

Volume LXV - Nuova Serie
ANNO ACCADEMICO 2020-2021 306° DALLA FONDAZIONE

2020-2021

N. 2
Aprile
Giugno
2021

Atti della

Accademia

Lancisiana

*Aspicis eff.
Arto si qua mentem ptingere, ad
Conditio, eloquio medica quantum eminet arto
Dactera ni poterit reddere, scripta docent.*

RIVISTA MEDICO-SCIENTIFICA

www.attidellaaccademialancisiana.it
www.accademia-lancisiana.it



Periodico trimestrale

Anno Accademico 2020-2021: 306° dalla fondazione

Vol. LXV - n. 2 - Aprile-Giugno 2021

Proprietà

ACCADEMIA LANCISIANA

Borgo Santo Spirito, 3

00193 Roma

lancisi@aruba.it

www.accademia-lancisiana.it

© Accademia Lancisiana

Direttore Responsabile:

Franco Salvati

Comitato Scientifico:

Laura Gasbarrone, Pierluigi Antignani, Raoul Borioni, Giovanni Minardi

Segreteria di Redazione:

Chiara Abruzzini e Valentina Carelli

Redazione

Borgo Santo Spirito, 3

00193 Roma

Telefono 06.68978137 – Fax 06.6867828

Autorizzazione Tribunale di ROMA n. 9191 del 7 maggio 1963

I diritti di traduzione, di memorizzazione elettronica, di riproduzione e di adattamento anche parziale, con qualsiasi mezzo, sono riservati per tutti i Paesi.

Ai sensi della legge n. 675 (tutela dati personali) e del GDPR UE 2016/679 si garantisce la massima riservatezza dei dati personali forniti e la possibilità di richiederne gratuitamente la rettifica o la cancellazione, o di opporsi al trattamento dei dati che riguardano, scrivendo a: Accademia Lancisiana, Borgo Santo Spirito, 3 – 00193 Roma.

INDICE

Simposio

26 gennaio 2021

Gammopatia Monoclonale di Significato Incerto e Mieloma: novità di definizione, gestione e trattamento

Moderatori: Umberto Recine, Tommaso Caravita Di Toritto

La Gammopatia Monoclonale di Significato Incerto <i>A. Siniscalchi</i>	II-74
Inquadramento diagnostico del Mieloma Multiplo <i>A. Rago</i>	II-78
Il Mieloma Asintomatico: terapia o osservazione <i>T. Caravita Di Toritto</i>	II-85
Terapia del Mieloma Multiplo <i>M. T. Petrucci, F. Fazio</i>	II-96

Simposio

02 febbraio 2021

Cuore Polmone e la Pandemia COVID-19

Moderatori: Giovanni Minardi, Giuseppe Munafò

Introduzione <i>F. Salvati</i>	II-102
COVID-19: Il trattamento a domicilio <i>G. Munafò</i>	II-104
SARS-CoV-2 e malattie cardiovascolari <i>P. Mattacola, G. Minardi</i>	II-109

Simposio

09 febbraio 2021

Cuore Polmone: COVID-19 tra Ospedale e Territorio

Moderatori: Alfonso Maria Altieri, Giovanni Peliti

Introduzione <i>F. Salvati</i>	II-117
Pandemia COVID-19 e Medicina Generale <i>C. Felici, G. Peliti</i>	II-119
COVID-19 e Ospedale <i>G. Gencarelli</i>	II-124

Conferenza

16 febbraio 2021

Demografia, Cardiologia e futuro della Medicina

II-127

A. Boccanelli

Simposio

23 febbraio 2021

Registrazione di parametri biologici in Medicina Subacquea

Moderatore: Lucio Pastena

EEG, ECG: problematiche di registrazione

II-133

L. Pastena, V. Del Nero

Un casco subacqueo per la registrazione di segnali biologici (EEG/ECG)

