmonare <i>Shunt</i> sinistro-destro (iperplasia arterie polmonari) Ipertensione polmonare arteriosa grave Cardiomiopatia dilatativa</p> <p>Anomalie scheletriche associate con TM/BM Scoliosi Pectus excavatum</p> <p>Infezioni e processi infiammatori associati con TM/TBM Tracheobronchite grave Bronchite batterica protratta Fibrosi cistica, discinesia ciliare primitiva, altre cause di bronchiectasie Sindrome di Stevens-Johnson Policondrite ricorrente</p> <p>Lesioni tracheobronchiali associate con TM/TBM Lesione da ingestione di batteria a bottone Ritardata rimozione di corpo estraneo inalato Traumi</p> <p>Procedure mediche e chirurgiche associate con TM/TBM Intubazione prolungata Tracheostomia Riparazione di fistola tracheoesofagea Ricostruzione laringotracheale Tracheoplastica Trapianto cardiaco Inserzione fetale di palloncino per ernia diaframmatica congenita</p> <p>Tumori e cisti associate con TM/TBM Tumore tracheale primitivo Teratoma Timoma Gozzo Malformazioni linfatiche Linfoma Neuroblastoma Emangioma Cisti broncogena Cisti enterogena Igroma cistico</p>

I sintomi più frequentemente descritti sono la tosse, riscontrata in circa l'80% dei casi e può presentare differenti caratteristiche (notturna, produttiva, indotta dall'attività fisica e abbaiente); le infezioni ricorrenti delle basse vie aeree spesso associate a distress respiratorio (60% dei casi); *wheezing* ricorrente (50%); ridotta tolleranza all'esercizio fisico (35%); sintomi di reflusso gastroesofageo (25%); rientramenti sternali e stridore (10-20%) (1).

Nei bambini con TM/BM, sia la chiusura delle vie aeree durante la tosse, che la tosse inefficace possono causare una compromissione della clearance mucociliare con ristagno di muco e con conseguenti infezioni respiratorie ricorrenti e/o prolungate (4). I sintomi possono essere aggravati da qualunque condizione che richieda un aumento dello sforzo respiratorio (esercizio fisico, tosse, pianto, alimentazione, manovra di Valsalva, espirazione forzata e il decubito in posizione supina). Tutte queste attività causano un aumento della pressione intratoracica che peggiora il collasso delle vie aeree. Posizionare il bambino in posizione prona può facilitare la riapertura delle vie respiratorie, alleviando così i sintomi (3-5).

Nella Tabella 2 sono riassunti i sintomi ed i segni clinici della TM e della BM.

Tab.2: Segni e sintomi pediatrici comuni di tracheomalacia/broncomalacia.

Tosse abbaiante
Stridore
<i>Wheezing</i>
Respiro rumoroso
Infezioni respiratorie ricorrenti o prolungate
Difficoltà alimentazione
Dispnea
Ritardo di crescita

STORIA NATURALE

Nei pazienti con TM/BM primitive non correlate a sindromi genetiche, i sintomi possono risolversi. L'ingrandimento del diametro tracheale e l'aumento della rigidità delle cartilagini di supporto, che assumono con la crescita una forma a "C" più pronunciata spesso portano alla risoluzione dei sintomi nei primi 2 anni di vita, mentre in alcuni casi l'intolleranza all'esercizio ed il *wheezing* ad esso correlato possono persistere fino alla tarda infanzia (3, 4).

RUOLO DEI TEST DI FUNZIONALITÀ RESPIRATORIA

Diversi test di funzionalità respiratoria vengono utilizzati per diagnosticare e valutare la presenza di una TM: la spirometria, il test da sforzo cardiopolmonare, la capacità funzionale residua, il picco di flusso espiratorio, il massimo flusso espiratorio, il flusso espiratorio a volume corrente, le resistenze delle vie aeree, la curva flusso-volume e l'iperreattività delle vie aeree. Non vengono descritti studi che utilizzano l'oscillometria ed il *wash-out* dell'azoto.

Molti studi hanno mostrato che alcuni bambini con TM/BM presentano un'ostruzione di tipo espiratorio. La sola spirometria non può essere considerata diagnostica per TBM, ma un pattern ostruttivo è suggestivo per la diagnosi. Un plateau sia della porzione espiratoria che di quella inspiratoria della curva flusso-volume è suggestivo per un'ostruzione fissa a meno che non sia presente una TM sia intra che extratoracica (7).

Nel test da sforzo, la limitazione al flusso non si è dimostrata né specifica, né sensibile per la diagnosi di malacia, ma la limitazione al flusso a volume corrente ha mostrato un alto valore predittivo e una specificità prossima al 100% (1). Non è stato però dimostrato alcun effetto dei farmaci inalatori β -2 agonisti alla spirometria (7).

I test di funzionalità respiratoria possono quindi presentarsi normali o patologici nei bambini con TBM e non è stato ancora ben definito quale sia il miglior test da utilizzare per la diagnosi di TBM.

RUOLO DEGLI ESAMI RADIOLOGICI

Radiografia del torace

La radiografia del torace non si è dimostrata uno strumento utile alla diagnosi di TBM (8).

Fluoroscopia

La fluoroscopia consiste in uno studio radiologico dinamico e rapido, non invasivo, con una esposizione minima alle radiazioni e non necessita di sedazione. Questo esame viene eseguito in posizione laterale, mentre il paziente respira tranquillamente; presenta bassa sensibilità (20-25%), ma specificità molto alta (95-100%) (4). La fluoroscopia può essere combinata con lo studio con bario per escludere una compressione estrinseca.

Tomografia computerizzata multistrato (MSCT)

La MSCT può essere eseguita nei bambini di ogni età, ma in quelli con età < 5 anni generalmente è richiesta la sedazione, l'intubazione e la ventilazione controllata, che può però distorcere e modificare la dinamica tracheale (2).

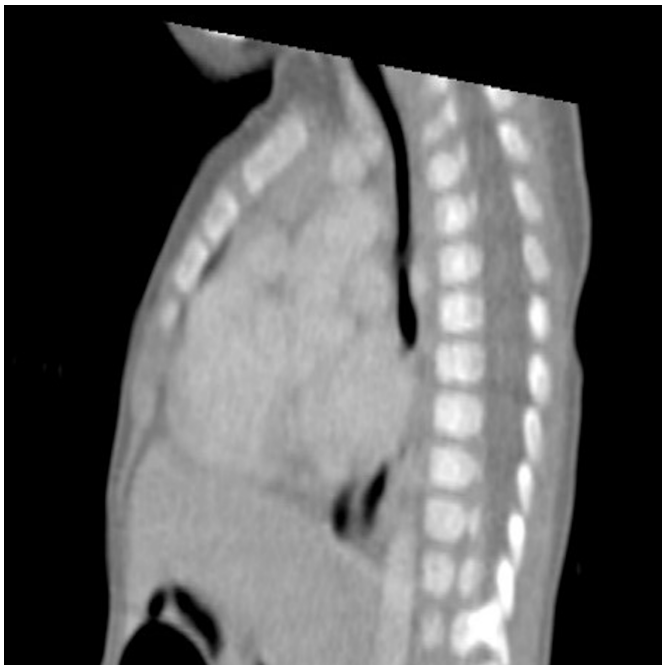


Fig. 1: TC di bambino con tracheomalacia.

In casi selezionati, quando si sospetta una stenosi tracheale al di sopra dell'ingresso toracico, può essere utilizzata la maschera facciale invece dell'intubazione.

Si deve utilizzare il mezzo di contrasto quando si sospettano cause di compressione estrinseca, quali anomalie vascolari o masse mediastiniche. La MSCT ha dimostrato una concordanza del 91% con la laringo-broncoscopia (2).

La MSCT è una tecnica rapida, poco invasiva, che consente simultaneamente la valutazione di eventuali patologie mediastiniche, vascolari e polmonari, nonché la visualizzazione delle vie aeree distalmente all'ostruzione (9). Il principale svantaggio è l'esposizione alle radiazioni, che può essere parzialmente superato utilizzando delle tecniche a dose ridotta nelle scansioni espiratorie (Figura 1).

Broncoscopia virtuale

La broncoscopia virtuale non si è dimostrata molto sensibile (< 75%) nel rilevamento della TM (10, 11).

Risonanza magnetica dinamica (MRI)

In letteratura non sono descritti molti studi di MRI nella diagnosi di TBM pediatrica. Il principale vantaggio della MRI è la mancata esposizione alle radiazioni, ma è un esame di lunga durata (45-60 minuti). Inoltre, la MRI offre un'eccellente visualizzazione ad alta risoluzione dei tessuti molli, che permette l'identificazione di strutture vascolari e mediastiniche senza necessariamente la necessità di contrasto. Un altro importante vantaggio della risonanza magnetica, rispetto alla broncoscopia, è quello di poter valutare le vie aeree dei bambini (soprattutto di età > 8 anni) durante le manovre di respirazione statica e dinamica (espirazione forzata, tosse) senza necessità di sedazione o anestesia generale, che come precedentemente descritto per la MSCT potrebbero mascherare la TBM. Per i bambini più piccoli la sedazione e/o anestesia generale è necessaria (12).

Tracheobroncografia

La tracheobroncografia eseguita con basse dosi di un mezzo di contrasto non ionizzato solubile in acqua si è dimostrata sicura e utile nella valutazione della TBM vista la sua elevata risoluzione spaziale e temporale (13).

RUOLO DELLA BRONCOSCOPIA

La broncoscopia flessibile in un bambino che respira spontaneamente rimane il *gold standard* per la diagnosi di TM e BM. Anche la broncoscopia rigida può avere un ruolo, ma non è utile quanto la broncoscopia flessibile nella valutazione della dinamica delle vie aeree. Tuttavia, anche la broncoscopia flessibile presenta delle limitazioni: in primo luogo, il broncoscopio occlude una parte significativa delle vie aeree e può determinare un aumento della pressione nelle vie aeree, riducendo le possibilità di rilevare la malacia. In secondo luogo, anche per i broncoscopisti più esperti, la valutazione dei cambiamenti del lume tracheale o bronchiale può essere soggettiva (4, 5, 14). Durante la broncoscopia la trachea viene divisa in 3 regioni arbitrarie per descrivere il luogo e l'estensione della TM: dalla cartilagine cricoide all'ingresso nel torace, dall'ingresso nel torace alla porzione media della trachea intra-toracica ed infine da questo punto fino alla carena. Alcuni esempi di BM e TM sono rappresentati nella Figura 2.

