

RiViSTA ITALIANA di MEDiCINA dell'ADOLESCENZA

Indexed in EMBASE/SCOPUS

EDITOR IN CHIEF Gabriella Pozzobon

SENIOR EDITOR IN CHIEF Vincenzo De Sanctis

Endo-Thal



AUTORI

Emma Acampora
Carlo Alfaro
Meliha Babayiğit
Giulia Cafiero
Duran Canatan
Tommaso Cozzolino
Marialuisa D'Arco
Vincenzo De Sanctis
Salvatore Di Maio
Ozlem Erinekcı

Maria Concetta Galati
Ugo Giordano
Armando Grossi
Fatih Kara
Bekir Kesinkılıç
Elena Krishnevskaya
Giuseppe Millimaggi
Zekiye Özdemir
Giorgio Piacentini
Gabriella C. Pozzobon

Giuseppe Raiola
Salvatore Recupero
Giulia Russo
Ashraf T. Soliman
Başak Tezel
Aslıhan Külekçi Uğur
Joan Lluís Vives Corrons
Mohamed Yassin

ORGANO UFFICIALE

sima
SOCIETÀ ITALIANA di MEDICINA dell'ADOLESCENZA

**SCRIPTA
MANENT**
EDIZIONI
Ubi Consistat

PERCORSO
FORMATIVO
A DISTANZA
ASINCRONO

CORSO NAZIONALE
DI AGGIORNAMENTO



AGGIORNAMENTI IN ADOLESCENTOLOGIA

PATROCINI RICHIESTI:

AME
CODAJIC
FNOMCEO

SIEDP
SIP

Responsabile Scientifico
Gabriella Pozzobon
*Presidente SOCIETÀ ITALIANA
di MEDICINA dell'ADOLESCENZA*

5
Crediti
ECM

ONLINE DAL 23 NOVEMBRE 2020
AL 19 NOVEMBRE 2021

7,2
Créditi
ECM

PROGETTO **FORMATIVO A DISTANZA**

COVID 19 E ADOLESCENZA

responsabile scientifico

Gabriella Pozzobon

con il patrocinio di



ONLINE DAL 14 DICEMBRE 2020 - 14 DICEMBRE 2021



*Carissimi Soci, Carissimi lettori,
come Medici e cittadini, la pandemia ci ha messi di fronte a una prova senza precedenti richiedendo di fare appello a tutte le nostre capacità di adattamento, reazione e resilienza per fornire ai nostri pazienti risposte concrete, tempestive ed efficienti.*

Di fronte alle sfide della pandemia, che travalicano gli aspetti sanitari per investire anche quelli sociali, economici, psicologici, etici, la nostra Società ha scelto la strada della cultura.

È con grande orgoglio che vi comunico che, in soli venti giorni, il corso "AGGIORNAMENTI IN ADOLESCENTOLOGIA" è sold out dimostrando, nonostante le numerose proposte di corsi d'aggiornamento attualmente online, l'interesse per i temi proposti e per l'adolescenza.

Ma il nostro aggiornamento continua.

È disponibile on line dal 14 dicembre 2020 la Fad "COVID 19 E ADOLESCENZA" che vuole essere un momento di riflessione sulla pandemia con lente di ingrandimento sugli adolescenti, attraverso il contributo di professionisti di diverse discipline mediche e non (giornalisti, psicologi, insegnanti, allenatori) per fornire informazioni aggiornate, punti di vista obiettivi e prospettive future con una visione completa e multidisciplinare della problematica. Sono state affrontate diverse tematiche: dall'impatto mediatico della pandemia e i rischi della "infodemia" sulla mente e i comportamenti degli adolescenti, ai temi più squisitamente clinici dell'infezione, all'impatto del lockdown su psiche, metabolismo e sonno degli adolescenti, agli aspetti organizzativi ospedalieri e ambulatoriali nella gestione della pandemia, all'impatto sulla quotidianità (scuola, sport, territorio) passando attraverso l'esperienza diretta dei medici nei reparti Covid e alla presentazione di casi clinici.

E ancora: questo numero della Rima che, nonostante le difficoltà del momento e dei medici coinvolti in prima linea, siamo riusciti a pubblicare.

Il desiderio della SIMA è quello di offrire uno sguardo d'insieme sulle tematiche con cui più spesso deve confrontarsi il professionista che si occupa dell'adolescente" amalgamando" aspetti clinici, diagnostici e psico-sociali. La nuova sfida riguarda il creare un nuovo approccio all'adolescente considerando come obiettivo la "crescita" globale ed armonica non solo del corpo ma anche della mente.

Citando le parole di Papa Francesco "peggio di questa crisi c'è solo il rischio di sprecarla", pertanto mi auguro e vi auguro di trarre il più possibile insegnamento dalle criticità che stiamo affrontando per migliorare il nostro futuro professionale, la nostra modalità di essere medico e le cure degli adolescenti attraverso una medicina più agile, più telematica e nel contempo empatica e personalizzata, come proprio i nostri giovani ci insegnano. Auspichiamo altresì che questa pandemia induca un maggior investimento sulla salute, sulla ricerca, sull'innovazione tecnologica e sulle politiche sanitarie.

Concludo, cari Amici, con un augurio natalizio.

Dopo un 2020 così difficile, ci aspetta anche un Natale sicuramente diverso da tutti gli altri, più sobrio, più raccolto, più intimo, ma non per questo senza lo spirito di cura, amore, meraviglia che ne è l'essenza e vi auguro un 2021 all'insegna della speranza. Ecco, vi auguro di viverlo tutto, questo spirito!

Buon Natale e Buon 2021 a voi e famiglia e... Buona lettura!

Cari Auguri

Gabriella Pozzobon e il Direttivo SIMA

Rivista ITALIANA di MEDICINA dell'ADOLESCENZA

ORGANO UFFICIALE



DIRETTORE SCIENTIFICO

Gabriella Pozzobon (Milano)

SENIOR EDITOR IN CHIEF E FONDATORE DELLA RIMA

Vincenzo De Sanctis (Ferrara)

COMITATO EDITORIALE

Carlo Alfaro (Napoli)
Silvano Bertelloni (Pisa)
Serenella Castronuovo (Roma)
Antonietta Cerro (Pagani, Salerno)
Salvatore Chiavetta (Palermo)
Luca de Franciscis (Salerno)
Teresa De Toni (Genova)
Salvatore Di Maio (Napoli)
Giovanni Farello (L'Aquila)
Piericola Garofalo (Palermo)
Rossella Gaudino (Verona)
Armando Grossi (Roma)
Sabino Pesce (Bari)
Carlo Pintor (Cagliari)
Giuseppe Raiola (Catanzaro)
Leopoldo Ruggiero (Lecce)
Giuseppe Saggese (Pisa)
Tito Livio Schwarzenberg (Roma)
Rosalba Trabalzini (Roma)
Maurizio Tucci (Milano)
Andrea Vania (Roma)

INTERNATIONAL EDITORIAL BOARD

German Castellano Barca (Torrelavega, Spain)
Monica Borile (El Bolson, Argentina)
Heba Elsedfy (Cairo, Egypt)
Bernadette Fiscina (New York, USA)
Daniel Hardoff (Haifa, Israel)
Karaman Pagava (Tbilisi, Georgia)
Ashraf Soliman (Doha, Qatar)
Joan-Carles Suris (Lausanne, Switzerland)

STAFF EDITORIALE

Direttore Responsabile
Direzione Marketing e PR
Comunicazione e Media
Grafica e Impaginazione
Affari Legali
Pietro Cazzola
Donatella Tedeschi
Ruben Cazzola
Cinzia Levati
Avv. Loredana Talia (MI)

Scripta Manent s.n.c.

Via M. Gioia, 41/A - 20124 Milano
Tel. 0270608060
E-mail: info@edizioniscriptamanent.eu

Registrazione Tribunale di Milano n. 404 del 23/06/2003



Edizioni Scripta Manent s.n.c. non è responsabile di foto, figure e tabelle che sono state fornite dagli Autori sotto la loro responsabilità.

Abbonamento annuale (3 numeri) Euro 30,00. Pagamento tramite bonifico bancario:
UNICREDIT Milano
IBAN: IT16 D0200801749000104498243
INTESTATO A: Edizioni Scripta Manent snc
Edizioni Scripta Manent s.n.c., via Melchiorre Gioia 41/A, 20124 Milano

È vietata la riproduzione totale o parziale, con qualsiasi mezzo, di articoli, illustrazioni e fotografie senza l'autorizzazione scritta dell'Editore.
L'Editore non risponde dell'opinione espressa dagli Autori degli articoli e delle immagini da loro utilizzate.
Ai sensi della legge 675/96 è possibile in qualsiasi momento opporsi all'invio della rivista comunicando per iscritto la propria decisione a: Edizioni Scripta Manent s.n.c. Via M. Gioia, 41/A - 20124 Milano

Vol. 18 - n. 3 - 2020

Sommario

Editoriale pag. 81

Gabriella Pozzobon e il Direttivo SIMA

Infezione da SARS-CoV-2 in paziente con panipopituitarismo post-chirurgico: quando la malattia rara incontra la pandemia pag. 83

Giulia Russo, Salvatore Recupero, Gabriella Cinzia Pozzobon

Vitamina D e COVID-19: un legame da esplorare pag. 87

Carlo Alfaro, Emma Acampora, Tommaso Cozzolino, Marialuisa D'Arco

Il microbiota intestinale: un alleato della salute dell'uomo pag. 92

Carlo Alfaro, Emma Acampora, Tommaso Cozzolino, Marialuisa D'Arco

FOCUS ON

Raccomandazioni per l'attività fisica del bambino e adolescente con cardiopatia congenita pag. 101

Ugo Giordano, Giulia Cafiero, Armando Grossi

Endo-Thal

Focus on prevalence of endocrinopathies in β -thalassemia major (TDT), intermedia (NTDT) and sickle cell disease (SCD) pag. 105

Ashraf Soliman, Mohamed A. Yassin, Vincenzo de Sanctis

La terapia chelante e le complicanze endocrine nella β -talassemia trasfusione dipendente (TDT): Come è cambiato il quadro clinico nel corso degli anni pag. 109

Vincenzo De Sanctis, Maria Concetta Galati, Giuseppe Raiola, Salvatore Di Maio

The Preventive Programs for Hemoglobinopathies in Italy, Spain and Turkey: The Equality Plus Project (2nd Part) pag. 118

Duran Canatan, Joan Lluís Vives Corrons, Giorgio Piacentini, Fatih Kara, Bekir Keskinlik, Başak Tezel, Aslıhan Külekçi Uğur, Meliha Babayiğit, Elena Krishnevskaya, Giuseppe Millimaggi, Ozlem Erinekeci, Zekiye Özdemir, Vincenzo de Sanctis

Infezione da SARS-CoV-2 in paziente con panipopituitarismo post-chirurgico: quando la malattia rara incontra la pandemia

Giulia Russo ^{1,2}, Salvatore Recupero ^{1,2}, Gabriella Cinzia Pozzobon ¹

¹ IRCCS, San Raffaele Scientific Institute, Milano;

² Università Vita-Salute San Raffaele, Milano

Riassunto

La malattia da nuovo Coronavirus 19 (COVID-19) può determinare quadri clinici molto variabili, associandosi talvolta ad anomalie della coagulazione che predispongono ad un aumentato rischio di eventi tromboembolici. Attualmente non vi sono evidenze scientifiche precise riguardo la gestione del paziente in età adolescenziale con quadro di panipopituitarismo e COVID-19. Riportiamo il caso di un ragazzo di 18 anni con panipopituitarismo, insorto dopo asportazione chirurgica di craniofaringioma multicistico, in plurima terapia ormonale sostitutiva e portatore di nCPAP per sindrome delle apnee notturne, con quadro pauci-sintomatico di COVID-19. Viene riportato l'approccio terapeutico da noi seguito ed i problemi ancora aperti per il trattamento dei pazienti adolescenti COVID-19 con patologie complesse.

Parole chiave: Panipopituitarismo, craniofaringioma, COVID-19, adolescente, rischio tromboembolico.

SARS-CoV-2 infection in a patient with post-surgical hypopituitarism: A rare disease meets pandemic

Summary

Novel Coronavirus 19 disease (COVID-19) can lead to highly variable clinical features, sometimes associated with coagulation abnormalities causing an increased risk of thromboembolic events. We report the case of an 18-year-old boy affected by hypopituitarism, secondary to total surgical resection of multicystic craniopharyngioma, who developed a mild COVID-19. The patient was on treatment with multiple drugs and nCPAP for obstructive sleep apnea syndrome (OSAS). The therapeutic approach was similar to medical strategies adopted in patients with an acute infections. Considering the increased thromboembolic risk, associated with post-surgical hypopituitarism, and the hypercoagulable state, observed during Sars-Cov-2 infection, the patient was also treated with a low molecular weight heparin prophylaxis. Our current therapeutic approach, during his hospitalization, and the problems still unsolved in patients with multiple associated co-morbidities are also reported.

Key words: Hypopituitarism, craniopharyngioma, COVID-19, adolescent, thromboembolic risk..

Introduzione

La malattia provocata dal nuovo Coronavirus (Corona Virus Disease 19, COVID-19) rappresenta un'emergenza mondiale di drammatiche proporzioni. Il quadro clinico può variare da forme asintomatiche o paucisintomatiche, a quadri di sindrome da distress respiratorio acuto (ARDS). Inoltre, in circa il 20% dei pazienti

ti sono state riscontrate anomalie della coagulazione responsabili di eventi di natura tromboembolica, che possono a loro volta determinare un aggravamento del decorso della malattia (1).

I pazienti affetti da panipopituitarismo secondario ad intervento chirurgico a carico della regione ipotalamo-ipofisaria, a causa

delle associate plurime comorbidità (grave obesità, sindrome delle apnee notturne, deficit ormonali multipli, alterazioni degli elettroliti predisponenti a brusche variazioni dell'osmolarità plasmatica, aumentato rischio tromboembolico, alterazione della termoregolazione), rappresentano una particolare categoria a rischio di gravi complicanze in corso di eventi infettivi. Una corretta e tempestiva gestione terapeutica affiancata da un attento monitoraggio clinico sono, pertanto, di fondamentale importanza, soprattutto in corso di infezione da SARS-CoV-2.

Caso clinico

Presentiamo il caso di un ragazzo di 18 anni in *follow-up* endocrino-metabolico presso l'Endocrinologia Pediatrica del nostro centro per quadro di panipopituitarismo post-chirurgico, insorto in seguito all'asportazione per via transcranica di un craniofaringioma multicistico e portatore di derivazione ventricolo-peritoneale, posizionata per idrocefalo biventricolare secondario alla lesione neoplastica.

Clinicamente presentava un quadro di obesità severa [peso: 155 kg, pari a +4.11 SDS, statura: 177.7 cm, pari a +0.26 SDS, indice di massa corporea (BMI) 49 kg/m², pari +3.96 SDS] associata a sindrome metabolica, in terapia ormonale sostitutiva con levotiroxina (1.17 µg/kg/die), idrocortisone (9.5 mg/m²/die), ormone della crescita (rechGH.) a dosaggio metabolico (1 mg/die), testosterone depot (175 mg, per via intramuscolare, ogni 21 giorni), desmopressina (225 mg/die, compresse) e biguanidi. Inoltre, per disagio adattivo e deflessione del tono dell'umore, assumeva terapia con aripiprazolo e fluvoxamina e, per un quadro di Obstructive Sleep Apnea Syndrome (OSAS) dovuto alla severa obesità, manteneva durante le ore notturne un supporto nasal-CPAP.

A Marzo 2020, durante il periodo di lockdown nazionale, il paziente giungeva presso il Pronto Soccorso del nostro centro per astenia marcata, nausea, fame d'aria, vertigini e calo del visus, insorti al domicilio da poche ore. Il ragazzo, inoltre, riferiva una dolenzia alla gamba sinistra in regione pretibiale, insorta da qualche giorno dopo blando esercizio fisico e confermava una corretta assunzione della terapia domiciliare.

Dalla anamnesi non risultavano apparenti contatti con casi positivi per Sars-Cov-2; la madre nei giorni precedenti aveva manifestato una sintomatologia compatibile con un'infezione delle alte vie respiratorie, in assenza di febbre.

All'arrivo in PS, il ragazzo era sveglio e cosciente (Glasgow Coma Scale 15) con obiettività generale, parametri vitali e dinamica respiratoria nella norma. Non si evidenziavano apparenti deficit neurologici periferici.

Venivano, quindi, effettuati alcuni esami ematici controllo, che non mostravano alterazioni elettrolitiche o dell'equilibrio acido-base. Gli indici di funzionalità epato-renale e il valore di glicemia basale erano nei limiti della normalità. Tuttavia, erano presenti un modico rialzo degli indici di flogosi [PCR 23.5 mg/L (v.n.: <6 mg/L), della

troponina T, ed una lieve leucocitosi (GB 11.500/mm³)]. Lo studio della coagulazione risultava nella norma, con livelli di D-dimero pari a 0.34 µg/ml (v.n. <0.77 µg/ml).

In relazione al dato epidemiologico nazionale, pur in assenza di contatti certi con casi confermati di COVID-19, veniva eseguito tampone rinofaringeo per ricerca di SARS-Cov-2, che risultava positivo. La radiografia del torace mostrava un iniziale interessamento flogistico polmonare con pattern interstiziale.

Stante il quadro di cefalea, nel sospetto di un'alterata taratura della valvola della derivazione ventricolo-peritoneale, si effettuavano anche una TC dell'encefalo e una radiografia del cranio, che evidenziavano un normale volume degli spazi liquorali e una derivazione ventricolo-peritoneale integra nel suo decorso, con adeguato valore di taratura. Veniva, inoltre, eseguito un Doppler ecografico degli arti inferiori che, seppur di difficile esecuzione a causa della severa obesità, non risultava indicativo per trombosi venosa profonda in atto.

Il paziente veniva quindi ricoverato per proseguire l'osservazione in regime ospedaliero in un reparto dedicato alla gestione dei pazienti con COVID-19.

Pur in assenza di un alto rischio di tromboembolismo venoso (Padua Prediction Score inferiore a 4) e di chiari segni clinici, ecografici e laboratoristici indicativi di un evento trombotico in atto, in considerazione della positività del tampone per Sars-CoV-2 e della maggior predisposizione, dei pazienti con storia di craniofaringioma, a sviluppare eventi trombotici, veniva considerata una profilassi anticoagulante con eparina a basso peso molecolare (enoxaparina, 6000 UI/ogni 12 h) (2).

Le restanti terapie, così come l'impiego della nCPAP notturna (PEEP 9 cmH₂O), venivano mantenute invariate, fatta eccezione per la terapia con idrocortisone, il cui dosaggio veniva raddoppiato.

A fronte del quadro di apiressia, dei bilanci idrici adeguati e della persistente stabilità dei parametri vitali in aria ambiente, il paziente dopo quattro giorni veniva dimesso con indicazione a mantenere isolamento domiciliare, ad effettuare graduale riduzione del dosaggio di idrocortisone fino a riprendere la dose terapeutica abituale, ed a proseguire profilassi anti-trombotica con eparina a basso peso molecolare, per un totale di 10 giorni.

Il tampone nasofaringeo, ripetuto dopo tre settimane dalla dimissione, risultava negativo per SARS-CoV-2.

Discussione

Non esistono ancora precise evidenze scientifiche riguardo il corretto approccio terapeutico da seguire e le modalità di esecuzione di una profilassi tromboembolica in pazienti in età giovanile-adolescenziale con infezione da SARS-CoV-2 in terapia sostitutiva per deficit ipofisari multipli (3).

Il nostro paziente presentava un quadro clinico paucisintomatico da COVID-19. Tuttavia, in considerazione delle comorbidità asso-

ciate al panipopituitarismo post-chirurgico, insorto in seguito all'asportazione per via transcranica di un craniofaringioma multicistico, al pregresso posizionamento di una derivazione ventricolo-peritoneale per idrocefalo biventricolare secondario alla lesione neoplastica, all'aumentato rischio di un severo peggioramento della funzionalità respiratoria a causa di una grave obesità, in un soggetto portatore di n-CPAP notturna per OSAS, il ragazzo veniva ospedalizzato al fine di effettuare uno stretto monitoraggio clinico e di individuare precocemente l'insorgenza di possibili complicanze.

Una volta esclusa la possibilità che la sintomatologia presentata potesse essere secondaria ad un malfunzionamento o ad un'alterata taratura della valvola della derivazione ventricolo-peritoneale, l'approccio terapeutico adottato è stato quello di garantire in primis un adeguamento della terapia sostitutiva corticosteroidica al fine di fronteggiare l'evento stressogeno in atto, come previsto dalle "sick day rules" per il trattamento dei pazienti con insufficienza surrenalica (4).

Il virus SARS-CoV-2, legandosi ai recettori ACE-2 localizzati a livello del bulbo olfattivo, riesce a superare la barriera ematoencefalica e a raggiungere l'encefalo determinando l'insorgenza di sintomi, quali l'anosmia e l'ageusia, la cui insorgenza potrebbe correlarsi allo sviluppo di un danno a livello ipotalamico, responsabile a sua volta di plurimi deficit ormonali (5).

Studi effettuati sul virus SARS-CoV-1, strutturalmente simile al virus SARS-CoV-2, hanno dimostrato che tale virus, interferendo sulla funzionalità dell'asse ipotalamo-ipofisi-surrene (HPA), è in grado di causare un ipotiroidismo secondario e un ipocorticismismo transitorio (6).

In particolare, in pazienti con pregressa infezione da virus SARS-CoV-1, una condizione di ipocorticismismo sembra svilupparsi come complicanza tardiva a distanza anche di un certo numero di settimane dall'inizio dell'infezione. Una corretta gestione della terapia corticosteroidica in soggetti in supplementazione specifica risulta, quindi, fondamentale.

Nella gestione di questa fragile categoria di pazienti, in considerazione del maggior rischio di sviluppare alterazioni elettrolitiche rispetto alla popolazione generale, è importante inoltre effettuare un adeguato monitoraggio del bilancio idrico e degli elettroliti. Una complicanza comune è rappresentata dall'ipernatriemia, legata al ridotto intake di fluidi e alla possibilità di una non corretta aderenza alla terapia orale con desmopressina. In alcuni casi, inoltre, è possibile osservare anche una iponatriemia, da correlare alla significativa emodiluizione che può verificarsi in caso di impropria gestione della terapia con desmopressina (7).

In corso di infezione da SARS-CoV-2, possono manifestarsi anche condizioni di ipokaliemia, dovute all'effetto che il virus esercita, attraverso l'azione sui recettori ACE-2, sul sistema renina-angiotensina-aldosterone, che causa una incrementata perdita renale di potassio (8).

Nel caso in oggetto non si sono verificate alterazioni del bilancio idro-elettrolitico tali da dover effettuare modifiche della terapia

con desmopressina già in atto; inoltre, non è stato ritenuto necessario modificare la dose di levotiroxina e del rechGH.

Nonostante un basso punteggio del Padua Prediction Score (PPS inferiore a 4), è stato ritenuto necessario intraprendere una profilassi anticoagulante con enoxaparina sodica sia in considerazione dei fattori di rischio presentati dal paziente (grave obesità, sindrome ipotalamica, diabete insipido, aumentato rischio trombotico) (9), che per il riscontro di positività del tampone nasofaringeo per SARS-CoV-2.

Come riportato in letteratura, infatti, secondariamente alla stasi sanguigna, al danno endoteliale immunomediato e allo stato di ipercoagulabilità che si verificano in corso di infezione, i pazienti con infezione da Sars-Cov2 presentano un elevato rischio di sviluppare complicanze tromboemboliche (2). In caso di normale funzionalità renale ed in presenza di un'adeguata conta piastrinica, l'eparina a basso peso molecolare rappresenta la prima strategia terapeutica che viene attualmente consigliata.

Conclusioni

In conclusione, è opportuno considerare una ospedalizzazione anche nei soggetti adolescenti, con panipopituitarismo post-chirurgico, che sviluppino una forma mild di COVID-19. Non è noto se l'impiego della n-CPAP notturna domiciliare, nel nostro paziente con severa obesità, possa avere giocato un ruolo "protettivo" nel prevenire un peggioramento della funzionalità respiratoria. La valutazione del rischio trombotico e la prevenzione di eventi tromboembolici sono elementi essenziali da considerare in corso di trattamento per COVID-19. Ulteriori evidenze scientifiche riguardo la gestione dell'infezione da Sars-Cov-2, in pazienti in età adolescenziale e con deficit ipotalamo ipofisari multipli, sono strettamente necessarie.

Bibliografia

1. Rothan HA, Byrareddy SN. The epidemiology and pathogenesis of coronavirus disease (COVID-19) outbreak. *J Autoimmun.* 2020; 109:102433.
2. Zhai Z, Li C, Chen Y, et al. Prevention and Treatment of Venous Thromboembolism Associated with Coronavirus Disease 2019 Infection: A Consensus Statement before Guidelines. *Thromb Haemost.* 2020; 120:937-948.
3. Fleseriu M, Dekkers OM, Karavitaki N. Endocrinology in the time of COVID-19: Management of pituitary tumours. *Eur J Endocrinol.* 2020; 183:17-23.
4. Park J, Didi M, Blair J. The diagnosis and treatment of adrenal insufficiency during childhood and adolescence. *Arch Dis Child.* 2016; 101:860-865.
5. Somasundaram NP, Ranathunga I, Ratnasamy V, et al. The Impact of SARS-Cov-2 Virus Infection on the Endocrine System. *J Endocr Soc.* 2020; 4(8):bvaa082.

6. Leow MK, Kwek DS, Ng AW, et al. Hypocortisolism in survivors of severe acute respiratory syndrome (SARS). *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2005; 63:197-202.
7. Li T, Lu H, Zhang W. Clinical observation and management of COVID-19 patients. *Emerg Microbes Infect*. 2020; 9:687-690.
8. Dong C, Li X, Qi S, et al. Hypokalemia and clinical implications in patients with coronavirus disease 2019 (COVID-19). *medRxiv*. January 2020: 2020.02.27.20028530.
9. Chandrakasan S, Sood S, Ham S, et al. Risk factors and management of deep venous thrombosis in children following post-surgical hypopituitarism in craniopharyngioma. *Pediatr Blood Cancer*. 2011; 57:175-177.

Corrispondenza:

Gabriella Pozzobon

Ospedale San Raffaele, Via Olgettina, 60 - 20132 Milano

Tel: 02-26433400/3401

Fax: 02-26434050

E-mail: pozzobon.gabriella@hsr.it

Vitamina D e COVID-19: un legame da esplorare

Carlo Alfaro, Emma Acampora, Tommaso Cozzolino, Marialuisa D'Arco

U.O.C. di Pediatria - OO.RR. Area Stabiese. Castellammare di Stabia, Napoli.

Riassunto

La vitamina D regola l'espressione di numerosi geni implicati nel metabolismo osseo e in processi fisiologici dell'organismo, tra cui l'immunità. Il particolare tipo di metabolismo, che necessita dell'esposizione solare, rende ragione della diffusa carenza in larghe fasce di popolazione e nei mesi invernali. I bambini, e ancor più gli adolescenti, risultano ad alto rischio di ipovitaminosi D in caso di mancata supplementazione, per aumentato fabbisogno o stili di vita inadeguati. Diversi studi mostrano l'implicazione della carenza di vitamina D su incidenza e gravità di infezioni, comprese le malattie virali dell'albero respiratorio. Per il Covid-19 si è ipotizzato che la carenza di vitamina D possa predisporre alla malattia o essere fattore di rischio per un decorso più severo. Diversi sono i meccanismi proposti: azione anti-virale diretta, protezione delle "tight junctions" polmonari e intestinali, incremento dei peptidi anti-virali catelicidina e beta-defensine, riduzione della produzione di citochine pro-infiammatorie come IL-6, cooperazione con l'interferone tipo I, protezione degli pneumociti di tipo II. L'azione della vitamina D potrebbe esprimersi tanto sulla immunità innata che su quella adattativa. Importante anche la funzione protettiva su vasi sanguigni e sistema nervoso. Nonostante numerose ricerche, ancora non ci sono indicazioni per un ruolo della vitamina D come prevenzione o trattamento coadiuvante dell'infezione da SARS-CoV-2, al di là dell'importanza di correggere gli stati carenziali.

Parole chiave: Vitamina D, Covid-19.

Vitamin D and Covid-19: A link to be explored

Summary

Vitamin D regulates the expression of many genes involved in bone metabolism and in physiological processes, including immunity. The metabolism of vitamin D, based on sun exposure, accounts for its widespread deficiency. Children and adolescents are at high risk of hypovitaminosis D in case of non-supplementation, due to increased needs or inadequate lifestyles. Several studies show the implication of vitamin D deficiency on the incidence and severity of infections, including viral diseases of the respiratory tract. It has been hypothesized that vitamin D deficiency may predispose to Covid-19 disease or could be a risk factor for a more severe course. Several mechanisms are proposed for the role of vitamin D in Covid-19: direct anti-viral action, protection of lung and intestinal tight junctions, increase in anti-viral peptides cathelicidin and beta-defensins, reduction in the production of pro-inflammatory cytokines such as IL -6, cooperation with interferon type I, protection of type II pneumocytes. The action of vitamin D could affect both innate and adaptive immunity. The protective function on microvascular system and nervous systems could be important. In conclusion, although it is important to correct deficiency states, there still is no definite indication for a role of vitamin D in the prevention or adjuvant treatment of SARS-CoV-2 infection.

Key words: Vitamin D, Covid-19.

Il ruolo della vitamina D

La vitamina D è un "ormone" implicato funzionalmente in numerosi processi metabolici e fisiologici dell'organismo, essendo responsabile del controllo di varie centinaia di geni: oltre a regola-

re la mineralizzazione dell'osso, favorendo l'assorbimento intestinale di calcio e fosforo, il riassorbimento di calcio a livello renale, il deposito di calcio e di fosforo nelle ossa (1), svolge molteplici azioni extra-scheletriche quali modulazione del sistema immunitario, controllo della funzione muscolare, trofismo dei denti e della

pelle, regolazione dello sviluppo cerebrale, del tono dell'umore, dell'apparato cardio-vascolare, del metabolismo, dell'apparato riproduttivo (2). Molte di queste funzioni sono cruciali nell'infanzia e nell'adolescenza e rendono conto della maggior incidenza di un ampio spettro di patologie in caso di carenza.

La vitamina D viene sintetizzata per l'80-90% in seguito all'esposizione della cute alle radiazioni UVB emesse dalla luce solare, che determinano la conversione del 7-deidrocolesterolo in colecalciferolo (vitamina D3), mentre solo per il 10-20% viene assunta con la dieta, in forma di ergocalciferolo o vitamina D2 (ne sono fonti olio di fegato di merluzzo, alcuni funghi, fegato di manzo, latte e latticini, carni rosse soprattutto ovine, salumi, tuorlo d'uovo, pesci grassi come aringa, salmone, tonno, anguilla, sardine, pesce spada).