II-136

L. Ricciardi

La registrazione dell'EEG con casco Passor

II-140

M. Melucci

La registrazione di EEG nel casco da palombaro leggero

II-143

F. Faralli

Simposio

02 marzo 2021

Patologie pancreatiche 'meno frequenti' di interesse chirurgico

Moderatori: Eugenio Santoro, Giuseppe Maria Ettore

Il trattamento dei Tumori NeuroEndocrini del Pancreas

II-145

M. Carlini, D. Spoletini, S. Iacovitti, F. Passafiume, R. Marcellinaro, R. Menditto

Pancreatite cronica e litiasi pancreatica. Stato dell'arte

II-157

E. Santoro, R. Santoro

Conferenza

16 marzo 2021

COVID-19. Identikit di un virus

II-163

F. Belli

Simposio

26 gennaio 2021

Gammopatia Monoclonale di Significato Incerto e Mieloma: novità di definizione, gestione e trattamento

Moderatori: Umberto Recine, Tommaso Caravita di Toritto

La Gammopatia Monoclonale di Significato Incerto

A. Siniscalchi

Con il termine Gammopatia Monoclonale si indica un insieme di disordini clonali delle cellule B caratterizzati dalla produzione di Immunoglobuline complete o incomplete con identità idiotipica ed isotipica (**componente monoclonale**) identificabili nel siero e/o nelle urine mediante metodiche di laboratorio quali l'elettroforesi sierica ed urinaria.

Si distinguono: a) Gammopatie Monoclonali primitive, neoplastiche e non neoplastiche, in cui la componente monoclonale svolge un ruolo importante nella patogenesi e nella presentazione clinica; b)

Gammopatie Monoclonali secondarie in cui la componente monoclonale è presente solo come epifenomeno, di solito in piccole quantità, legata ad una condizione di disreattività o iperreattività del sistema immunitario (Tab. 1).

Nella pratica clinica questa classificazione spesso è difficile da applicare perché nello stesso paziente possono coesistere quadri diversi e, nel tempo, Gammopatie diagnosticate come secondarie possono trasformarsi in forme neoplastiche primitive.

GAMMOPATIE MONOCLONALI	
PRIMITIVE	SECONDARIE
Gammopatia monoclonale di significato incerto (MGUS)	Malattie autoimmuni
Mieloma Multiplo (MM)	Malattie cutanee (psoriasi, parapsoriasi, pyoderma gangrenoso, etc.)
Mieloma Smouldering (SMM)	Malattie epatiche e gastroenterologiche (cirrosi, RCU, Crohn, celiachia, etc)
Plasmocitoma Solitario	Malattie infettive (HBV, HCV, HIV, Helicobacter, TBC)
Leucemia Plasmacellulare	Malattie con stimolo immunogeno
Amiloidosi AL	
Macroglobulinemia di Waldenstrom (MW)	
Linfomi	
Leucemia Linfatica Cronica (CLL)	

Tabella 1 – Classificazione Gammopatie Monoclonali

La Gammopatia Monoclonale di Significato Incerto (MGUS) è la forma più frequente di Gammopatia primitiva. Si distingue dalle altre Gammopatie neoplastiche, in particolare dal Mieloma Multiplo (MM), per la presenza di una componente monoclonale inferiore a 3g/dl, di una plasmocitosi midollare inferiore al 10% e per l'assenza di Myeloma-Defining Events (MDE) che includono i sintomi CRAB (ipercalcemia, insufficienza renale, anemia, lesioni ossee) o Slim-CRAB (percentuale di plasmacellule superiore al 60%, free light chain ratio superiore a 100, una lesione ossea superiore a 5mm evidenziata con risonanza magnetica)¹.

Il riscontro di una Gammopatia Monoclonale di Significato Incerto è molto frequente nella popolazione adulta, con un'incidenza che aumenta in maniera direttamente proporzionale all'età. Essa si manifesta, infatti, in meno dell'1% delle persone di età inferiore a 50 anni; nel 3% nelle persone con età compresa tra 50 e 70 anni; nel 4.5% nelle persone di età compresa tra 70 e 90 anni e del 14% nelle persone con età superiore a 90 anni, ad indicare come i processi patologici legati all'invecchiamento cellulare svolgano un ruolo importante nella formazione del clone neoplastico. Nell'ambito della stessa classe di età è presente una lieve predilezione per il sesso maschile e per le popolazioni afroamericane². La MGUS si presenta come una semplice alterazione di laboratorio caratterizzata dalla presenza di una componente monoclonale sierica e/o urinaria. In oltre il 90% dei casi la diagnosi è in genere occasionale durante esami di laboratorio eseguiti per un controllo di routine. Non si associa ad altre patologie oncoematologiche o da disreattività del sistema immunitario, di per sé non è una patologia e decorre in maniera asintomatica senza richiedere trattamenti specifici.