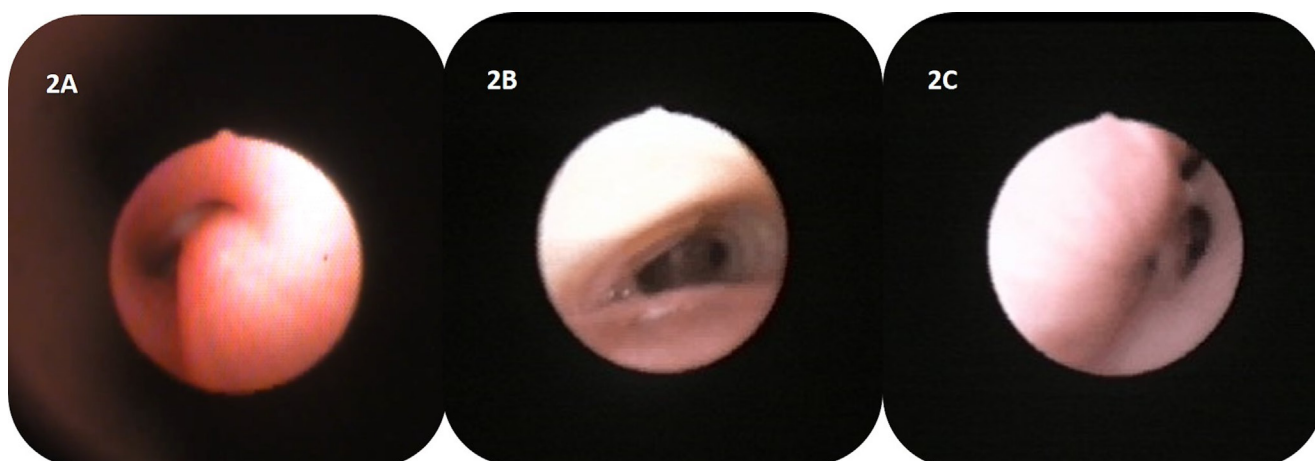


Fig. 1: A. Tracheomalacia per protrusione della *par membranacea*. B. Tracheomalacia secondaria a riparazione chirurgica di una fistola tracheo-esofagea. C. Tracheomalacia del bronco principale sinistro in un bambino con enfisema lobare congenito.

TERAPIA MEDICA

β -2 agonisti ed ipratropio bromuro

La malacia causa frequentemente *wheezing* non responsivo alla terapia con broncodilatatori; ciò è verosimilmente dovuto al fatto che i broncodilatatori, riducendo il tono della muscolatura liscia delle vie aeree possano peggiorare l'ostruzione delle vie aeree. Diversi studi hanno dimostrato che in bambini di età scolare con TM isolata, l'ostruzione delle vie aeree (ridotti PEF e FEV₁) non migliorava dopo broncodilatazione.

Per quanto riguarda l'ipratropio bromuro alcuni studi hanno mostrato un miglioramento dei sintomi sebbene non sia completamente chiaro se il miglioramento possa essere correlato al suo effetto sulle secrezioni e/o sul tono delle vie aeree (1).

Agenti mucoattivi

L'utilizzo della desossiribonucleasi umana ricombinante (rhDNase) nebulizzata non si è dimostrato efficace nel recupero della funzione né nella riduzione dell'utilizzo degli antibiotici nei bambini con TM ed infezioni ricorrenti del tratto respiratorio. La soluzione salina ipertonica può favorire la *clearance* delle secrezioni mucose (4).

Terapia antibiotica

La relazione tra TBM e bronchite batterica protratta (PBB) non è ancora del tutto chiara (15). Il collasso ricorrente delle pareti della trachea provoca vibrazioni ricorrenti ed irritazione delle vie aeree con conseguente riduzione della clearance mucociliare (MCC) poiché le vie aeree compresse impediscono la clearance delle secrezioni favorendo così un'infezione distale. Trattamenti antibiotici della durata ≥ 2 settimane si sono dimostrati efficaci nella risoluzione dei sintomi anche se si sono riscontrate frequenti successive riesacerbazioni (15). L'azitromicina in profilassi è l'antibiotico più utilizzato in queste circostanze.

MISURE PREVENTIVE

Molto importante è la gestione delle comorbidità, come ad esempio il reflusso gastroesofageo, presente in circa il 70% dei bambini con TM, ma non è stata dimostrata alcuna correlazione causale tra le due entità. Inoltre, per tutti i bambini con TBM dovrebbero essere seguite le comuni pratiche di assistenza respiratoria quali vaccinazione antinfluenzale, vaccinazioni di legge, abitazioni calde e asciutte, esercizio fisico ed allontanamento dal fumo passivo (1).

RUOLO DELLA FISIOTERAPIA RESPIRATORIA

La fisioterapia respiratoria è comunemente usata nel trattamento di bambini con TM/BM, con l'obiettivo di migliorare la *clearance* mucociliare.

Le tecniche di *clearance* delle vie aeree più utilizzate sono la pressione espiratoria positiva (PEP), la pressione espiratoria positiva continua (CPAP), che, usata più frequentemente nei lattanti, aumenta il flusso espiratorio massimo aumentando la capacità funzionale residua. Alcuni studi presenti in letteratura, riportano che valori PEP di 5-10 cm H₂O aumentano il picco di flusso espiratorio e stimolano la tosse nei bambini con TBM. Non è ancora chiaro se l'utilizzo di questi dispositivi abbia un impatto positivo sulla riduzione delle infezioni respiratorie del tratto respiratorio inferiore, ma in nessun caso devono essere eseguite con la somministrazione di farmaci mucolitici (1).

TRATTAMENTO CHIRURGICO

Nei casi di TBM grave, con frequenti episodi di cianosi, difficoltà nell'alimentazione e polmoniti ricorrenti, potrebbe essere necessario il ricorso ad un intervento chirurgico.

Le opzioni chirurgiche ed endoscopiche includono: tracheostomia, aortopessia, tracheopessia, resezione tracheale, posizionamento di stent interni (4). La broncoscopia flessibile intraoperatoria può risultare utile nel guidare il chirurgo durante alcune di queste procedure (6).

Tracheostomia

Questa tecnica era alla base del trattamento chirurgico in passato, ma oggi viene utilizzata come ultima risorsa (4). Il tubo per tracheostomia funge da *stenting* interno delle vie aeree e consente la possibilità di una ventilazione meccanica a lungo termine, se necessario.

Aortopessia e tracheopessia

La principale indicazione all'aortopessia anteriore è la presenza di TM secondaria a una fistola tracheoesofagea congenita (4). L'aorta viene spostata anteriormente al fine di alleviare la pressione sulla trachea. Questo intervento non agisce direttamente sulla malacia ma crea spazio attorno alla trachea mediastinica in modo che l'aorta, anteriormente e l'esofago, posteriormente, non comprimano le vie aeree (6). L'efficacia complessiva dell'aortopessia per TM è superiore all'80%.

Nella tracheopessia la membrana tracheale posteriore viene suturata al legamento longitudinale anteriore della colonna vertebrale attraverso una toracotomia posteriore destra (16).

Resezione tracheale

La resezione tracheale è una tecnica utilizzata solo in pazienti altamente selezionati con brevi segmenti di TM, nei casi in cui altre tecniche chirurgiche o endoscopiche abbiano fallito.

Posizionamento di stent interni

Il posizionamento di stent interni è una tecnica interessante, ma che risente di alcuni problemi pratici nella pratica pediatrica (17). L'inserimento dello stent è di solito seguito da un immediato miglioramento delle condizioni cliniche e della sintomatologia, sebbene si tratti di una soluzione spesso transitoria.

Gli stent metallici con palloncino espandibile possono essere difficili da rimuovere dopo essere stati in situ per più di qualche settimana e possono rompersi o in rari casi causare erosione vascolare. Questa tipologia di stent ha il vantaggio di poter essere dilatati man mano che il bambino cresce (18).

Gli stent metallici auto-espandibili non rivestiti hanno meno probabilità di rompersi o causare erosione vascolare, ma non possono essere dilatati e sono molto difficili da rimuovere; gli stent auto-espandibili rivestiti, al contrario, sono facilmente rimovibili.

In tempi recenti, è stato descritto l'utilizzo di stent bioassorbibili per le vie respiratorie in casi selezionati di bambini con TM (18). L'uso degli stent assorbibili favorisce il ripristino della pervietà e migliora lo stato clinico (ad esempio rendendo il paziente indipendente dalla ventilazione invasiva) prima di tentare un intervento chirurgico o il posizionamento di uno stent permanente; favorisce inoltre la stabilizzazione delle vie aeree per consentire la risoluzione spontanea della malacia (17, 18).

Complicanze del posizionamento degli stent comprendono l'ostruzione a causa di tappi di muco, tessuto di granulazione o iperplasia della mucosa alle estremità dello stent. Il tessuto di granulazione si gestisce con trattamento con laser broncoscopici o rimozione endoscopica (19, 20). Complicanze più gravi, possono essere emorragie delle vie aeree e polmonite, ma non sono eventi comuni quando lo stent è utilizzato appropriatamente.

SUPPORTO VENTILATORIO

Per quanto concerne il supporto ventilatorio nella TBM in età pediatrica bisogna considerare un razionale fisiopatologico: la deformità dinamica delle vie aeree risulta in flussi aerei di velocità e tempo variabili, pertanto le pressioni di supporto fornite devono superare queste forze intrinseche e al contempo garantire un sufficiente flusso espiratorio a valle per garantire stabilità respiratoria.

La TBM può essere trattata con tutte le tipologie di ventilazione non invasiva quali CPAP, *Bilevel airway pressure* (BiPAP), dispositivi ad alti flussi (3, 21). La modalità CPAP è la più frequentemente utilizzata, mentre la BiPAP viene utilizzata raramente in quanto non ha dimostrato un vero vantaggio terapeutico, ad eccezione dei pazienti che necessitavano di pressioni molto alte.

Il supporto ventilatorio deve essere considerato, inoltre, in tutti quei pazienti con insufficienza respiratoria acuta o cronica ricorrente associati a disturbi respiratori del sonno.

La ventilazione tramite tracheostomia è riservata ai casi più gravi in cui altri approcci hanno fallito o laddove è richiesto il supporto della pressione per la maggior parte del giorno (1, 3).

CONCLUSIONI

La TBM rappresenta una condizione clinica, che deve sempre essere sospettata in un bambino con sintomi respiratori cronici. Il *"gold standard"* per la diagnosi rimane la fibrobroncoscopia flessibile, ma è stata dimostrata anche l'utilità di varie tecniche radiologiche come la TC, la RM e la broncografia. Il trattamento medico è fundamentalmente un trattamento di supporto e di prevenzione delle infezioni ricorrenti. Il trattamento chirurgico viene consigliato solo nei casi più gravi.