Il colecalciferolo (vitamina D3) e l'ergocalciferolo (vitamina D2) sono sottoposti a due distinte idrossilazioni durante la loro metabolizzazione, la prima nel fegato per formare 25-idrossivitamina D, la principale forma circolante della vitamina D, la seconda nel rene dove viene trasformata nella sua forma biologicamente più attiva (1-25 OH₂ D3 o calcitriolo) che poi, legandosi a specifici recettori, agisce su diversi tessuti con un meccanismo simil-ormonale (3). La maggioranza delle istituzioni scientifiche internazionali considera come sufficienti/normali valori di vitamina D (25-OH-D) superiori a 30 ng/ml, insufficienti valori compresi tra 20 e 30 ng/ml e indicativi di deficit quelli inferiori a 20 ng/ml. Il deficit viene considerato severo quando i valori di vitamina D sono inferiori a 12 ng/ml (4).

Nel 2018 è stata mappata la situazione dei livelli ematici di vitamina D in vari Paesi: è stata documentata una carenza di vitamina D in circa il 20% della popolazione del Nord Europa, nel 30-60% in Europa occidentale, e negli Stati europei del Sud e dell'Est, e fino all'80% nei Paesi del Medio Oriente. Una carenza grave è stata osservata in più del 10% degli Europei. L'Italia è uno dei Paesi (assieme a Spagna e Grecia) con maggiore prevalenza di ipovitaminosi D. Nel Nord Europa la prevalenza è minore per la radicata consuetudine di aggiungere cibi di largo consumo (latte, formaggio, yogurt ecc.) con vitamina D e all'uso di olio di fegato di merluzzo (5). Secondo i dati italiani resi disponibili dalla Consensus sulla vitamina D in età pediatrica, promossa dalla Società Italiana di Pediatria (SIP) e dalla Società Italiana di Pediatria Preventiva e Sociale (SIPPS), in collaborazione con la Federazione Medici Pediatri (FIMP), l'ipovitaminosi D si registra nel 75% dei bambini e nell'83% degli adolescenti italiani (6).

I fattori di rischio sono rappresentati da:

- a) ridotta esposizione alla luce solare, soprattutto nei mesi invernali, sia per la minore irradiazione solare, sia per l'esaurimento delle riserve accumulate durante l'estate;
- b) abitudini e stili di vita (passare molte ore chiusi in casa davanti al computer o alla tv, assente attività fisica all'aperto);
- c) elevata pigmentazione cutanea, per etnia o fototipo (la pelle scura non permette ai raggi solari di filtrare);
- d) aumentato fabbisogno in adolescenza, a causa del picco di massa ossea;

e) obesità, in quanto il tessuto adiposo "sequestra" la vitamina D;

f) patologie concomitanti, ad es. insufficienza epatica o renale, malassorbimento intestinale, o assunzione di farmaci interferenti con il metabolismo della vitamina D, ad es. antiepilettici, corticosteroidi;

g) regimi alimentari carenti, come la dieta vegana.

Dopo il primo anno di vita e fino ai 18 anni, la profilassi deve essere individualizzata in base alla presenza o meno di fattori di rischio: particolare attenzione va rivolta al periodo adolescenziale (7).

Una carenza di vitamina D in infanzia e adolescenza può compromettere la funzione di regolazione sui vari comparti del metabolismo e il picco di massa ossea entro i 20 anni, che è inversamente proporzionale alla probabilità di andare incontro all'osteoporosi nelle epoche successive della vita. L'aumento di sedentarietà negli adolescenti a livello globale, in rapporto anche all'abuso di tempo passato davanti allo schermo, rappresenta un importante fattore di rischio per l'osteoporosi, sia per la ridotta esposizione alla luce che per gli effetti negativi del ridotto esercizio fisico (8). Pur essendo ampiamente disponibili dati che associano la carenza di vitamina D a malattie diverse da quelle da scarsa mineralizzazione ossea, non si conoscono i livelli ematici necessari per ridurre l'incidenza di tali patologie (9).

La vitamina D nelle infezioni e nel Covid-19

L'ipotesi di un ruolo della vitamina D nell'infezione da Covid-19 nasce dalla correlazione fra ipovitaminosi D e aumento delle infezioni, anche virali. Una review che ha esaminato le interazioni fra vitamina D, sistema immunitario e patologie infettive, ha documentato ipovitaminosi D in numerose patologie infettive, come tubercolosi, infezioni acute respiratorie ed enteriche, otite media, infezioni da Clostridium, vaginosi, infezioni del tratto urinario, sepsi, influenza, mononucleosi infettiva, dengue, epatite B e C, Ebola, HIV, parassitosi e infezioni micotiche. Gli Autori concludono che la vitamina D può agire come una panacea contro diverse infezioni (10). Bambini con sepsi mostrano livelli di vitamina D più bassi e livelli insufficienti di vitamina D correlano a un decorso peggiore (11). Nell'ambito delle malattie respiratorie, bassi livelli ematici di vitamina D si associano a maggior rischio di bronchiolite (12), asma (13), infezioni delle alte e basse vie respiratorie (14), mentre una concentrazione di 25(OH)D superiore a 38 ng/ml sembra associarsi al dimezzamento del rischio di infezioni acute dell'apparato respiratorio in giovani adulti sani, supportando l'utilità di una supplementazione di vitamina D in inverno allo scopo di ridurre incidenza e gravità di infezioni respiratorie, compresa l'influenza, soprattutto nei gruppi a rischio di ipovitaminosi D come donne in gravidanza, individui dalla pelle scura, obesi (15). Uno studio condotto in Sud Corea ha evidenziato valori ridotti di 25(OH)D (14 ± 8 ng/ml) in pazienti con polmonite acuta

acquisita in comunità (16). La maggiore incidenza delle malattie respiratorie in inverno (compreso il Covid-19) potrebbe essere correlata alle variazioni stagionali di vitamina D (17).

I bassi livelli di vitamina D nelle malattie acute potrebbero tuttavia essere un epifenomeno dell'infiammazione, dunque una conseguenza e non una causa del quadro clinico (18). Inoltre, lo stato della vitamina D potrebbe non essere valutato con precisione da un singolo campione durante una malattia critica a causa di diversi fattori di confondimento quali livelli di albumina, proteine leganti ed emodiluizione (19).

Riguardo alla prevenzione delle infezioni respiratorie, una meta-analisi che ha considerato 25 studi clinici randomizzati controllati, per un totale di oltre 11.000 pazienti tra 0 e 95 anni, ha evidenziato che la supplementazione di vitamina D riduce di due terzi l'incidenza di infezioni respiratorie acute nei soggetti con livelli di 25(OH)D inferiori a 16 ng/ml; i benefici erano più evidenti in coloro che avevano ricevuto dosi frequenti (ad esempio giornaliere) che in quelli che hanno ricevuto dosi in bolo (20). Parimenti, la supplementazione di vitamina D ha dimostrato effetto protettivo nei confronti di diverse infezioni respiratorie acute in una revisione sistematica di studi controllati randomizzati su bambini e adolescenti entro i 18 anni (21). Viceversa, un altro studio non ha riscontrato differenze nella prevalenza di malattie respiratorie virali in 703 bambini sani randomizzati a una dose convenzionale (400 UI/giorno) o ad alto dosaggio (2000 UI/giorno) di vitamina D per via orale (22).

Alte dosi di vitamina D sono state sperimentate durante la sepsi acuta o una malattia critica con risultati contrastanti. Lo studio VITdAL-ICU è il più grande studio pubblicato fino ad oggi negli adulti in terapia intensiva circa l'integrazione di vitamina D e non ha mostrato alcun beneficio sulla mortalità globale, ma miglioramento in coloro che erano gravemente carenti (< 12 ng/ml). Ulteriori informazioni sono attese nel 2023 dallo studio VITdALIZE, tuttora in corso (23).

Numerosi studi stanno approfondendo il possibile collegamento della vitamina D col Covid-19, sia a livello di prevenzione di terapia (24), anche in riferimento alla popolazione pediatrica e adolescenziale (25). Si è ipotizzato che la carenza di vitamina D possa predisporre alla malattia da Covid-19 o essere fattore di rischio per un decorso più severo, in rapporto al controllo esercitato dall'ormone sulla tempesta di citochine collegata alle conseguenze più gravi dell'infezione da SARS-CoV-2, come la sindrome da distress respiratorio acuto, o alla protezione dalle complicanze di tipo cardiaco o coagulativo della malattia (26).

In uno studio spagnolo, oltre l'80% degli oltre 200 pazienti ricoverati per Covid-19 aveva una carenza di vitamina D; inoltre, più marcata era la carenza di tale vitamina, maggiori erano i livelli sierici di marcatori infiammatori come la ferritina e il D-dimero (27). Un altro studio ha evidenziato in diversi Paesi europei significative correlazioni tra i livelli di vitamina D, il numero di casi Covid-19 e la mortalità causata dall'infezione (28). In uno studio che ha analizzato la correlazione dei livelli di vitamina D con casi

di Covid-19 e decessi in 20 Paesi europei al 20 maggio 2020 è stata osservata una significativa correlazione negativa ($p = 0,033$) tra livelli medi di vitamina D e casi di Covid-19 per milione di abitanti, mentre la correlazione con i decessi non era significativa (29). Uno studio condotto presso la *Boston University School of Medicine* su 235 pazienti ricoverati per Covid-19 ha concluso che buoni livelli di vitamina D nel sangue, pari a 30 ng/ml, riducono del 54% il rischio di infezione da Sars-CoV-2, proteggono dalle complicanze legate alla iper-infiammazione e riducono il rischio di morte per Covid-19 del 55% (30). È in corso una sperimentazione controllata e randomizzata, chiamata Coronavit, su 5.440 persone, coordinata dalla *Queen Mary University* di Londra, per testare i presunti effetti protettivi della vitamina D contro il Covid-19. Il trial durerà sei mesi e i risultati definitivi sono attesi nel giugno 2021. Fino alla disponibilità di questi dati, il legame tra Covid-19 e vitamina D resta da considerare ipotetico (31).

Importanti sono anche le considerazioni che riguardano la sicurezza, in quanto, ad eccezione di alcune rare situazioni di ipersensibilità alla vitamina D, ad es. mutazione nel gene CYP24A1 o sarcoidosi, l'integrazione giornaliera con dosi moderate di vitamina D è considerata sicura, fino a 2000-4000 UI/die (32).

Diversi sono i meccanismi proposti per le proprietà anti-infettive, antinfiammatorie e immunomodulatorie della vitamina D, che ha recettori specifici in molti tipi di cellule coinvolte in risposte immunitarie innate e adattative: macrofagi e cellule dendritiche presentano l'antigene, linfociti T e B, monociti (33). Si suppone un effetto antagonista diretto sulla replicazione virale (34), ma hanno altresì importanza: il ruolo di mantenimento delle "tight junctions" sia a livello della barriera polmonare che intestinale, dove bassi livelli di vitamina D possono essere associati a maggiore permeabilità intestinale e, di conseguenza, all'endotossinemia metabolica che induce un'infiammazione di basso grado predisponendo alle infezioni (35); l'incremento dell'espressione di polipeptidi quali la catelicidina e le beta-defensine, ad attività anti-endotossinica, antivirale e immunomodulatoria (36); la riduzione della produzione di citochine proinfiammatorie da parte dei macrofagi (37). Quest'ultimo meccanismo sarebbe particolarmente significativo nell'effetto protettivo della vitamina D nei confronti delle complicazioni legate alla fase di iper-infiammazione indotta da Covid-19 (38). Il potenziale terapeutico della vitamina D nelle polmoniti è attribuito proprio alla riduzione dei livelli di IL-6 (39). È stato ipotizzato anche un ruolo di cooperazione della vitamina D con l'interferone tipo I, uno dei mediatori più potenti dell'attività anti-virale innata. Sembrerebbe che le complicanze del Covid-19 possano essere legate alla produzione insufficiente o ritardata di interferone I nella primissima fase dell'infezione (40). Studi in modelli murini, inoltre, hanno dimostrato che il calcitriolo presenta un effetto preventivo sulla polmonite interstiziale indotta sperimentalmente, mentre la sua carenza è stata correlata con la severità dell'infiammazione (41), supportando l'ipotesi che nel Covid-19 la vitamina D possa avere un ruolo nell'arrestare l'iper-infiammazione e accelerare il processo di guarigione del tessuto polmo-

nare (42). È stato anche riportato che i metaboliti della 1,25-dihydroxivitamina D stimolano la sintesi del surfattante nelle cellule alveolari di tipo II; tale azione può risultare protettiva nei confronti dell'aggressione dell'infezione da Sars-CoV-2 riducendo il livello di tensioattivo e aumentando la tensione superficiale (43). La vitamina D nell'infezione da Sars-CoV-2 sembra agire soprattutto sull'immunità innata (44), che, essendo più rapida, è più significativa nella reazione immediata al Covid19 rispetto alla immunità adattativa (45), nei confronti della quale parrebbe addirittura esserci inibizione da parte di alte dosi di vitamina D (46). Sono stati comunque riportati bassi livelli di T-reg, importante baluardo dell'immunità adattativa contro l'infiammazione incontrollata e l'infezione virale in generale, in molti pazienti con Covid-19. Il loro livello può aumentare grazie all'integrazione di vitamina D (47). Il deficit di vitamina D è associato anche a un aumento di episodi di trombosi microvascolari, spesso osservati nelle forme gravi di Covid-19 (48). Da segnalare, infine, il possibile effetto benefico della vitamina D nei confronti di due sintomi caratteristici del Covid-19, l'ageusia e l'anosmia, legato alla sua attività neuro-protettiva, in quanto capace di indurre l'espressione di fattori neurotrofici chiave per la funzionalità neurale (neurotrofine) come il fattore di crescita nervoso (NGF) (49). In conclusione, gli studi al momento indicano di garantire livelli adeguati di vitamina D nel Covid-19, come nella popolazione in generale, ricorrendo alla supplementazione farmacologica solo a fronte di una carenza comprovata da esami ematici, non essendo dimostrato che la vitamina D sia utile nella prevenzione o cura della malattia acuta (50).

Bibliografia

- Holick MF. Vitamin D and Bone Health. *J Nutr.* 1996; 126(4 Suppl):1159S-1164S.
- Bouillon R, Marcocci C, Carmeliet G, et al. Skeletal and Extraskelatal Actions of Vitamin D: Current Evidence and Outstanding Questions. *Endocr Rev.* 2019; 40:1109-1151.
- Bikle DD. Vitamin D Metabolism, Mechanism of Action, and Clinical Applications. *Chem Biol.* 2014; 20(21):319-329.
- Italian Association of Clinical Endocrinologists (AME) and Italian Chapter of the American Association of Clinical Endocrinologists (AACE). Position Statement: Clinical Management of Vitamin D Deficiency in Adults. *Nutrients.* 2018; 10(5):546.
- Lips P, Cashman KD, Lamberg-Allardt C, et al. Current vitamin D status in European and Middle East countries and strategies to prevent vitamin D deficiency: a position statement of the European calcified tissue society. *Eur J Endocrinol.* 2019; 180:23-54.
- https://www.sipps.it/pdf/rivista/anno10/2_3ss_2015.pdf.
- Dalle Carbonare L, Valenti MT, Del Forno F, et al. Vitamin D: Daily vs. Monthly Use in Children and Elderly - What Is Going On? *Nutrients.* 2017; 9(7):652.
- Duckham R. L, Baxter-Jones ADG, Johnston JD, et al. Does Physical Activity in Adolescence Have Site-Specific and Sex-Specific Benefits on Young Adult Bone Size, Content, and Estimated Strength? *J Bone Miner Res.* 2014;29:479-86.
- Holick MF. Sunlight and vitamin D for bone health and prevention of autoimmune diseases, cancers, and cardiovascular disease. *Am J Clin Nutr.* 2004; 80(6 Suppl):1678S-88S.
- Borella E, Nesher G, Israeli E, et al. Vitamin D: A new anti-infective agent? *Ann N Y Acad Sci.* 2014; 1317:76-83.
- Onwuneme C, Carroll A, Doherty D, et al. Inadequate vitamin D levels are associated with culture positive sepsis and poor outcomes in paediatric intensive care. *Acta Paediatr.* 2015; 104:433-238.
- Maxwell CS, Carbone ET, Wood RJ. Better newborn vitamin D status lowers RSV-associated bronchiolitis in infants. *Nutr Rev.* 2012; 70:548-52.
- Ali NS, Nanji KC. A Review on the Role of Vitamin D in Asthma. *Cureus.* 2017; 9(5):e1288.
- Hughes DA, Norton R. Vitamin D and respiratory health. *Clin Exp Immunol.* 2009; 158:20-25.
- Sabetta JR, De Petrillo P, Cipriani RJ, et al. Serum 25-Hydroxyvitamin D and the Incidence of Acute Viral Respiratory Tract Infections in Healthy Adults. *PLoS One.* 2010; 5(6):e11088.
- Kim H J, Jang J G, Hong K S, et al. Relationship between serum vitamin D concentrations and clinical outcome of community-acquired pneumonia. *Int J Tuberc Lung Dis.* 2015;19:729-734.
- Cannell JJ, Vieth R, Umhau JC, et al. Epidemic influenza and vitamin D. *Epidemiol Infect.* 2006; 134:1129-1140.
- Lee P, Eisman JA, Center JR. Vitamin D deficiency in critically ill patients. *N Engl J Med.* 2009; 360:1912-1914.
- Quraishi SA, Camargo CA Jr. Vitamin D in acute stress and critical illness. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care.* 2012; 15:625-634.
- Martineau AR, Jolliffe DA, Hooper RL, et al. Vitamin D supplementation to prevent acute respiratory tract infections: systematic review and meta-analysis of individual participant data. *BMJ.* 2017; 356:i6583.
- Xiao L, Xing C, Yang Z, et al. Vitamin D supplementation for the prevention of childhood acute respiratory infections: a systematic review of randomised controlled trials. *Br J Nutr.* 2015; 114:1026-1034.
- Aglipay M, Birken CS, Parkin PC, et al. Effect of High-Dose vs Standard-Dose Wintertime Vitamin D Supplementation on Viral Upper Respiratory Tract Infections in Young Healthy Children. *JAMA.* 2017; 318:245-254.
- Amrein K, Schnedl C, Holl A, et al. Effect of High-Dose Vitamin D3 on Hospital Length of Stay in Critically Ill Patients With Vitamin D Deficiency: The VITdAL-ICU Randomized Clinical Trial. *JAMA.* 2014; 312:1520-1530.
- Grant WB, Lahore H, McDonnell SL. Evidence that Vitamin D Supplementation Could Reduce Risk of Influenza and COVID-19 Infections and Deaths. *Nutrients.* 2020; 2;12(4):988.
- Panfilii FM, Roversi M, D'Argenio P, et al. Possible role of vitamin D in Covid-19 infection in pediatric population. *J Endocrinol Invest.* 2020; 15:1-9.
- Bilezikian JP, Bikle D, Hewison M, et al. Vitamin D and COVID-19. *Eur J Endocrinol.* 2020;183(5):R133-R147.
- Hernández JL, Nan D, Fernandez-Ayala M, et al. Vitamin D Status in Hospitalized Patients with SARS-CoV-2 Infection. *J Clin Endocrinol Metab.* 2020 Oct 27:dga733.

28. Ilie PC, Stefanescu S, Smith L. The role of vitamin D in the prevention of coronavirus disease 2019 infection and mortality. *Aging Clin Exp Res.* 2020; 6:1-4.
29. Ali N. Role of vitamin D in preventing of COVID-19 infection, progression and severity. *J Infect Public Health.* 2020; 13(10):1373-1380.
30. Maghbooli Z, Sahraian M A, Ebrahimi M. Vitamin D sufficiency, a serum 25-hydroxyvitamin D at least 30 ng/mL reduced risk for adverse clinical outcomes in patients with COVID-19 infection. *PlosOne* 2020.
31. Bergman P. The link between vitamin D and COVID-19: distinguishing facts from fiction. *Journal of Internal Medicine.* 2020.
32. Zemba P, Bergman P, Camargo Jr CA, et al. Vitamin D deficiency and the COVID-19 pandemic. *J Glob Antimicrob Resist.* 2020; 22:133-134.
33. Bartley J. Vitamin D: emerging roles in infection and immunity. *Expert Rev Anti Infect Ther.* 2010; 8:1359-69.
34. Teymoori-Rad M, Shokri F, Salimi V, et al. The interplay between vitamin D and viral infections. *Rev Med Virol.* 2019; 29(2):e2032.
35. Chen H, Lu R, Zhang YG, Sun J. Vitamin D Receptor Deletion Leads to the Destruction of Tight and Adherens Junctions in Lungs. *Tissue Barriers.* 2018; 6:1-13.
36. Mansbach JM, Piedra PA, Borregaard N, et al. Serum cathelicidin level is associated with viral etiology and severity of bronchiolitis. *J Allergy Clin Immunol.* 2012; 130:1007-1008.
37. Mangin M, Sinha R, Fincher K. Inflammation and vitamin D: the infection connection. *Inflamm. Res.* 2014; 63:803-819.
38. Mehta P, McAuley DF, Brown M, et al. COVID-19: consider cytokine storm syndromes and immunosuppression. *Lancet.* 2020; 395:1033-1034.
39. Miroliaee AE, Salamzadeh J, Shokouhib S, et al. The study of vitamin D administration effect on CRP and Interleukin-6 as prognostic biomarkers of ventilator associated pneumonia. *J Crit Care.* 2018; 44:300-305.
40. Gauzzi MC, Fantuzzi L. Reply to Jakovac: COVID-19, vitamin D, and type I interferon. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2020; 319:E245-E246.
41. Tsujino I, Ushikoshi-Nakayama R, Yamazaki T, et al. Pulmonary activation of vitamin D3 and preventive effect against interstitial pneumonia. *J Clin Biochem Nutr.* 2019; 65:245-251.
42. Mohan M, Cherian JJ, Sharmal A. Exploring links between vitamin D deficiency and COVID-19. *PLOS Pathogens.* 2020; 18.
43. Ebadi M, Monano-Loza AJ. Perspective: improving vitamin D status in the management of COVID-19. *Eur J Clin Nutr.* 2020; 74:856-859.
44. Prieti B, Treiber G, Pieber TR, et al. Vitamin D and Immune Function. *Nutrients.* 2013; 5:2502-2521.
45. <https://www.medrxiv.org/content/10.1101/2020.06.22.20137141v2>
46. Sassi F, Tamone C, D'Amelio P. Vitamin D: Nutrient, Hormone, and Immunomodulator. *Nutrients.* 2018; 10(11):1656.
47. Fisher SA, Rahimzadeh M, Brierley C, et al. The role of vitamin D in increasing circulating T regulatory cell numbers and modulating T regulatory cell phenotypes in patients with inflammatory disease or in healthy volunteers: A systematic review. *PLoS One.* 2019; 14(9):e0222313.
48. Weir EK, Thenappan T, Bhargava M, Chen Y. Does vitamin D deficiency increase the severity of COVID-19? *Clin Med (Lond).* 2020; 20:e107-e108.
49. Xu Y, Baylink DJ, Chen C, et al. The importance of vitamin d metabolism as a potential prophylactic, immunoregulatory and neuroprotective treatment for COVID-19. *J Transl Med.* 2020; 18(1):322.
50. McCartney DM, Byrne DG. Optimisation of Vitamin D Status for Enhanced Immuno-protection Against Covid-19. *Ir Med J.* 2020; 113(4):58.

Corrispondenza:

Carlo Alfaro

U.O.C. di Pediatria - OO.RR. Area Stabiese.

Castellammare di Stabia, Napoli

Tel. 0818729203- 3336996970

E-mail: carloalfaro@tiscali.it

Il microbiota intestinale: un alleato della salute dell'uomo

Carlo Alfaro, Emma Acampora, Tommaso Cozzolino, Marialuisa D'Arco

U.O.C. di Pediatria - OO.RR. Area Stabiese. Castellammare di Stabia, Napoli.

Riassunto

La relazione del microbiota con l'ospite umano si è affermata nel corso dell'evoluzione del sapiens selezionando un'ampia varietà di simbionti che possono intrattenere con l'uomo rapporti di tipo puramente commensale o mutualistico (probiotico), benché taluni possano in condizioni di disbiosi trasformarsi in patogeni (patobionti). Alla nascita il microbiota è solo di origine materna, nei primi due anni l'intestino viene colonizzato dai batteri dell'ambiente e raggiunge le sue caratteristiche definitive entro i 3 anni. Il microbiota intestinale costituisce un vero e proprio ulteriore organo (concetto dell'olobionte), il cui genoma (microbioma), numericamente di molto superiore a quello umano, ne integra numerose funzioni: protettiva, trofico-metabolica, detossificante, di stimolazione e modulazione del sistema immunitario, di regolazione della funzione cerebrale. I fattori ambientali (epigenetici) possono incidere su rischio e progressione delle malattie, attraverso la mediazione del microbiota intestinale. L'impiego di tecnologie molecolari cosiddette "meta-omiche" ha consentito di identificare le specie compositive del microbiota, per gran parte non coltivabili. Benché non sia ancora definibile uno standard clinico di "microbiota sano", le ricerche stanno facendo emergere la correlazione tra specifici pattern microbici e quadri patologici ben definiti.

Parole chiave: Microbiota intestinale, Disbiosi, Salute dell'Uomo.

Gut microbiota: An ally of human health

Summary

The relationship of the microbiota with the human host has established in the course of the evolution of sapiens by selecting a wide variety of symbionts with purely commensal or mutualistic (probiotic) function, although some may under conditions of dysbiosis become pathogens (pathobionts). At birth, the microbiota is only of maternal origin, in the first two years gut is colonized by environmental bacteria and reaches its definitive characteristics within 3 years. Gut microbiota is a real further organ (concept of the holobiont), whose genome (microbiome), numerically much higher than the human one, integrates main functions: protective, trophic-metabolic, detoxifying, stimulating and modulating the immune system, regulating brain function. Environmental (epigenetic) factors can affect the risk and progression of diseases through the mediation of the gut microbiota. The use of meta-omics molecular technologies has made it possible to identify the compositional species of the microbiota, for the most part not cultivable. Although a clinical standard of "healthy microbiota" is not yet definable, research is bringing out the correlation between specific microbial patterns and humans pathologies.

Key words: Gut microbiota, Dysbiosis, Human health.

Il microbiota umano

Il microbiota è l'insieme dei microorganismi (circa 100 trilioni) che in condizioni fisiologiche colonizzano le superfici dei diversi distretti del corpo umano esposti all'ambiente esterno: cute, vie respiratorie, apparato urogenitale e apparato digerente (che

accoglie più del 70% del totale dei microbi), rendendo il corpo umano un "superorganismo" (olobionte), costituito dalle proprie cellule eucariote e da quelle procariotiche: il cosiddetto "homo bacteriens" (1). Si tratta in prevalenza di batteri, ma anche virus (batteriofagi), funghi, protozoi. Il rapporto microbiota/ospite si configura, nella maggior parte dei casi, quale di tipo "commen-

sale" (uno dei due ottiene dei benefici senza influenzare l'altro), per alcune specie è invece "mutualistico" (cooperazione tra differenti tipologie di organismi che apporta un vantaggio a ognuna di esse) (2). Il microbiota del canale digerente, prevalentemente concentrato nel colon, è una biomassa di cellule batteriche il cui numero è perlomeno simile a quello delle cellule dell'organismo umano; va considerato un vero e proprio organo, di circa 1,500 Kg nell'adulto e, in quanto organo, ha una sua fisiologia e patologia che si riflettono su quelle dell'organismo (3).

Il microbiota del neonato è completamente di origine materna (trasmissione verticale): in parte sarebbe trasmesso già nella vita fetale. Il meconio dei neonati a termine ospita circa 30 generi di batteri a provenienza da liquido amniotico, vagina, latte materno, capezzoli e labbra della mamma. Durante la gravidanza, il microbiota intestinale materno viene "fotocopiato" a livello vaginale e mammario per il passaggio di consegne dell'eredità microbica al neonato ai fini di modulazione e supporto alle sue funzioni essenziali (4). Nei primi mesi il microbiota è poco vario; durante il primo anno di vita la diversità aumenta sempre di più a partire da batteri presenti nell'ambiente e nella dieta; dopo i 2 anni assume caratteristiche simili a un adulto. Le comunità batteriche restano poi stabili dal terzo anno di vita alla senescenza, a meno che non compaiano eventi che rompano l'equilibrio (5).

Il microbiota di ciascun distretto corporeo è composto da specie diverse, adattate a quello specifico ambiente. Anche all'interno dell'intestino, la composizione varia nei diversi siti. Le comunità microbiche dei vari distretti dell'organismo comunicano tra loro e con le cellule dell'ospite attraverso metaboliti e citochine (cross-talk) (6).

Il microbioma (insieme del patrimonio genetico del microbiota dell'uomo) comprende oltre 3.3 milioni di geni (ma sarebbero anche oltre 10 milioni), mentre il corredo genetico umano è di circa 33.000 geni: assieme costituiscono l'ologenoma, che identifica ogni individuo rispetto a un altro. Nonostante l'elevata variabilità interindividuale, si ipotizza che vi sia un "nucleo" comune a tutta l'umanità di specie batteriche ("core microbiota") e dei relativi geni, conservato gelosamente durante l'evoluzione per garantire la "stabilità di funzione", vale a dire quelle funzioni imprescindibili per la fisiologia del corpo (7). Il microbioma è capace di trasformare plasticamente la propria espressione genica in relazione a fattori ambientali quali il tipo di dieta e lo stile di vita, svolgendo un ruolo essenziale per il mantenimento dell'omeostasi dell'organismo in risposta ai cambiamenti esterni (8).

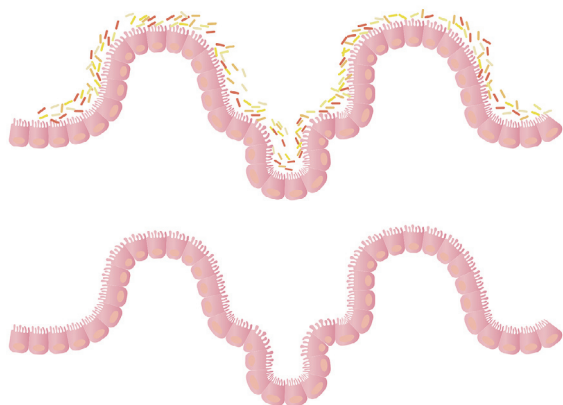
Diverse sono le funzioni attribuite al microbiota umano (9). Innanzitutto, protezione contro la colonizzazione e la traslocazione dei microrganismi potenzialmente patogeni verso il circolo ematico, attraverso: effetto barriera, inibizione competitiva per riduzione della disponibilità dei nutrienti, occupazione e spiazzamento dei patogeni dai siti recettoriali sull'epitelio, produzione di sostanze nocive per un'altra specie batterica ("amensalismo") (10).

Poi va considerata l'azione nutrizionale e metabolica, che si esplica attraverso la regolazione: dell'epitelio (stimolazione di differenziazione, rinnovamento, cicatrizzazione); del trofismo del-

l'enteroglia (responsabile della peristalsi intestinale); della sintesi di vitamine (B12, folato, K, riboflavina, biotina, acido nicotinico, acido pantotenico, piridossina, tiamina); dell'assorbimento di ioni (Mg, Ca, Fe); della produzione di composti a funzione trofica per l'enterocita: acidi grassi a catena corta, o SCFA (acido butirrico, acetico, propionico e succinico), aminoacidi, poliamine, fattori di crescita, lattato, metaboliti della colina (precursore di fosfatidilcolina e sfingomielina delle membrane); dell'attività digestiva, mediata da centinaia di enzimi ad attività fermentativa o putrefattiva; del metabolismo degli acidi biliari (11).