A seconda del tipo di componente monoclonale presente si distinguono tre differenti tipi di MGUS:

- non IgM (IgG, IgA, IgE, IgD - MGUS)
- IgM (IgM - MGUS)
- con produzione esclusiva di catene leggere (LC MGUS).

Tra queste le non IgM MGUS, ed in particolare le IgG e le IgA MGUS, risultano essere le più frequenti³.

Circa il 30% delle MGUS, in un periodo di osservazione che va da 1 a 30 anni, può trasformarsi in una neoplasia plasmacellulare, per lo più MM, o in una patologia linfoproliferativa con una incidenza di circa 1% annuo⁴. L'evoluzione può essere progressiva oppure improvvisa e senza alcun segno premonitore.

La patogenesi delle MGUS è un processo multifattoriale in cui i fattori genetici ed ambientali concorrono alla selezione ed espansione di uno o più cloni di plasmacellule. Queste cellule sono ancora capaci di produrre immunoglobuline ma sono portatrici di aberrazioni proliferative anti-apoptotiche che ne alterano il comportamento biologico. L'accumularsi nel tempo di ulteriori alterazioni genetiche rende le plasmacellule neoplastiche sempre più aggressive capaci di interagire con il microambiente midollare e di accrescersi fino a rendere la malattia sintomatica⁵.

Al momento non esiste alcuna metodica affidabile per distinguere quale delle persone portatrici di Gammopatia Monoclonale evolveranno e quali rimarranno stabili nel tempo.

L'introduzione del dosaggio delle catene leggere libere (FLC) ha permesso di sviluppare un sistema a punti per stratificare il rischio di evoluzione di un paziente con MGUS.

Le immunoglobuline sono costituite da una catena pesante e da una catena leggera. Durante la loro sintesi vi è da parte delle plasmacellule un lieve eccesso di produzione di catene leggere libere che sono

rapidamente eliminate dal rene (emivita, 2-6 ore). La quantità di FLC in circolo può aumentare per ridotta clearance renale oppure quando c'è una eccessiva produzione come avviene nel corso di neoplasie plasmacellulari.

Uno studio condotto da Rajkumar ed altri ha dimostrato che un rapporto delle catene leggere libere (FLC ratio) alterato, già da solo rappresenta un fattore di rischio indipendente per la progressione della MGUS. Combinando questo rapporto con il tipo di componente monoclonale ed il valore della stessa è possibile suddividere le MGUS in quattro gruppi prognostici: a) basso; b) intermedio basso; c) intermedio alto; d) alto⁶, con un rischio di progressione a 20 anni che varia dal 5% delle MGUS a basso rischio evolutivo al 58% delle MGUS ad alto rischio evolutivo (Tab. 2).

Il corretto inquadramento e la diagnosi differenziale con gli altri tipi di Gammopatia

Monoclonale prevede l'esecuzione degli esami di primo livello di seguito riportati:

- Anamnesi ed esame obiettivo
- Emocromo, azotemia, glicemia, creatinina, calcemia, Bilirubina totale e frazionata, AST, ALT, fosfatasi alcalina, gamma GT, LDH, dosaggio delle immunoglobuline, proteine totali ed elettroforesi delle proteine sieriche, immunofissazione sierica. dosaggio delle catene leggere libere nel siero, elettroforesi delle urine delle 24 ore, immunofissazione urinaria, proteinuria nelle 24 ore, autoimmunità. HBV, HCV, HIV.

Si procederà allo studio del midollo mediante agoaspirato midollare e biopsia ossea e alle indagini di imaging (TC total body a bassa intensità di dose, RMN della colonna dorso lombare e del bacino, TC-PET) solo in casi selezionati in base alla stratificazione di rischio, all'anamnesi, all'esame obiettivo e alla sintomatologia presente.