BIBLIOGRAFIA

- (1) Wallis C, Alexopoulou E, Antón-Pacheco JL, et al. *ERS Statement on Tracheomalacia and Bronchomalacia in Children*. Eur Respir J 2019; 54: 1900382
- (2) Ngercham M, Lee EY, Zurakowski D, et al. *Tracheobronchomalacia in pediatric patients with esophageal atresia: comparison of diagnostic laryngoscopy/bronchoscopy and dynamic airway multidetector computed tomography*. J Pediatr Surg 2015; 50: 402-407.
- (3) Hysinger EB, Panitch HB. *Paediatric Tracheomalacia*. Paediatr Respir Rev 2016; 17: 9-15.
- (4) Fraga JC, Jennings RW, Kim PC. *Pediatric tracheomalacia*. Semin Pediatr Surg 2016; 25: 156-164.
- (5) Snijders D, Barbato A. *An Update on Diagnosis of Tracheomalacia in Children*. Eur J Pediatr Surg 2015; 25: 333-335.
- (6) Maeda K. *Pediatric airway surgery*. Pediatr Surg Int 2017; 33: 435-443.
- (7) Moore P, Smith H, Greer RM, et al. *Pulmonary function and long-term follow-up of children with tracheobronchomalacia*. Pediatr Pulmonol 2012; 47: 700-705.
- (8) Shepard JO, Flores EJ, Abbott GF. *Imaging of the trachea*. Ann Cardiothorac Surg 2018; 7: 197-209.
- (9) Deacon JWF, Widger J, Soma MA. *Paediatric tracheomalacia - A review of clinical features and comparison of diagnostic imaging techniques*. Int J Pediatr Otorhinolaryngol 2017; 98: 75-81.
- (10) Lee S, Im SA, Yoon JS. *Tracheobronchomalacia in infants: the use of non-breath held 3D CT bronchoscopy*. Pediatr Pulmonol 2014; 49: 1028-1035.
- (11) Su SC, Masters IB, Buntain H, et al. *A comparison of virtual bronchoscopy versus flexible bronchoscopy in the diagnosis of tracheobronchomalacia in children*. Pediatr Pulmonol 2017; 52: 480-486.
- (12) Ciet P, Wielopolski P, Manniesing R, et al. *Spirometer-controlled cine magnetic resonance imaging used to diagnose tracheobronchomalacia in paediatric patients*. Eur Respir J 2014; 43: 115-124.
- (13) Manimtim WM, Rivard DC, Sherman AK, et al. *Tracheobronchomalacia diagnosed by tracheobronchography in ventilator-dependent infants*. Pediatr Radiol 2016; 46: 1813-1821.
- (14) Kugler C, Stanzel F. *Tracheomalacia*. Thorac Surg Clin 2014; 24: 51-58.
- (15) Kompare M, Weinberger M. *Protracted bacterial bronchitis in young children: association with airway malacia*. J Pediatr 2012; 160: 88-92.
- (16) Shieh HF, Smithers CJ, Hamilton TE, et al. *Posterior tracheopexy for severe tracheomalacia*. J Pediatr Surg 2017; 52: 951-955.
- (17) Wallis C, McLaren CA. *Tracheobronchial stenting for airway malacia*. Paediatr Respir Rev 2018; 27: 48-59.
- (18) Antón-Pacheco JL, Luna C, García E, et al. *Initial experience with a new biodegradable airway stent in children: Is this the stent we were waiting for?* Pediatr Pulmonol 2016; 51: 607-612.
- (19) Serio P, Nenna R, Di Maurizio M, et al. *Outcome of long-term complications after permanent metallic left bronchial stenting in children*. Eur J Cardiothorac Surg 2018; 53: 610-617.
- (20) Soong WJ, Tsao PC, Lee YS, et al. *Flexible endoscopy for pediatric tracheobronchial metallic stent placement, maintenance and long-term outcomes*. PLoS One 2018; 13: e0192557.
- (21) Vezina K, Laberge S, Nguyen TTD. *Home high-flow nasal cannula as a treatment for severe tracheomalacia: A pediatric case report*. Pediatr Pulmonol 2017; 52: E43-e45.

Utilizzo *off-label* dei farmaci nelle patologie respiratorie del bambino

Off-label use in paediatric respiratory disease

Gabriella di Mauro, Annalisa Capuano

Dipartimento di Medicina Sperimentale - Università degli Studi della Campania "Luigi Vanvitelli"

Corrispondenza: Annalisa Capuano **e-mail:** annalisa.capuano@unicampania.it

Riassunto: Per uso *off-label* si intende la prescrizione di un farmaco non in linea con quanto autorizzato dalle Agenzie regolatorie in riferimento a indicazione terapeutica, età, dosaggio utilizzato e modalità di somministrazione. La popolazione pediatrica risulta essere particolarmente esposta all'utilizzo dei farmaci in *off-label*, in quanto, nonostante i continui progressi nella ricerca clinica, ancora oggi la conduzione di *trial* clinici condotti specificamente nella fascia di età pediatrica è ancora limitata. In tale fascia di età le patologie a carico dell'apparato respiratorio hanno un tasso di incidenza molto elevato, pertanto molti farmaci utilizzate per trattarle possono essere prescritti in *off-label*. Le classi di farmaci maggiormente coinvolte sono i broncodilatatori, gli antistaminici e i glucocorticoidi. La somministrazione di un farmaco in *off-label* può esporre il paziente pediatrico ad un rischio maggiore di eventi avversi; pertanto, al fine di promuovere maggiore appropriatezza prescrittiva, andrebbero condotti ulteriori studi volti ad analizzare i profili di sicurezza di queste molecole anche nella popolazione pediatrica.

Parole chiave: *off-label*, patologie respiratorie, reazioni avverse a farmaco, sicurezza.

Summary: The *off-label* use is defined as a prescription or administration of a medicine outside any of the terms of the marketing authorization, including those related to therapeutic indication, age, dosage and route of administration. The pediatric population is particularly exposed to the *off-label* use because few clinical trials are specifically carried out in this age group. Since respiratory diseases show higher incidence rate in children, many drugs used to treat them can be prescribed as *off-label*. In this context, the classes of drugs most commonly involved are represented by bronchodilators, antihistamines and glucocorticoids. However, the administration of an *off-label* drug may expose the pediatric patient to an increased risk of adverse events. Therefore, more studies are needed to better understand the safety profile of these drugs in this frail population.

Keywords: *off-label*, respiratory disease, adverse drug reactions, safety.

INTRODUZIONE

Cosa si intende per uso off-label e quali effetti sulla popolazione pediatrica

Quando si parla di uso "*off-label*" si fa riferimento all'utilizzo di un farmaco nella pratica clinica in modo non conforme a quanto previsto dal Riassunto delle Caratteristiche del Prodotto (RCP). Si tratta, pertanto, di una prescrizione non in linea con quanto autorizzato dalle Agenzie regolatorie in riferimento a indicazione terapeutica, età, dosaggio utilizzato e modalità di somministrazione. Il ricorso a tale pratica è disciplinato da leggi specifiche ed è consentito nel caso in cui il medico curante, sulla base delle evidenze documentate in letteratura e in mancanza di alternative terapeutiche valide, ritenga necessario somministrare un medicinale al di fuori delle indicazioni d'uso autorizzate.

Da sempre la prescrizione *off-label* ha posto delle importanti questioni di ordine etico; infatti, se da un lato questa potrebbe rappresentare una preziosa opportunità per migliorare significativamente la conoscenza e la terapia di alcune patologie, dall'altro potrebbe esporre il paziente a rischi potenziali, dovuti alle scarse conoscenze in termini sia di efficacia che di sicurezza (1).

La popolazione pediatrica risulta essere particolarmente esposta a tale utilizzo, in quanto, nonostante i continui progressi nella ricerca clinica, la quantità di farmaci autorizzati specificamente per tale fascia di età risulta essere ancora limitata. Infatti, ancora oggi per motivi etici ed economici difficilmente vengono condotti studi clinici randomizzati e controllati nei

bambini; tale condizione comporta un'insufficienza di dati in termini di efficacia e, soprattutto, di sicurezza di numerosi medicinali utilizzati nei bambini. Non essendo disponibili in molte aree terapeutiche farmaci specificamente approvati per l'età pediatrica, solitamente i farmaci autorizzati per gli adulti vengono somministrati ai bambini a dosaggi più bassi, senza considerare adeguatamente le differenze fisiologiche dell'organismo in fase di sviluppo che incidono notevolmente sulla risposta al farmaco. Il bambino, infatti, è un organismo caratterizzato da uno sviluppo fisiologico e dinamico che spiega la differente cinetica dei farmaci rispetto alla popolazione adulta con conseguenze sia in termini di efficacia che di tollerabilità; ad esempio, nel paziente pediatrico, rispetto all'adulto, si possono osservare differenze nelle funzioni digestive, con conseguente variabilità nell'assorbimento dei farmaci e riduzione della capacità metabolica che varia al variare dell'età (2). L'eterogeneità in termini di sviluppo fisiologico della popolazione pediatrica spiega anche perché la dose terapeutica di un farmaco varia tra le diverse fasce di età e perché il "sottodosaggio", ampiamente diffuso in questa fascia di popolazione, può portare al fallimento terapeutico. Ne sono un esempio alcune penicilline e cefalosporine per le quali è necessario incrementare il dosaggio rispetto a quello autorizzato negli adulti, per ottenere nel bambino lo stesso effetto terapeutico (3, 4). Al fine di agevolare lo sviluppo e l'accessibilità di farmaci specificamente studiati per la popolazione pediatrica e garantire un'autorizzazione specifica per i medicinali destinati all'uso nei bambini, nel 2007 è stato introdotto il Regolamento Europeo relativo ai medicinali ad uso pediatrico (*Regulation EC No 1901/2006*) che prevede la conduzione di un Piano di Investigazione Pediatrica (PIP). I PIP, consultabili sul sito dell'Agenzia Europea dei Medicinali (EMA), devono includere dettagli sul calendario e sulle misure proposte per dimostrare la qualità, la sicurezza e l'efficacia del medicinale per la popolazione pediatrica a cui è indirizzato e per la patologia a cui è destinato (5). Pertanto, l'EMA ha stilato una lista di farmaci ritenuti essenziali per la popolazione pediatrica da aggiornare periodicamente.