Un'altra azione è quella detossificante, che si esplica attraverso la sintesi di enzimi per la trasformazione e la neutralizzazione degli xenobiotici (farmaci, in particolare antibiotici; contaminanti naturali e ambientali; sostanze usate nelle pratiche agricole e zootecniche). Attraverso l'interazione con i farmaci, il microbiota intestinale ne condiziona biodisponibilità, bioattività, tossicità e dunque rende in parte ragione di efficacia e sicurezza diversi tra un paziente e un altro (12). Fondamentale la funzione di stimolazione, maturazione e modulazione del sistema immunitario (in particolare nei primi 5-7 anni di vita): il non-self batterico endoluminale interagisce, attraverso lo strato degli enterociti, con il sistema immunitario mucosale intestinale (GALT, *Gut-Associated Lymphoid Tissues*), cui propone un carico antigenico determinante nell'attivare la maturazione dell'immunità innata e acquisita. Ciò avviene attraverso un complesso cross-talk mediato da componenti microbici (DNA, acido lipoteicoico, lipopolisaccaridi, PAMPS-*Pathogen Associated Molecular Patterns*) e loro metaboliti (acidi grassi a catena corta, indolo) che, oltre a regolare la funzionalità della barriera intestinale (integrità epiteliale, produzione di muco, permeabilità e motilità intestinale) attivano le cellule immunitarie; inoltre i microbi intestinali producono o stimolano la produzione da parte delle cellule umane di citochine e chemochine con proprietà immunostimolanti e anti-infiammatorie (13). Specifici antigeni batterici (quali il lipopolisaccaride o le sequenze di CpG non metilate caratteristiche del DNA batterico) interagiscono con i recettori di superficie degli epitelii come *Toll-Like Receptors* (TLRs) e *NOD-like receptors*, provocando l'attivazione di specifici geni che producono citochine quali interleuchina (IL)-6 e -10 e *transforming growth factor-β* (TGF-β), recettori cellulari per le citochine, molecole di adesione, proteine immuno-regolatorie e stress-associate, che favoriscono il reclutamento di cellule dendritiche, basofili, neutrofili, cellule *Natural Killer*, linfociti B produttori di IgA secretorie. Questi pathways da una parte innescano una pronta risposta immunitaria e l'eliminazione dei patogeni, dall'altra favoriscono la tolleranza verso i batteri commensali e garantiscono un basso livello di flogosi (14). Il microbiota garantisce, inoltre, lo sviluppo di un profilo linfocitario ottimale, che vede il giusto equilibrio tra le varie popolazioni: oltre Th1 e Th2, anche T-reg, un subset di cellule T con funzioni regolatorie sulla risposta immunitaria: stimolando le cellule dendritiche a produrre la citochina TGF-β, i batteri intestinali attivano un *network* linfocitario gestito dalle Treg, equilibrato nei confronti di risposte polariz-

zate verso un profilo Th2 (allergie) o Th1 (malattie autoimmuni). È il superamento della teoria igienica, che attribuiva questo ruolo modulatorio alle infezioni batteriche (15).



Significativo è anche il ruolo del microbiota nella regolazione della funzione cerebrale. Cervello e intestino costituiscono un complesso sistema anatomico-funzionale (asse intestino-cervello) in continua comunicazione bidirezionale, che permette al cervello di regolare numerose funzioni intestinali (sensibilità viscerale, motilità, secrezione, assorbimento, produzione di metaboliti, risposte immunitarie) e al tratto gastro-intestinale di modulare quelle cerebrali (funzioni cognitive, emotive, comportamentali e nocicettive).

A mediare questa comunicazione è il microbiota intestinale, tanto che si parla attualmente di "brain-gut-enteric-microbiota axis". Il cervello controlla il sistema microbiota-intestino tramite il sistema nervoso autonomo (simpatico-parasimpatico) e il rilascio di peptidi neuroendocrini (CGRP, sostanza P, peptide intestinale vasoattivo, neuropeptide Y) e di cortisolo tramite l'asse ipotalamo-ipofisi-surrene. Viceversa, il microbiota intestinale controlla il cervello tramite neurotrasmettitori (GABA, dopamina, serotonina, melatonina, adrenalina, noradrenalina, acetilcolina), acidi grassi a catena corta, metaboliti del triptofano, lattato, acidi biliari, metaboliti della colina, vitamine, molecole infiammatorie, stimolazione diretta delle terminazioni del nervo vago (16). Il microbiota intestinale condiziona sviluppo e la maturazione del SNC sin dalle primissime epoche della vita, favorendo neurogenesi, ramificazione neuronale, sviluppo di microstruttura, sinapsi e attività funzionali (17). Ciò può avere particolare rilievo in epoca adolescenziale. Come è noto il funzionamento del cervello in adolescenza ha delle peculiarità sia rispetto ai bambini che agli adulti: i circuiti neuronali responsabili dell'appagamento e del piacere sono ipersensibili agli eventi in cui è implicato un rischio, ma anche la possibilità di superarlo, per il *feedback* positivo verso la ricompensa inattesa (ciò spiega la predisposizione alla ricerca di stimoli estremi); c'è poi un fisiologico ritardo di maturazione delle aree cerebrali di controllo e di giudizio ("controller"), deputate al

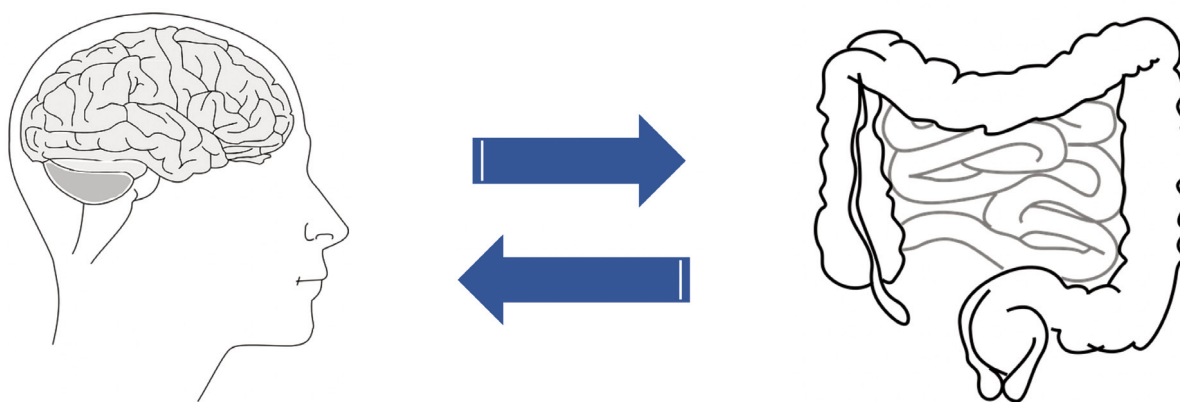
"decision making" e al discernimento di quali bisogni assecondare (corteccia frontale e la cingolata anteriore), che si sviluppano verso i 20-25 anni, a vantaggio delle aree cerebrali del "driver", che regolano i bisogni fisici e sono responsabili degli impulsi emotivi (regioni sottocorticali, rappresentate dal sistema limbico, a sviluppo verso i 14-15 anni). Da ciò la frequenza dell'emergere in questa fascia di età di disturbi psicosomatici o psichiatrici, disturbi del comportamento alimentare, dipendenza da internet e video-giochi, bullismo, violenza, abuso di alcol e sostanze, promiscuità sessuale. Il ruolo dell'asse *microbiota-gut-brain* in tali processi mentali è oggetto di interessanti speculazioni (18).

I fattori che influenzano il microbiota

Una grande sfida è identificare la tipologia di microbi che caratterizza il pattern intestinale in condizioni fisiologiche e le sue modificazioni in rapporto agli eventi esterni. Almeno il 60-80% dei batteri umani non è coltivabile su piastra; la loro tipizzazione si avvale delle tecnologie molecolari "meta-omiche" che analizzano il DNA (metagenomica), l'RNA prodotto della trascrizione del DNA (metatrascrittomica), le proteine tradotte dal DNA attraverso l'RNA (metaproteomica), i metaboliti all'interno di un organismo o di un ecosistema (metabolomica), il profilo lipidico (metallipidomica) e le interazioni cellulari carboidrati-proteine (metaglicomica) (19). Sono state identificate circa 2.000 specie differenti, appartenenti a 25 phyla, di cui 4 principali: 65% *Firmicutes* (*Lactobacillus*, *Clostridium*, *Enterococcus*), 25% *Bacteroides*, circa 10% *Proteobacteria* (*Enterobacteriaceae*, *Escherichia coli*) e *Actinobacteria* (*Bifidobacteri*), ma questi ultimi rappresentano l'85% nel neonato. Di tutte le specie, alcune sono puri commensali, ad es. *Acinetobacter calcoaceticus*, *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus faecium*, *Streptococcus salivarius thermophilus*; altre sono utilissime (probiotici), come i Lactobacilli, il *Bacteroides thetaiotaomicron*, i *Bifidobacteri*; altre infine sono innocue in eubiosi, ma possono diventare nocive in talune circostanze (patobionti), come il *Clostridium difficile*, *Bacteroides fragilis*, *Enterococcus faecium*, *Fusobacterium*, *Peptococcus*, *Peptostreptococcus*, *Ruminococcus*, *Candida albicans* (20).

La composizione del microbiota intestinale dipende da fattori genetici dell'ospite (2%) e ambientali (98%). Tra questi ultimi, nel neonato incidono i fattori materni e peri-natali: caratteristiche etniche, genetiche, biologiche della madre, indice di massa corporea e incremento ponderale durante la gravidanza, infezioni in gravidanza, allergia materna, età gestazionale, stile e abitudini di vita, stress psico-fisico, uso di alcolici o fumo, antibioticoterapia in epoca perinatale, modalità del parto, sede del parto (nosocomiale o domiciliare), contatto precoce pelle-a-pelle tra madre e neonato. Nelle epoche successive, incidono:

a) alimentazione: tipo di allattamento (negli allattati al seno maggiore quantità di *Bifidobacteri*, mentre in alimentati artificial-



mente prevalenza di *E. coli*, *Clostridium difficile*, *Bacteroides fragilis*), modalità di allattamento al seno: diretto al capezzolo o indiretto (paracapezzoli, tiralatte), tasso di supplementazione di ferro nel latte formula, composizione e timing dello svezzamento, dieta successiva;

- b) fattori ambientali: igiene, inquinamento atmosferico, contatto con animali, fumo, farmaci (antibiotici, inibitori di pompa protonica, cortisonici, contraccettivi orali, ansiolitici, antidepressivi, antistaminici, oppioidi, statine), fumo, alcol, stress, infezioni intestinali, intolleranze/allergie alimentari, interventi chirurgici (21).

Alcuni Autori hanno definito una correlazione tra enterotipo (profilo del microbiota) e regime alimentare: la prevalenza di *Bacteroides* denuncia una dieta ricca di grassi e di proteine animali mentre abbondanza di *Prevotella* è caratteristica di diete a base di carboidrati. La dieta di tipo occidentale, ricca di calorie, ad alto contenuto di carboidrati raffinati, grassi saturi, carni rosse, povera di vegetali, frutta e pesce, comporta una ridotta diversità del microbiota e una diminuzione dei *Bifidobatteri* e *Lattobacilli* e un aumento di *Proteobatteri*, profilo associato a effetti pro-infiammatori. Viceversa, una dieta di stile mediterraneo (ricca di frutta, vegetali e cereali integrali e povera di zuccheri, alcol e grassi) aumenta nel colon ricchezza, diversità e presenza di batteri benefici, con proprietà antinfiammatorie (22). Da studi sulle associazioni tra singoli alimenti e loro componenti (macro e micro-nutrienti) o interi modelli nutrizionali (es. vegetariano/vegano, *gluten-free*, chetogenico, *low-carb*, *low FODMAP*, *western-type*, mediterraneo) e la composizione della flora intestinale, emerge la correlazione tra presenza di microbi probiotici e diete a base di cereali integrali, verdure, legumi, pesce, frutta fresca e a guscio, yogurt e prodotti con latte fermentato, e viceversa tra enterotipo meno benefico e assunzione di carne rossa e trasformata, zucchero raffinato, grassi, cibi pronti, dolci (23).

Una dieta ricca di fibre produce nell'intestino una popolazione di microbi più ricca e varia; sono più vantaggiose le fibre fermentabili e c'è differenza anche in base alla varietà di vegetali introdotti (24).

La dieta influenzerebbe anche la risposta dei batteri intestinali agli antibiotici. In uno studio sui topi trattati con diversi antibiotici, monitorando i cambiamenti di composizione dei batteri nell'intestino a seconda dell'alimentazione, si è trovato che in animali trattati con amoxicillina e supplementati con glucosio, la specie benefica *Bacteroides thetaiotaomicron* è risultata preservata (25). Anche il grado di cottura dei cibi influenza la composizione del microbiota intestinale: studi effettuati sia sul modello murino che su quello umano hanno mostrato che il cibo cotto consente di assorbire più calorie nell'intestino tenue, lasciandone meno per i microbi che si trovano nel colon; viceversa, molti cibi crudi contengono composti antimicrobici che possono alterare la flora (26). Il confronto tra il microbioma di reperti organici degli uomini primitivi, quello delle tribù attuali (es. della Tanzania e del Ghana) e degli occidentali mostra che lo sviluppo della civiltà ha portato a un sostanziale impoverimento del microbiota intestinale: urbanizzazione, allontanamento da terreni agricoli e bestiame, dieta ricca di grassi e povera di fibre, stile di vita sedentario, maggiore igiene, abuso di antibiotici, hanno determinato estinzione di numerose specie batteriche.

Un microbiota intestinale diversificato è un indicatore di intestino sano e benessere dell'organismo. La diversità del microbiota attiene alla presenza di diversi tipi di microrganismi che producono migliaia di composti e coesistono armoniosamente nell'habitat dell'intestino ospite.

Il microbiota intestinale delle persone con malattie non trasmissibili (es. malattie cardiovascolari, tumori, malattie respiratorie croniche, diabete), degli obesi e degli anziani è scarsamente diversificato (27). La ridotta varietà del microbiota associata al declino della biodiversità agricola e alimentare dell'epoca attuale potrebbe rappresentare il filo patogenetico con l'aumento di malattie a base infiammatoria (28).

Allo stato attuale delle conoscenze non siamo in grado di identificare la composizione di un microbiota sano, ma possiamo definirlo come un microbiota "*resiliente*", ossia che, in seguito a un insulto ambientale, quale dieta malsana, farmaci o infezioni, è in grado di recuperare lo stato preesistente (29).

Disbiosi e patologia umana

Una persistente alterazione dell'equilibrio del microbiota (disbiosi) comporta danno delle giunzioni serrate epiteliali e quindi perdita di integrità e aumento di permeabilità della mucosa intestinale, passaggio indiscriminato di sostanze tossiche, allergeni, fattori microbici (lipopolisaccaridi prodotti dai batteri Gram negativi e acidi lipoteicoici prodotti dai Gram positivi) nel torrente circolatorio, rottura della tolleranza orale, modificazioni tissutali, attivazione di *pathway* infiammatori locali. Queste condizioni generano uno stato di flogosi minima persistente distrettuale cui consegue, attraverso il rilascio di citochine proinfiammatorie (IL-1 β , IL-6, TNF- α), espansione del processo a livello sistemico con alterazione dei sistemi di omeostasi immunitaria e metabolica, generando la flogosi sistemica *low-grade*, responsabile tra l'altro di resistenza all'insulina, stimolo all'adipogenesi, sviluppo di autoimmunità, cancerogenesi (la cosiddetta "infezione metabolica"). Oggi il microbiota intestinale è concepito come nucleo del benessere per l'organismo, capace di condizionare con relazione causa-effetto stato di salute, peso corporeo, parametri metabolici, personalità, insorgenza di patologie sia del tratto gastrointestinale (dai sintomi di dispepsia alla sindrome del colon irritabile, alle malattie infiammatorie croniche dell'intestino, al cancro del colon) sia di altri organi e distretti (30). Il microbiota intestinale potrebbe addirittura rendere trasmissibili da un individuo all'altro malattie non infettive come obesità, malattie cardiache e Alzheimer, come dimostrato in modelli murini (31).

Addirittura la durata stessa della vita sarebbe legata alla qualità del proprio microbiota intestinale. Ampi studi di popolazione hanno individuato che la longevità risiede in due fattori: una genetica favorevole, che inciderebbe per il 10%, e lo stile di vita. I fattori ambientali che intervengono sulla longevità esercitano il loro determinismo in età pediatrica e adolescenziale, anche attraverso la mediazione della flora intestinale (32). In individui ultra-centenari (105-110 anni) della provincia di Bologna, si è dimostrata la persistenza del "core microbiota", costituito principalmente da famiglie come *Ruminococcaceae*, *Lachnospiraceae*, *Bacteroidaceae* e *Christensenellaceae* o specie come *Bifidobacterium* e *Akkermansia*, associate a un buono stato di salute e produttrici di molecole estremamente importanti per l'organismo come gli acidi grassi a catena corta (33).

Il microbiota interviene anche nella modulazione della crescita e dello sviluppo. La crescita di un bambino e un adolescente, fino all'acquisizione dei caratteri dell'età adulta, con il pieno raggiungimento del proprio potenziale somatico, è il risultato dell'interazione di fattori genetici, ormonali, nutrizionali e ambientali. Si stanno accumulando prove di un legame tra scarso accrescimento in età evolutiva e alterata composizione del microbiota intestinale e del metaboloma (34). Il microbiota intestinale interferirebbe in particolare con l'asse GH/IGF1. In modelli murini con deficit di GH sono stati trovati livelli significativamente ridotti di *Proteobacteria*, *Campylobacteriota*, *Actinobacteria*, ma la varietà

del microbiota migliorava dopo la somministrazione di GH. Anche la funzione metabolica del microbiota misurata come produzione di acetato, butirato, eme B e biosintesi dei folati è risultata influenzata dai livelli di GH (35).

Uno dei campi in cui si stanno accumulando più dati è il rapporto tra microbiota intestinale e obesità. L'obesità è una malattia cronica multifattoriale in cui intervengono in maniera articolata e complessa fattori genetici, metabolici, neuro-immuno-endocrini, psicologici-comportamentali, socio-culturali e ambientali. L'elemento di collegamento tra fattori esterni e fattori intrinseci all'individuo nella fisiopatologia multifattoriale dell'obesità potrebbe risiedere nella qualità del microbiota intestinale, che rende ragione di come mai individui con uguale dieta possano assimilare gli alimenti con diversa efficienza (36). In numerosi studi in bambini, adolescenti e adulti il peso eccessivo è associato a un profilo alterato del microbiota intestinale (37). Diversi sono i meccanismi postulati alla base della relazione tra microbiota e obesità (38). Un primo meccanismo è che il microbiota di individui obesi promuove l'estrazione di calorie addizionali dalla dieta, come emerge da studi condotti su modelli murini. In particolare i *Firmicutes* posseggono degli enzimi (idrolasi) capaci di metabolizzare intensivamente i substrati alimentari fino a zuccheri semplici facilmente assorbibili (39). Importante sarebbe poi il ruolo degli Endocannabinoidi, mediatori cerebrali pleiotropici che regolano tra l'altro l'assunzione di cibo in risposta al digiuno. Quando si crea una condizione di disbiosi, si ha eccesso di produzione di acidi grassi di derivazione batterica, che, essendo strutturalmente simili agli Endocannabinoidi, si legano ai loro recettori e ne stimolano l'attività, favorendo fame e incremento di peso (40). Un altro meccanismo attiene al rapporto tra disbiosi intestinale e flogosi sistemica che è un fattore favorente l'obesità (41). In condizioni di disbiosi si anche è trovato nell'epitelio intestinale ridotta espressione dell'*angiopoietin-like protein 4* (ANGPTL4 o FIAF, *fasting-induced adipose factor*), che svolge funzioni anti-obesità come ridurre l'uptake dei trigliceridi e il loro accumulo in vari tessuti, oltre che indurre lipolisi nel tessuto adiposo (42). Anche gli SCFA (acidi grassi a catena corta), prodotti dalla flora sana, svolgono funzioni di mediatori e modulatori metabolici con attività anti-obesità (43). I batteri intestinali convertono poi gli acidi biliari primari, l'acido colico (CA) e l'acido chenodesossicolico (CDCA), in secondari e terziari, che sono importanti, oltre che per la funzione digestiva, come molecole di segnalazione per modulare il comportamento alimentare e controllare l'omeostasi del glucosio, il metabolismo dei lipidi e il dispendio energetico (44). Il microbiota intestinale promuove inoltre il rilascio di alcuni ormoni che controllano la peristalsi intestinale, come il Peptide YY (PYY), la cui carenza, alterando la velocità di transito, può influenzare la quantità di energia ricavata dai nutrienti (45). Il microbiota stimola infine l'espressione dei geni per i recettori della famiglia NLR, inibitori della risposta immunitaria e dell'infiammazione, di cui il più studiato è NLRP12. Il confronto tra tessuti adiposi isolati da individui sani e obesi ha mostrato un'espressione di NLRP12 significativamente ridotta in questi ultimi. (46). La com-

posizione del microbiota che determina il fenotipo obeso si caratterizza per due condizioni: povertà di specie e specifico profilo batterico (47). Uno studio che ha analizzato il microbiota intestinale di 169 persone obese e di 123 non obese attraverso il sequenziamento del DNA ha rilevato significativa prevalenza di bassa diversità di batteri intestinali nella popolazione degli obese (48). Studi effettuati sia nel topo che nell'uomo hanno riscontrato nei soggetti obese una significativa riduzione dei batteri appartenenti alla famiglia dei *Bacteroidetes* e un parallelo aumento dei batteri della famiglia dei *Firmicutes*, dei *Proteobacteria* (*Enterobacteriaceae*) e dei batteri produttori di metano del genere *Archaea*. Nell'uomo, l'abbondanza relativa di *Firmicutes* si riduce e quella di *Bacteroidetes* aumenta in seguito alla perdita di peso. I generi la cui abbondanza è stata più associata a obesità sono *Prevotella*, *Clostridium*, *Eubacterium*, *Roseburia* generi e *Faecalibacterium prausnitzii*, così come la minore abbondanza del genere *Bifidobacterium*. Ci sarebbe un rapporto di causa-effetto: introducendo in animali axenici (senza microbiota) il microbiota di topi obese e di topi magri si ottiene il peso dei topi donatori; anche utilizzando microbi umani, i topi che ricevono il microbiota dei pazienti obese aumentano maggiormente la loro massa grassa rispetto a topi in cui si trapianta il microbiota dei pazienti magri. I batteri implicati nell'obesità sono funzionalmente quelli collegati a metabolismo e digestione dei substrati (49).

I due generi batterici più associati invece a fenotipi "magri" sono *Christensenella* e *Akkermansia muciniphila* mucina-degradante, quest'ultimo considerato indice di un microbiota in buona salute e di una parete intestinale sana; si trova in debole quantità nei soggetti in sovrappeso, obese, con diabete di tipo 2 e malattie infiammatorie dell'intestino; viceversa aumenta in caso di digiuno (50). Negli adolescenti obese è stata riscontrata la presenza di specifici microbi marcatori, diversi rispetto ai loro coetanei normopeso e agli adulti obese, quali il *Faecalibacterium prausnitzii* e l'*Actinomyces*, e la totale mancanza di altri generi quali *Parabacteroides*, *Rikenellaceae*, *Bacteroides caccae*, *Barnesiellaceae* e *Oscillospira*. Anche le funzioni metaboliche sono differenti: negli adolescenti obese aumentano i metaboliti coinvolti nella sintesi degli acidi biliari primari e degli steroidi e nella gluconeogenesi (51). Studi longitudinali suggeriscono che tali alterazioni precedano lo sviluppo dell'obesità, essendo rilevabili fin dalle prime settimane o mesi di vita in bambini che saranno obese. La prevalenza di *Bifidobatteri*, protagonisti dell'ecosistema intestinale in lattanti nati da parto vaginale e allattati al seno, sembra associata a un minor rischio di sovrappeso, mentre un microbiota "obesogenico" nelle prime epoche della vita prevede la carenza di batteri del genere *Bifidobacterium*, *Desulfovibrio* e *Akkermansia* e una prevalenza di *Bacteroides fragilis*, *Staphylococcus aureus* ed *Enterobacteriaceae*. È stato ipotizzato un trasferimento verticale dell'eredità microbica da madri obese alla loro progenie (52). Dal confronto della composizione del microbiota fecale in 70 bambini e adolescenti di età compresa tra i 4 e i 15 anni, normopeso, a distanza di 4 anni, si è trovato

che i bambini che nell'arco del periodo di osservazione avevano sviluppato sovrappeso/obesità avevano particolari configurazioni del microbiota, a bassa biodiversità e con maggior abbondanza di microrganismi pro-infiammatori, già a partire dal primo campionamento, quando il bambino era ancora normopeso (53). All'obesità infantile si associa anche aumentato rischio di steatosi epatica: in bambini e adolescenti con obesità e fegato grasso è stato riscontrato un microbiota intestinale meno diversificato, inoltre è stato tracciato un profilo batterico/metabolico nella steatosi semplice, caratterizzato da una diminuzione del genere microbico *Oscillospira* e all'aumento di una specifica molecola (2-butanone), e nella steatoepatite, identificato dall'elevato numero dei generi microbici *Ruminococcus* e *Dorea* (54). Per la loro interferenza sul microbiota, anche gli antibiotici potrebbero avere un impatto sul rischio di obesità infantile. Bambini esposti ripetutamente agli antibiotici entro i 48 mesi di età hanno una maggiore probabilità di essere obese all'età di 4 anni: i valori medi dell'indice di massa corporea per età correlano significativamente con il numero di erogazioni di antibiotici e con la somministrazione nel primo anno di vita (55). Bambini nati da donne normopeso ed esposti durante i primi 6 mesi di vita ad antibiotici presentano aumentato rischio di sovrappeso a 7 anni (56). La maggiore vulnerabilità sull'indice di massa corporea si avrebbe con l'impiego di antibiotici nel primo semestre di vita (57).

L'esercizio fisico modifica la composizione del microbiota intestinale e il suo profilo metabolico, facendo prevalere ceppi produttori di acidi grassi a catena corta, con un effetto trofico e anti-infiammatorio; viceversa un determinato tipo di microbiota può influenzare migliori attitudini sportive (58). Trapiantando il microbiota di due gruppi di animali, uno sedentario e l'altro allenato, in ratti germ-free, a distanza di 5 settimane i trapiantati da donatori allenati presentavano un maggior numero di batteri in grado di produrre butirrato, un miglior profilo metabolico, una minor massa corporea e un effetto protettivo contro la colite chimica (59). Nell'uomo, sottoponendo a 6 settimane di allenamento controllato 18 soggetti magri e 14 soggetti obese, tutti in precedenza con abitudini sedentarie, e a successive 6 settimane di vita sedentaria, si è trovato, dopo le 6 settimane di allenamento, indipendentemente dalla dieta, aumento delle concentrazioni fecali di butirrato, nei soggetti magri, ma non in quelli obese. Tuttavia, le modificazioni indotte dall'esercizio svanivano del tutto, una volta tornati a vita sedentaria (60). L'introduzione nei ratti di batteri intestinali del genere *Veillonella*, che non si trovano nelle persone sedentarie, e sono attivi nel metabolizzare l'acido lattico prodotto dall'attività fisica, convertendolo in propionato, ha mostrato marcato aumento della capacità di corsa (61). La possibilità di contrastare la sedentarietà anche attraverso la modulazione del microbiota è estremamente interessante dal momento che i dati, nazionali e internazionali, confermano la crescita tra bambini e adolescenti del comportamento sedentario, con privilegio delle ore passate alla TV, ai videogiochi e al computer su quelle destinate al gioco o allo sport, e conseguente crescita di rischi di obe-

sità e malattie cardiovascolari.

Sta iniziando sempre più a emergere il coinvolgimento dell'interazione microbiota-intestino-SNC nella fisiopatologia di molte condizioni neuropsichiatriche quali ansia, depressione, disturbi dello spettro autistico, ADHD, sclerosi multipla, Alzheimer, Parkinson, disturbi dell'umore, dell'affettività, delle performance cognitive, emicrania, disturbi alimentari (62). Nei topi, il trapianto di microbiota intestinale da un animale depresso a uno sano gli provoca sintomi di depressione (63). Nell'uomo, carenza di ceppi batterici produttori di butirrato quali *Faecalibacterium* e *Coprococcus*, o di *Dialister*, o abbondanza di *Bacteroides*, sono risultati correlati con la depressione. Le ricerche sono arrivate a creare un catalogo dei batteri intestinali umani a potenziale neuroattivo, in base alle loro caratteristiche metaboliche: i batteri in grado di sintetizzare l'acido 3,4-diidrossifenilacetico (DOPAC, un metabolita della dopamina) correlano con la qualità di salute mentale, mentre scarsa produzione di acido gamma-aminobutirrico correla con la depressione, oltre che con le malattie infiammatorie intestinali (64). Il profilo batterico intestinale mostra differenze significative nei soggetti con depressione maggiore rispetto ai soggetti sani, anche quando sono in fase eutimica; si sono trovate inoltre differenze nel microbiota tra pazienti che rispondono al trattamento con antidepressivi e non responder (65).

Una dieta "psicobiotica" (con cibi prebiotici, come frutta, verdura, cereali integrali, legumi, cibi fermentati) ha altresì dimostrato in una popolazione sana diminuzioni significative nei punteggi sulla scala dello stress percepito e sui test per la misurazione della depressione rispetto ai controlli (66).

Il microbiota intestinale sembra coinvolto anche nella fisiopatologia dei disturbi del comportamento alimentare, in virtù della sua capacità di influenzare l'appetito, i meccanismi di regolazione della sazietà, il comportamento alimentare. In condizioni di disbiosi possono essere alterati i meccanismi di fame e sazietà: carenza di *Bifidobacterium* e *Lactobacillus* e prevalenza di *Bacteroides* e *Prevotella* sarebbero associati a riduzione di leptina, che induce sazietà, e aumento dell'ormone della fame grelina e del neuropeptide orexina che stimola eccitazione, veglia e appetito. Inoltre è possibile un effetto antagonista nei confronti dell'ormone alfa-melanocita-stimolante (α -MSH), che svolge effetti anoressizzanti, sia perché alcuni antigeni microbici inoltre possono innescare la produzione di autoanticorpi che lo bloccano, sia in quanto proteine microbiche, es. la C1pB, avendo una struttura analoga, interagiscono con i suoi recettori cellulari (67). Nell'anoressia nervosa si è trovata una varietà limitata di specie batteriche e un'abbondanza inferiore di batteri appartenenti alla famiglia *Firmicutes* e ai generi *Streptococcus* e *Clostridium*, una crescita eccessiva di alcune famiglie come *Proteobacteria* ed *Enterobacteriaceae* e del genere *Methanobrevibacter smithii*; a livello metabolico, una carenza di acidi grassi a catena corta (SCFA), che in altri studi correla con ansia, e un elevato contenuto di acidi grassi a catena ramificata (BCFAs), che sorprendentemente permangono anche in fase di remissione (68).

COVID-19

Il microbiota polmonare, in stretto dialogo con quello intestinale (asse intestino-polmone), è stato chiamato in causa nella patogenesi, nella progressione e nella risposta alla terapia di una serie di patologie polmonari: asma, BPCO, fibrosi cistica, fibrosi polmonare idiopatica, sindrome da distress respiratorio acuto, tubercolosi polmonare, cancro del polmone (69). Il microbiota polmonare è risultato significativamente alterato nei pazienti con COVID-19 grave, in particolare appare ricco di specie potenzialmente patogene (70). Anche il microbiota intestinale contribuirebbe, se alterato, come spesso accade negli anziani e nei pazienti fragili, più suscettibili a forme gravi di COVID-19, alla diffusione del SARS-CoV-2 e alla aberrante risposta infiammatoria (71). Uno studio cinese ha analizzato campioni fecali di pazienti con COVID-19 dal momento del ricovero alla dimissione. I risultati sono stati messi a confronto con controlli sani, registrando per 23 specie batteriche una significativa associazione con la gravità della malattia, la maggior parte (15/23) appartenenti al phylum *Firmicutes*. Tra questi 15, 3 membri del genere *Coprobacillus*, *Clostridium ramosum* e *Clostridium hathewayi* spp. sono i ceppi con la più forte associazione positiva con la gravità del decorso; di contro i *Bacteroidetes* *Alistipes onderdonkii* e *Faecalibacterium prausnitzii* spp. hanno registrato la più forte correlazione negativa (potenziale ruolo protettivo). Le differenze persistevano anche dopo la risoluzione dei sintomi e la clearance virale (72). Si ipotizza che la diversità del microbiota intestinale e la presenza di microrganismi benefici possano fungere da fattori protettivi, mentre la disbiosi predisponga a forme più gravi (73). Il microbiota intestinale potrebbe essere la chiave della diversa suscettibilità dei soggetti sani al SARS-CoV-2 o della protezione dei più giovani dalle complicazioni (74). Anche nei confronti del nuovo coronavirus, il microbiota con i suoi segreti per grande parte sconosciuti sembra entrare in gioco nei meccanismi biologici di salute e malattia dell'uomo.

Bibliografia

1. Dominguez-Bello MG, Godoy-Vitorino F, Knight R, Blaser MJ. Role of the microbiome in human development. *Gut*. 2019; 68:1108-1114.
2. Tanaka M, Nakayama J. Development of the gut microbiota in infancy and its impact on health in later life. *Allergol Int*. 2017; 66:515-522.
3. Karkman A, Lehtimäki J, Ruokolainen L. The ecology of human microbiota: dynamics and diversity in health and disease. *Ann N Y Acad Sci*. 2017; 1399:78-92.
4. Wang S, Ryan A, Boyaval P, et al. Maternal Vertical Transmission Affecting Early-life Microbiota Development. *Trends Microbiol*. 2020; 28:28-45.
5. Adak A, Khan MR. An insight into gut microbiota and its functionalities. *Cell Mol Life Sci*. 2019; 76:473-493.

6. Moeller AH, Li Y, Mpoudi Ngole R, et al. Rapid changes in the gut microbiome during human evolution. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2014; 111:16431-16435.
7. Balskus EP. The Human Microbiome. *ACS Infect Dis*. 2018; 4(1):1-2.
8. Lin L, Zhang J. Role of intestinal microbiota and metabolites on gut homeostasis and human diseases. *BMC Immunol*. 2017; 18,2.
9. Young VB. The role of the microbiome in human health and disease: an introduction for clinicians. *BMJ*. 2017; 15,356:j831.
10. Marchesi JR, Adams DH, Fava F, et al. The gut microbiota and host health: a new clinical frontier. *Gut*. 2016; 65:330-339.
11. Rowland I, Gibson G, Heinken A. Gut microbiota functions: metabolism of nutrients and other food components. *Eur J Nutr*. 2018; 57:1-24.
12. Zimmermann M, Zimmermann-Kogadeeva M, Wegmann R, Goodman AL. Mapping human microbiome drug metabolism by gut bacteria and their genes. *Nature*. 2019; 570:462-467.
13. Rooks MG, Garrett WS. Gut microbiota, metabolites and host immunity. *Nat Rev Immunol*. 2016; 27:341-352.
14. Thaiss CA, Zmora N, Levy M, Elinav E. The microbiome and innate immunity. *Nature*. 2016; 7,535:65-74.
15. Honda K, Littman DR. The microbiota in adaptive immune homeostasis and disease. *Nature*. 2016; 7,535:75-84.
16. Osadchij V, Martin CR, Mayer EA. The Gut-Brain Axis and the Microbiome: Mechanisms and Clinical Implications. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2019; 17:322-332.
17. Ihekweazu FD, Versalovic J. Development of the Pediatric Gut Microbiome: Impact on Health and Disease. *Am J Med Sci*. 2018; 356:413-423.
18. Warner BB. The contribution of the gut microbiome to neurodevelopment and neuropsychiatric disorders. *Pediatr Res*. 2019; 85:216-224.
19. Heintz-Buschart A, Wilmes P. Human Gut Microbiome: Function Matters. *Trends Microbiol*. 2018; 26:563-574.
20. Zhernakova A, Kurlishnikov A, Bonder MJ, et al. Population-based metagenomics analysis reveals markers for gut microbiome composition and diversity. *Science*. 2016; 29,352:565-569.
21. Thursby E, Juge N. Introduction to the human gut microbiota. *Biochem J*. 2017; 16:1823-1836.
22. Yanhong L, Nadim J A, Hashem B, et al. Dietary quality and the colonic mucosa-associated gut microbiome in humans. *Am J Clin Nutr*. 2019; 1,110:701-712.
23. Rinninella E, Cintoni M, Raoul P, et al. Food Components and Dietary Habits: Keys for a Healthy Gut Microbiota Composition. *Nutrients*. 2019; 7,11(10):2393.
24. Miniello VL, Diaferio L. L'organo fragile. V L. *Pediatria preventiva & Sociale* 2020. www.sipps.it/wp/wp-content/uploads/2020/09/ANNO-XV-Numero-3-SippsRivista.pdf
25. Cabral DJ, Penumutthu S, Reinhart EM, et al. Microbial Metabolism Modulates Antibiotic Susceptibility within the Murine Gut Microbiome. *Cell Metab*. 2019; 1:800-823.
26. Pérez-Burillo S, Pastoriza S, Jiménez-Hernández N, et al. Effect of Food Thermal Processing on the Composition of the Gut Microbiota. *J. Agric. Food Chem*. 2018; 66:11500-11509.
27. Pickard JM, Zeng MY, Caruso R, et al. Gut microbiota: Role in pathogen colonization, immune responses, and inflammatory disease. *Immunol Rev*. 2017; 279:70-89.
28. Hills RD, Pontefract BA, Mishcon HR, et al. Gut Microbiome: Profound Implications for Diet and Disease. *Nutrients*. 2019; 16,11(7):1613.
29. Dogra SK, Doré J, Damak S. Gut Microbiota Resilience: Definition, Link to Health and Strategies for Intervention. *Front Microbiol*. 2020; 15,11:572921.
30. Weiss GA, Hennes T. Mechanisms and consequences of intestinal dysbiosis. *Cell Mol Life Sci*. 2017; 74:2959-2977.
31. Kim M, Kim Y, Choi H. Transfer of a healthy microbiota reduces amyloid and tau pathology in an Alzheimer's disease animal model. *Gut*. 2020; 69:283-294.
32. Kong F, Hua Y, Zeng B, et al. Gut microbiota signatures of longevity. *Curr Biol*. 2016; 26(18):R832-R833.
33. Biagi E, Franceschi C, Rampelli S, et al. Gut microbiota and extreme longevity. *Current Biology*. 2016; 26:1480-1485.
34. Robertson RC, Manges AR, Finlay BB, Prendergast AJ. The Human Microbiome and Child Growth – First 1000 Days and Beyond. *Trends Microbiol*. 2019; 27:131-147.
35. Jensen EA, Young JA, Jackson Z, et al. Growth Hormone Deficiency and Excess Alter the Gut Microbiome in Adult Male Mice. *Endocrinology*. 2020; 161(4):bqaa026.
36. Gérard P. Gut microbiota and obesity. *Cell Mol Life Sci*. 2016; 73:147-162.
37. Federico A, Dallio M, Di Sarno R, et al. Gut microbiota, obesity and metabolic disorders. *Minerva Gastroenterol Dietol*. 2017; 63:337-344.
38. Boulangé CL, Neves AL, Chilloux J, et al. Impact of the gut microbiota on inflammation, obesity, and metabolic disease. *Genome Med*. 2016; 20,8(1):42.
39. Indiani CMDSP, Rizzardi KF, Castelo PM, et al. Childhood Obesity and Firmicutes/Bacteroidetes Ratio in the Gut Microbiota: A Systematic Review. *Child Obes*. 2018; 14:501-509.
40. Cani D, Plovier H, Van Hul M. Endocannabinoids - at the crossroads between the gut microbiota and host metabolism. *Nature Reviews Endocrinology*. 2016; 12:133-143.
41. Telle-Hansen VH, Holven KB, Ulven SM. Impact of a Healthy Dietary Pattern on Gut Microbiota and Systemic Inflammation in Humans. *Nutrients*. 2018; 16,10(11):1783.
42. Barja-Fernández S, Folgueira C, Castela C, et al. ANGPTL-4 is Associated with Obesity and Lipid Profile in Children and Adolescents. *Nutrients*. 2019; 14,11(6):1340.
43. Murugesan S, Nirmalkar K, Hoyo-Vadillo H, et al. Gut microbiome production of short-chain fatty acids and obesity in children. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2017; 37:621-625.
44. Ramírez-Pérez O, Cruz-Ramón V, Chinchilla-López P, et al. The Role of the Gut Microbiota in Bile Acid Metabolism. *Ann Hepatol*. 2017; 16(Suppl. 1):s15-s20.
45. Meijnikman AS, Gerdes VE, Nieuwdorp M, Herrema H. Evaluating Causality of Gut Microbiota in Obesity and Diabetes in Humans. *Endocr Rev*. 2018; 39:133-153.
46. Truax AD, Chen L, Tam JW, Cheng N, et al. The Inhibitory Innate Immune Sensor NLRP12 Maintains a Threshold against Obesity by Regulating Gut Microbiota Homeostasis. *Cell Host Microbe*. 2018; 12:364-378.
47. Kincaid HJ, Nagpal R, Yadav H. Microbiome-immune-metabolic axis in the epidemic of childhood obesity: Evidence and opportunities. *Obes Rev*. 2020; 21(2):e12963.

48. Le Chatelier E, Nielsen T, Qin J, et al. Richness of human gut microbiome correlates with metabolic markers. *Nature*. 2013; 29:541-546.
49. Maruvada P, Leone V, Kaplan LM, et al. The Human Microbiome and Obesity: Moving beyond Associations. *Cell Host Microbe*. 2017; 8:589-599.
50. Geerlings SY, Kostopoulos I, de Vos WM, Belzer C. *Akkermansia muciniphila* in the Human Gastrointestinal Tract: When, Where, and How? *Microorganisms*. 2018; 23,6(3):75.
51. Del Chierico F, Abbati F, Russo A, et al. Gut Microbiota Markers in Obese Adolescent and Adult Patients: Age-Dependent Differential Patterns. *Front. Microbiol*. 2018; 5,9:1210.
52. Galley JD, Bailey M, Kamp Dush C, et al. Maternal Obesity is Associated with Alterations in the Gut Microbiome in Toddlers. *PLoS One*. 2014; 19,9(11):e113026.
53. Rampelli S, Guenther K, Turroni S, et al. Pre-obese children's dysbiotic gut microbiome and unhealthy diets may predict the development of obesity. *Commun Biol*. 2018; 7,1:222.
54. Del Chierico F, Nobili V, Vernocchi P, et al. Gut microbiota profiling of pediatric nonalcoholic fatty liver disease and obese patients unveiled by an integrated meta-omics-based approach. *Hepatology*. 2017; 65:451-464.
55. Chelimo C, Camargo CA Jr, Morton SMB, Grant CC. Association of Repeated Antibiotic Exposure Up to Age 4 Years With Body Mass at Age 4.5 Years. *JAMA Network Open*. 2020; 3(1):e1917577.
56. Steen Sejersen T, Kofod Vinding R, Stokholm J, et al. Antibiotic exposure in infancy and development of BMI and body composition in childhood. *Eclinical Medicine*. 2019; 17,100209.
57. Trasande L, Blustein J, Liu M, et al. Infant antibiotic exposures and early-life body mass. *Inter J Obesity*. 2013; 37:16-23.
58. Jang LG, Choi G, Kim SW, et al. The combination of sport and sport-specific diet is associated with characteristics of gut microbiota: an observational study. *J Int Soc Sports Nutr*. 2019; 3;16(1):21.
59. Allen JM, Mailing LJ, Cohrs J, et al. Exercise training-induced modification of the gut microbiota persists after microbiota colonization and attenuates the response to chemically-induced colitis in gnotobiotic mice. *Gut Microbes*. 2018; 4:115-130.
60. Allen JM, Mailing LJ, Niemi GM, et al. Exercise Alters Gut Microbiota Composition and Function in Lean and Obese Humans. *Med Sci Sports Exerc*. 2017; 50:747-757.
61. Scheiman J, Lubert JM, Chavkin TA, et al. Meta-omics analysis of elite athletes identifies a performance-enhancing microbe that functions via lactate metabolism. *Nat Med*. 2019; 25:1104-1109.
62. Clapp M, Aurora N, Herrera L, et al. Gut microbiota's effect on mental health: The gut-brain axis. *Clin Pract*. 2017; 15;7(4):987.
63. Pearson-Leary J, Zhao C, Bittinger K, et al. The gut microbiome regulates the increases in depressive-type behaviors and in inflammatory processes in the ventral hippocampus of stress vulnerable rats. *Mol Psychiatry*. 2020; 25:1068-1079.
64. Valles-Colomer M, Falony G, Darzi Y, et al. The neuroactive potential of the human gut microbiota in quality of life and depression. *Nat Microbiol*. 2019; 4:623-632.
65. Fontana A, Manchia M, Panebianco C, et al. Exploring the Role of Gut Microbiota in Major Depressive Disorder and in Treatment Resistance to Antidepressants. *Biomedicine*. 2020; 8(9), 311.
66. Taylor AM, Holscher AD. A review of dietary and microbial connections to depression, anxiety, and stress. *Nutr Neurosci*. 2018; 23:237-250.
67. van de Wouw M, Schellekens H, Dinan TG, Cryan JF. Microbiota-Gut-Brain Axis: Modulator of Host Metabolism and Appetite. *J Nutr*. 2017; 147:727-745.
68. Borgo F, Riva A, Benetti A, et al. Microbiota in anorexia nervosa: The triangle between bacterial species, metabolites and psychological tests. *Plos One*. 2017; 21,12(6):e0179739.
69. Dickson RP, Erb-Downward JR, Huffnagle GB. Homeostasis and its disruption in the lung microbiome. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. 2015; 15:1047-1055.
70. Gasbarrini G, Dionisi T, Franceschi F, Gasbarrini A. Editorial – COVID-19 and the microbiota: new kids on the block. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2020; 24:5189-5191.
71. Terruzzi I, Senesi P. Does intestinal dysbiosis contribute to an aberrant inflammatory response to severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 in frail patients? *Nutrition*. 2020; 79:110996.
72. Zuo T, Zhang F, Lui GCY, et al. Alterations in Gut Microbiota of patients with COVID-19 during time of hospitalization. *Gastroenterology*. 2020; 159:944-955.
73. Dhar D, Mohanty A. Gut microbiota and Covid-19-possible link and implications. *Virus Res*. 2020; 285:198018.
74. Gou W, Fu Y, Yue L, et al. Gut microbiota may underlie the predisposition of healthy individuals to COVID-19. *medRxiv* 2020.04.22.20076091.

Corrispondenza:

Carlo Alfaro

U.O.C. di Pediatria - OO.RR. Area Stabiese.

Castellammare di Stabia, Napoli

Tel. 0818729203 - 3336996970

E-mail: carloalfaro@tiscali.it

Raccomandazioni per l'attività fisica del bambino e adolescente con cardiopatia congenita

Ugo Giordano ¹, Giulia Cafiero ¹, Armando Grossi ²

¹ U.O.S.D. Medicina dello Sport, Roma;

² U.O.S. Patologia Endocrina delle malattie croniche e post tumorali, Ospedale Pediatrico "Bambino Gesù" I.R.C.C.S. Roma.

Riassunto Una regolare attività fisica è necessaria per un ottimale sviluppo fisico, emozionale e psicosociale dei bambini ed adolescenti. In questo nostro contributo riportiamo la sintesi delle raccomandazioni di alcune Società scientifiche per l'attività fisica e ricreazionale sportiva nei soggetti di età evolutiva con cardiopatia congenita.

Parole chiave: Adolescenti, attività sportiva, cardiopatia congenita, raccomandazioni.

Recommendations for physical activity, recreation sport, and exercise training in paediatric patients with congenital heart disease

Summary Physical activity is necessary for optimal physical, emotional, and psychosocial development for healthy children and adolescents as well as for those with congenital heart disease (CHD). In this short paper we provide some general recommendations for physical activity, recreational sport, and exercise training in children and adolescents with CHD.

Key words: Adolescents, recreational sport, congenital heart disease, recommendations.

È generalmente accettato che l'attività fisica è importante per un ottimale sviluppo psico-fisico sia nei bambini che negli adolescenti. Come proclamato dalla Federazione Internazionale di Medicina dello Sport (FIMS) sono necessari programmi di fitness per giovani che dovrebbero essere raccomandati ed incoraggiati (1, 2).

La FIMS infatti detta delle regole per la pratica di un'attività sportiva in sicurezza, sia nel soggetto sano ma anche nel paziente con cardiopatia congenita operata e non.

La Federazione stabilisce che:

- 1) Prima di partecipare ad un programma di attività fisica è necessario un dettagliato esame clinico;
- 2) Il Trainer/Allenatore ha la Responsabilità all'insegnamento sia del gesto atletico specifico ma soprattutto delle regole

per una pratica sportiva sicura (adeguato utilizzo di acqua e substrati energetici, conoscenza delle sostanze dopanti e loro implicazioni giuridiche e sullo stato di salute);

- 3) Ci si dovrebbe auspicare una collaborazione continua tra il Trainer e lo Staff Medico.

Differenziamo, ad ogni modo, l'attività fisica in due principali categorie:

Ludico-addestrativa o NON agonistica: si caratterizza per la sua "spontaneità" in quanto non obbliga un impegno costante e regolare che è automaticamente di natura ridotta. Pensiamo al gioco al parco dei bambini più piccoli come quello degli adolescenti che praticano il calcetto, il tennis o il ciclismo per divertimento e piacere di stare insieme.

Agonistica: a seconda dello Sport praticato è prevista un'età minima per accedervi ed è caratterizzata da un'organizzazione ben definita (un'associazione sportiva per esempio), riconoscimento presso la Federazione Sportiva di appartenenza, un tesseramento dell'atleta nonché la pianificazione di un torneo o campionato, allenamenti prestabiliti con tabelle di lavoro per il miglioramento della prestazione atletica. In questo caso l'impegno fisico e mentale è sicuramente più importante e coinvolgente.

In Italia è in vigore una legislazione che tutela la pratica dello sport nei soggetti sani, la Legge sulla Tutela Sanitaria dell'Attività Sportiva (3), che prevede visita medica di idoneità sportiva, agonistica e non. È prevista la visita medica generale ed un elettrocardiogramma a riposo per quella NON agonistica, a cui si aggiungono un elettrocardiogramma dopo sforzo (test dei due gradini di Master) per la valutazione del ritmo cardiaco e della pressione arteriosa, un esame spirometrico per la valutazione dell'apparato respiratorio ed un esame delle urine con sedimento urinario per escludere patologie renali di rilievo per l'attività di tipo agonistico. Eventuali accertamenti ulteriori verranno decisi di volta in volta in relazione all'esito della visita di I livello.

Per quanto riguarda invece la pratica di attività fisica nel paziente con cardiopatia congenita, operata o in evoluzione, non esiste una legislazione specifica. All'inizio degli anni 2000 l'Italia presentava una incidenza di cardiopatia congenita nei neonati pari all'8 per mille (4), tanto che si contavano circa 100.000 soggetti nel nostro Paese con cardiopatia congenita alla nascita poi operati. Sono state redatte quindi delle Linee Guida per giudicare il soggetto idoneo o meno alla pratica dell'attività sportiva agonistica da parte del COCIS (Comitato Organizzativo Cardiologico per l'Idoneità allo Sport), composto da membri delle principali Società Cardiologiche (Associazione Nazionale Cardiologi Extraospedalieri-ANCE, Associazione Nazionale Medici cardiologi Ospedalieri-ANMCO, Federazione Medico Sportiva Italiana-FMSI, Società Italiana di Cardiologia dello Sport-SICsport, Società Italiana di Cardiologia-SIC). In questo modo si è cercato di tutelare la pratica di attività sportiva nei soggetti con problemi cardiologici, più o meno rilevanti, nel momento in cui si debbano confrontare in allenamenti o gare e quindi modulare l'impegno cardiovascolare di un apparato non in "perfette" condizioni.

Tutto questo è motivato, oltre che dalla tutela sanitaria del soggetto stesso, anche da quelli che sono gli aspetti medico-legali conseguenti. Viene infatti redatta una "Certificazione Medica" che obbliga una Responsabilità civile e penale del sanitario certificante e quindi soggetta alle caratteristiche di possibile "imperizia, imprudenza e negligenza".

Distinguiamo principalmente tre tipologie di soggetti con cardiopatia congenita:

- 1) Coloro che presentano alla nascita una "**cardiopatia semplice**", come ad esempio il difetto interatriale, il difetto interventricolare, la pervietà del dotto arterioso, che prevedono comunque una normale struttura valvolare, muscolare e di

concordanza atrio-ventricolare e ventricolo-arteriosa del cuore. In questi casi è possibile, con la cardiocirurgia o con i dispositivi impiantabili in emodinamica (i cosiddetti "Ombrellini", tipo Amplatz), riportare il cuore alle sue condizioni anatomiche fisiologiche, definendoli quindi "soggetti guariti". In questo caso sono concessi gli sport agonistici praticamente senza limiti purché vengano certificati seguendo protocolli di valutazione di II livello (Test Ergometrico massimale, Ecocardiogramma, Monitoraggio della Pressione arteriosa 24 ore, ECG dinamico 24 ore sec. Holter).

- 2) Coloro che presentano alla nascita una "**cardiopatia complessa**", come ad esempio la tetralogia di Fallot, la trasposizione delle grandi arterie, il ventricolo destro a doppia uscita, la coartazione aortica. In questi casi è possibile con la chirurgia "riparare" il difetto ma non è possibile riportare il cuore alle sue condizioni anatomiche fisiologiche. In questo caso, nei soggetti definiti "*curati ma NON guariti*" vengono concessi soltanto alcuni sport agonistici, principalmente quelli a basso impegno cardiovascolare o a componente "*neurogena*" (ad esempio sport di tiro o il golf) purché vengano certificati seguendo protocolli di valutazione di II livello come per le cardiopatie semplici (Test ergometrico massimale, ecocardiogramma, monitoraggio della pressione arteriosa 24 ore, ECG dinamico 24 ore sec. Holter) e, se necessario, integrati da accertamenti di livello superiore (RMN cardiaca, angio-TC coronarica, studio endocavitario fisiologico e coronarografia).
- 3) Coloro che presentano, "*cardiopatie congenite o acquisite in evoluzione*", costituite principalmente dai vizi valvolari, come anche del muscolo cardiaco stesso (cardiomiopatie), in cui la componente di "*stenosi o di insufficienza*" è soggetta a modifiche nel tempo (stenosi valvolare aortica e valvola aortica bicuspidale, stenosi valvolare polmonare, ecc.)

In conclusione la disponibilità di questi protocolli di giudizio consente la pratica di attività sportiva anche ai soggetti che presentano dei residui cardiocirurgici o anomalie anatomiche cardiache residue stabilendo quale sia il rischio, ma anche quale consiglio sia più corretto per praticare sport.

Praticare l'attività fisica "*più corretta*" è l'obiettivo primario per questi pazienti. Bisogna tener conto che nello scegliere l'attività sportiva da praticare influiscono "*costumi*" familiari (tramandarsi la stessa disciplina) ma anche limitazioni geografiche (pensiamo a piccoli centri che non hanno a disposizione nelle vicinanze strutture sportive idonee ad una specifica disciplina). Spesso è presente una proibizione da parte del medico stesso, per paura o incapacità di giudicare, così come la paura del genitore nei confronti del figlio "*cardiopatico*".

Con l'utilizzo di adeguate linee guida e protocolli è possibile per tutti i sanitari saper dare indicazioni adeguate per evitare "*incidenti cardiovascolari*" prevenibili ma soprattutto per consentire un adeguato inserimento sociale, scolastico e lavorativo.

Bibliografia

1. American College of Sports Medicine. Opinion statement on physical fitness in children and youth. *Med. Sci. Sports Exerc.* 1988; 20:422-423.
2. Decreto ministeriale 18 febbraio 1982 - Norme per la tutela sanitaria dell'attività sportiva agonistica. G.U. n. 63 del 5 marzo 1982.
3. Takken T, Giardini A, Reybrouck T, et al. Recommendations for physical activity, recreation sport, and exercise training in paediatric patients with congenital heart disease: a report from the Exercise, Basic & Translational Research Section of the European Association of Cardiovascular Prevention and Rehabilitation, the European Congenital Heart and Lung Exercise Group, and the Association for European Paediatric Cardiology. *Eur J Prev Cardiol.* 2012; 19:1034-1065.
4. Comitato organizzativo cardiologico per l'idoneità allo sport. *Protocolli cardiologici per il giudizio di idoneità allo sport agonistico.* Casa Editrice Scientifica Internazionale. Roma, 2017.

Corrispondenza:

Ugo Giordano

Ospedale Pediatrico "Bambino Gesù", I.R.C.C.S. Roma

E-mail: ugo.giordano@opbg.net

Fax:06-68592515



International Network of Clinicians for Endocrinopathies in Thalassemia and Adolescent Medicine (ICET-A)



Dear ICET-A Members,

we'll never forget the devastating consequences of the Covid-19 pandemic and the strength and the example given by many doctors and nurses who died to fully adhere to their mission. We wish you, your teams and your loved ones health and safety with the hope to continue the ICET-A activities with the same devotion and resilience.



ICET-A Coordinator
Vincenzo De Sanctis, MD
Pediatric and Endocrinologist,
Ferrara, Italy



Director of ICET-A School
Prof. Ashraf Soliman
Department of Pediatrics
University of Alexandria
Alexandria-Egypt
Pediatric Endocrinology Section
Hamad Medical Corporation
Doha, Qatar



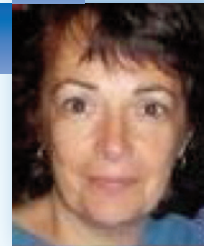
Vice Coordinator
Prof. Mohamed El Kholy

Pediatric Endocrinologist
Professor Emeritus and former
Head of the Pediatrics Department
Faculty of Medicine Ain Shams
University
Cairo, Egypt



Secretary
Prof. Heba Elsedfy

Department of Pediatrics
Ain Shams University
Cairo, Egypt



Secretary
Prof. Bernadette Fiscina

Clinical Assistant Professor
of Pediatrics New York University
School of Medicine
New York, USA

Endo-Thal

INTERNATIONAL NETWORK OF CLINICIANS FOR ENDOCRINOPATHIES
IN THALASSEMIA AND ADOLESCENT MEDICINE (ICET-A)



EDITOR IN CHIEF

Vincenzo De Sanctis

Pediatric and Adolescent Outpatient Clinic, Quisisana Hospital, Ferrara (Italy) - e-mail: vdesanctis@libero.it

ASSOCIATE EDITOR

Ashraf T. Soliman

Department of Pediatrics, Division of Endocrinology, Hamad General Hospital, Doha (Qatar) - e-mail: atsoliman@yahoo.com

EDITORIAL BOARD

Valeria Kaleva (Bulgaria), **Iva Stoeva** (Bulgaria), **Michael Angastiniotis** (Cyprus), **Soteroula Christou** (Cyprus),
Mohamed El Kholy (Egypt), **Heba Elsedfy** (Egypt), **Antonis Kattamis** (Greece), **Christos Kattamis** (Greece),
Praveen Sobti (India), **Mehran Karimi** (Iran), **Saveria Campisi** (Italy), **Salvatore Di Maio** (Italy),
Maria Concetta Galati (Italy), **Giuseppe Raiola** (Italy), **Hala Al Rimawi** (Jordan),
Soad K. Al Jaouni (Kingdom of Saudi Arabia), **Shahina Daar** (Oman), **Mohd Abdel Daem Mohd Yassin** (Qatar),
Joan Lluís Vives Corrons (Spain), **Duran Canatan** (Turkey), **Ploutarchos Tzoulis** (UK), **Bernadette Fiscina** (USA).

Focus on prevalence of endocrinopathies in β -thalassemia major (TDT), intermedia (NTDT) and sickle cell disease (SCD)

Ashraf Soliman ¹, Mohamed A. Yassin ², Vincenzo de Sanctis ³

¹ Department of Pediatrics, Hamad Medical Center, Doha, Qatar;

² Department of Hematology, Hamad Medical Center, Doha, Qatar;

³ Pediatric and Adolescent Outpatient Clinic, Quisisana Hospital, Ferrara, Italy.

Abstract

A short description on the prevalence of endocrinopathies in hemoglobinopathies in different countries is reported. Because of the improved survival of patients with hemoglobinopathies, an early recognition and prevention of the endocrine complications is mandatory for the improvement of the quality of life and psychological outcome of these patients.

Key words: β -thalassemia major (TDT), intermedia (NTDT), sickle cell disease (SCD), prevalence.

Premise

The hemoglobinopathies (thalassemias and sickle-cell disease) are the most inherited genetic disorders. The natural course of the disease is dramatically altered by transfusion side effects, which need to be monitored and treated. Iron overload resulting in end-organ damage and blood-borne infectious agents still represent the principal causes of morbidity and mortality.

Endocrine complications are common in multi-transfused thalassemia major patients (TM). These abnormalities include growth and growth hormone (GH) –Insulin like growth factor axis (IGF-I) axis, puberty and pituitary gonadal axis, glucose homeostasis, pituitary– thyroid axis, calcium homeostasis as well as bone mineral accretion (1).