Considerata l'ampia diffusione dell'uso *off-label* in età pediatrica, in Italia dal 2010 il Gruppo di Lavoro Pediatrico dell'Agenzia Italiana del Farmaco (AIFA), ai sensi della Legge 648/1996, ha redatto una lista di farmaci il cui uso *off-label* nella popolazione pediatrica è considerato consolidato e supportato da evidenze scientifiche. Tale lista viene periodicamente aggiornata e i vari principi attivi resteranno nell'elenco fino al permanere delle esigenze che ne hanno determinato l'inserimento o fino a nuovo provvedimento dell'AIFA. Inoltre, con l'intento di promuovere studi clinici in ambito pediatrico, nel 2014 la stessa AIFA ha realizzato una campagna di comunicazione sull'impiego dei farmaci in età pediatrica per favorire la diffusione di informazioni corrette e orientare le scelte prescrittive. Dal punto di vista legale, per i medici vige il dovere di informare entrambi i genitori o il legale rappresentante relativamente all'utilizzo *off-label* del farmaco nel bambino, e di raccogliergli il consenso, ove non esista un'altra valida alternativa terapeutica. Durante l'intero trattamento farmacologico, al fine di valutare la risposta al farmaco, sia in termini di efficacia che di sicurezza, risulta essenziale lo stretto monitoraggio clinico, laboratoristico e, eventualmente, strumentale del paziente pediatrico che utilizza il farmaco in *off-label*. In aggiunta, è strettamente necessario monitorare i potenziali eventi avversi che potrebbero insorgere nel bambino durante il trattamento. I bambini, infatti, presentano un rischio maggiore di sviluppare reazioni avverse al farmaco (ADR) rispetto alla popolazione adulta (6) e tale rischio diventa ancora più elevato quando il farmaco è somministrato in *off-label*. Uno studio condotto su un database danese al fine di valutare gli eventi avversi derivanti dall'uso del farmaco non conforme a quanto autorizzato in età pediatrica ha dimostrato che un quinto di tutte le ADR riportate, di cui la maggior parte gravi, era riferito a farmaci prescritti in *off-label* (7).

In tale contesto, risulta particolarmente importante l'attività di monitoraggio e segnalazione alle Autorità competenti dei potenziali eventi avversi che potrebbero insorgere in seguito al trattamento *off-label*, al fine di produrre informazioni importanti relativamente al profilo di tollerabilità del farmaco. La nuova normativa europea di Farmacovigilanza (Regolamento UE 1235/2010 e Direttiva 2010/84/UE), la cui applicazione è divenuta operativa in Italia dal 2 lu-

glio 2012, definisce un evento avverso come un “effetto nocivo e non voluto conseguente all’uso di un medicinale”. Con tale definizione le reazioni avverse sono indipendenti dal tipo di uso del medicinale, pertanto oggi sono oggetto di segnalazione anche quelle derivanti da un uso del farmaco non conforme a quanto autorizzato (abuso, misuso o uso improprio, uso *off-label*, sovradosaggio, esposizione professionale ed errore terapeutico).

Uso off-label e patologie respiratorie

Come si evince dall’ultimo Rapporto OsMed pubblicato dall’AIFA relativo all’uso dei farmaci in Italia nell’anno 2018 (8), i farmaci a maggiore consumo in Italia in età pediatrica sono gli antimicrobici per uso sistemico (46,4%), seguiti dai farmaci dell’apparato respiratorio (24,3%), dagli ormoni (8,4%), esclusi quelli sessuali, dai farmaci del tratto gastrointestinale e metabolismo (7,5%) e da quelli del sistema nervoso centrale (7,1%). Dall’analisi dei principi attivi a maggiore consumo nell’anno 2018 è emerso che, tra i primi 30 principi attivi a maggior consumo nella popolazione pediatrica, 11 appartengono alla categoria dei farmaci dell’apparato respiratorio. In termini di distribuzione percentuale dei consumi dei farmaci delle diverse categorie terapeutiche, gli steroidi inalatori risultano essere i farmaci a maggiore prevalenza d’uso in tutte le fasce di età pediatriche con un picco nei bambini di 2-3 anni di età. Nello specifico, il beclometasone risulta essere il principio attivo a maggiore prevalenza d’uso (7%) a cui segue il salbutamolo (6.1%), farmaco appartenente alla classe terapeutica dei broncodilatatori adrenergici a breve durata d’azione (SABA).

Tale scenario suggerisce che le patologie a carico dell’apparato respiratorio hanno un tasso di incidenza molto elevato nella popolazione pediatrica. Le principali patologie sono rappresentate da asma bronchiale, bronchiolite, bronchite e infezioni a carico delle vie aeree (9). Tuttavia, la maggior parte dei farmaci utilizzati per trattare tali patologie sono autorizzati solo per alcune fasce di età; ciò comporta che un’alta percentuale di pazienti pediatrici riceve una prescrizione in *off-label* e, di conseguenza, risulta essere maggiormente esposta ad un rischio di insorgenza di eventi avversi.

Nella letteratura scientifica sono presenti diversi studi volti all’identificazione dell’entità delle prescrizioni *off-label* per il trattamento delle patologie respiratorie nei bambini. In particolare, da uno studio è emerso che tale pratica è ancora ampiamente diffusa e soprattutto nei bambini più piccoli (10). Nello stesso studio è emerso che la maggior parte delle prescrizioni *off-label* avviene per età e/o per indicazione terapeutica. I farmaci maggiormente coinvolti sono i broncodilatatori per via inalatoria, nello specifico i β_2 agonisti a breve durata d’azione (SABA), β_2 agonisti a lunga durata d’azione (LABA), antagonisti muscarinici a breve durata d’azione (SAMA) e antagonisti muscarinici a lunga durata d’azione (LAMA). A questi seguono i farmaci broncodilatatori somministrati per via orale, quali i β_2 agonisti, in monoterapia o in formulazioni combinate. Relativamente ai singoli principi attivi, invece, il salbutamolo è risultato essere il farmaco maggiormente prescritto in *off-label* per il trattamento delle bronchiti acute e delle infezioni del tratto respiratorio superiore. Attualmente, in Italia il salbutamolo è approvato per il trattamento dell’asma bronchiale e della broncopatia ostruttiva con componente asmatica nei pazienti di età superiore ai 2 anni di età (11). Numerosi studi hanno evidenziato negli anni la prescrizione *off-label* associata a salbutamolo in età pediatrica (12-14); nella maggior parte di questi la sospensione pressurizzata per inalazione è stata la formulazione più utilizzata.

Altri farmaci particolarmente esposti al rischio di prescrizione *off-label* nei bambini sono gli antistaminici utilizzati per il trattamento delle patologie respiratorie di natura allergica e i glucocorticoidi, sia per via orale che per inalazione. Relativamente agli antistaminici, la maggior parte di questi è approvata nei bambini a partire dai 6 anni di età, soprattutto quelli di prima generazione. Un’analisi condotta sul database di farmacovigilanza dell’Organizzazione Mondiale della Sanità relativamente alla sicurezza dei farmaci antagonisti del recettore dell’istamina H1 in età pediatrica, ha riscontrato che le prescrizioni in *off-label* ricoprono il 14.7% delle prescrizioni totali associate a questi farmaci (15). Inoltre, nel 36% degli eventi avversi

associati ad un esito fatale, il farmaco sospetto riportato nella scheda di segnalazione è stato somministrato in *off-label* in pazienti pediatrici di età inferiore o pari ai 2 anni. Pertanto, gli Autori dello studio hanno evidenziato la necessità di condurre ulteriori studi volti ad analizzare i profili di sicurezza di queste molecole anche nella popolazione più giovane.

Infine, anche i glucocorticoidi, farmaci ampiamente utilizzati per il trattamento dell'asma bronchiale sia per via orale che per via inalatoria, sono spesso utilizzati nei bambini in *off-label*. In particolare, uno studio condotto in bambini di età compresa tra 0 e 18 anni ha messo in evidenza che budesonide e il beclometasone sono associati ad un'alta percentuale di prescrizioni *off-label* in questa fascia di popolazione (16). Relativamente alle formulazioni dei glucocorticoidi per via nasale, risulta che il mometasone viene spesso somministrato in pazienti di età inferiore ai 2 anni, mentre da scheda tecnica il farmaco è indicato nei bambini a partire dai 3 anni di età (17-18).

CONCLUSIONI

L'utilizzo dei farmaci *off-label* in età pediatrica rappresenta ancora oggi una problematica a livello mondiale; l'esigenza di sensibilizzare la popolazione ad un uso responsabile e consapevole dei farmaci è il principale obiettivo di tutte le Autorità regolatorie a livello internazionale, nonché delle Società scientifiche che sostengono fortemente la necessità di effettuare un maggior numero di *trial* clinici in ambito pediatrico.

I farmaci utilizzati per le patologie respiratorie nei bambini hanno una maggiore prevalenza d'uso rispetto ad altre classi terapeutiche; pertanto, dato che una parte di questi non è approvata per tutte le fasce di età pediatriche, un'alta percentuale di bambini riceve una prescrizione in *off-label* e, di conseguenza, risulta essere maggiormente esposta ad un rischio di insorgenza di eventi avversi. Molti Autori di studi pubblicati nella letteratura scientifica supportano la necessità di condurre ulteriori studi volti ad analizzare i profili di sicurezza di queste molecole anche nella popolazione più giovane.

In tale contesto, la farmacovigilanza rappresenta un valido strumento al fine di ridurre i rischi associati all'utilizzo di farmaci nella popolazione pediatrica e di analizzare dettagliatamente il relativo profilo rischio/beneficio, talvolta ancora poco noto. Pertanto, attraverso i sistemi di segnalazione spontanea, non ancora sufficientemente diffusi in ambito pediatrico, è possibile effettuare un monitoraggio continuo e sistematico del profilo di sicurezza dei farmaci dopo la loro immissione in commercio.

BIBLIOGRAFIA

- (1) Choonara I, Conroy S. *Unlicensed and off-label drug use in children: implications for safety*. Drug Saf 2002; 25: 1-5.
- (2) Batchelor HK, Marriott JF. *Paediatric pharmacokinetics: key considerations*. Br J Clin Pharmacol 2015; 79: 395-404.
- (3) Kearns GL, Abdel-Rahman SM, Alander SW, et al. *Developmental pharmacology – drug disposition, action, and therapy in infants and children*. N Engl J Med 2003; 349: 1157-1167.
- (4) Cella M, Knibbe C, Danhof M, et al. *What is the right dose for children?* Br J Clin Pharmacol. 2010; 70: 597-603.
- (5) *Regulation (EC) No 1901/2006 of the European Parliament and of the Council of 12 December 2006 on medicinal products for paediatric use and amending Regulation (EEC) No 1768/92, Directive 2001/20/EC, Directive 2001/83/EC and Regulation (EC) No 726/2004*
- (6) Pellegrino P, Carnovale C, Cattaneo, et al. *Pharmacovigilance knowledge in family paediatricians. A survey study in Italy*. Health Policy 2013; 113: 216-220.

- (7) Aagaard L, Hansen EH. *Prescribing of medicines in the Danish paediatric population outwith the licensed age group: characteristics of adverse drug reactions*. Br J Clin Pharmacol 2011; 71: 751-757.
- (8) Osservatorio Nazionale sull'impiego dei Medicinali. *L'uso dei farmaci in Italia. Rapporto Nazionale Anno 2018*. Roma: Agenzia Italiana del Farmaco, 2019.
- (9) Cutrera R, Baraldi E, Indinnimeo L, et al. *Management of acute respiratory diseases in the pediatric population: the role of oral corticosteroids*. Ital J Pediatr 2017; 43:31.
- (10) Schmiedl S, Fischer R, Ibáñez L, et al. *Utilisation and off-label prescriptions of respiratory drugs in children*. PLoS One 2014; 9: e105110.
- (11) Agenzia Italiana del Farmaco. *Riassunto delle Caratteristiche del Prodotto (RCP)*. Disponibile al seguente link: https://farmaci.agenziafarmaco.gov.it/aifa/servlet/PdfDownloadServlet?pdfFileName=-footer_000200_022984_RCP.pdf&retry=0&sys=mob113
- (12) Ekins-Daukes S, Helms PJ, Taylor MW, et al. *Off-label prescribing to children: attitudes and experience of general practitioners*. Br J Clin Pharmacol 2005; 60: 145-149.
- (13) Ballard CD, Peterson GM, Thompson AJ, et al. *Off-label use of medicines in paediatric inpatients at an Australian teaching hospital*. J Paediatr Child Health 2013; 49: 38-42.
- (14) Langerová P, Vrtal J, Urbánek K. *Incidence of unlicensed and off-label prescription in children*. Ital J Pediatr 2014; 40: 12.
- (15) Motola D, Donati M, Biagi C, et al. *Safety profile of H1-antihistamines in pediatrics: an analysis based on data from VigiBase*. Pharmacoepidemiol Drug Saf 2017; 26: 1164-1171.
- (16) Sen EF, Verhamme KM, Neubert A, et al. *TEDDY European Network of Excellence. Assessment of pediatric asthma drug use in three European countries; a TEDDY study*. Eur J Pediatr 2011; 170(1): 81-92
- (17) Silva D, Ansotegui I, Morais-Almeida M. *Off-label prescribing for allergic diseases in children*. World Allergy Organ J 2014; 7: 4.
- (18) Agenzia Italiana del Farmaco. *Riassunto delle Caratteristiche del Prodotto (RCP)*. Disponibile al seguente link: https://farmaci.agenziafarmaco.gov.it/aifa/servlet/PdfDownloadServlet?pdfFileName=-footer_001117_033330_RCP.pdf&retry=0&sys=mob113

L'infezione da nuovo Coronavirus in età pediatrica

Novel Coronavirus infection in children

Maria Laura Conelli¹, Riccardo Scotto², Alessia Morlando¹, Maria Cristina Fedele¹, Francesco Nunziata¹, Antonio Riccardo Buonomo², Biagio Pinchera², Andrea Lo Vecchio¹, Ivan Gentile²

¹Dipartimento di Scienze Mediche Traslazionali - Sezione Pediatria, Università degli studi di Napoli Federico II, Napoli

²Dipartimento di Medicina Clinica e Chirurgia - Sezione di Malattie Infettive, Università degli studi di Napoli Federico II, Napoli

Corrispondenza: Andrea Lo Vecchio **e-mail:** andrea.lovecchio@unina.it

Riassunto: SARS-CoV-2 è un Nuovo Coronavirus isolato nella città di Wuhan a dicembre 2019, causa della recente pandemia definita COVID-19. Il virus SARS-CoV-2 si trasmette via *droplets* e per contatto diretto ed indiretto. È stata inoltre descritta la trasmissione materno-fetale con un *transmission rate* del 9%. In Italia, le diagnosi di COVID-19 in soggetti <18 anni sono circa l'1.9% del totale dei casi. Data la frequenza di forme paucisintomatiche in età pediatrica, è verosimile che il bambino possa essere frequente vettore di infezione per soggetti adulti, anche considerando la presenza di *shedding* virale nelle feci dei bambini per diverse settimane dopo la negativizzazione dei campioni nasofaringei. I sintomi più frequenti in età pediatrica sono: tosse (48%), faringite (46%), febbre (41%), diarrea (9%), vomito (9%), febbre (41%); solo nel 2% dei casi è riportata desaturazione. Come gli adulti, i bambini più grandi lamentano disgeusia ed anosmia. Nei casi di polmonite il principale reperto radiologico è caratterizzato da opacità a vetro smerigliato e *halo-sign*, ma l'evoluzione in ARDS è rara. Sono stati riportati casi di vasculite secondaria all'infezione da SARS-CoV-2. Dato il decorso generalmente paucisintomatico, è spesso sufficiente garantire una terapia di supporto. Ad oggi, nessun trattamento farmacologico è stato approvato in età pediatrica e in casi gravi è possibile considerare l'utilizzo *off-label* di farmaci ad attività antivirale utilizzati nell'adulto: idrossiclorochina, azitromicina, lopinavir/ritonavir, remdesivir. L'utilizzo di tocilizumab, inibitore del recettore dell'IL-6, è controverso ma sono in corso dei *trial* clinici approvati da AIFA.

Parole chiave: COVID-19, SARS-CoV-2, polmonite, pediatria.

Summary: SARS-CoV-2 is a Novel Coronavirus initially detected in the city of Wuhan. In Italy, the diagnosis in people under the age of 18 account for 1.9% of the total. In childhood, the clinical picture is generally mild. SARS-CoV-2 is transmitted via droplet and through contact with infected objects. Maternal-fetal transmission was also reported, with a transmission rate of 9%. Given the high rate of asymptomatic forms in the paediatric age, as well as the viral shedding in infants feces for several weeks after nasopharyngeal swab negativity, it is likely that children may frequently be vectors of infection for adult/elderly subjects. The most frequent symptoms in paediatric age are: cough (48.5%), pharyngitis (46.2%), fever (41.5%), diarrhoea (8.8%), vomiting (6.4%); only 2.3% of cases have desaturation. Older children complain, like adults, dysgeusia and anosmia. In children with pneumonia, the main radiological find is characterized by ground-glass opacity with halo-sign. In children ARDS is uncommon. Cases of secondary vasculitis to SARS-CoV-2 infection have been reported. To date, no drug treatment has been standardized and approved in pediatric age. Given the high rate of mild disease, it is sufficient to ensure supportive therapy in most cases. In severe cases it is possible to consider the off-label use of antiviral drugs that are also used in the adult: hydroxychloroquine, azithromycin, lopinavir/ritonavir and remdesivir. The use of tocilizumab is controversial at this time, but AIFA-approved clinical trials are currently ongoing.

Keywords: COVID-19, SARS-CoV-2, pneumonia, paediatrics.

INTRODUZIONE

A partire dalla fine di dicembre 2019 un nuovo Coronavirus (nCoV) originato nella città cinese di Wuhan ha iniziato a diffondersi rapidamente anche nel resto del mondo (1). I Coronavirus sono virus capsulati a RNA, appartenenti alla famiglia dei *Coronaviridae*, ordine dei *Nidovirales*, e sono divisi in quattro generi. Il nuovo CoV-2019 appartiene al genere dei β -coronavirus (2). Il 30 gennaio 2020, l'Organizzazione Mondiale della Sanità (OMS) ha dichiarato il focolaio internazionale da nCoV e lo stesso giorno sono stati registrati in Italia i primi due casi di importazione.

Il 21 febbraio 2020, si è verificato il primo caso di trasmissione locale in un paziente di Codogno, comune della Lombardia. Ai primi di marzo si registravano casi in tutte le regioni italiane, così come in oltre 100 altri stati, e l'11 marzo 2020, l'OMS ha dichiarato lo stato di pandemia (3). Stando al Report dell'Istituto Superiore di Sanità (ISS) del 26 maggio 2020 si sono verificati oltre 5 milioni di casi di COVID-19 a livello globale, di cui 230.811 in Italia con una distribuzione bilanciata tra i generi ed una età mediana di 62 anni. I pazienti deceduti con COVID-19 in Italia sono stati 31.676, 59.1% di sesso maschile, con letalità stimata del 13,7 % ed età media di 80 anni. Il 59.5% dei pazienti deceduti presentava 3 o più comorbidità, il 4.1%, il 14.9% e il 21.5% rispettivamente nessuna, una e due patologie pre-esistenti.

EPIDEMIOLOGIA IN ETÀ PEDIATRICA

I dati epidemiologici riportati dall'Istituto Superiore di Sanità mostrano che in Italia le diagnosi in soggetti di età inferiore ai 18 anni sono circa l'1.9% del totale, con circa 4.400 casi, così distribuiti per età: 0-1 anni 13.2%; 2-6 anni 17.4%; 7-17 anni 69.4%. Dei bambini diagnosticati, l'85.7% è stato gestito in isolamento domiciliare, il 2.4% è stato ricoverato con sintomi. Si sono registrati 4 decessi nella fascia di età 0-9 anni, con un tasso di letalità in età pediatrica di circa 0,07%. Rispetto ai pazienti adulti, le principali evidenze riportate al livello internazionale dimostrano un quadro clinico *mild* in età pediatrica con minore necessità di assistenza sanitaria e soprattutto di cure intensive. I principali studi pubblicati fino ad oggi su casistiche esclusivamente pediatriche sono riportati in Tabella 1.

Tab.1: Principali casistiche in età pediatrica.			
Autori e rivista	Nazione	N° pazienti	Commenti
Dong et al. <i>Pediatrics</i>	Cina	2143	<ul style="list-style-type: none"> - Decorso più severo nei lattanti - Elevato tasso di ospedalizzazione nei neonati anche per la difficoltà di gestione - Diagnosi differenziale con altre patologie gravi (es. sepsi), nel neonato e lattante
Lu et al. <i>N Engl J Med</i>	Cina	171	<ul style="list-style-type: none"> - Decorso clinico favorevole, con 15,8% dei casi di infezione asintomatica - Bambini pauci- o asintomatici vettore di trasmissione per adulti, e soggetti a rischio - Assicurare biocontenimento, anche in assenza di sintomi
Parri et al. <i>N Engl J Med</i>	Italia	100	<ul style="list-style-type: none"> - 100 bambini in setting di pronto soccorso confrontati con casistiche cinesi - Alta esposizione familiare al virus in Cina (76,6%-91,3%) rispetto all'Italia (45%) - Esposizione extra-familiare più frequente in Italia (48%) rispetto alla Cina (1-4%) - Misure di <i>lockdown</i> e picchi epidemici differenti nelle nazioni del mondo
Shekerdeman et al. <i>JAMA Pediatr</i>	America del Nord	48	<ul style="list-style-type: none"> - <i>Outcome</i> di 48 bambini ricoverati in UTI per decorso clinico grave - L'83% presenta comorbidità preesistenti - Malattie genetiche disabilitanti (40% dei casi), potenziale fattore di rischio per un decorso clinico più sfavorevole
Zeng L et al. <i>JAMA Pediatr</i>	Cina	33	<ul style="list-style-type: none"> - Dimostrazione di un <i>transmission rate</i> del 9% in neonati figli di madre COVID-19 - 3 bambini con tamponi nasofaringei e rettali positivi per SARS-CoV-2, uno dei quali prematuro con sintomi respiratori
Garazzino et al. <i>Eurosurveillance</i>	Italia	168	<ul style="list-style-type: none"> - Dati preliminari della più ampia casistica Europea che conferma decorso clinico favorevole in età pediatrica - Febbre come sintomo più frequente (82,1%) - Solo il 15,5% ha consultato il pediatra o il medico di famiglia prima del ricovero - Nei pazienti ricoverati 78,8% < 1 anno

UTI: Unità di terapia intensiva.