β -thalassemia major (β -TM/TDT)

In 2004, a questionnaire was sent to 29 Centres treating a total of 3,817 β -TM patients in Italy. Thirty-six per cent of patients were over the age of 16 years. Short stature was present in 31.1% of males and 30.5% of females, and the prevalence of growth hormone deficiency was 7.9% in males and 8.8% in females. Lack of pubertal changes was the most common endocrine complication (40.5%) followed by hypoparathyroidism (6.9%), impaired glucose tolerance (6.5%), insulin-dependent diabetes mellitus (3.2%) and primary hypothyroidism (3.2%). The prevalence of endocrine complications differed among centres, particularly for growth hormone deficiency, hypoparathyroidism and hypothyroidism. Compliance to chelation therapy was poor in 51% of patients and serum liver enzymes were high in 65% of patients (2). Accurate /updated data about the global prevalence of endocrinopathies in Thalassemia and SCD are lacking. The available prevalence data measuring endocrinopathies in different countries (published after year 2000) are summarized in **Figure 1**.

The prevalence and severity of hypogonadism and short stature in BTM varies among studies, depending on patients' age, genotype, transfusion frequency and starting age, compliance, and effi-

ciency of iron chelation therapy. Intensive combined chelation has been shown to improve patients' iron load and consequently prevent, decrease or reverse multiple endocrine complications associated with transfusion iron overload including abnormal glucose metabolism, hypothyroidism, and hypogonadism. In addition, it is clear that there is progressive increase of endocrinopathies in these patients related to age (longevity) and with increased hepatic iron overload. Therefore, in the future assessment of the prevalence of endocrine complications these important factors shall be conjointly interpreted (3-7).

Thalassemia Intermedia (Non transfusion-dependent thalassemia- NTDT)

Data on the prevalence and type of endocrine disorders in TDT patients are scarce. A multicenter study was designed to determine the prevalence of endocrine complications and the associated risk factors in a large group of patients. 726 patients, aged 2.5-80 years, registered at 12 thalassemia centers, from nine countries. In a subgroup of 522 patients (mean age 30.8 ± 12.1 ; range: 2.5-80 years) from Qatar, Iran, Oman, Cyprus, and Jordan detailed data were also avail-

Figure 1. Prevalence (%) of endocrinopathies, reported after year 2000, in patients with β -thalassemia major in different countries.

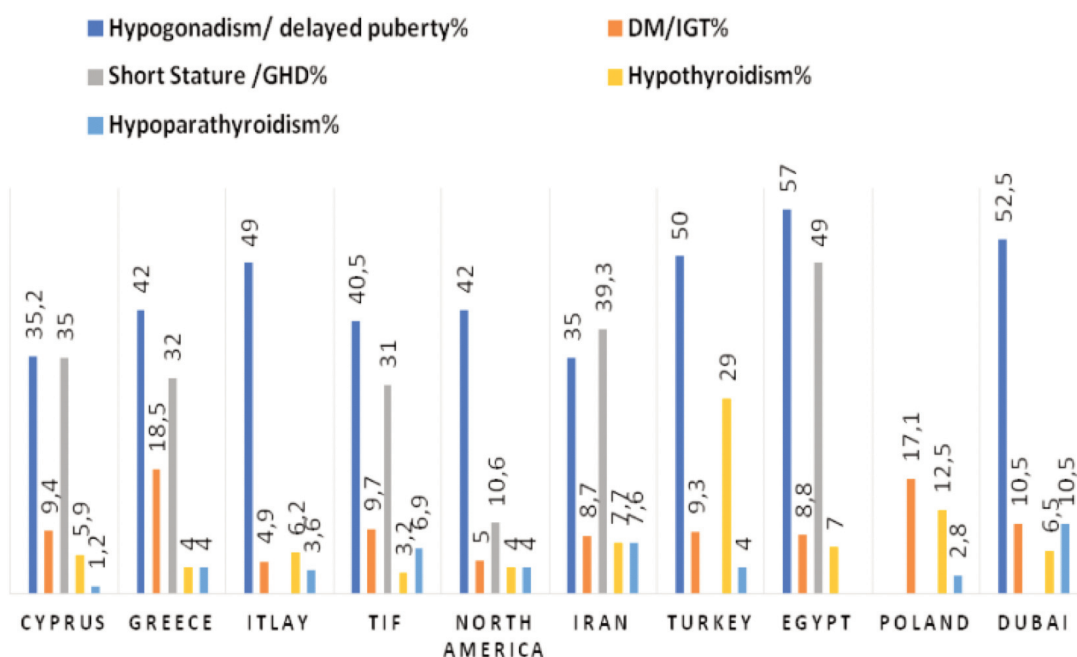


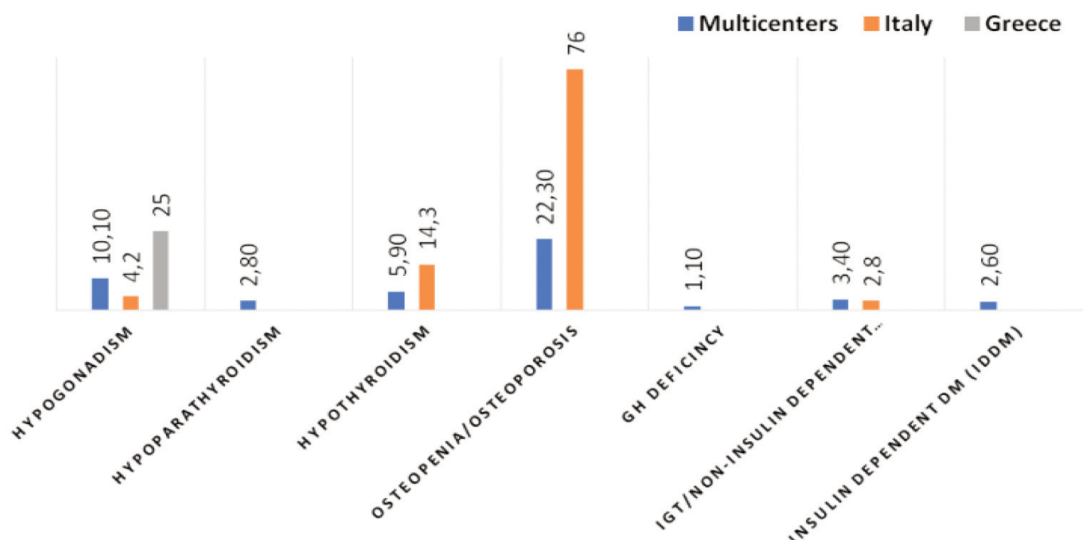
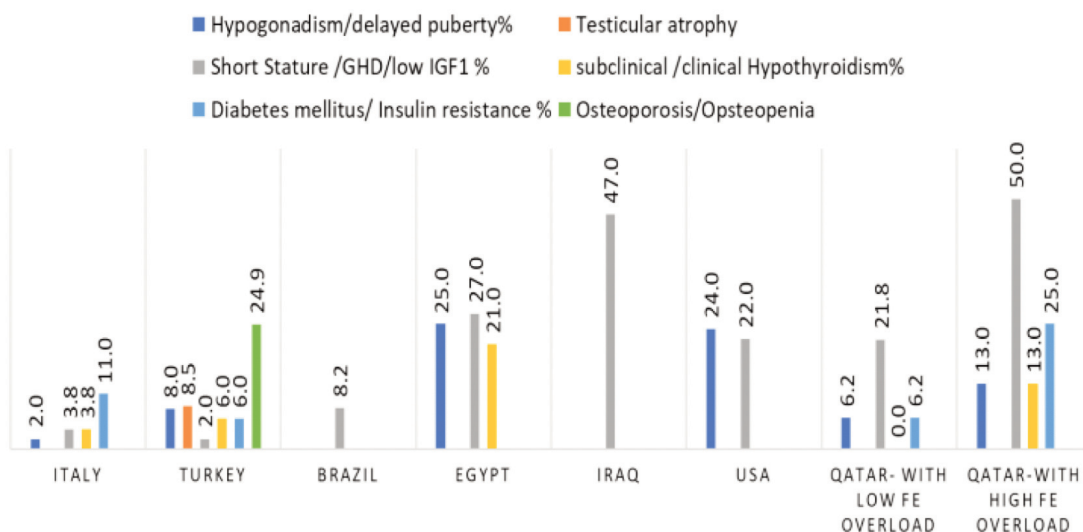
Figure 2. Prevalence (%) of endocrinopathies in patients with thalassemia intermedia (NTDT) reported in different countries.

table. Overall, the most prevalent complications were osteopenia/osteoporosis (22.3%), hypogonadism (10.1%), and primary hypothyroidism (5.3%). In the subgroup multivariate analysis, older age was a risk factor for osteoporosis, hypogonadism, and non-insulin-dependent diabetes mellitus. Splenectomy was a risk factor for osteoporosis. Hydroxyurea was identified as a “protective factor” for NIDDM (Odds ratio: 0.259, 95% CI: 0.074-0.902, $P = 0.034$). Data published from Italy and Greece are also added to the **Figure 2**. Bone disease, hypogonadism and hypothyroidism

were the most common endocrine abnormalities reported in these patients (8-10).

Sickle cell disease (SCD)

The most common types of endocrine and metabolic disorders seen in patients with SCD include growth failure (weight and height), osteopenia, delayed puberty and hypogonadism, hypothyroidism, and carbohydrate intolerance. The global prevalence of these abnormalities is still poorly studied. The prevalence from different studies is summarized in **Figure 3** (10, 21).

Figure 3. Prevalence (%) of endocrinopathies in patients with sickle cell disease (SCD) reported in different countries.

Conclusions

In summary, since the quality of life of patients with thalassemia and SCD is a fundamental aim, it is vital to carefully monitor their growth and endocrine function in order to detect abnormalities and to initiate appropriate and early treatment.

Although the compliance to chelation has been not fully portrayed, a better compliance during peripubertal and pubertal age (< 18 years) to treatment is generally associated with a better outcome. Non-compliance with therapy is a big threat to effective treatment and one of the most common problems encountered in clinical practice. Furthermore, multiple drug therapy and complex treatments that interfered with daily life were also reasons for non-compliance. These findings support the notion that health care workers must look beyond the individual when examining non-compliant behavior and also direct attention to the external factors, such as family dynamics and socioeconomic status (22).

References

- De Sanctis V, Elawwa A, Angastiniotis M, et al. Highlights from the first thalassaemia forum on growth and endocrine complications in thalassemia Doha, (October 2-3, 2011) *Pediatr Endocrinol Rev.* 2012; 9:672-879.
- De Sanctis V, Eleftheriou A, Malaventura C. Thalassaemia International Federation Study Group on Growth and Endocrine Complications in Thalassaemia. Prevalence of endocrine complications and short stature in patients with thalassaemia major: a multicenter study by the Thalassaemia International Federation (TIF). *Pediatr Endocrinol Rev.* 2004; 2 Suppl 2:249-55.
- Farmaki K, Tzoumari I, Pappa C, et al. Normalisation of total body iron load with very intensive combined chelation reverses cardiac and endocrine complications of thalassaemia major. *Br J Haematol.* 2010; 148:466-475.
- Yassin MA, Soliman AT, De Sanctis V, et al. Statural Growth and Prevalence of Endocrinopathies in Relation to Liver Iron Content (LIC) in Adult Patients with Beta Thalassemia Major (BTM) and Sickle Cell Disease (SCD). *Acta Biomed.* 2018; 89:33-40.
- Soliman AT, Al Yafei F, Al-Naimi L, et al. Longitudinal study on thyroid function in patients with thalassemia major: High incidence of central hypothyroidism by 18 years. *Indian J Endocrinol Metab.* 2013; 17:1090-1095.
- Hassan T, Zakaria M, Fathy M, et al. Association between genotype and disease complications in Egyptian patients with beta thalassemia: A Cross-sectional study. *Sci Rep* 8, 17730 (2018).
- Hassan T, Zakaria M, Fathy M, et al. Association between genotype and disease complications in Egyptian patients with beta thalassemia: A Cross-sectional study. *Sci Rep.* 2018; 8(1):17730.
- Karimi M, Zarei T, Haghpahan S, et al. Evaluation of endocrine complications in beta-thalassemia intermedia (β -TI): a cross-sectional multicenter study. *Endocrine.* 2020; 69:220-227.
- Baldini M, Marcon A, Cassin R, et al. Beta-thalassaemia intermedia: evaluation of endocrine and bone complications. *Biomed Res Int.* 2014; 2014:174581.
- Papadimas J, Goulis DG, Mandala E, et al. Beta-thalassemia and gonadal axis: a cross-sectional, clinical study in a Greek population. *Hormones (Athens).* 2002; 1:179-187.
- Yassin MA, Soliman AT, De Sanctis V, et al. Statural Growth and Prevalence of Endocrinopathies in Relation to Liver Iron Content (LIC) in Adult Patients with Beta Thalassemia Major (BTM) and Sickle Cell Disease (SCD). *Acta Biomed.* 2018; 89:33-40.
- Mandese V, Bigi E, Bruzzi P, et al. Endocrine and metabolic complications in children and adolescents with Sickle Cell Disease: an Italian cohort study. *BMC Pediatr.* 2019; 19(1):56.
- dos Santos SA, de Oliveira CL, Cortez PI, Rodrigues CSC. Nutritional Status of Children and Adolescents with Sickle Cell Disease. *J Nutri Med Diet Care.* 2018; 4:027.
- Zemel B, Kawchak D, Ohene-Frempong K, et al. Effects of Delayed Pubertal Development, Nutritional Status, and Disease Severity on Longitudinal Patterns of Growth Failure in Children With Sickle Cell Disease. *Pediatr Res.* 2007; 61:607-613.
- Ozen S, Unal S, Erçetin N, Taşdelen B. Frequency and risk factors of endocrine complications in Turkish children and adolescents with sickle cell anemia. *Turk J Haematol.* 2013; 30:25-31.
- Taddesse A, Woldie IL, Khana P, et al. Hypogonadism in patients with sickle cell disease: central or peripheral? *Acta Haematol.* 2012; 128:65-68.
- Walters MC, Hardy K, Edwards S, et al. & for the Multicenter Study of Bone Marrow Transplantation for Sickle Cell Disease. Pulmonary, gonadal, and central nervous system status after bone marrow transplantation for sickle cell disease. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2010; 16:263-272.
- Huang AW, Muneyyirci-Delale O. Reproductive endocrine issues in men with sickle cell anemia. *Andrology.* 2017; 5:679-690.
- ElAlfy MS, El-Sherif NH, Sakr HM, El Ashkar MNM. Thyroid hemodynamic alterations in Egyptian patients with sickle cell disease: relation to disease severity, total body iron and thyroid function. *Expert Rev Hematol.* 2019; 12:589-596.
- Al-Saqladi AW, Cipolotti R, Fijnvandraat K, Brabin BJ. Growth and nutritional status of children with homozygous sickle cell disease. *Ann Trop Paediatr.* 2008; 28(3):165-89.
- Rasha M, Ghaleb Rasha M, GhalebEmad Ali Saleh Al Khoufi. Low bone mineral density in Saudi adult patients with sickle cell disease: myth or fact? *Int J Clinical Rheumatol.* 2019; 14:53-58.
- De Sanctis V, Elsedfy H, Soliman AT, et al. Clinical and biochemical data of adult thalassemia major patients (TM) with multiple endocrine complications (MED) versus TM patients with normal endocrine functions: a long-term retrospective study (40 years) in a tertiary care center in Italy. *Mediterr J Hematol Infect Dis.* 2016; 8(1):e2016022.

Correspondence:

Vincenzo De Sanctis, MD

Pediatric and Adolescent Out patient Clinic,

Quisisana Hospital, 44100 Ferrara, Italy

Tel. +39 0532 770243

E-mail: vdesantis@libero.it

Endo-Thal

INTERNATIONAL NETWORK OF CLINICIANS FOR ENDOCRINOPATHIES
IN THALASSEMIA AND ADOLESCENT MEDICINE (ICET-A)



EDITOR IN CHIEF

Vincenzo De Sanctis

Pediatric and Adolescent Outpatient Clinic, Quisisana Hospital, Ferrara (Italy) - e-mail: vdesanctis@libero.it

ASSOCIATE EDITOR

Ashraf T. Soliman

Department of Pediatrics, Division of Endocrinology, Hamad General Hospital, Doha (Qatar) - e-mail: atsoliman@yahoo.com

EDITORIAL BOARD

Valeria Kaleva (Bulgaria), Iva Stoeva (Bulgaria), Michael Angastiniotis (Cyprus), Soteroula Christou (Cyprus),
Mohamed El Kholy (Egypt), Heba Elsedfy (Egypt), Antonis Kattamis (Greece), Christos Kattamis (Greece),
Praveen Sobti (India), Mehran Karimi (Iran), Saveria Campisi (Italy), Salvatore Di Maio (Italy),
Maria Concetta Galati (Italy), Giuseppe Raiola (Italy), Hala Al Rimawi (Jordan),
Soad K. Al Jaouni (Kingdom of Saudi Arabia), Shahina Daar (Oman), Mohd Abdel Daem Mohd Yassin (Qatar),
Joan Lluís Vives Corrons (Spain), Duran Canatan (Turkey), Ploutarchos Tzoulis (UK), Bernadette Fiscina (USA).

La terapia chelante e le complicanze endocrine nella β -talassemia trasfusione dipendente (TDT): Come è cambiato il quadro clinico nel corso degli anni

Vincenzo De Sanctis ¹, Maria Concetta Galati ², Giuseppe Raiola ³, Salvatore Di Maio ⁴

¹ Coordinatore del Network ICET-A (International Network of Clinicians for Endocrinopathies in Thalassemia and Adolescence Medicine), Ferrara;

² SOC di Ematologia Pediatrica, AO "Pugliese-Ciaccio", Catanzaro;

³ SOC di Pediatria, AO "Pugliese-Ciaccio", Catanzaro;

⁴ Primario Emerito dell'Azienda Ospedaliera di Rilievo Nazionale "Santobono-Pausilipon", Napoli.

Riassunto

I principali fattori di rischio, associati alla comparsa delle complicanze endocrine nella talassemia trasfusione-dipendente, sono rappresentati dall'accumulo di ferro (emosiderosi) ed alla scarsa compliance al trattamento chelante. Una precoce e regolare terapia chelante è pertanto necessaria per prevenire o ridurre la prevalenza delle complicanze d'organo. Gli Autori riportano una breve revisione della letteratura.

Parole chiave: Talassemie, complicanze endocrine, terapia chelante, compliance.

Abstract

Chelation therapy and endocrine complications in β -thalassemia transfusion-dependent (TDT): How the clinical picture has changed over the years

The main risk factor associated with endocrine complications in transfusion-dependent thalassemia (β -thalassemia major) is the iron overload (emosiderosis) due to the poor compliance with chelation therapy. Early recognition and prevention of the endocrine complications, by early and regular chelation therapy, is mandatory for the improvement of the quality of life and psychological outcome of these patients. The Authors report a brief review of the literature.

Key words: Thalassemias, endocrine complications, chelation therapy, compliance.

Introduzione

Le talassemie sono un gruppo di anemie emolitiche ereditarie microcitiche caratterizzate da difetto nella sintesi dell'emoglobina. Vengono suddivise in due grandi gruppi: le talassemie dovute a difetti quantitativi con assente o ridotta sintesi di una o più catene globiniche, strutturalmente normali, e le varianti strutturali secondarie a difetti qualitativi, caratterizzati dalla sintesi alterata di una o più catene (1, 2).

L'emoglobina è formata da quattro subunità (globine o catene globiniche), ciascuna delle quali presenta al suo interno una struttura chiamata gruppo eme, contenente ferro e responsabile del legame dell'ossigeno. Esistono quattro tipi diversi di catene globiniche, designate come: α (alfa), β (beta), γ (gamma), δ (delta). Il tipo di catene globiniche presenti determina la struttura e soprattutto la funzionalità dell'Hb (1, 2).

Normalmente sono presenti tre tipi di Hb:

- Emoglobina A (HbA): rappresenta il 95-98% dell'Hb dell'adulto ed è costituita da due catene alfa e due catene beta ($\alpha_2\beta_2$)
- Emoglobina A2 (HbA2): rappresenta il 2-3% dell'Hb dell'adulto ed è costituita da due catene alfa e due catene delta ($\alpha_2\delta_2$)
- Emoglobina F (HbF): nota con il nome di emoglobina fetale, rappresenta l'1-2% dell'Hb dell'adulto ed è costituita da due catene alfa e due catene gamma ($\alpha_2\gamma_2$). Si tratta dell'Hb prodotta durante la vita fetale che, dopo la nascita, viene progressivamente sostituita dall'HbA fino a raggiungere i livelli analoghi a quelli presenti negli individui adulti, intorno a 1-2 anni.
- Nelle alfa-talassemie, le percentuali di Hb F e Hb A2 risultano di solito normali, e la diagnosi di talassemia da difetto genetico di uno o due geni può essere fatta mediante moderni test genetici. La diagnosi spesso avviene tramite l'esclusione di altre cause di anemia microcitica.

La riduzione della sintesi delle catene globiniche ed il conseguente aumento di catene libere, conduce ad un quadro di anemia e di eritropoiesi inefficace che può manifestarsi con quadri di differente gravità (Tabella 1). La trasmissione ereditaria avviene secondo la modalità autosomica recessiva. L'espressione fenotipica delle sindromi talassemiche è estremamente eterogenea (1-3). I tre quadri clinici più frequenti sono la:

- forma silente (portatore di talassemia eterozigote)
- forma intermedia [talassemia intermedia o talassemia non trasfusione dipendente (TNTD)]
- forma grave [talassemia major o talassemia trasfusione dipendente (TDT)].

Nelle α -talassemie, le percentuali di Hb F e Hb A2 risultano di solito normali, e la diagnosi di talassemia da difetto genetico di uno o due geni può essere fatta mediante moderni test genetici. La diagnosi spesso avviene tramite l'esclusione di altre cause di anemia microcitica.

L' α -talassemia è particolarmente frequente fra soggetti originari del bacino dell'Africa, del Mediterraneo o del Sud-Est asiatico. La β -talassemia è più frequente in soggetti originari del bacino del Mediterraneo, del Medio Oriente, del Sud-Est asiatico o Indiano. Tuttavia, è noto che i disordini dell'emoglobina non sono limitati ad un'area geografica specifica poiché si verificano diffusamente nel mondo, a causa dei flussi migratori, e rappresentano un problema di salute pubblica globale (1, 2).

Gli immigrati provengono per la maggior parte da zone dove emoglobinopatie e talassemie sono molto frequenti (Africa, India, Sud Est Asiatico, Romania, ex Jugoslavia, Albania), pertanto si può prevedere un potenziale aumento delle nascite di ammalati di talassemia ed emoglobinopatie (Figura 1).

L'ENERCA, l'Agenzia Europea per la gestione delle malattie rare, stima che ci siano in Europa

Tabella 1. Patterns emoglobinici nei soggetti con β -talassemia con età > a 12 mesi.

Tipo di emoglobina	Valori normali	Soggetti affetti		Carrier
		β^0 -Talassemia omozigote	β^+ -Talassemia omozigote or β^+/β^0 eterozigoti composti	β -Talassemia minor
HbA	96%-98%	0	10%-30%	92%-95%
HbF	<1%	95%-98%	70%-90%	0.5%-4%
HbA ₂	2%-3%	2%-5%	2%-5%	>3.5%

Figura 1. Principali flussi migratori verso l'Europa (dati del 2015).



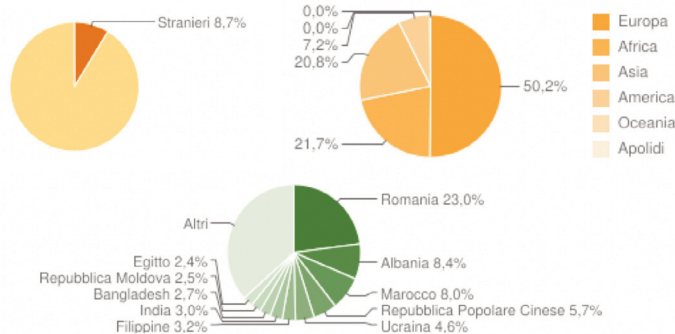
Figura 2. Andamento della popolazione con cittadinanza straniera nel corso degli anni in Italia (Dati ISTAT al 1° gennaio 2019).



Andamento della popolazione con cittadinanza straniera - 2019

ITALIA - Dati ISTAT 1° gennaio 2019 - Elaborazione TUTTITALIA.IT

(*) post-censimento



circa 44.000 soggetti affetti da emoglobinopatia il 70% dei quali è affetto da drepanocitosi (4). In considerazione di ciò, raccomanda fortemente ai Sistemi Sanitari Nazionali lo sviluppo di programmi di Screening e di Centri di riferimento Specializzati per la presa in carico dei pazienti e delle loro famiglie.

Attualmente vivono in Italia 5.255.503 stranieri, di età media pari a 32 anni; fra il 1996 e il 2009 i matrimoni misti sono stati 257.762. I minori, figli di stranieri, sono quasi un milione e aumentano ogni anno di circa 100.000 unità (Figura 2).

Figura 3. Numero di soggetti affetti da β -talassemia maior nel nostro Paese (da: Vaglio et al. Il registro nazionale della talassemia e delle altre emoglobinopatie: Primi dati. Blood Transfus. 2019; 17(Suppl 2):ABS262,p.179).

Gli immigrati provengono per la maggior parte da zone dove emoglobinopatie e talassemie sono molto frequenti (Africa, India, Sud Est Asiatico, Romania, ex Jugoslavia, Albania), pertanto si può prevedere un potenziale aumento delle nascite di ammalati di talassemia ed emoglobinopatie (5, 6).

Diffusione dei soggetti con talassemia maior

In Italia, la β -talassemia maior è particolarmente diffusa in molte regioni d'Italia, quali la Sardegna, la Sicilia, il Delta Padano, il Piemonte, la Calabria e la Puglia (Figura 3), mentre la popolazione stimata di portatori sani di β -talassemia è di circa 2,5 milioni.

La frequenza dello stato di portatore varia da un minimo di 0,8% nelle regioni centrali a un massimo del 12% in Sardegna e nell'area del delta del Po.

Nel nostro Paese la frequenza dello stato di portatore varia da un minimo di 0,8% nelle regioni centrali a un massimo del 12% in Sardegna e nel Delta Padano.

La terapia trasfusionale e chelante

La terapia trasfusionale con emazie leucodeplete rappresenta nella TDT e nella NTDT una scelta obbligata che ha come obiettivo primario la correzione dell'anemia, con conseguente soppressione dell'eritropoiesi inefficace e riduzione dell'assorbimento intestinale del ferro, consentendo al paziente una crescita regolare ed una buona qualità di vita (Figura 4). Nei soggetti adulti, la terapia trasfusionale (RBCs) viene effettuata mediamente ogni 15 giorni. Ogni unità di sangue trasfuso contiene 200-250 mg di ferro (7).

Si calcola che siano sufficienti circa 9 g di ferro per raggiungere la saturazione dei sistemi di deposito e di trasporto del ferro (transferrina plasmatica, ferritina epatica). Poiché nel paziente talassemico l'eritropoiesi è inefficace, l'eritron, cioè il sistema regolatorio dell'eritropoiesi, stimola l'assorbimento di ferro e condiziona bassi livelli di epcidina. I pazienti vanno rapidamente incontro a quadri di severo sovraccarico marziale con interessamento epatico, miocardico ed endocrino. Una volta penetrato nella cellula, il ferro libero è particolarmente attivo nelle reazioni di ossidoriduzione che lo trasformano dalla condizione ridotta bivalente a quella ossidata trivalente dando luogo alla formazione di varie specie di radicali liberi (8, 9). Le riserve dei sistemi di antiossidazione vengono rapidamente esaurite con sviluppo di danno cellulare secondario alla perossidazione dei lipidi delle proteine e degli acidi nucleici (Figura 5).

Poiché il nostro organismo non possiede meccanismi fisiologici che permettono di eliminare il ferro in eccesso, lo scopo della terapia ferrochelante è quello di impedire l'accumulo e la comparsa di ferro libero tossico con successivo danno d'organo (7).

Tre sono gli obiettivi della terapia ferrochelante:

Figura 4. Trattamento convenzionale della β -talassemia maior.

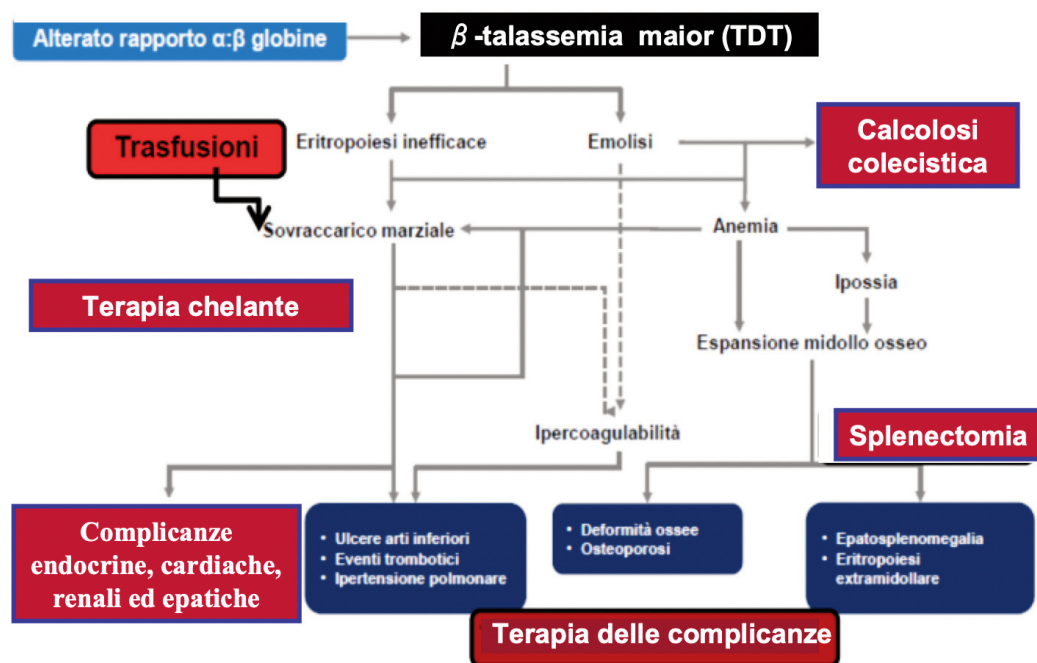
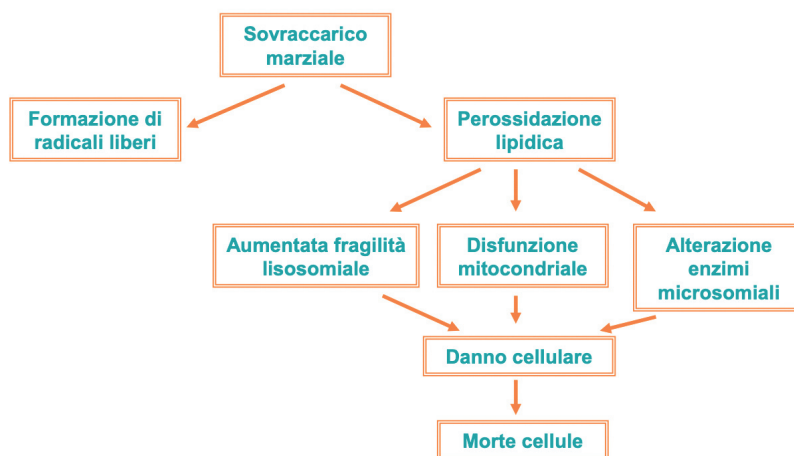


Figura 5. Meccanismo del danno cellulare da accumulo di ferro.



- mantenere un corretto bilancio del ferro con valori tissutali ottimali
- mantenere un effetto di chelazione continua per ottenere una rimozione del pool di ferro labile intracellulare (LIP) ed extracellulare (NTBI)
- mantenere un ampio margine terapeutico di sicurezza.

Al danno d'organo, legato all'eccessivo accumulo di ferro (emosiderosi), si associano: il genotipo, l'anemia cronica, l'epatopatia cronica, le infezioni

Figura 6. Eziopatogenesi delle complicanze endocrine nella talassemia.

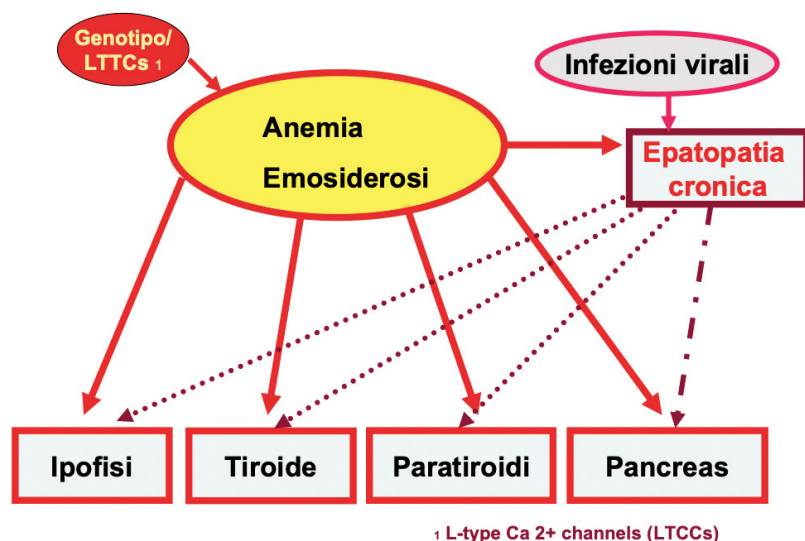
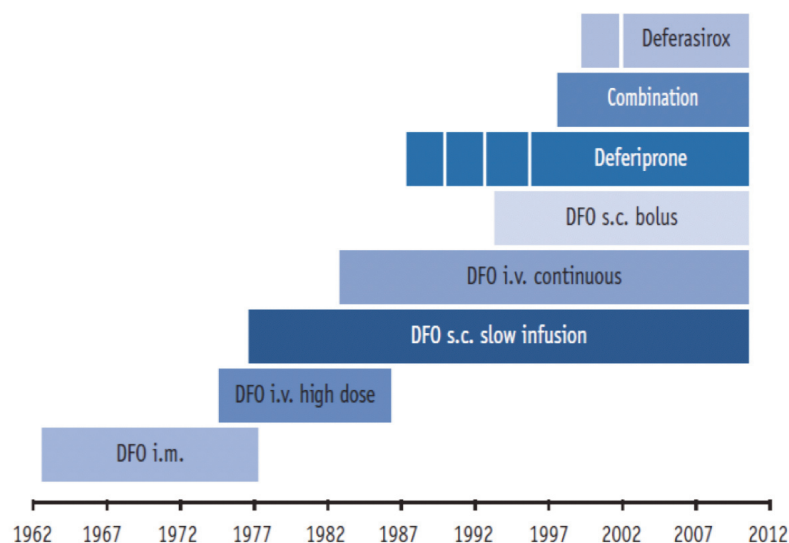


Figura 7. Evoluzione della terapia chelante nel corso degli anni.



virali (10, 11), e l'azione dei recettori ionotropici (recettori-canale) regolatori del calcio (LTCCs) per il trasporto trans membrana del ferro (Figura 6). Ad eccezione dei canali del calcio di tipo L, che hanno capacità di trasportare ferro, non è stato identificato ad oggi nessun candidato in grado di importare atomi di ferro nelle cellule (12). Con l'introduzione, alla fine degli anni '70, del chelante desferrioxamina (DFO), la mortalità e le complicanze legate all'accumulo di ferro sono drasticamente diminuite. Per la grandezza della molecola,

tuttavia, la DFO è scarsamente assorbita dall'intestino e, in considerazione della sua breve emivita (circa 20 min.), viene somministrata per via sottocutanea, tramite microinfusore (30-50 mg/Kg p.c.), per 5-7 giorni/settimana, 8-12 ore/giorno, a partire dagli anni '80 (13-15).

La scarsa praticità della via di somministrazione si ripercuote drasticamente sulla qualità di vita del paziente e rende ragione della bassa compliance alla terapia chelante in una parte rilevante di pazienti. Per questo motivo, la ricerca si è indirizzata negli ultimi anni allo sviluppo di chelanti del ferro che oltre ad essere efficaci e sicuri, fossero anche somministrabili per via orale. Il deferiprone è il primo chelante orale entrato in commercio in Italia, a cui ha fatto seguito un altro chelante, sempre orale, il deferasiroxo (Figura 7).

Il deferiprone (DFP) ha un'emivita di 3-4 ore, come la deferoxamina, è non capace di garantire una copertura chelante di 24 ore. Il deferiprone può essere usato in terapia singola (75-100 mg/kg/die, in tre dosi refratte), alternata o combinata con DFO (es. DFO: 20-60 mg/kg/die sottocute e DFP: 75-100 mg/kg/die, in tre dosi refratte), anche perché i due farmaci rimuovono il ferro con meccanismi diversi (Tabella 2) (16). La terapia di combinazione si utilizza soprattutto nei sovraccarichi importanti, in presenza di sintomatologia cardiaca o di sovraccarico cardiaco di ferro importante (documentato con la RM cardiaca; $T2^* < 10$ msec). La capacità del deferiprone agisce come molecola di trasporto, trasferendo ferro alla desferrioxamina, favorendo l'eliminazione del ferro di deposito. Questo effetto costituisce il razionale per l'uso in combinazione di queste due molecole (16, 17).

Il Deferasiroxo (DFX) ha una lunga emivita (8-16 ore), buona tollerabilità e biodisponibilità orale, che permette una sola somministrazione orale al giorno. La concentrazione sierica di deferasiroxo è proporzionale alla dose somministrata ed è correlata al fabbisogno trasfusionale. Una riduzione del carico marziale è stata osservata alla dose di 20-40 mg/Kg/die. Il complesso deferasiroxo-ferro è escreto nelle feci (Tabella 2) (18-21).

Le complicanze endocrine e la terapia chelante

L'evoluzione della terapia della talassemia ha completamente trasformato, nel tempo, la storia

Tabella 2. Caratteristiche chimiche ed efficacia dei chelanti del ferro (da: Ref. 33).

	DFO	DFP	DFX
Emivita	20-30 minuti	3-4 ore	8-16 ore
Escrezione del ferro	feci 50%, urine 50%	urine 90%, feci 10%	feci 90%
Efficacia di 24 ore sul ferro libero	no	no	si
Capacità di penetrazione nei tessuti	+	++	++/+++
Efficacia sul ferro epatico	+++	++	+++
Efficacia sul ferro cardiaco	++ (terapia intensiva)	+++	++ (dose <30 mg/Kg)
Efficacia sulla FE del Vsn	++ (terapia intensiva)	+++	+
Adesione alla terapia	+ / ++	++ / +++	++ / +++

di questa malattia, portandola da una patologia rapidamente fatale ad una condizione compatibile con una lunga sopravvivenza e con una buona qualità di vita. Per ottenere questi risultati è necessaria una adeguata terapia trasfusionale, una buona adesione al trattamento chelante, e la prevenzione delle infezioni.

I risultati ottenuti nell'ambito delle endocrinopatie hanno sostanzialmente documentato che tutti e 3 i chelanti del ferro, attualmente disponibili in commercio, sono in grado di ridurre o stabilizzare la prevalenza di queste complicanze. A tal riguardo, gli studi più numerosi disponibili in letteratura comprendono l'uso della desferrioxamina in singolo od in associazione con il deferiprone. Tuttavia, le formulazioni per via orale, in singolo, migliorando l'adesione al trattamento chelante possono favorire la stabilizzazione delle preesistenti complicanze endocrine o ridurre la prevalenza di nuove complicanze (22-30).

Un valore di ferritina sierica < 200 ng/ml favorirebbe la regressione delle preesistenti complicanze, mentre un valore > 1,300 ng/ml rappresenterebbe un fattore di rischio per la comparsa di nuove endocrinopatie ($p = 0.025$) (31).

Scelta della terapia chelante

La scelta del regime di chelazione (farmaco, dose, frequenza) dipende da molti fattori, tra cui il tipo di emoglobinopatia, l'età, l'entità dell'apporto trasfusionale di ferro, la severità dei depositi epatici e cardiaci, la presenza di cardiopatia e complicanze endocrine associate, la presenza di tossi-

cità ed efficacia dei farmaci chelanti utilizzati in pregressi trattamenti, la compatibilità con altre terapie in corso e qualità di vita del paziente (32). Ne deriva che la scelta del chelante del ferro va individualizzata in rapporto alle necessità e caratteristiche cliniche del paziente.

La terapia ferrochelante dovrà essere iniziata quando si evidenzia un iniziale sovraccarico di ferro trasfusionale dopo circa 10-12 trasfusioni di emazie e/o quando si rileva un valore di ferritina > 1000 ng/ml, anche se il solo valore di ferritina ad oggi non rispecchia la reale gravità della siderosi secondaria; altre misurazioni dell'accumulo di Fe quali la LIC (liver iron concentration), la RMN T2* cardiaca ed epatica, lo SQUID epatico e la ferritina sierica danno una stima più precisa del grado di accumulo di ferro negli organi (32). Recentemente *Danjou et al.* (32) hanno proposto un algoritmo diagnostico per decidere l'inizio della terapia chelante. In sostanza, oltre alla quantità di RBCs trasfusi, vengono presi in considerazione il valore dell'LPI (labile plasma iron) e la percentuale di saturazione della transferrina (> al 90%).

Scopo della terapia ferrochelante è mantenere la ferritina < 1,000 ng/ml (valore ottimale: 500-1,000 ng/ml), la LIC < 7 mg/gr di fegato peso secco e la RMN cardiaca T2* > 20 sec. Tali parametri oggi sono considerati ottimali per evitare il rischio di danno ed insufficienza d'organo. Tuttavia anche nei pazienti ben chelati si può avere un sovraccarico di ferro, specie epatico e /o cardiaco (33).

Nel paziente politrasfuso con talassemia in prima istanza va sempre considerata la monoterapia; la

Figura 8. Terapia chelante combinata (simultanea o sequenziale).

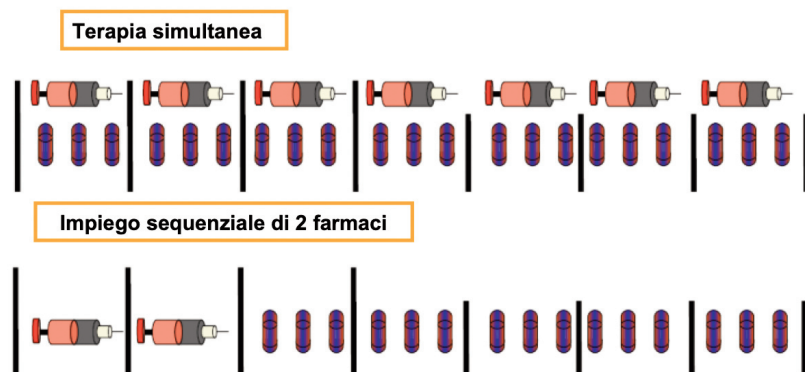
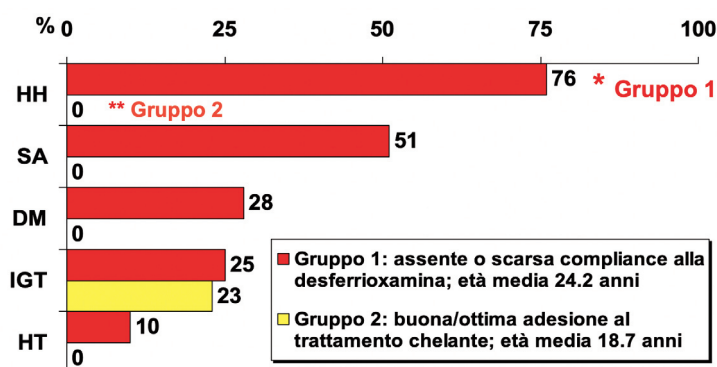


Figura 9. Prevalenza (%) delle complicanze endocrine in due gruppi di pazienti con talassemia maior. (Gruppo 1: assente o scarsa compliance alla desferrioxamina, Gruppo 2: buona/ottima adesione al trattamento chelante) (Mod. da: De Sanctis V, et al. Mediterr J Hematol Infect Dis. 2019; 11(1):e2019029).



HH = Ipogonadismo ipogonadotropo
SA = Amenorrea secondaria
DA = Diabete insulino-dipendente
IGT = Ridotta tolleranza glucidica
HT = Ipotiroidismo primario

*	Ferritina sierica ($\pm$ SD) 5597 $\pm$ 3445 ng/ml
**	Ferritina sierica ($\pm$ SD) 976 $\pm$ 321 ng/ml

Figura 10. Complicanze cardiache ed endocrine in 2 gruppi di soggetti talassemici con differente compliance alla terapia chelante, valutata con il numero di infusioni di DFO/anno (Mod. da: Delea TE, et al. Transfusion. 2007; 47:1919-1929.).

TERAPIA CHELANTE "TIPICA"		TERAPIA CHELANTE "ADEGUATA"	
169 infusioni/anno		260 infusioni/anno (5/7 giorni sett.)	
Complicanze	Terapia chelante tipica	Terapia chelante adeguata	Differenza
Cardiache	96%	60%	-36%
Diabete	54%	9%	-46%
Ipogonadismo	81%	47%	-33%
Ipotiroidismo	28%	14%	-14%
Aspettative di vita	28.0	49.3	21.3

possibilità di ricorrere alla terapia con i chelanti in associazione DFO+DFP (Figura 8) può essere presa in considerazione nei pazienti in cui la monoterapia risulta inadeguata, in presenza di un grave sovraccarico marziale cardiaco e/o epatico (RMN T2* <10 sec, LIC < 7 mg/gr di fegato peso secco), e/o scompenso cardiaco clinicamente evidente (34).

La terapia chelante alternata/sequenziale trova indicazione in pazienti in cui la monoterapia con i farmaci disponibili è risultata inefficace, di solito per la impossibilità ad eseguire un dosaggio ottimale a causa di intolleranza e/o tossicità, e nei pazienti con elevato sovraccarico di ferro.

Il trattamento usualmente viene praticato per un periodo di tempo necessario per ottenere la riduzione dei depositi di ferro, a cui segue il ritorno ad una monoterapia. L'associazione di 2 chelanti orali del ferro (DFO+DFX) (35-38) viene attualmente considerata off-label in Italia.

Per definire l'entità del sovraccarico iniziale e il buon andamento/efficacia di una terapia ferro-chelante è necessario disporre di metodologie affidabili, ripetibili, e possibilmente non invasive, che permettano di valutare la riduzione dell'accumulo di ferro a livello sistemico e dei singoli tessuti bersaglio.

In conclusione

L'evoluzione della terapia della talassemia ha completamente trasformato, nel tempo, la storia di questa malattia, portandola da una patologia rapidamente fatale ad una condizione compatibile con una lunga sopravvivenza e con una buona qualità di vita. Nonostante ciò, molti pazienti continuano a presentare nel corso degli anni complicanze d'organo legate principalmente all'emosiderosi, a causa di una cattiva compliance al trattamento (Figura 9 e 10) o a causa delle limitate risorse economiche legate al costo dei chelanti del ferro.

L'adesione non ottimale alla terapia chelante è tra i fattori principali d'insuccesso del trattamento prescritto e condiziona la prognosi della malattia. Pertanto, essa va valutata periodicamente con colloqui individuali, atti a verificare la corretta esecuzione della terapia (dosaggio, modalità di assunzione del farmaco), e le difficoltà presenti, al fine di risolvere i problemi attraverso tutti gli strumenti disponibili (terapia per via orale, terapia di associazione, cambio di aghi per infusione sottocute, supporto psicologico).

References

- Weatherall DJ. The inherited diseases of haemoglobin are an emerging global health burden. *Blood*. 2010; 115:4331-4336.
- Modell B, Darlison M. Global epidemiology of haemoglobin disorders and derived service indicators. *Bull World Health Organ*. 2008; 86:480-487.
- Viprakasit V, Ekwattanakit S. Clinical Classification, Screening and Diagnosis for Thalassemia. *Hematol Oncol Clin North Am*. 2018; 32:193-211.
- Aguilar Martinez P, Angastiniotis M, Eleftheriou A, et al. Haemoglobinopathies in Europe: health & migration policy perspectives. *Orphanet J Rare Dis*. 2014; 9:97.
- Haemoglobinopathies on the Move: Is Europe ready? Health and Migration Policy Perspectives; <http://www.enerca.org> and <http://www.thalassaemia.org.cy>.
- Gulbis B, Eleftheriou A, Angastiniotis M, et al. Epidemiology of rare anaemias in Europe. *Adv Exp Med Biol*. 2010; 686:375-396.
- Cohen AR, Glimm E, Porter JB. Effect of transfusional iron intake on response to chelation therapy in beta-thalassemia major. *Blood*. 2008; 111:583-587.
- Hershko C. Pathogenesis and management of iron toxicity in thalassemia. *Ann NY Acad Sci*. 2010; 1202:1-9.
- Esposito BP, Breuer W, Sirankapracha P, et al. Labile plasma iron in iron overload: redox activity and susceptibility to chelation. *Blood*. 2003; 102:2670-2677.
- Multicentre study on prevalence of endocrine complications in thalassaemia major. Italian Working Group on Endocrine Complications in Non-endocrine Diseases. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 1995; 42:581-586.
- De Sanctis V, Eleftheriou A, Malaventura C. Thalassaemia International Federation Study Group on Growth and Endocrine Complications in Thalassaemia. Prevalence of endocrine complications and short stature in patients with thalassaemia major: a multicenter study by the Thalassaemia International Federation (TIF) *Pediatr Endocrinol Rev*. 2004; 2(2 Suppl):249-255.
- Oudit GY, Trivieri MG, Khaper N, et al. Role of L-type Ca²⁺ channels in iron transport and iron-overload cardiomyopathy. *J Mol Med (Berl)*. 2006; 84:349-364.
- Olivieri NF, Brittenham GM. Iron-chelating therapy and the treatment of thalassemia. *Blood* 1997; 89:739-761.
- Fisher SA, Brunskill SJ, Doree C, et al. Desferrioxamine mesylate for managing transfusional iron overload in people with transfusion-dependent thalassaemia. *Cochrane Database Syst Rev*. 2013; (8):CD004450.
- Wali YA, Taqi A, Deghaidi A. Study of intermittent intravenous desferrioxamine high-dose therapy in heavily iron-loaded children with beta-thalassemia major poorly compliant to subcutaneous injections. *Pediatr Hematol Oncol*. 2004; 21:453-460.
- Berdoukas V, Farmaki K, Carson S, et al. Treating thalassemia major-related iron overload: the role of deferiprone. *J Blood Med*. 2012; 3:119-29.
- Pepe A, Meloni A, Capra M, et al. Deferasirox, deferiprone and desferrioxamine treatment in thalassemia major patients: cardiac iron and function comparison determined by quantitative magnetic resonance imaging. *Haematologica*. 2011; 96:41-47.
- Cappellini MD, Porter J, El-Beshlawy A, EPIC Study Investigators, et al. Tailoring iron chelation by iron intake and serum ferritin: the prospective EPIC study of deferiasirox in 1744 patients with transfusion-dependent anemias. *Haematologica*. 2010; 95:557-566.
- Cappellini MD, Bejaoui M, Agaoglu L, et al. Iron chelation with deferiasirox in adult and pediatric patients with thalassemia major: efficacy and safety during 5 years' follow-up. *Blood*. 2011; 118:884-893.
- Galanello R, Campus S, Origa R. Deferiasirox: pharmacokinetics and clinical experience. *Expert Opin Drug Metab Toxicol*. 2012; 8:123-134.
- Neufeld EJ. Oral chelators deferiasirox and deferiprone for transfusional iron overload in thalassemia major: new data, new questions. *Blood*. 2006; 107:3436-3441.
- Bronspiegel-Weintrob N, Olivieri NF, Tyler B, et al. Effect of age at the start of iron chelation therapy on gonadal function in betathalassemia major. *N Engl J Med*. 1990; 323:713-719.
- De Sanctis V, Roos M, Gasser T, et al. Italian Working Group on Endocrine Complications in Non-Endocrine Diseases. Impact of long-term iron chelation therapy on growth and endocrine functions in thalassaemia. *J Pediatr Endocrinol Metab*. 2006; 19:471-480.
- Wang CH, Wu KH, Tsai FJ, et al. Comparison of oral and subcutaneous iron chelation therapies in the prevention of major endocrinopathies in beta-thalassemia major patients. *Hemoglobin*. 2006; 30:257-262.
- Gamberini MR, De Sanctis V, Gilli G. Hypogonadism, diabetes mellitus, hypothyroidism, hypoparathyroidism: incidence and prevalence related to iron overload and chelation therapy in patients with thalassaemia major followed from 1980 to 2007 in the Ferrara Centre. *Pediatr Endocrinol Rev*. 2008; 6 (Suppl 1):158-169.
- Farmaki K, Tzoumari I, Pappa C, et al. Normalisation of total body iron load with very intensive combined chelation reverses cardiac and endocrine complications of thalassaemia major. *Br J Haematol*. 2010; 148:466-475.
- Casale M, Citarella S, Filosa A, et al. Endocrine function and bone disease during long-term chelation therapy with deferiasirox in patients with β -thalassemia major. *Am J Hematol*. 2014; 89:1102-1106.
- Sharma R, Seth A, Chandra J, et al. Endocrinopathies in adolescents with thalassaemia major receiving oral iron chelation therapy. *Paediatr Int Child Health*. 2016; 36:22-27.
- Soliman AT, Yassin MA, De Sanctis V. Final adult height and endocrine complications in young adults with β -thalassemia major (TM) who received oral iron chelation (OIC) in comparison with those who did not use OIC. *Acta Biomed*. 2018; 89:27-32.
- Bilgin BK, Yozgat AK, Isik P, et al. The effect of deferiasirox on endocrine complications in children with thalassemia. *Pediatr Hematol Oncol*. 2020; 37:455-464.
- Poggi M, Sorrentino F, Pugliese P, et al. Longitudinal changes of endocrine and bone disease in adults with β -thalassemia major receiving different iron chelators over 5 years. *Ann Hematol*. 2016 Apr;95(5):757-63.
- Danjou F, Cabantchik ZI, Origa R, et al. A decisional algorithm to start iron chelation in patients with beta thalassemia. *Haematologica*. 2014; 99:e38-40.
- Bollettino Ufficiale della Regione Emilia-Romagna. Docu-

- mento di pianificazione quadriennale 2017 - 2020 per il trattamento della talassemia e delle emoglobinopatie congenite della Regione Emilia-Romagna. 2018; 5 (Parte seconda): pp.22-58.
34. Galanello R, Agus A, Campus S, et al. Combined iron chelation therapy. *Ann N Y Acad Sci.* 2010; 1202:79-86.
35. Voskaridou E, Christoulas D, Terpos E. Successful chelation therapy with the combination of deferasirox and deferiprone in a patient with thalassaemia major and persisting severe iron overload after single-agent chelation therapies. *Br J Haematol.* 2011; 154:654-656.
36. Berdoukas V, Wood J. In search of the optimal iron chelation therapy for patients with thalassemia major. *Haematologica.* 2011; 96:5-8.
37. Totadri S, Bansal D, Bhatia P, et al. The deferiprone and deferasirox combination is efficacious in iron overloaded patients with β -thalassemia major: A prospective, single center, open-label study. *Pediatr Blood Cancer.* 2015; 62:1592-1596.
38. Elalfy MS, Adly AM, Wali Y, et al. Efficacy and safety of a novel combination of two oral chelators deferasirox/deferiprone over deferoxamine/deferiprone in severely iron overloaded young beta thalassemia major patients. *Eur J Haematol.* 2015; 95:411-420.

Dichiarazione conflitto d'interesse:

Gli Autori hanno dichiarato di non aver alcun conflitto d'interesse sui contenuti riportati nel manoscritto.

Correspondence:

Vincenzo De Sanctis, MD

Coordinatore del Network ICET-A

(International Network of Clinicians
for Endocrinopathies in Thalassemia
and Adolescence Medicine)

Via Paolo V, 25 - 44121- Ferrara

E-mail: vdesantis@libero.it

Endo-Thal

INTERNATIONAL NETWORK OF CLINICIANS FOR ENDOCRINOPATHIES
IN THALASSEMIA AND ADOLESCENT MEDICINE (ICET-A)



EDITOR IN CHIEF

Vincenzo De Sanctis

Pediatric and Adolescent Outpatient Clinic, Quisisana Hospital, Ferrara (Italy) - e-mail: vdesanctis@libero.it

ASSOCIATE EDITOR

Ashraf T. Soliman

Department of Pediatrics, Division of Endocrinology, Hamad General Hospital, Doha (Qatar) - e-mail: atsoliman@yahoo.com

EDITORIAL BOARD

Valeria Kaleva (Bulgaria), Iva Stoeva (Bulgaria), Michael Angastiniotis (Cyprus), Soteroula Christou (Cyprus), Mohamed El Kholy (Egypt), Heba Elsedfy (Egypt), Antonis Kattamis (Greece), Christos Kattamis (Greece), Praveen Sobti (India), Mehran Karimi (Iran), Saveria Campisi (Italy), Salvatore Di Maio (Italy), Maria Concetta Galati (Italy), Giuseppe Raiola (Italy), Hala Al Rimawi (Jordan), Soad K. Al Jaouni (Kingdom of Saudi Arabia), Shahina Daar (Oman), Mohd Abdel Daem Mohd Yassin (Qatar), Joan Lluís Vives Corrons (Spain), Duran Canatan (Turkey), Ploutarchos Tzoulis (UK), Bernadette Fiscina (USA).

The Preventive Programs for Hemoglobinopathies in Italy, Spain and Turkey: The Equality Plus Project (2nd Part)

Duran Canatan ¹, Joan Lluís Vives Corrons ², Giorgio Piacentini ³, Fatih Kara ⁴, Bekir Keskinliç ⁴, Başak Tezel ⁴, Aslıhan Külekçi Uğur ⁴, Meliha Babayiğit ⁴, Elena Krishnevskaya ², Giuseppe Millimaggi ³, Ozlem Erinekiç ¹, Zekiye Özdemir ¹, Vincenzo de Sanctis ³

¹ Thalassemia Diagnosis Center of Mediterranean Blood Diseases Foundation, Antalya (Turkey);

² Red Blood Cell and Haematopoietic Disorders Unit, Institute for Leukaemia Research Josep Carreras (IJC) and University of Barcelona, Catalonia (Spain);

³ Private Accredited Quisisana Hospital, Ferrara (Italy);

⁴ General Directory of Public Health of MOH of Turkey, Ankara (Turkey).

Abstract

The consistent multi-ethnic migrations of the last decades have considerably changed the epidemiology of the hemoglobinopathies, bringing an urgent need for treatment and primary prevention in welfare countries. Prevention of affected births constitutes the mainstay of the armamentarium

against hemoglobinopathies, taking into consideration that no radical cure is currently available for the vast majority of patients. Preventive programmes have been implemented in several countries, a summary of the experience gained in Italy, Spain and Turkey is presented.

Key words: Migrations, hemoglobinopathies, Italy, Spain, Turkey, Equality Plus project.

Background

Hemoglobinopathies are highly prevalent hereditary disorders of hemoglobin (Hb) characterized by the presence of an abnormal β -globin chain

[hemoglobin variant as in sickle cell disease (SCD)] or a decrease or absence of α - or β -globin chains (thalassemias). They are the commonest group of autosomal recessively inherited monogenic disorders of Hb production. Fairly recent esti-

mates suggest that 7% of the world population are carriers and that 300,000–400,000 affected children are born every year. The majority of these (approximately 250,000) have sickle cell disease. The prevalence of these disorders is high in the Mediterranean Basin, some parts of Africa, the Middle East, India, Southeast Asia, Malaysia, and the Pacific Islands (1, 2).

A World Health Organization (WHO) report estimated that around 20 per 1,000 births in Nigeria were affected by SCD, giving a total of 150,000 affected children born every year in Nigeria alone. The carrier frequency ranges between 10% and 40% across equatorial Africa, decreasing to 1–2% on the north African coast and <1% in South Africa (3). Healthy carriers of these conditions are present today in many nonendemic parts of the world, and severely affected children are now born where these diseases were previously rare or unknown.

In 2006, the WHO recognized hemoglobinopathies, including SCD, as a global public health problem and urged national health systems worldwide to design and establish programs for the prevention and management of SCD (3).

Clinically, β -thalassemias can be classified as transfusion-dependent thalassemia (TDT) and non-transfusion-dependent thalassemia (NTDT) according to the severity of the phenotype, which is caused by a wide spectrum of mutations in a homozygous or compound heterozygous state (4, 5).

Current treatment of TDT consists of regular transfusions that lead to iron overload, requiring iron chelation to prevent iron-related organ toxicity. Hematopoietic stem cell allogeneic transplant is the only approved cure for patients with TDT (3, 5).

NTDT patients do not require transfusions or only occasionally require them; however, they develop iron overload as well because of increased intestinal iron absorption caused by chronic anemia (3,5).

In patients with SCD a wide range of manifestations including hemolytic anemia, vaso-occlusive crises and tissue infarctions, life threatening infections and end organ failure. Clinical manifestations usually appear after three months of age, when the concentration of fetal hemoglobin (Hb F) decreases. Existing therapies are only focused on symptom management and do not alter the natural history of the disease. Currently, available treatments are limited to transfusions and hydroxycarbamide, although stem cell transplantation might be a potentially curative therapy. Several new therapeutic options are in development, including

gene therapy and gene editing (6, 7).

Although hemoglobinopathies were rare in industrialized Northern and Central European countries, recently they have become much more common in these areas through the immigration from endemic areas in the last 10–15 years (3, 8–10). Furthermore, the numbers are increasing because a large number of asylum seekers and refugees (ASR) flow toward Europe.

Thus, preventive and diagnostic programmes regarding hemoglobinopathies in immigrant populations have been implemented. The purpose of this paper is to report a summary of the experience gained in Italy, Spain and Turkey in migrants, asylum seekers and refugees. Their definition status is reported in the appendix.

Screening and genetic counseling

The main aim of screening is to reduce the number of affected births and, in the case of SCD, to reduce childhood morbidity and mortality (11, 12).