TRASMISSIBILITÀ E CENNI DI FISIOPATOLOGIA

Nella prima metà del mese di febbraio l'*International Committee on Taxonomy of Viruses* ha assegnato al nuovo coronavirus il nome definitivo di "Sindrome respiratoria acuta grave coronavirus 2" (SARS-CoV-2), data l'omologia per circa il 70% con il coronavirus causa della SARS. Il virus SARS-CoV-2 si trasmette via *droplets* e attraverso il contatto diretto o indiretto con oggetti infetti (1). Non è ancora chiaro il tempo di permanenza del virus sulle superfici, ma è stata descritta una maggiore stabilità su plastica e acciaio con permanenza di circa 48-72 ore, rispetto a rame e cartone su cui si registra una permanenza di circa 4-8 ore (4). La convivenza con pazienti sintomatici o asintomatici è la principale fonte di contagio per la popolazione pediatrica (2), ma data la frequenza di forme paucisintomatiche in età pediatrica, è verosimile che il bambino possa essere frequente vettore di infezione per soggetti adulti ed anziani.

La positività in RT-PCR per SARS-CoV-2 nelle feci dei lattanti e bambini per diverse settimane, anche dopo la negativizzazione del tampone nasofaringeo (5), potrebbe rappresentare un ulteriore mezzo di trasmissione del virus. Tuttavia, non essendo stata dimostrata la crescita del virus in coltura fecale (e quindi la sua "vitalità" su feci), è necessario accumulare ulteriori evidenze per poter definire una possibile trasmissibilità oro-fecale del virus.

Similmente, è stata esplorata fin dall'inizio dell'epidemia, la trasmissibilità materno-fetale del virus. Dopo un primo report su 9 donne con COVID-19 nel terzo trimestre di gravidanza, che tranquillizzava sull'assenza di SARS-CoV-2 nel liquido amniotico, nel sangue cordonale e nel latte materno (6), più recentemente è stata invece descritta la trasmissione materno-fetale in 3 bambini (transmission rate 9%) nati da madre positiva, uno dei quali con esordio dei sintomi respiratori entro 48 ore di vita (7). Allo stato attuale, le Società di Ginecologia e Neonatologia non danno indicazione al taglio cesareo d'elezione per la prevenzione della trasmissione verticale e consigliano la gestione congiunta di madre e bambino per favorire l'allattamento. Solo nel caso di gravi condizioni cliniche materne, si consiglia l'uso del latte materno tirato o da banca (8).

IL QUADRO CLINICO

SARS-CoV-2 determina un'infezione virale acuta delle vie respiratorie sia alte che basse con un periodo di incubazione compreso tra 1 e 15 giorni (in media 3-7 giorni). I sintomi più frequenti sono febbre, tosse, faringodinia, cefalea, astenia e sintomi gastrointestinali. La diarrea è il sintomo gastrointestinale più frequente in età pediatrica (8-9%) (9), mentre anoressia e vomito sono frequentemente riportati in età adulta (10). Lu et al. in un report su 171 bambini con COVID-19 hanno riportato tra i principali sintomi: tosse (48,5%), faringite (46,2%), febbre (41,5%), diarrea (8,8%), vomito (6,4%), solo il 2,3% dei casi presentava desaturazione in corso di ricovero e il 15,8 % era asintomatico (9). In uno studio multicentrico italiano, a differenza dei dati cinesi e americani, la febbre è risultata il sintomo più frequente (82,1%) (11). I bambini più grandi e gli adolescenti lamentano, come gli adulti, disgeusia e anosmia.

Il quadro respiratorio domina la gestione del paziente COVID-19. Le evidenze disponibili sulla popolazione adulta hanno però mostrato che diversi altri organi ed apparati possono essere coinvolti nel corso dell'infezione. È evidente un aumentato rischio trombo-embolico e cardio-vascolare, sono possibili il coinvolgimento neurologico e le alterazioni della funzionalità epatica e renale. In alcune casistiche si è evidenziato a circa 8-10 giorni dall'esordio dell'infezione l'inizio del deterioramento del quadro clinico con dispnea, cianosi e l'instaurarsi di un quadro da sindrome da distress respiratorio acuto (ARDS) (12) che può precipitare rapidamente in insufficienza multiorgano fino al decesso (13).

Per quanto il quadro clinico in età pediatrica sia più sfumato, è stata proposta una classificazione clinica in 5 categorie: infezione asintomatica, lieve, moderata, severa e critica (14) (Tabella 2).

Tab.2: Classificazione clinica (14).

Classificazione	Sintomi	Esame obiettivo	Imaging del torace
Infezione asintomatica	Assenti	Nella norma	Nella norma
Lieve	Febbre, affaticamento, mialgia, gocciolamento nasale, tosse, faringodinia, sintomi gastrointestinali	Iperemia faringea	Nella norma
Moderata	Febbre, tosse secca poi produttiva, dispnea	Rumori secchi o umidi all'auscultazione del torace	Lesioni polmonari
Grave	Febbre, tosse, dispnea, cianosi centrale	Desaturazione (SatO ₂ <92%)	Lesioni polmonari
Critica	ARDS, insufficienza respiratoria	Complicanze: shock, IC, difetti coagulazione, danno renale, MOF.	Lesioni polmonari

ARDS: sindrome da distress respiratorio acuto; IC: insufficienza cardiaca; MOF: *Multi Organ Failure*.

Sono stati anche riportati casi di vasculite secondaria all'infezione da SARS-CoV-2, per quanto questi quadri non siano al momento supportati da forti evidenze scientifiche in età pediatrica. Nel corso del periodo epidemico in Italia, in diversi centri di riferimento per il trattamento del COVID-19 in età pediatrica sono stati osservati bambini con lesioni cutanee simil-vasculitiche a carico delle estremità (principalmente agli arti inferiori) con interessamento edematoso e talvolta dolente della zona periungueale, come da dattilite. La maggior parte dei casi riportati non ha dimostrato contatto stretto con casi di COVID-19, e tra coloro che hanno effettuato i test per la ricerca di SARS-CoV-2 solo in singoli casi è stata evidenziata la presenza del virus e di sierologie positive come da pregressa esposizione. Al momento non è possibile definire se le lesioni cutanee osservate possano essere una manifestazione più o meno tardiva dell'infezione da SARS-CoV-2, ma diversi studi prospettici sono in atto per chiarire questo aspetto. Inoltre, a Bergamo è stato riportato un aumento di 30 volte dell'incidenza di malattie *Kawasaki-like* nel corso dell'epidemia da SARS-CoV-2 rispetto agli anni precedenti (15).

Il motivo della minore incidenza e patogenicità dell'infezione da SARS-CoV-2 in età pediatrica non è al momento chiaro. Per quanto nella fase iniziale dell'epidemia, la ridotta incidenza e morbilità dell'infezione fossero attribuite ad una ridotta esposizione e alla presenza di fattori di rischio, oggi che la COVID-19 ha raggiunto dimensioni pandemiche, è chiaro che fattori biologici che intervengano nella patogenesi dell'infezione e nella risposta immune possano giocare un ruolo protettivo nel bambino rispetto alle catastrofiche manifestazioni cliniche evidenti nell'adulto.

Recenti evidenze mostrano che il recettore dell'enzima di conversione dell'angiotensina 2 (ACE2) permetta l'ingresso del virus SARS-CoV-2 all'interno della cellula. La ridotta maturità e funzionalità di ACE2 e la sua minore espressione nell'epitelio nasale in età pediatrica rispetto alla popolazione adulta potrebbe in parte giustificare la ridotta suscettibilità al COVID-19 (14-16).

I bambini mostrano una risposta immune adattativa differente rispetto agli adulti, che si riduce progressivamente con l'età al punto che bambini di età prescolare hanno un repertorio 5-10 volte più ampio rispetto a un cinquantenne e 20 volte maggiore rispetto a un ottantenne. Resta da definire quanto questo possa avere un ruolo nel bloccare precocemente la diffusione del virus e la cascata citochinica scatenata dall'infezione da SARS-CoV-2, correlata ad *outcome* gravi nell'età adulta (17). È stato inoltre ipotizzato una cross-reattività tra risposta immune ai vaccini della prima infanzia (in particolare MPR) e risposta a SARS-CoV-2. Attualmente però non esistono chiare evidenze a supporto di questa teoria, e sono riportati casi paucisintomatici anche in bambini non vaccinati o con calendario incompleto.

Nella casistica pediatrica al momento più ampia, su 2143 bambini veniva riportato il 5,9% di

casi gravi e critici ed un solo decesso (14). Shekerdemian e colleghi hanno mostrato un tasso di mortalità del 4,2% in una coorte di 48 bambini COVID-19 ricoverati in terapia intensiva, la maggior parte dei quali con pregresse comorbidità (nel 40% dei casi malattie genetiche disabilitanti) (18).

Le peculiarità clinico-diagnostiche dell'età pediatrica sono riportate in Tabella 3.

Tab.3: Peculiarità del COVID-19 in età pediatrica.