Genetic counseling should ideally be provided by a medical specialist who has been trained in counseling families with hemoglobinopathies. Counseling can also be given by a trained genetic counselor, a hematologist, or a pediatrician. People at-risk, especially those identified by population screening, represent a randomly selected sample of the population. All medical programmes, including genetic prevention programmes, must operate within existing legal and social frameworks (13). In particular:

- Information is the first step of prevention, and efforts should be made to reach each foreign groups, promoting healthy education programs. In order to communicate effectively the counsellor must take into account the educational, social, cultural and religious background of the individual/couple. The information have to provide knowledge, not anxiety or stigmatization, and needs to be adopted to the different cultures, paying attention to make clear that being a carrier is not a disease and that when a carrier is diagnosed family analysis is requested (11).
- Scholastic information to adolescent and educational pre-matrimonial courses should be offered. Before marriage and conception a screening is recommended. The main role of counsellors is to provide information in a

non-biased manner and support decisions that are morally right for the individual, couple or family (11, 13).

- Adequate dialogue with legal, ethical and religious leaders is recommended in early pregnancy in order to establish acceptability of the policy according to cultural environment of the country and the population. Respect of the wishes and choices of the couple should be a priority of these authorities. Several Muslim countries are also already offering prenatal diagnosis and selective abortion to at-risk couples, or are at various stages of developing these services. It is therefore important to comment on information so far available on the acceptability of such services in these countries (14).
- Newborn screening (NBS) should be offered to babies of foreign known carriers of hemoglobin variant, babies of immigrant parents from an ethnic risk group, and babies at-risk couples with a previous affected child ethical and multicultural-counseling problems taking in consideration ethical and multicultural-counseling problems (11, 12).

Policies and methodologies for NBS vary in different countries, and this might have consequences for the quality of care and clinical outcomes for SCD across Europe. More than 50 SCD experts from 11 European countries supported development of NBS program

Screening for the identification of carriers of β thalassemia and other hemoglobinopathies, and laboratory methodology

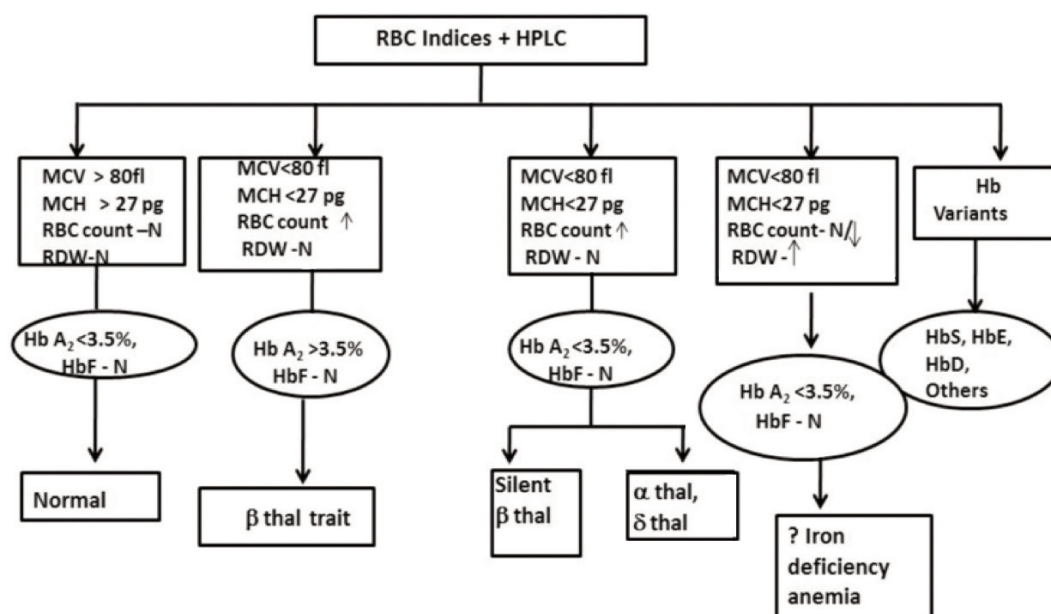
Screening methods include full blood count and biochemical analysis including quantitative analysis of hemoglobin by HPLC or capillary electrophoresis. Molecular genetic confirmation by detecting pathogenic variants establishes the diagnosis. For neonatal and antenatal screening, identification of affected newborns or carriers is achieved by hematological tests. DNA analysis supports definitive diagnosis, and additionally facilitates prenatal diagnosis procedures (16).

A flow-chart for the for carrier screening, of thalassemias and Hb variants is reported in **Figure 1**. The cut off value of HbA₂ for diagnosis of β - thalassemia carriers is usually taken as 3.5% along with reduced MCV (<80fl) and MCH (<27pg) levels with a relatively high RBC count and normal RDW. However, borderline/normal HbA₂ levels (3.0 e 3.5%) often lead to a diagnostic dilemma.

In subjects with iron deficiency apart from reduced MCV and MCH levels, the RBC count is also reduced in proportion to the hemoglobin value, and the HbA₂ level is normal or reduced.

The RDW (red cell distribution width) measures the coefficient of variation about the MCV.

Figure 1. Flow-chart for the diagnosis of hemoglobinopathies.



It tends to be higher in iron deficiency but not in the thalassaemias. However, particularly during pregnancy, it is not unusual to find the presence of both.

It should be noted that the MCV can be raised by a number of conditions. In particular, vitamin B12 and folic acid deficiency. Since the foetal to adult β globin switch is not usually complete until about 6 months of life, it is difficult detecting β -thalassaemia in the neonate based on the full blood count (16).

SCD is normally diagnosed by measuring the HbS content (% HbS) in blood of patients with high-performance liquid chromatography (HPLC), hemoglobin electrophoresis (HE) or isoelectric focusing (IEF). A simple, rapid and low-cost diagnostic test that could accurately identify normal individuals (HbAA), sickle trait carriers (HbAS) and individuals suffering from SCD (HbSS, HbS β -thalassemia) and, to a more limited extent, individuals with the HbSC in a population of adults and children over one year of age. This simple, rapid and low-cost diagnostic test represents a major step towards enabling universal screening of children and adults in countries with limited resources (17).

The racial heterogeneity of the immigrant population in a non-endemic country significantly increases the spectrum of haemoglobinopathy mutations and their combinations found in individuals, making the provision of a molecular diagnostic prenatal diagnosis service more challenging. The genetic subtypes among the different

ethnic groups vary; this may pose challenges in prenatal diagnosis. DNA microarrays constitute an advanced DNA method for some mutation categories (16).

Italy

Around 5.1 million foreign citizens legally reside in the country (Table 1). That's nearly nine percent of the overall resident population. Italy is third, among European Union countries. That's according to an immigration report by Caritas and Migrantes. Germany and the UK are in first and second position, followed by Italy, France and Spain.

As of January 1, 2018, the foreign resident nationalities with the highest numbers in Italy were Romanian (1,190,091 people; 23 % of all migrants), Albanian (440,465 people; 8.6 %) and Moroccan (416,531 people; 8.1 %). The African and Asian population amount to approximately one million each, 20% and 19,5 % of the total respectively, while North and South Americans combined amount to 376,000 people (7,4 %) (18) (Table 2).

The migrant population is unequally distributed across the country. More than half (57.4 %), is located in the northern regions.

Over half of foreign residents in Italy live in the North (57.5 %), followed by Central Italy (25.4 %) and the South (roughly 12 %). Only some 5% legally reside on the Italian islands, although that figure is rising (18).

Table 1. Estimates of different categories of foreign population in Italy in 2017. (Source: Caritas Italiana. Common Home Migration and Development in Italy. 2019.pp.1-30).

Foreign residents (Istat 2018a)	5,144,440
Holder of a permit to stay (Istat 2018c)	5,359,000
Non-EU residence permit holders (Istat 2018c)	3,714,137
Refugees and people in refugee-like situation (UNHCR 2018)	167,335
Migrants with no legal status (estimate) (ISMU 2018)	490,000
Asylum seekers lodging a claim in 2017 (Ministry of Interior 2018)	126,500
Total pending claims in 2017 (UNHCR 2018)	186,648
Total foreign population (Eurostat estimate 2018)	6,053,960
Number of immigrants naturalised in the last 10 years (Istat 2018c)	1,081,000

Table 2. First 10 nationalities of immigrated people, as of 1st of January 2018, living in Italy. (Source: Caritas and Migrantes 2017/2018. Elaboration on ISTAT data).

Nationality	Total	Females	Males
Romania	1,190,091	684,130	505,961
Albania	440,465	215,362	225,103
Morocco	416,531	194,599	221,932
China	290,681	144,231	146,450
Ukraine	237,047	184,780	52,267
Philippines	167,859	95,260	72,599
India	151,791	62,042	89,749
Bangladesh	131,967	35,543	96,424
Moldova	131,814	87,505	44,309
Egypt	119,513	39,119	80,394

The top five Italian regions for foreign residents are:

- Lombardy (1,181,772 foreign residents; 11.7 % of the total population)
- Lazio (683,409; 11.6 %)
- Emilia-Romagna (547,537; 12.3 %)
- Veneto (501,085; 10.2 %)
- Piedmont (427,91; 9.8%)

and the top five provinces for foreign residents are:

- Milan (470,273, 14.5 % of the total population)
- Rome (556,826 foreign residents, 12.8 %)
- Brescia (157,463, 12.4%)
- Turin (221,842, 9.8 %)
- Naples (134,338, 4.4 %)

The majority are economic migrants and their effects in terms of genetic disease, are difficult to estimate in terms of numbers with accuracy, since many factors need to be considered. Such factors include the permanency of the migration, whether it is a migration of single people or of families, whether the migrant will marry locally or from the country of origin, whether consanguineous marriage will still be practiced in the host country, whether there will be free choice partner or an arranged marriage, whether birth rate of immigrant families will be that of the home or the host country and whether there is a second generation of migrants and the customs that they have adopted (19).

The Italian screening programs for hemoglobinopathies and their prevalence in immigrants

Screening programs started, in Italy, in the 1970s for thalassemias have increased public awareness and aided to prevention in target populations (20). In Ferrara (Italy), a voluntary screening programme for school children and young adults initiated in 1976-1977 has brought down the birth rate of those affected with thalassemia to almost zero. The preventative actions also include legislative action, a public awareness campaign, screening and carrier diagnostics, genetic counselling, and prenatal diagnosis (21).

In 1998, a questionnaire, requesting information about the cases of SCD was sent to all Italian centers of Pediatrics and determine the distribution and severity of SCD in Italy (22). A total of 696 cases were reported. The distribution of registered patients showed that, although the S gene originated mostly in Sicily, with an estimated

mean frequency of 2% and a peak of 13% (23), and Southern Italy, 20% of patients with SCD lived in Central and Northern Italy. The types of SCD reported were as follows: compound heterozygotes HbS-beta thalassemia, (S-Th, 518 cases); homozygotes for HbS, (S-S, 149 cases); compound heterozygotes HbS and another abnormal hemoglobin (21 cases). Infections ranged between 0 and 6/year.

However, the prevalence of hemoglobinopathies throughout Italy is changing and the number of immigrants with SCD patients in Italian regions, with a historically low disease prevalence, is increasing, as documented by recent studies (24-29).

Screening programmes in immigrants at risk for SCD

The implementation of screening programs for early detection of patients with SCD has become necessary in Italy as a result of the high rate of migration from areas with a high prevalence of the disease (Sub-Saharan Africa, Middle East and the Balkans).

Following a pilot study performed in the province of Modena, Italy in 2011-2013, an official screening program was established on May 31 2014 for all pregnant women, free-of-charge for the family according to the National Guidelines for Physiological Pregnancy. Hemoglobin (Hb) profiles of pregnant women within 10 weeks of pregnancy, of new mothers at delivery and of the newborns of mothers with variant Hb profiles (newborns at-risk), were evaluated by high performance liquid chromatography (HPLC). Samples from 17,077 new mothers were analyzed and 993 showed alteration of Hb patterns (5.8%) (1.0% Hb AS carriers); of the 1011 at-risk newborns, four (0.4%) carried sickle cell disease and 90 (8.9%) were Hb AS carriers. These data show that early diagnosis of SCD or carrier status can be obtained in high-risk newborns, providing valuable information on the frequency of these conditions in geographic areas in which the disease is historically rare (30).

De Franceschi *et al.* (31) reported the Italian experience on new cases of SCD and other hemoglobinopathies in refugees between 2014 and 2017 at 13 Italian reference centers for hemoglobinopathies. A total of 70 patients with hemoglobin disorders were identified (61 new patients with SCD, 6 with TDT, and 3 with other hemoglobi-

nopathies), the majority of whom were male. Half were adults with the median age of 21 years and the other half were children. Most came from West African countries Senegal and Nigeria, as well as Morocco, Egypt, and Tunisia in North Africa, and Syria in the Middle East. Approximately two-thirds of the 70 patients were diagnosed after an acute complication required emergency care and some of these complications were life-threatening and likely preventable with early diagnosis and treatment (31).

To expedite the identification of SCD – and mitigate complications – *De Franceschi et al.* (32) undertook a pilot study in which they performed point-of-care screening of refugees seen in a single refugee center during October 2017. More than 400 individuals were screened for using one of the new rapid point-of-care screening devices (*SickleSCAN® BioMedomics, Inc.*), the results of which were then validated using the gold standard laboratory test. Front-line health providers in refugee centers and emergency department personnel were trained to recognize the signs and symptoms of SCD and intervene to provide necessary care. Three percent were found to have SCD and 20% were found to have the heterozygous AS genotype. The majority of sickle hemoglobin (HbS) carriers were from West Africa, and the authors noted that “*none of the newly identified SCD patients were aware of their condition*”.

These findings prompted the researchers to propose several initiatives to improve screening of SCD among migrants arriving to Italy. These include (32):

- Routine screening for SCD in refugees from countries endemic for SCD within 10-14 days from their arrival to identify potentially vulnerable patients
- A structured, collaborative national network
- Educating ED physicians to identify and treat acute SCD-related events (such as: SCD-related acute vaso-occlusive events)
- Rapid referrals of refugees with SCD or symptomatic HbS-carrier genotype to a comprehensive SCD reference center
- Earlier initiation of disease-modifying treatment (e.g., hydroxyurea).

Together, these data suggest that the increased number of patients with SCD in Italy has mostly resulted from migratory patterns of immigrants arriving, in recent years, from countries in which there is a high disease prevalence and that there

are approximately 2,000 patients with SCD currently living in Italy. The main challenges for physicians are lack of awareness of the asylum seekers' specific health care problems, language and intercultural communication problems, as well as access and integration of asylum seekers into the health care system. Language barriers and poor multicultural competencies should be also considered.

It is generally recognized that registries are important tools for detecting demographic patterns, allocating resources, monitoring patient outcomes, and guiding decisions (33-35).

Spain

As in other Mediterranean countries, the main hemoglobin disorder in Spain is beta-thalassemia. Until 2003, however, the prevalence of hemoglobinopathies in Spain was unknown, and only the establishment of universal pilot screening programs of hemoglobinopathies allowed to identify an overall incidence of 0.33% (36, 37).

The first study of hemoglobinopathies in Spain was carried out in 1981, in Barcelona by *Baiget et al.* (38) that reported a global prevalence of hemoglobinopathies in Spain of 0.14%, a value significantly lower value than that reported by the WHO in 1995 (39).

Although after this first publication, many studies have been carried out to establish the prevalence of β -thalassemia in Spain, in only one, the individuals included were representative of almost all Spanish geographical regions (40). This study was undertaken under the auspices of the Spanish Society of Hematology and demonstrated that, in Spain, β -thalassemia distribution is very heterogeneous with a prevalence ranging from 0.1% to 5%, pointing out that most of the HbS, and also HbC and other hemoglobinopathies carriers, were from southern and western geographical regions of Spain. Moreover, control programs based on the screening of couples at risk for thalassemia and the offer of antenatal diagnosis have demonstrated to be beneficial for reducing the frequency of β -thalassemia major when properly performed (41).

Noteworthy, some of the Spanish regions exhibited a significantly higher prevalence of both β -thalassemia and structural hemoglobinopathies, most probably due to the well known genetic influence of Arab populations in the past (42).

In 1999, *Martín Núñez et al.* (43) performed the first detection campaign for hemoglobinopathies and thalassaemias among school children in northern Extremadura and from a total of 2,818 screened samples, the global prevalence of hemoglobinopathies was of 0.24%. Notably 0.10% of the autochthonous population was found to be a carrier of HbS, a relatively high prevalence of HbS in this geographical area that may be explained by the influence of malaria infection in the past.

In 2006, screening for hemoglobinopathies and thalassemia was carried out among 2,436 pregnant women in Lanzarote (Canary Islands) by *Calvo-Villas et al.* (44), and a hemoglobin variant was found in 23 women (0.94%): HbS trait (13 cases), HbC trait (7 cases), and HbD-Punjab trait (3 cases). An additional heterozygote for unstable hemoglobin. In 82.6% of cases, the variant hemoglobins were found in immigrant populations from Africa and Central and South America. This value is three times higher than that recently reported by *Modell et al.* with an estimated percentage of pregnant woman carriers for hemoglobinopathy of 0.34% (45). The results of a very recent hemoglobinopathy study, also performed in the Canary Islands by *De Las Heras et al.* (46) reported that a total of 198 hemoglobinopathies were found in an adult population, with 125 of them corresponding to structural variants. In three cases SCD was identified, and in 70 cases AS was identified. It was noteworthy that 60% of the cases identified as AS was born in the Canary Islands.

Between 2003 and 2008, a pilot study for neonatal screening of hemoglobinopathies was performed in Catalonia by *Mañú et al.* with the help of a grant of

the Spanish Ministry of Health (47, 48).

The neonatal blood samples obtained by heel prick and/or umbilical cord sampling were analysed by HPLC. A total of 4696 newborns from at-risk ethnic groups were studied using two different targeted neonatal screening approaches. Neonates were classified into four different categories according to mother's birthplace: 1, North Africa; 2, sub-Saharan Africa; 3, Asia; and 4, Central and South America) and the prevalence of hemoglobinopathies and SCD was calculated for each category. The expected number of births in Catalonia for 2006 was 82 300, and there was an estimated prevalence of 0.021% for SCD and 0.37% for AS, with an overall prevalence of hemoglobinopathies of 0.5%. Using the SCD prevalence obtained for the different ethnic categories of high-risk immigrant populations in the targeted screening study of Catalonia, the number of births from non-indigenous popula-

Table 3. Number of births from African origin immigrants (and indigenous residents of African ethnicity) and estimation of SCD prevalence in different Spanish regions (2006).

Region	No. of births	Africa (%)	North Africa (%)	Sub-Saharan (%)	N° cases of SCD (prevalence in %)
Andalusia	95 304	2400 (2.5)	2085 (2.1)	315 (0.33)	4.8 (0.005)
Aragón	12 280	807 (6.5)	518 (4.2)	289 (2.35)	3.7 (0.030)
Asturias	7596	51 (0.6)	51 (0.6)	16 (0.21)	0.2 (0.003)
The Balearic Islands	11 675	828 (7.0)	631 (5.4)	197 (1.69)	2.6 (0.023)
The Canary Islands	20 668	617 (2.9)	400 (1.9)	217 (1.05)	2.8 (0.013)
Cantabria	5229	35 (0.6)	22 (0.4)	13 (0.25)	0.2 (0.003)
Castilla y León	19 775	441 (2.2)	405 (2.0)	36 (0.18)	0.6 (0.003)
Castilla-La Mancha	20 389	699 (3.4)	649 (3.1)	50 (0.25)	0.9 (0.004)
Catalonia	82 300	7207 (8.7)	5986 (7.2)	1221 (1.48)	17.4 (0.021)
Valencia	52 756	2453 (4.6)	2036 (3.8)	417 (0.79)	5.9 (0.011)
Extremadura	10 118	203 (2.01)	199 (1.9)	4 (0.04)	0.1 (0.001)
Galicia	21 392	161 (0.75)	115 (0.5)	46 (0.22)	0.6 (0.003)
Madrid	71 912	2690 (3.7)	1888 (2.6)	802 (1.12)	10.4 (0.014)
Murcia	18 091	1443 (7.9)	1358 (7.5)	85 (0.47)	1.7 (0.009)
Navarra	6551	384 (5.8)	310 (4.7)	74 (1.13)	1.0 (0.016)
Basque Country	20 026	388 (1.9)	259 (1.2)	129 (0.64)	1.7 (0.008)
La Rioja	3070	289 (9.4)	254 (8.2)	35 (1.14)	0.5 (0.018)
Ceuta	1041	140 (13.4)	138 (13.2)	2 (0.19)	0.1 (0.009)
Melilla	1122	383 (34.1)	372 (33.1)	11 (0.98)	0.3 (0.027)

Table 4. Distribution of African immigrants and indigenous residents of African ethnicity in the different regions of Spain (2008).

Region	Total population	Africa countries (%)	North Africa (%)	Sub-Saharan (%)
Andalusia	8 177 805	120 295 (1.47)	98 298 (1.20)	21 997 (0.27)
Aragón	1 325 272	31 282 (2.36)	19 699 (1.49)	11 583 (0.87)
Asturias	1 079 215	3738 (0.35)	2022 (0.19)	1716 (0.16)
The Balearic Islands	1 071 221	30 027 (2.80)	21 634 (2.02)	8393 (0.78)
The Canary Islands	2 070 465	27 804 (1.34)	16 733 (0.81)	11 071 (0.53)
Cantabria	581 215	2523 (0.43)	1526 (0.26)	997 (0.17)
Castilla y León	2 553 301	20 919 (0.82)	18 068 (0.71)	2851 (0.11)
Castilla-La Mancha	2 038 956	34 209 (1.68)	30 188 (1.48)	4021 (0.20)
Catalonia	7 354 441	275 746 (3.75)	216 180 (2.94)	59 566 (0.81)
Valencia	5 016 348	102 377 (2.04)	82 366 (1.64)	20 011 (0.40)
Extremadura	1 095 894	9847 (0.90)	9378 (0.86)	469 (0.40)
Galicia	2 783 100	8549 (0.31)	5146 (0.18)	3403 (0.12)
Madrid	6 251 876	112 860 (1.81)	78 817 (1.26)	34 043 (0.54)
Murcia	1 424 063	67 863 (4.77)	60 818 (4.27)	7045 (0.49)
Navarra	619 114	12 984 (2.10)	10 069 (1.63)	2915 (0.47)
Basque Country	2 155 546	20 089 (0.93)	13 344 (0.62)	6745 (0.31)
La Rioja	3 17 020	9532 (3.01)	8096 (2.55)	1436 (0.45)
Ceuta*	77 320	2620 (3.39)	2610 (3.38)	10 (0.01)
Melilla*	71 339	5225 (7.32)	5215 (7.31)	10 (0.01)

* Regions in the north of the African continent.

	Thalassemia	Sickle Cell Disease (SCD)	Other Hemoglobinopathies	Total
Number of patients (%)	75 (7.8)	826 (86.1)	58	959 (100)
	Major 62 (6.5) Minor 13 (1.3)	SS: 653 (68.1) SC: 100 (10.4)	HbH: 12 (1.2) HbCC: 8 (0.8)	
		S ⁺ : 34 (3.5)	Other: 38 (4.0)	
		S ⁰ : 33 (3.4)		
		S ⁰ : 33 (3.4)		
		Unknown: 6 (0.6)		
Male/Female ratio	0.94	1.11	0.79	1.04
Alive (%)	43 (69.3)	521 (63.1)	40	604 (63.8)
Dead (%)	2 (3.2)	18 (2.2)	2	22 (2.3)
Failed follow-up (%)	17 (27.4)	286 (34.6)	17	320 (33.8)
Age at diagnosis (years)	0.7 (0-3.8)	2.7 (0-52.0)		
Current age (years)	10.9 (0.7-64.3)	10.2 (0.7-55.7)		
Time of follow-up (years)	11.0 (2.2-44.7)	8.4 (0-33.5)		

tions affected by SCD in each Spanish region has been also calculated (Table 3). After 2003, the increasing immigration flows, especially from Africa (northern and sub-Saharan regions) led to the emergence of SCD as one of the most common hereditary disorders in Spain, with an impact on the burden of healthcare in several of its geographical regions. In these regions, the prevalence of SCD is directly related to the impact of immigrant populations, mainly from sub-Saharan Africa (49). The national consensus in Spain indicates that the number of African immigrants has doubled in only 5 years. Furthermore, the distribution of this immigrant African population is very heterogeneous and differs widely from one region to another (Table 4).

In conclusion, all the studies performed until 2008, demonstrate that in Spain the prevalence of hemoglobinopathies is lower when compared to other Mediterranean countries (50) or concerning the European median (0.5 cases for thalassemia and 15 for SCD per 100,000 inhabitants) (51). Moreover, the prevalence of SCD is heterogeneous and strongly influenced by the migratory flows.

After 2008, the most updated information on the current situation of Hemoglobinopathies in Spain has been recently published by the Spanish Society of Pediatric Hematology and Oncology (SEHOP) from a multicentric study

with the participation of 51 hospitals all over Spain in which 75 thalassemias (62 Major Thalassemia) 826 Sickle Cell Disease (SCD) and 58 other hemoglobinopathies were registered (Table 5) (52).

Table 5. Characteristics of the registered 959 patients with hemoglobinopathy in Spain (Medicina Clínica. 2020; 155:95-103).

Characteristics of Thalassemia in Spain

The main reason for the diagnosis of beta-thalassemia is anemia and in some patients, acute cerebrovascular accident (AVA) with few post-stroke sequelae. In these patients, magnetic resonance imaging (MRI) of the brain has demonstrated the presence of lacunar infarcts that may explain the neurological alterations, mainly neurocognitive that appear after the AVA. Treatment is based on antibiotic prophylaxis with penicillin, administered for a minimum of 5 years, and chelation therapy with deferasirox (79%), deferoxamine (58%) or deferiprone (17%) for an average duration of 9 years. A small percentage of patients are splenectomised with or without concomitant cholecystectomy. In almost 50% of children with severe thalassemia major (TM) an HLA-identical hematopoietic stem cell transplant (HSCT) can be prescribed with overall survival of 96.7%, and a mean follow-up of 13.7 years. The main complications of HSCT are chronic graft-versus-host disease (GVHD) and graft rejection. Very few patients die due to septicemia or cardiorespiratory failure.

Characteristics of Sickle-Cell Disease in Spain

As mentioned before, the largest registered SCD population in Spain is concentrated in Catalonia and Madrid. The entire sample is diagnosed by universal newborn screening, anemia symptoms, and vaso-occlusive pain crisis, with a mean age at diagnosis of 3 years. As in beta-thalassemia, cerebrovascular accidents, with few sequelae can occur in about 3% of patients, which show a somewhat higher percentage of neurocognitive complications and lacunar infarcts. Treatment consists of antibiotic prophylaxis with penicillin at around 2 years, with a mean duration of 5 years and, when necessary chelating treatment with deferasirox in about 90% of cases and deferoxamine in the remaining 10% of cases. Hydroxyurea treatment can be started in, approximately, 40% of the patients and blood transfusions in about 8% with a mean age of onset at 7 years and a mean duration of 3 years. A small percentage of patients had to undergo implantation of a central venous catheter (CVC), usually Port-a-cath®, and splenectomy, accompanied by cholecystectomy after 10 years of age. In severe cases of TM, the HSCT is an option with overall survival of 99% at 5 years of age, 98% at 15 years, and 96% after 20 years. As in

beta-thalassemia, complications of HSCT that may decrease the survival rate are generally unrelated to GVHD and in general associated with prematurity, metabolic disorders, congenital heart disease, and neuroblastoma. The average age of death is around 7 years.

Newborn screening for hemoglobinopathies and SCD in Spain

The first Newborn Screening Program (NSP) in Spain was introduced in Granada in 1968 by the initiative of professors Federico Mayor-Zaragoza, Magdalena Ugarte, and Antonio Martínez Valverde. In 1978, the National Plan for mental retardation was established within the Real Patronato de Educación y Atención a Deficientes (Royal Council of Education and Care for Individuals with Disabilities), and several laboratories were established within its framework. Between 1982 and 1983, the authorities of each autonomous region in Spain took over the management of government-run programs for the early detection of congenital and metabolic disorders (53).

Between 2000 and 2015, there were significant differences in the NSP programs of the different Spanish autonomous communities, as many only included 2 or 3 diseases while others included more than 20. To establish the actual benefits of the early diagnosis of diseases susceptible to screening, the Spanish Federation of phenylketonuria and other Metabolic Disorders, along with a group of health professionals, agreed to review the existing NSP programs in Spain to develop the broadest possible consensus on aspects such as the criteria applied to select diseases for inclusion, the establishment of units for the diagnosis, treatment, and follow-up of the detected diseases, and the creation of a national register of affected patients. They developed the consensus document for Newborn Screening Programs (NSP) for endocrine and metabolic disorders that were approved in 2013 by the general assembly of the "Consejo Interterritorial" that encouraged the establishment of consensus-based protocols within the framework of the National Health Service (NHS) so that screening programs could be uniformly implemented, based on rigorous quality criteria.

The first neonatal screening of hemoglobinopathies started in Catalonia by Baiget *et al.* (41) in 1981. Also in Catalonia, Cabot *et al.* (54) performed, in 1998, a targeted screening study limited to newborns of sub-Saharan African

mothers, initiated because of the high and increasing delivery rate of black origin immigrants in this geographical area.

However, the first universal pilot screening of hemoglobinopathies was performed by *Dulin et al.* (36) in the Community of Madrid. A total number of 29,253 specimens, obtained by heel prick and preserved as a dried blood spot on a filter paper (a "Guthrie spot"), were screened by high-performance liquid chromatography (HPLC), and 98 hemoglobinopathies were identified with an overall incidence of 0.33%. Seventy-one cases were AS with a prevalence of 0.24%, four cases were SCA, and one case was a compound heterozygote for HbS and beta-thalassemia with a prevalence of 0.017%. In 2007, *Cela et al.* (37) reported the results of the first 32 months of running this program, with the study of a total of 190,238 newborns blood samples (Guthrie spots) by HPLC and the identification of 1,060 hemoglobin variants, corresponding to a prevalence of 0.56%. Thirty-one of these cases were SCD, corresponding to a prevalence of 0.016%. In all of these cases, prevention measures consisting of antibiotic administration, vaccination, and comprehensive clinical care were initiated. The results from newborns identified as carriers of HbS, HbC, HbD or HbE were also reported to the family, and family studies were recommended for carriers and SCD patients. In subsequent pregnancies, prenatal diagnosis was performed in three families after a parental investigation.

The Catalan Network for Hemoglobinopathies and Thalassemia (CATGLOBIN)

In 2007, The Red Cell Pathology Unit from the Hospital Clinic of the University of Barcelona (HCB) led by Prof. Joan-Lluís Vives Corrons contacted with the Catalan Government "*Generalitat de Catalunya*" to implement a newborn screening program (NSP) for Sickle-Cell Disease (SCD) in Catalonia. This proposal arose as a need created by the large increase in the incidence of SCD in this Country as the result of the high migration impact during at least 30 years. The estimated prevalence of SCD in the neonatal population of Catalonia is 1 in 3,634 babies, and the sickle cell carrier condition is of 1 in 148 babies (47, 48). In 2009, the TV3 Marathon, in its edition dedicated to "*Rare Diseases*" awarded the HCB in collaboration with the Hospital of Santa Creu and Sant Pau (HSCSP), also in Barcelona, with a

Grant to create the Catalan Network for Diagnosis and Follow-up of severe hemoglobinopathies (CATGLOBIN). This allowed to implement the diagnostic procedures for hemoglobinopathies and to improve the clinical care of patients with chronic anemia and vaso-occlusive crises due to SCD. 15 hospitals from all over Catalonia take part in this network, and in 2012, within the framework of the Advisory Committee on Rare Diseases of the Public Health Agency of the Generalitat of Catalonia, presented the proposal to be included within the second phase expansion of the official Catalan NSP preceded by a one-year pilot study carried out in collaboration with CATGLOBIN. At the beginning of 2015, the Public Health Agency of the Catalan government approved the inclusion of the NSP of hemoglobinopathies and SCD within the Catalan NSP Organisation and the creation of a Diagnostic Confirmation Unit for SCD in Catalonia.