Caratteristica	Peculiarità
Epidemiologia	<ul style="list-style-type: none"> - Minore incidenza (circa 1% dei casi totali) - Uguale distribuzione per genere - Maggiore frequenza nella fascia scolare e adolescenziale
Presentazione clinica	<ul style="list-style-type: none"> - Più lieve rispetto all'adulto - Forme più severe nel lattante - Maggiore frequenza di sintomi gastrointestinali
Complicanze	<ul style="list-style-type: none"> - Stesse complicanze dell'adulto - Minore incidenza di insufficienza respiratoria
Esami di laboratorio	<ul style="list-style-type: none"> - Leucociti normali o ridotti - Aumento aspecifico della PCR - Aumento della PCT in caso di sovra infezione batterica
Quadro polmonare	<ul style="list-style-type: none"> - Immagini a vetro smerigliato con <i>halo-sign</i> - Risoluzione più rapida (circa 1 settimana) - Minore estensione del danno polmonare rispetto all'adulto

IL QUADRO POLMONARE

L'apparato respiratorio resta il principale bersaglio del SARS-CoV-2, che infetta le cellule legandosi al recettore di ACE2, ampiamente espresso a livello alveolare. La risposta immunitaria indotta dall'infezione è caratterizzata da due fasi: una iniziale di immunoprotezione e una fase di attivazione della tempesta citochinica che si traduce in una manifestazione clinica più grave. Nella fase iniziale una buona risposta adattativa può controllare il virus e bloccare la progressione infiammatoria. Se il sistema immunitario non riesce a controllare questa fase, il danno cellulare in organi con elevate concentrazioni di ACE2, in particolare negli pneumociti, progredisce con rilascio di citochine, chemochine (IL-6, IL-10 ed interferone) e reclutamento di cellule infiammatorie che mediano il danno polmonare e la progressiva evoluzione verso l'ARDS (19). Xu e colleghi hanno evidenziato all'esame istopatologico di un paziente deceduto per COVID-19 il danno alveolare diffuso con desquamazione degli pneumociti, formazione di membrana ialina e presenza di cellule fibromixoidi con infiltrazione linfocitaria interstiziale (20).

Dal punto di vista clinico, SARS-CoV-2 causa una polmonite di tipo interstiziale. L'*imaging* è caratterizzato da un infiltrato con opacità a vetro smerigliato unilaterali o bilaterali in regione sub-pleurica a distribuzione periferica, delimitate da anello periferico con o senza consolidazione (*halo-sign*) (21). Secondo la consensus internazionale di radiologia l'*imaging* in età pediatrica è raccomandato per i pazienti con diagnosi confermata di COVID-19 con sintomatologia lieve e comorbidità preesistenti, e per i bambini con sintomatologia da moderata a grave. La radiografia del torace è l'esame di prima scelta, ma data la sua minore sensibilità e specificità, la negatività del referto non esclude un coinvolgimento polmonare nei pazienti con diagnosi di COVID-19 laboratoristicamente confermata. A differenza dell'adulto, la Tomografia Computerizzata (TC), invece, è indicata in casi selezionati nel sospetto di embolia polmonare e in caso di peggioramento clinico (22).

Diversi studi riportano l'utilità dell'ecografia polmonare per la diagnosi e il follow-up della polmonite da COVID-19, essendo un'indagine semplice e ripetibile che non espone il bambino a radiazioni e sedazione. Musolino et al. hanno mostrato i principali reperti ecografici di 10

bambini affetti da COVID-19: linee B (70%), alterazioni pleuriche (60%), white lung (10%) e addensamenti sub pleurici (10%) (23-24). Liu et al. descrivono le caratteristiche radiologiche esaminate tramite HRCT di cinque bambini con diagnosi confermata di COVID-19, di cui 3 asintomatici: tre pazienti presentavano opacità a vetro smerigliato unilaterali, uno solo opacità distribuite bilateralmente e solo un bambino mostrava referto negativo (25).

Alcune differenze radiologiche sono state evidenziate rispetto all'adulto (21). Per quanto il reperto di vetro smerigliato sia caratteristico e comune sia all'età adulta che infantile, il 44% dei pazienti adulti presentava anche ispessimento del setto interlobulare, della trama bronchiale, *crazy paving pattern* e raramente *halo-sign*, versamento pleurico, pericardico e linfadenopatie (26). Nei bambini, invece, il principale reperto radiologico è caratterizzato da opacità a vetro smerigliato con *halo-sign* con risoluzione più rapida, che avviene circa in una settimana rispetto alle due dell'adulto (21). In un gruppo di 98 pazienti di diverse età (4-88 anni) con COVID-19 la maggior parte delle lesioni polmonari all'HRCT erano localizzate nel lobo inferiore polmonare destro, probabilmente per la struttura più sottile e breve del bronco del lobo inferiore e soprattutto nella zona periferica del polmone. Tuttavia, i bambini e gli adolescenti presentavano un numero inferiore di lesioni polmonari, interessamento prevalentemente unilaterale e addensamenti di dimensioni minori rispetto agli adulti, senza segni di broncogramma aereo (27). Zheng ha inoltre dimostrato una maggiore incidenza di compromissione respiratoria nei bambini di età inferiore a 3 anni con coinvolgimento polmonare bilaterale in più del 70% dei bambini di questa fascia di età (28).

Un report di 8 pazienti di età <15 anni ricoverati in terapia intensiva, riportava anomalie alla TC in tutti i casi (6 bambini con interessamento bilaterale e 2 unilaterale), e valori più elevati di IL-6 e IL-10 nei due pazienti a prognosi peggiore, ad ulteriore conferma della correlazione tra la gravità del quadro polmonare e l'attivazione della cascata citochinica (29).

LA DIAGNOSTICA DI LABORATORIO E LA DIAGNOSI DIFFERENZIALE

I bambini con infezione da CoV-2 non mostrano specifiche alterazioni di laboratorio (Tabella 3) (30). In una coorte di 66 bambini e adolescenti con infezione confermata da COVID-19 sia sintomatici che asintomatici, il 69,6% presentava una formula leucocitaria normale, il 15,2% leucocitosi e i rimanenti leucopenia. Solo una piccola percentuale presentava alterazione degli indici infiammatori (13,6% PCR e 10,6 % PCT). Sebbene non esistano molte evidenze in letteratura pediatrica, sarebbe importante praticare uno stretto monitoraggio laboratoristico e dosare IL-6 come potenziale indicatore prognostico negativo nei casi gravi (31).

Nell'assistenza al paziente con sospetto COVID-19 e data la stagionalità per altre infezioni respiratorie, è necessario ricercare altri patogeni inclusi Adenovirus, Virus Respiratorio Sinciziale, Virus Influenzale, Parainfluenzale, Metapneumovirus e Coronavirus, *Mycoplasma Pneumoniae* anche per escludere co-infezioni. In 366 bambini con infezione respiratoria in atto, Weiyong et al. hanno riscontrato Influenza A Virus in 23 pazienti (6,3%), Influenza B Virus in 20 (5,5%) e SARS-CoV-2 solamente in 6 bambini. Considerato il periodo epidemico, solo una bassa percentuale dei bambini con sintomi respiratori (<2%), era affetto da COVID-19 (32). La modalità di trasmissione e le caratteristiche cliniche sono molto simili a quelle del CoV-2, pertanto gli esami di laboratorio, i criteri epidemiologici e l'anamnesi hanno un ruolo importante per una corretta diagnosi differenziale.

Inoltre, le caratteristiche radiologiche rilevate alla TC sono di aiuto per fare diagnosi differenziale. Le lesioni da polmonite sostenuta da Adenovirus appaiono spesso iperdense, sono presenti più addensamenti e meno lesioni sub pleuriche. Nella polmonite da Virus Respiratorio Sinciziale e Virus Parainfluenzale le lesioni invece sono distribuite lungo l'albero bronchiale con ispessimento della trama; quelle causate dal Virus Influenzale sono caratterizzate da una trama reticolare diffusa (21).

La diagnosi di caso sospetto o confermato da SARS-CoV-2 viene definita secondo criteri clinici ed epidemiologici (2, 30) (Tabella 4) e prevede la segnalazione del caso ed una gestione ap-

propriata che garantisca il biocontenimento. Non ci sono al momento dati sulla sierologia per SARS-CoV-2 in età pediatrica. I test sierologici vengono prevalentemente utilizzati per screening secondo programmi variabili di sorveglianza sanitaria e non per la diagnosi di COVID-19. La maggior parte dei pazienti sviluppa simultaneamente anticorpi specifici di tipo IgM e IgG, la cui sensibilità e specificità cresce progressivamente con il passare dei giorni dall'esordio dei sintomi. Inoltre, è stato osservato che le IgM possono positivizzarsi tardivamente, anche dopo una precoce comparsa delle IgG nei primi 7 giorni dall'esordio dei sintomi (33).

Tab.4: Definizione di caso sospetto, probabile e confermato da SARS-CoV-2.

Caso	Sintomatologia	Contatto e tampone
Caso sospetto	Sintomatologia compatibile con infezione da COVID-19 ad esordio acuto senza una chiara eziologia che ne spieghi la causa (febbre e almeno un segno/sintomo come tosse e dispnea)	Contatto stretto con caso probabile e confermato 14 giorni prima o Provenienza da cluster di contagio nei 14 giorni precedenti l'inizio dei sintomi
Caso probabile	Sintomatologia compatibile con infezione da COVID-19 ad esordio acuto senza una chiara eziologia che ne spieghi la causa (febbre e almeno un segno/sintomo come tosse e dispnea)	Contatto stretto con caso probabile e confermato 14 giorni prima o Provenienza da cluster di contagio nei 14 giorni precedenti l'inizio dei sintomi + Tampone dubbio o inconcludente
Caso confermato	Indipendentemente dalla sintomatologia	Tampone positivo per SARS-CoV-2 (RT-PCR) praticato presso laboratori regionali di riferimento o laboratorio dell'Istituto Superiore di Sanità.

Nota ministeriale 0007922-09/03/2020-DGPRES-DGPRES-P. RT-PCR: Real Time PCR.

TERAPIA

Ad oggi, sulla base dei dati preliminari della letteratura internazionale e delle evidenze presentate all'*European Medicines Agency* (EMA), nessun farmaco ha ancora dimostrato la sua efficacia nel trattamento del SARS-CoV-2, né tanto meno è stato approvato per l'età pediatrica (34).

Dato il decorso paucisintomatico dei bambini affetti da COVID-19, in buona parte dei casi va assicurata solo una terapia domiciliare di supporto. I possibili schemi terapeutici utilizzabili in età pediatrica nell'infezione da SARS-CoV-2, derivano dal loro utilizzo nei pazienti adulti, su cui sono in corso diverse sperimentazioni, e dall'esperienza delle epidemie di SARS e MERS.

Per la gestione della febbre si predilige l'uso del paracetamolo. Alcuni autori hanno suggerito una correlazione tra l'utilizzo dell'ibuprofene ed un decorso più aggressivo dell'infezione da SARS-Cov-2 (35), tali dati non sono però al momento confermati e l'EMA non controindica l'utilizzo degli antiinfiammatori non steroidei (34). Considerato il prevalente coinvolgimento respiratorio, in caso di necessità di trattamento inalatorio con cortisonici e broncodilatatori, si suggerisce l'utilizzo di sospensioni pressurizzate con distanziatore a dispetto dei nebulizzatori, che potrebbero aumentare la contagiosità per l'aerosolizzazione di particelle; inoltre non c'è indicazione alla sospensione dei corticosteroidi inalatori per i pazienti con asma bronchiale (36, 37).