Closing remarks

Throughout the last 5 years, thanks to the implementation of The Spanish Undiagnosed Rare Diseases Program (Spain UDP) a great push has been provided to the implementation of neonatal screening for hemoglobinopathies and especially for SCD. After the dissemination of neonatal screening to most of the autonomous communities and the inclusion of patients of all ages in the registry, a high number of cases have been registered to allow the follow-up of each one of them and to increase their survival by more than 95.5% at 20 years of age in SCD, and 96.7% in thalassemia major. The NSP has become the most widely used diagnostic method, which has made it possible to pave the way for future cohort studies and to be able to compare data with other European registries, as has been done during the first stage of the ENERCA project. This has greatly contributed to the awareness of doctors and the general population against this imported disease that affects a large number of European countries. It is also important to mention that with this new dimension adopted to face the health problem, a great advance has been made in the process of the transition of SCD patients from childhood to adulthood through communication between pediatric hematologists and their adult counterparts. Moreover, this has facilitated the possession of evolutionary data from the beginning, which may have an impact

on the creation of new protocols and updating of existing guidelines. and recommendations. The consolidation of the registry led by SEHOP will make it possible to propose the realization of new multicenter studies since just by keeping the registry up to date, the epidemiological studies that are deemed necessary can be promoted by the pertinent health authorities.

Turkey

Migrants in Turkey

Turkey is located in the intersection point of Asia, Europe and Africa and Turkey is a bridge between economically and politically underdeveloped states and rich Western countries.

Irregular migrants consider Turkey as a transit route. In addition, Turkey has rising power in its region and this makes Turkey a destination country instead of transit country for third country nationals. Besides, the turmoil which has continued for years in the Middle East, Caucasus and the Balkans has led to a mass influx to Turkey and Turkey has welcomed asylum seekers in a difficult situation as a consequence of its historical ties and its sense of obligation. After 1980s, Turkey has become not only immigrant sending country but also immigrant receiving country.

Conflict, violence and persecution worldwide force due to the number of people displaced by Turkey reached record levels, the highest number in the world continues to host refugees.

Turkey already serves to host 3.6 million registered Syrian refugees and about 370,000 people anxious from other nations (55).

The screening programs for hemoglobinopathies in Turkey

Hemoglobinopathies are a very important health problem in Turkey. In 1958, the first clinical and hematological studies were published by Aksoy *et al.* In 1971, Cavdar and Arcasoy reported that the overall incidence of β -thalassemia was 2.1% (56, 57). Altay and Akar published abnormal hemoglobins in Turkey in different years. Forty-two abnormal hemoglobins were identified in the Turkish population. The most frequently observed abnormal hemoglobins were: Hb S, Hb D, Hb C, HbE and Hb O Arab. HbS was the most common abnormal hemoglobin in Turkey (58).

In various surveys, the prevalence of HbS in Eti-

Turks living in the Çukurova Region, that is an Arabic speaking closed population, was found to be between 3-47%. The overall frequency in Turkey is 0.3% and that in Thrace was 2.5% (59). The Ministry of Health (MOH) established thalassemia centers in Antalya, Antakya, Mersin and Mugla, the southern provinces of Turkey, after the law named "Fight Against Hereditary Blood Disease (FAHBD)" was accepted in 1993.

The Turkish National Hemoglobinopathy Council (TNHC) was installed to combine all centers, foundations and associations into one organization together with the MOH in 2000.

The written regulations of FAHBD were published in 2002.

Thirty-three provinces situated in the Thrace, Marmara, Aegean, Mediterranean and South Eastern regions were selected for the Hemoglobinopathy Prevention Program. (HPP) by MOH and TNHC. The HPP was started in these provinces on May 8 2003. The HPP had the following goals: (a) to assess the present situation of thalassemias and hemoglobinopathies in Turkey, (b) to establish first level centers for prevention programs, (c) to educate the healthcare personnel about thalassemia, (d) to inform the community by using press and media, and (e) to provide premarital screening tests and genetic counseling to couples. According to the written regulations, first level centers were responsible for diagnosis, public education, screening and genetic counseling. Second level centers were responsible for the diagnosis, therapy and follow-up of patients. Third level centers were for prenatal diagnosis, genetic analysis or stem cell transplantation (60).

A premarital hemoglobinopathy test is mandatory and free of charge in this program.

According to the Ministry of Health reports, 46 first level hemoglobinopathy diagnostic centers were established for premarital tests. While the percentage of premarital screening tests was 30.0% of all couples in 2003, it reached 86.0% in 2013. The number of newborn with thalassemia and hemoglobinopathies were 272 in 2002 and dropped to 25 in 2013. There has been a 90.0% reduction in affected newborns as the results of educational and prevention in the last 10 years. This program has been run as successfully run in 41 provinces by the MOH till to 2013 (61-63).

As of November 1, 2018, the Hemoglobinopathy Control Program has been implemented in 81 provinces covering whole country, under the name of "Pre-Marriage Hemoglobinopathy Scree-

ning Program". Counseling service is provided to spouse candidates who apply to family physicians to get a pre-marital report, and then blood samples are taken from the male spouse candidate for screening and screening tests are performed by sending blood samples to the Public Health Laboratory in the province or province. If the male partner is found to be a carrier or suspect in terms of hemoglobinopathy, a screening test is also performed for the female partner. Couples who are both carriers are directed to the centers to receive genetic counseling and when they think of having children, they are directed to have a healthy baby (64).

Migrant Health Centers

In order to provide preventive health services and basic health services to Syrians in our country more effectively and efficiently, to overcome the problems arising from the language and cultural barrier, and to increase access to health services, the immigrant health centers (GSM) are established.

Reinforced GSM is being established in temporary accommodation centers with a relatively high population and are far from a full-fledged public hospital and in settlements where the number of Syrians is over 20 thousand. The number of strengthened migrant health centers is 34.

Currently, 780 migrant health units have been established in 180 migrant health centers in 29

provinces and continue their activities.

"Syrians Temporary Protected Health Status and Development of the Republic of Turkey presented by Related Services Project (Feelings)" framework; Efforts are being made to support the currently operating GSM's, to create new GSM where needed, and to employ Syrian health workers to provide services in these centers.

The number of Syrian physicians employed in GSM is 694, the number of Syrian auxiliary health personnel is 954, the number of patient referral personnel is 1,121, the number of support services personnel is 399, the number of social workers is 11 and the number of psychologists is 12 (65). All health services to immigrations in Turkey between 2011 and 2019 are summarized in **Table 6**.

In places where there are no migrant health centers, Foreign Nationals Polyclinics (YUP) have been established to provide health services to foreigners. First of all, it has been planned to open at least one YUP in each province, and currently 98 polyclinics are in service in 80 provinces. YUPs are planned to be opened within the scope of Community Health Centers in every province, in the districts where these people are most concentrated (66).

Increasing the service capacity for migration health by training GSM personnel working in these centers on migration and migrant health is among the goals (**Table 7**).

Data of health service for immigrations in overall Turkey	2011-2018 years	2019 years	2011-2019 years
Number of out patients	48.795.278	17.509.194	66.301.472
Number of patients in the clinic	1.863.522	451.566	2.315.098
Number of patients with surgery	1.581.661	401.861	1.983.522
Number of birth	415.582	110.612	526.194
Number of casualties taken from the border	50.806	5.634	56.440

Table 6. Health Service Provided to Refugees (HSGM, 2019).

Number	Total 2018	Total 2019	Total
Application	65.416	93.079	158.855
Examination	49.525	72.934	122.459
Vaccine	44.464	53.225	97.689
Following up baby	5.759	7.263	13.022
Following up children	1.904	3.410	5.314
Following up pregnant	1.480	1.995	3.475

Table 7. YUP data for immigration in Turkey (From: www.goc.gov.tr. Directorate General of Migration Management of Ministry of Interior of Republic of Turkey).

Conclusions

Through mobility and migration flows, haemoglobinopathies have spread from the Mediterranean, Africa and Asia to the whole Europe, the Americas and Australia, and there is scientific evidence that they have become a global public health problem. Prevention and management of haemoglobin disorders is well established and managed in countries where these conditions were traditionally endemic or in countries that have a longstanding tradition of receiving migrants.

The International Organization for Migration (IOM) estimates that in 2020, 1,046,600 migrants arrived in Europe by land and sea. These increased numbers have significant repercussions for European governments and the European Union (EU), which were somewhat unprepared to address such issues. Preventive strategies of the public health authorities that today are lacking, should include three different types of actions:

- a) information for foreign populations and caregivers;
- b) healthy carriers detection among immigrants (screening programs); and
- c) counseling and prenatal diagnosis for healthy carriers and at-risk immigrant couples (15).

Many questions remain unanswered due to the lack of standardized national data collection systems across Europe. Coordinated efforts should be made to develop diagnostic pathways for hemoglobinopathies, in order to plan interventions, including prenatal diagnosis and cure. The absence of national registries makes essential to identify ways and tools to better describe the extent of the problem in terms of numbers and distribution across each country (67, 68).

Furthermore, understanding the degree of patient-perceived health impairment is essential to determine the burden of illness. Language barriers and poor multicultural competencies of healthcare staff and support teams were also considered critical factors leading to under or misdiagnosis, poor disease management and patient adherence with treatment, lower patient safety and patient awareness.

Mediterranean Blood Diseases Foundation (AKHAV), the European Network for Rare and Congenital Anaemias (ENERCA) and the International Network of Clinicians for Endocrino-

pathies in Thalassemia and Adolescence Medicine (ICET-A) through the Equality Plus project of the EU have planned a common response to the rising number of SCD patients in Italy, Spain and Turkey with the objectives to create a national working group focused on subjects with hemoglobinopathies and to develop tailored guidelines and algorithms for the management of SCD that could be accessed and practiced by those involved in the care of these patients in order to improve their specific knowledge and their ability of communication with different cultures and to deal with the medical needs of patients with hemoglobinopathies, considering the insufficient level of knowledge of medical teams who are now having to take care of these patients.

References

1. Weatherall DJ. The inherited diseases of haemoglobin are an emerging global health burden. *Blood*. 2010; 115:4331-4336.
2. Modell B, Darlison M. Global epidemiology of haemoglobin disorders and derived service indicators. *Bull World Health Organ*. 2008; 86:480-487.
3. Modell B, Darlison M, Birgens H, et al. Epidemiology of haemoglobin disorders in Europe: an overview. *Scand J Clin Lab Invest*. 2007; 67:39-70.
4. McGann PT, Nero AC, Ware RE. Clinical Features of β -Thalassemia and Sick Cell Disease. *Adv Exp Med Biol*. 2017; 1013:1-26.
5. Viprakasit V, Ekwattanakit S. Clinical Classification, Screening and Diagnosis for Thalassemia. *Hematol Oncol Clin North Am*. 2018; 32:193-211.
6. Ware RE, de Montalembert M, Tshilolo L, Abboud MR. Sick cell disease. *Lancet*. 2017; 390:311-323.
7. Hoppe C, Neumayr L. Sick Cell Disease. Monitoring, Current Treatment, and Therapeutics Under Development. *Hematol Oncol Clin North Am*. 2019; 33:355-371.
8. Aguilar Martinez P, Angastiniotis M, Eleftheriou A, et al. Haemoglobinopathies in Europe: health & migration policy perspectives. *Orphanet J Rare Dis*. 2014; 9:97.
9. Gulbis B, Eleftheriou A, Angastiniotis M, et al. Epidemiology of rare anaemias in Europe. *Adv Exp Med Biol*. 2010; 686:375-396.
10. Haemoglobinopathies on the Move: Is Europe ready? Health and Migration Policy Perspectives; <http://www.enerca.org> and <http://www.thalassaemia.org.cy>.
11. Giordano PC. Prospective and retrospective primary prevention of hemoglobinopathies in multiethnic societies. *Clin Biochem*. 2009; 42:1757-1766.
12. Cataldo F. Immigration and changes in the epidemiology of hemoglobin disorders in Italy: an emerging public health burden. *Ital J Pediatr*. 2012; 38:32.
13. Angastiniotis M, Eleftheriou A, Galanello R, et al. Prevention of Thalassemias and Other Haemoglobin Disorders: Volume 1: Principles [Internet]. 2nd edition. Old J, editor. Nicosia (Cyprus): Thalassemia International Federation; 2013.

14. Serour GI, Aboulghar MA, Mansour RT. Bioethics in medically assisted conception in the Muslim world. *J Assist Reprod Genet.* 1995; 12:559-565.
15. Lobitz S, Telfer P, Cela E, et al. Newborn screening for sickle cell disease in Europe: recommendations from a Pan-European Consensus Conference. *Br J Haematol.* 2018; 183:648-660.
16. Clarke GM, Higgins TN. Laboratory investigation of hemoglobinopathies and thalassemias: review and update. *Clin Chem.* 2000; 46:1284-1290.
17. Piety NZ, Yang X, Kanter J, et al. Validation of a Low-Cost Paper-Based Screening Test for Sickle Cell Anemia. *PLoS One.* 2016; 11(1):e0144901.
18. Caritas Italiana. COMMON HOME MIGRATION AND DEVELOPMENT IN ITALY. 2019.pp.1-30.
19. Bittles AH, Black ML. Consanguinity, human evolution and complex diseases. *Proc Nat Acad Sci.* 2010; 107:1779-1786.
20. Cao A, Galanello R, Rosatelli MC, et al. Clinical experience of management of thalassemia: the Sardinian experience. *Semin Hematol.* 1996; 33:66-75.
21. Lodi M, Bigi E, Palazzi G, et al. Universal Screening Program in Pregnant Women and Newborns at-Risk for Sickle Cell Disease: First Report from Northern Italy. *Hemoglobin.* 2017; 41:230-233.
22. Russo-Mancuso G, Romeo MA, Guardabasso V, Schilirò G. Survey of sickle cell disease in Italy. *Haematologica.* 1998; 83:875-881.
23. Schilirò G. Sicily: the world reservoir for thalassemias and haemoglobinopathies. *Nature.* 1978; 276:761.
24. Colombatti R, Perrotta S, Samperi P, et al. Organizing national responses for rare blood disorders: the Italian experience with sickle cell disease in childhood. *Orphanet J Rare Dis.* 2013; 8:169.
25. Po C, Colombatti R, Cirigliano A, et al. The management of sickle cell pain in the emergency department: a priority for health systems. *Clin J Pain.* 2013; 29:60-63.
26. Ballardini E, Tarocco A, Marsella M, et al. Universal neonatal screening for sickle cell disease and other haemoglobinopathies in Ferrara. Italy. *Blood Transfus.* 2013; 11:245-249.
27. Rolla R, Castagno M, Zaffaroni M, et al. Neonatal screening for sickle cell disease and other hemoglobinopathies in "the changing Europe". *Clin Lab.* 2014; 60:2089-2093.
28. Venturelli D, Lodi M, Palazzi G, et al. Sickle cell disease in areas of immigration of high-risk populations: a low cost and reproducible method of screening in northern Italy. *Blood Transfus.* 2014; 12:346-351.
29. Lodi M, Bigi E, Palazzi G, et al. Universal Screening Program in Pregnant Women and Newborns at-Risk for Sickle Cell Disease: First Report from Northern Italy. *Hemoglobin.* 2017; 41:230-233.
30. Lodi M, Bigi E, Palazzi G, et al. Universal Screening Program in Pregnant Women and Newborns at-Risk for Sickle Cell Disease: First Report from Northern Italy. *Hemoglobin.* 2017; 41:230-233.
31. De Franceschi L, Lux C, Piel FB, et al. Access to emergency departments for acute events and identification of sickle cell disease in refugees. *Blood.* 2019; 133:2100-2103.
32. De Franceschi L. Routine Sickle Cell Disease Screening Among Migrants May Help Fast-Track Treatment, Save Lives, and Reduce Health Care Costs. www.hematology.org. 9th may, 2019.
33. Inusa BPD, Colombatti R. European migration crises: The role of national hemoglobinopathy registries in improving patient access to care. *Pediatr Blood Cancer.* 2017; 64(7):e26515.
34. Hulihan MM, Feuchtbaum L, Jordan L, et al. State-based surveillance for selected hemoglobinopathies. *Genet Med.* 2015; 17(2):125-30.
35. Modell B, Khan M, Darlison M, et al. A national register for surveillance of inherited disorders: beta thalassaemia in the United Kingdom. *Bull World Health Organ.* 2001; 79:1006-1013.
36. Dulin Iñiguez E, Cantalejo López MA, Cela de Julián ME, Garci G. Early detection of sickle cell anemia and other hemoglobinopathies in neonates in the autonomous community of Madrid. A pilot study. *An Pediatr (Barc).* 2003; 58:146-155.
37. Cela de Julian E, Dulin Iñiguez E, Guerrero Soler M, et al. Evaluation of systematic neonatal screening for sickle cell diseases in Madrid three years after its introduction *An Pediatr (Barc).* 2007; 66:382-386.
38. Baiget M, del Rio E, Doménech M, et al. Escrutinio de hemoglobinopatías en sangre de cordón umbilical. *Biología Clínica Hematol.* 1981; 3:251-256.
39. Angastiniotis M, Modell B, Englezos P, et al. Prevention and control of hemoglobinopathies. *Bull World Health Org.* 1995; 73:375-386.
40. Study Group for Hemoglobinopathies and Thalassemias. Thalassemia syndromes in Spain. Preliminary epidemiologic data. *Sangre (Barc).* 1986; 122:609-613.
41. Baiget M. Hemoglobinas estructurales en España. *Sangre (Barc).* 1985; 30:899-904.
42. Oliva Berini E, Cladera Serra A, Torrent Quetglas M. Campaign for the detection of minor beta-thalassemia and prevention of major beta-thalassemia in the isle of Menorca. 10-year experience. *Med Clin (Barc)* 1998; 110:361-4.
43. Martín Núñez GA. Incidencia de hemoglobinopatías estructurales en la alta Extremadura. Estudio neonatal. Madrid: Universidad Complutense, 1989.
44. Calvo-Villas JM, Zapata Ramos MF, Cuesta Tovar J, et al. Prevalence of hemoglobinopathies in pregnant women in the Lanzarote health sanitary area. *An Med Interna.* 2006; 23:206-212.
45. Modell B, Darlison M, Birgens H, et al. Epidemiology of haemoglobin disorders in Europe: an overview. *Scand J Clin Lab Invest.* 2007; 67:39-70.
46. De las Heras Floréz S, Pérez Hernández LM. Hemoglobinopatías diagnosticadas en el área sanitaria del Hospital Universitario Nuestra Señora de Candelaria de Santa Cruz de Tenerife durante un año. *An Med Interna (Madrid).* 2008; 25:61-66.
47. Mañú-Pereira M, Maya A, Cararach V, et al. Neonatal screening of hemoglobinopathies and glucose-6-phosphate dehydrogenase in Catalonia. The pilot study in an anonymous, not related population. *Med Clin (Barc).* 2006; 126:281-285.
48. Mañú Pereira M, Cabot A, Martínez González A, et al. Neonatal screening of haemoglobinopathies and G6PD deficiency in Catalonia (Spain). Molecular study of sickle cell disease associated with alpha thalassaemia and G6PD deficiency. *Med Clin (Barc).* 2007; 129:161-164.
49. Las Heras Manso G, Juncá Piera J, Feliu Frasnado E, et al. Haemoglobinopathies and glucose-6-phosphate dehydroge-

- nase deficiency in the sub-Saharan immigrant population of the Center and South Maresme region, Catalonia, Spain. *Med Clin (Barc)*. 2008; 131:5-9.
50. Daniel Y, Elion J, Allaf B, et al. Newborn Screening for Sickle Cell Disease in Europe. *Int. J. Neonatal Screen*. 2019; 5:15.
 51. Orphanet. Prevalence of rare diseases. Orphanet report series 2018 [http://www.orpha.net/orphacom/cahiers/docs/GB/Prevalence of rare diseases by alphabetical list.pdf](http://www.orpha.net/orphacom/cahiers/docs/GB/Prevalence%20of%20rare%20diseases%20by%20alphabetical%20list.pdf).
 52. Bardón Cancho EJ, García-Morín M, Beléndez C, et al. Update of the Spanish registry of haemoglobinopathies in children and adults. *Med Clin*. 2030; 155: 95-103.
 53. Couce ML. Fifty years of neonatal screening for congenital diseases in Spain *An Pediatr (Barc)*. 2019; 90:205-206.
 54. Cabot Dalmau A, Casado Toda M, Barberán Pérez J, et al. Screening neonatal de drepanocitosis en el Consorci Sanitari de Mataró. Justificaci'ón y primeros resultados. *An Esp Pediatr* 1998; 49:157-160.
 55. UNHCR - The UN Refugee Agency. www.unhcr.org.
 56. Aksoy M, Lekin EW, Maurant AE, Lehmann H. Blood groups, hemoglobins, and thalassemia in Southern Turkey and Eti Turks. *Br Med J*. 1958; 2:937-939.
 57. Cavdar AO, Arcasoy A. The incidence of β -thalassemia and abnormal hemoglobins in Turkey. *Acta Hematol*. 1971; 45:313-318.
 58. Altay C. Abnormal hemoglobins in Turkey. *Turk J Hematol* 2002; 19:63-74.
 59. Akar E, Akar N. A review of abnormal hemoglobins in Turkey. *Turk J Hematol*. 2007; 24:143-145.
 61. Canatan D, Kose MR, Ustundag M, et al. Hemoglobinopathy control program in Turkey. *Community Genet*. 2006; 9:124-126.
 62. Ministry of Health of Turkey. Hemoglobinopathy Control Program. Canatan D, Ed. Türkiye Klinikleri J Hem Onc Special Topics. 2010; 3:5-8.
 63. Canatan D. Thalassemias and Hemoglobinopathies in Turkey. *Hemoglobin*. 2014; 38:305-307.
 64. Canatan D, Delibas S. Report on Ten Years' Experience of Premarital Hemoglobinopathy Screening at a Center in Antalya, Southern Turkey. *Hemoglobin*. 2016; 40:273-276.
 65. Republic of Turkey Ministry of Health, General Directorate of Public Health, Child and Adolescent Health Department. www.goc.gov.tr.
 66. www. Republic of Turkey Ministry of Health, General Directorate of Public Health January The report of activity of 2019 year. January - 2020. www.goc.gov.tr.
 67. Telfer P, Coen PG, Christou S, et al. Survival of medically treated thalassaemia major patients in Cyprus. Trends and risk factors over the period 1980-2004. *Haematologica*. 2006; 91:1187-1192.
 68. Angastiniotis M, Vives Corrons JL, Soteriades ES, Eleftheriou A. The impact of migrations on the health services for rare diseases in Europe: The example of haemoglobin disorders. *Sci World J*. 2013; 2013:727905.

Appendix

Definitions of migrants, asylum seekers and refugees

Migrants include those who move, either temporarily or permanently from one place, area or country of residence to another for reasons such as work or seeking a better life (i.e. economic migrants), for family reasons or to study. People also migrate to flee conflict or persecution, which is where the definition converges with the terms (Source: United Nations High Commission for Refugees. Global trends: forced displacement in 2016. Geneva, 2017).

Asylum seekers are individuals who have sought international protection and whose claims for refugee status have not yet been determined, irrespective of when they may have been lodged. An asylum seeker has applied for asylum on the grounds of persecution in their home country relating to their race, religion, nationality, political belief or membership of a particular social group. This population remains classified as asylum seeker for as long as the application is pending (Source: United Nations High Commission for Refugees. Global trends: forced displacement in 2016. Geneva, 2017).

Refugees have been forced to leave their country in order to escape war, persecution or natural disaster. The 1951 Convention relating to the Status of Refugees describes a refugee as "a person who owing to a well-founded fear of being persecuted for reasons of race, religion, nationality, membership of a particular social group, or political opinion, is outside the country of this nationality and is unable to or, owing to such fear, is unwilling to avail himself of the protection of that country". A refugee is an asylum seeker whose application has been successful (Source: United Nations High Commission for Refugees. Global trends: forced displacement in 2016. Geneva, 2017).

Declaration of interest: The authors report no conflicts of interest.

Acknowledgement: This project is supported and Co-Funded by the Erasmus and Programme of the European Union.



Correspondence:

Duran Canatan, MD

Project Coordinator

Akdeniz Kan Hastalıkları Vakfı Başkanı (AKHAV)

President of Mediterranean Blood Diseases Foundation

Güllük Cd. Antelsan İş Merkezi 8/3

Muratpaşa-Antalya-Turkey

Tel & Fax: :+90.242.2432020-21

E-mail: durancanatan@gmail.com

www.equalityplus.eu

Istruzioni agli Autori

Obiettivo della rivista

La Rivista Italiana di Medicina dell'Adolescenza, organo ufficiale della Società Italiana di Medicina dell'Adolescenza, si propone di favorire la cultura e la conoscenza degli aspetti medici, etici, educativi e psicosociali della età adolescenziale con l'obiettivo di migliorare l'approccio all'assistenza e alle problematiche dell'età evolutiva. La Rivista Italiana di Medicina dell'Adolescenza, quadrimestrale, pubblica articoli di aggiornamento, articoli originali, casi clinici, esperienze sul campo, rassegne specialistiche di Esperti di diverse discipline mediche (pediatria, medicina legale, dermatologia, ginecologia, andrologia, odontoiatria, diagnostica di laboratorio e per immagini, medicina dello sport).

Front line accetta contributi, esperienze di medici e non medici che si occupano di adolescenti.

Per questa rubrica non sono necessari l'abstract e la bibliografia.

Endothal è l'organo ufficiale dell'Association of Clinical Endocrinologists for Thalassaemia and Adolescent Medicine (A-CET-A).

Magam news pubblica i contributi scientifici del Mediterranean and Middle East Action Group for Adolescent Medicine.

Preparazione degli articoli

Il primo Autore deve dichiarare all'Editor in Chief che i contributi sono inediti ed il loro contenuto conforme alla legislazione vigente anche in materia di etica della ricerca (Vedi http://www.icmje.org/urm_main.html).

La redazione si riserva di modificare i testi nella forma per uniformarli alle caratteristiche della rivista.

Gli articoli devono essere dattiloscritti con doppio spazio su fogli A4 (210 x 297 mm), lasciando 20 mm per i margini superiore, inferiore e laterali.

La prima pagina deve contenere: titolo, nome e cognome (per esteso) degli Autori, istituzione di appartenenza e relativo indirizzo (telefono, fax, indirizzo di posta elettronica).

La seconda pagina deve contenere un **riassunto in italiano ed in inglese, il titolo in inglese e 2-5 parole chiave in italiano ed in inglese**.

Per la bibliografia, che deve essere essenziale (limitata ad un massimo di 25 voci), attenersi agli "Uniform Requirements for Manuscript submitted to Biomedical Journals" (New Eng J Med 1997; 336:309).

Le referenze bibliografiche devono essere numerate progressivamente nell'ordine in cui sono citate nel testo (in numeri arabi tra parentesi).

I titoli delle riviste devono essere abbreviate secondo lo stile utilizzato nell'*Index Medicus* (la lista può essere eventualmente ottenuta al seguente sito web:

<http://www.nlm.nih.gov>).

Per gli articoli con più Autori vanno riportati i primi tre seguiti da *et al.*

La lunghezza del testo deve essere compresa tra 1.500 e 2.500 parole.

1. I manoscritti devono essere preparati seguendo rigorosamente le norme per gli Autori.
2. Gli Autori, se necessario, devono indicare che lo studio è stato approvato dal Comitato Etico, che è stato ottenuto il consenso informato scritto per lo studio ed il permesso per la pubblicazione nel testo di eventuali fotografie del paziente.
3. L'Autore è tenuto a dichiarare l'eventuale presenza di conflitti di interesse, la quale sarà segnalata in caso di pubblicazione.

4. L'articolo verrà sottoposto al giudizio di due Referee ed eventualmente dell'Editor in Chief.

5. Gli Autori dovranno seguire le raccomandazioni riportate nel sito http://www.icmje.org/urm_main.html per la preparazione dei lavori scientifici e gli aspetti etici della ricerca.

La pubblicazione dei lavori scientifici è gratuita.

Articoli standard di riviste

Parkin MD, Clayton D, Black RJ et al. Childhood leukaemia in Europe after Chernobyl: 5 year follow-up. *Br J Cancer* 1996; 73:1006-1010.

Articoli con organizzazioni come autore

The Cardiac Society of Australia and New Zealand. Clinical exercise stress testing. Safety and performance guidelines. *Med J Aust* 1996; 164:282-286.

Articoli in supplementi al fascicolo

Payne DK, Sullivan MD, Massie MJ. Women's psychological reactions to breast cancer. *Semin Oncol* 1996; 23 (Suppl 2):89-92.

Libri

Ringsven MK, Bond D. Gerontology and leadership skill for nurses. 2nd ed. Albany (NY): Delmar Publisher; 1996.

Capitolo di un libro

Philips SJ, Whisnant JP. Hypertension and stroke. In: Laragh JH, Brenner BM, editors. Hypertension: pathophysiology, diagnosis, and management. 2nd ed. New York: Raven Press; 1995, p. 465-470.

Figure e Tabelle

Per le illustrazioni tratte da altre pubblicazioni è necessario che l'Autore fornisca il **permesso scritto di riproduzione**.

Le figure (disegni, grafici, schemi, fotografie) devono essere numerate con numeri arabi secondo l'ordine con cui vengono citate nel testo ed accompagnate da didascalie redatte su un foglio separato.

Le fotografie possono essere inviate come immagini elettroniche (formato JPEG o TIFF).

Ciascuna tabella deve essere redatta su un singolo foglio, recare una didascalia ed essere numerata con numeri arabi secondo l'ordine con cui viene citata nel testo.

Come e dove inviare gli articoli

Il testo (salvato in file di Word) e le immagini (File JPG o TIFF) devono essere spediti al seguente indirizzo e-mail:

Dott Gabriella Pozzobon

Presidente SIMA ed Editor in Chief

Rivista Italiana di Medicina dell'Adolescenza

e-mail: gabriella.pozzobon@hsr.it

Una volta che il manoscritto ha ricevuto l'approvazione della sua versione definitiva, viene messo nel calendario delle pubblicazioni e pubblicato alla prima occasione possibile, tenendo in considerazione il piano Editoriale della testata.

Con la pubblicazione del manoscritto gli Autori trasferiscono la proprietà ed i diritti d'Autore all'Editore Scripta Manent s.n.c. Milano.

SALUTEPERTUTTI.IT

LA RIVISTA DELLA SALA D'ASPETTO

Scopri il Podcast  e il sito www.salutepertutti.it