In aggiunta alla terapia di supporto, nei pazienti affetti da COVID-19 sono stati utilizzati farmaci antivirali ed immunomodulanti.

I principali farmaci applicati con funzione antivirale nell'infezione da SARS-COV-2 sono: idrossiclorochina, azitromicina, lopinavir/ritonavir e remdesivir.

Sono al momento disponibili evidenze contrastanti sull'efficacia dell'associazione idrossiclorochina-azitromicina in studi clinici francesi condotti su adulti. In particolare, uno studio retrospettivo condotto su 1376 pazienti con diagnosi di COVID-19, ha mostrato la presenza di un'associazione significativa tra utilizzo di idrossiclorochina ed evoluzione clinica sfavorevole (intubazione e/o decesso) (HR: 2,37, IC95:1.84-3.02) (38). In età pediatrica, l'utilizzo di idros-

siclorochina è contemplato nelle linee guida del *Boston Children's Hospital and Harvard Medical School*, ma esclusivamente nei pazienti a cui, per controindicazioni o indisponibilità, non è possibile utilizzare il remdesivir. Inoltre, l'utilizzo associato idrossiclorochina-azitromicina è sconsigliato per il rischio di allungamento del QTc (39). Lopinavir/ritonavir è un farmaco antiretrovirale, approvato in età pediatrica a partire dai 14 giorni di vita per l'infezione da HIV ed è stato utilizzato per gli adulti e bambini affetti da COVID-19. Al momento non ci sono evidenze chiare sulla sua efficacia, uno studio randomizzato controllato pubblicato sul NEJM non ha confermato efficacia (40), ma in una analisi di sottogruppo sembra ci possa essere una maggiore efficacia clinica nei soggetti che hanno ricevuto una somministrazione precoce del farmaco entro 10 giorni. Il remdesivir è un antivirale utilizzato per la prima volta per l'Ebola ed è stato somministrato in pazienti adulti con infezione da SARS-CoV-2. Attualmente sono in corso dei *trial* per dimostrare l'efficacia clinica, che sembrerebbero aver dato risultati preliminari convincenti. Nei pazienti più gravi, in cui la fase auto-infiammatoria innescata dall'infezione da SARS-COV-2 e mediata da citochine come l'IL-6, sono stati utilizzati farmaci immunomodulanti, con apparente risposta clinica soddisfacente. Tra questi i corticosteroidi ad alte dosi e il tocilizumab, anticorpo monoclonale diretto contro i recettori dell'IL-6, per cui al momento sono in corso dei *trial* clinici approvati da AIFA (41).

BIBLIOGRAFIA

- (1) Zhu N, Zhang D, Wang W, et al. *A Novel Coronavirus from Patients with Pneumonia in China, 2019*. N Engl J Med 2020; 382: 727-733.
- (2) Shen K, Yang Y, Wang T, et al. *Diagnosis, treatment and prevention of 2019 novel coronavirus infection in children: experts' consensus statement*. World Journal of Pediatrics 2020; 1-9.
- (3) World Health Organization. *Virtual press conference on COVID-19*. 11 March 2020.
- (4) Holbrook MG, Gamble B, Williamson N, et al. *Aerosol and Surface Stability of SARS-CoV-2 Compared with SARS-CoV-1*. N Engl J Med 2020; 382: 1564-1567.
- (5) Xu Y, Li X, Zhu B, et al. *Characteristics of pediatric SARS-CoV-2 infection and potential evidence for persistent fecal viral shedding*. Nature Medicine 2020; 26: 502-505.
- (6) Chen H, Guo J, Wang C et al. *Clinical characteristics and intrauterine vertical transmission potential of COVID-19 infection in nine pregnant women: a retrospective review of medical records*. The Lancet 2020; 395: 809-815.
- (7) Zeng L, Xia S, Yuan W, et al. *Neonatal Early-Onset Infection with SARS-CoV-2 in 33 Neonates Born to Mothers with COVID-19 in Wuhan, China*. JAMA Pediatrics 2020; e200878 (Epub ahead of print).
- (8) Davanzo R, Moro G, Sandri F, et al. *Breastfeeding and Coronavirus Disease-2019. Ad interim indications of the Italian Society of Neonatology endorsed by the Union of European Neonatal & Perinatal Societies*. Matern Child Nutr 2020; e13010 (Epub ahead of print).
- (9) Lu X, Zhang H, Du H, et al. *SARS-CoV-2 Infection in Children*. N Engl J Med 2020; 382: 1663-1665.
- (10) Luo S, Zhang X, Xu H, et al. *Don't overlook digestive symptoms in patients with 2019 novel coronavirus disease (COVID-19)*. Clinical Gastroenterology and Hepatology 2020; 18: 1636-1637.
- (11) Garazzino S, Montagnani C, Donà D, et al. *Multicentre Italian study of SARS-CoV-2 infection in children and adolescents, preliminary data as at 10 April 2020*. Eurosurveillance 2020; 25.
- (12) Huang C, Wang Y, Li X, et al. *Clinical features of patient infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China*. The Lancet 2020; 395: 497-506.
- (13) Wang D, Hu B, Hu C, et al. *Clinical characteristics of 138 hospitalized patients with 2019 novel coronavirus - infected pneumonia in Wuhan, China*. JAMA 2020; 323: 1061-1069.
- (14) Dong Y, Mo X, Hu Y, et al. *Epidemiological characteristics of 2143 pediatric patients with 2019 coronavirus disease in China*. Pediatrics 2020; e20200702 (Epub ahead of print).

- (15) Verdoni L, Mazza A, Gervasoni A, et al. *An outbreak of severe Kwasaki-like disease at the Italian epicentre of the SARS-CoV-2 epidemic: an observational color study*. The Lancet 2020 (Epub ahead of print).
- (16) K Patel AB, Ashish V. *Nasal ACE2 Levels and COVID-19 in Children*. JAMA 2020 (Epub ahead of print).
- (17) Volpi S, Naviglio S, Tommasini A. *COVID-19 and immune response weak defences and self-harms*. Medico e Bambino 2020; 39: 223-231.
- (18) Shekerdemian L, Mahmood N, Wolfe K, et al. *Characteristics and Outcomes of Children with Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) Infection Admitted to US and Canadian Pediatric Intensive Care Units*. JAMA Pediatr 2020 (Epub ahead of print).
- (19) Shu Y, Wang Y, Shao C, et al. *COVID-19 infection: the perspective on immune response*. Cell Death & Differentiation 2020; 23: 1-4.
- (20) Xu Z, Shi L, Wang Y, et al. *Pathological findings of COVID-19 associated with acute respiratory distress syndrome*. The Lancet Respir Med 2020; 8: 420-22.
- (21) Xia W, Shao J, Guo Y, et al. *Clinical and CT features in pediatric patients with COVID-19 infection. Different point from adults*. Pediatr Pulmonol 2020; 55: 1169-117.
- (22) Foust AM, Phillips GS, Chu WC et al. *International Expert Consensus Statement on Chest Imaging in Pediatric COVID-19 Patient Management: Imaging Findings, Imaging Study, Reporting and Imaging Study Recommendations*. Radiology: cardiothoracic imaging 2020; 2.
- (23) Denina M, Scolfaro C, Silvestro E et al. *Lung Ultrasound in Children With COVID-19*. Pediatrics 2020 (Epub ahead of print).
- (24) Musolino AM, Supino MC, Buonsenso D et al. *Lung ultrasound in children with COVID-19: preliminary findings*. Ultrasound in Med & Biol 2020; 99: 1-5.
- (25) Liu M, Song Z, Xiao K, et al. *High-resolution computed tomography manifestations of 5 pediatric patients with 2019 Novel Coronavirus*. Journal of Computer Assisted Tomography 2020; 44: 311-313.
- (26) Pan Y, Guan H, Zhou S, et al. *Initial CT findings and temporal changes in patients with the novel coronavirus pneumonia (2019-nCoV): a study of 63 patients in Wuhan, China*. European Radiology 2020; 30: 3306-3309.
- (27) Chen Z, Hongjie F, Cai J, et al. *High-resolution computed tomography manifestations of COVID-19 infections in patients of different ages*. European Journal of Radiology 2020; 126: 108972.
- (28) Zheng F, Liao C, Fan Q, et al. *Clinical Characteristics of Children with Coronavirus Disease 2019 in Hubei, China*. Current Medical Science 2020; 40: 275-280.
- (29) Sun D, Li H, Lu X, et al. *Clinical features of severe pediatric patients with coronavirus disease 2019 in Wuhan: a single center's observational study*. World J Pediatr 2020; 19: 1-9.
- (30) Chen ZM, Fu F, Shu Q, et al. *Diagnosis and treatment recommendations for pediatric respiratory infection caused by the 2019 novel coronavirus*. World J Pediatr 2020 (Epub ahead of print).
- (31) Henry BM, Lippia G, Plebania M. *Laboratory abnormalities in children with novel coronavirus disease 2019*. Clin Chem Lab Med 2020 (Epub ahead of print).
- (32) Liu W, Zhang Q, Chen J, et al. *Detection of Covid-19 in children in Early January 2020 in Wuhan, China*. N Engl J Med 2020; 382: 1370-1371.
- (33) Long QX, Liu BZ, Deng HJ et al. *Antibody responses to SARS-CoV-2 in patients with COVID-19*. Nat Med 2020 (Epub ahead of print).
- (34) European Medicine Agency. *Aggiornamento sui trattamenti e i vaccini in fase di sviluppo contro il COVID-19*. EMA 2020 (Epub ahead of print).
- (35) Fang L, Karakiulakis G, Roth M, et al. *Are patients with hypertension and diabetes mellitus at increased risk for COVID-19 infection?* Lancet Respiratory Medicine 2020; 8: e21.
- (36) Global Initiative for Asthma. *Recommendations for inhaled asthma controller medications*. GINA 2020.

- (37) World Health Organization. *Modes of transmission of virus causing COVID-19: implication for IPC precaution recommendation*. WHO 2020 (Epub ahead of print).
- (38) Geleris J, Sun Y, Platt J, et al. *Observational Study of Hydroxychloroquine in Hospitalized Patients with Covid-19*. N Engl J Med 2020 (Epub ahead of print).
- (39) Chiotos K, Hayes M, Kimberlin DW, et al. *Multicenter initial guidance on use of antivirals for children with COVID-19/SARS-CoV-2*. J Pediatric Infect Dis Soc 2020 (Epub ahead of print).
- (40) Cao B, Wang Y, Wen D, et al. *A Trial of Lopinavir-Ritonavir in Adults Hospitalized with Severe Covid-19*. N Engl J Med 2020; 382: 1787-1799.
- (41) Sanders JM, Monouge ML, Jodowskil TZ, et al. *Pharmacologic Treatment Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) A Review*. JAMA 2020; 323: 1824-183.