Rischio	Fattori di rischio	Evoluzione a 20 anni
Basso	CM < 1.5 g/dl; IgG; normale rapporto FLC	< 5%
Intermedio-1	Uno di questi fattori: CM > 1.5 g/dl; non IgG; alterato rapporto FLC	21%
37% Intermedio-2	Due di questi fattori: CM > 1.5 g/dl; non IgG; alterato rapporto FLC	37%
58% Alto	Tre di questi fattori: CM > 1.5 g/dl; non IgG; alterato rapporto FLC	58%

Tabella 2 – Rischio di progressione a Mieloma Multiplo

In particolare le attuali linee guida suggeriscono che i pazienti con Gammopatia Monoclonale a basso rischio evolutivo, in assenza di sintomi, possono essere avviati a follow-up periodico, mentre per tutte le altre classi di rischio o in presenza di un dubbio clinico, è suggerito un approfondimento dapprima con studio del midollo e successivamente con indagini radiologiche³. La periodicità del follow-up, che dovrà essere effettuato esclusivamente con esami di laboratorio, cambia a seconda del tipo di Gammopatia Monoclonale. I pazienti con Gammopatia Monoclonale a basso rischio possono essere avviati a follow-up annuale ed essere affidati, se ritenuto opportuno, al Medico di Medicina Generale (MMG). Per i pazienti a rischio evolutivo intermedio e alto, il follow-up sarà trimestrale/semestrale³.

Nel 2012 è stata introdotta una nuova entità nosologica definita Gammopatia Monoclonale di Significato Clinico (MGCS)⁷. Si tratta di condizioni in cui la componente monoclonale, seppur piccola, è in grado di provocare con meccanismi diversi (deposizione a livello di organi o tessuti, autoimmunità, attivazione del complemento) una sintomatologia clinica tale da richiedere un trattamento specifico. Rientrano nelle MGCS alcune nefropatie, neuropatie periferiche, oculopatie, dermopatie, coagulopatie acquisite, endocrinopatie. La diagnosi delle MGCS è complessa e spesso richiede un approccio multidisciplinare.

BIBLIOGRAFIA

1. Rajkumar SV, Dimopoulos MA, Palumbo A et al. International Myeloma Working Group updated criteria for the diagnosis of multiple myeloma. *Lancet Oncol* 2014; 15: e538-48.
2. Kyle RA, Therneau TM, Rajkumar SV et al. Prevalence of monoclonal gammopathy of undetermined significance. *N Eng J Med* 2006; 354: 1362-9.
3. Go RS, Rajkumar SV. How I manage monoclonal gammopathy of undetermined significance. *Blood* 2018; 131: 163-73.
4. Kyle RA, Remstein ED, Therneau TM et al. Clinical course and prognosis of smoldering (asymptomatic) multiple myeloma. *N Engl J Med* 2007; 356: 2582-90.
5. Sirohi B, Powles R. Multiple Myeloma. *Lancet* 2004; 363: 875-7.
6. Rajkumar SV, Kyle RA, Therneau TM et al. Serum free light chain ratio is an independent risk factor for progression in monoclonal gammopathy of undetermined significance. *Blood* 2005; 106: 812-7.
7. Fermand JP, Bridoux F, Dispenzieri A et al. Monoclonal gammopathy of clinical significance: a novel concept with therapeutic implications. *Blood* 2018; 132: 1478-85.

Dott.ssa Agostina Siniscalchi, U.O.S.D.
Ematologia ASL Roma1

Per la corrispondenza:
agostina.siniscalchi@aslroma1.it

Inquadramento diagnostico del Mieloma Multiplo

A. Rago

Introduzione

Il mieloma multiplo (MM) è una patologia neoplastica avente origine da plasmacellule monoclonali che proliferano e si espandono al livello del midollo emopoietico, provocando un danno all'organismo. Le plasmacellule monoclonali producono la cosiddetta componente monoclonale, costituita da immunoglobuline identiche tra loro che migrano in modo omogeneo al quadro proteico elettroforetico e formano così il caratteristico picco monoclonale. Il quadro clinico del MM è caratterizzato da una serie di sintomi, che sono espressione del danno d'organo determinato sia dalla proliferazione delle plasmacellule e dalla loro interazione con l'ambiente circostante sia dalla produzione di immunoglobuline, intere e frazionate.

MM: criteri diagnostici

Pressoché tutti i casi di mieloma sono preceduti da due fasi clinicamente silenti, quella di componente monoclonale di incerto significato (MGUS) e la sua evoluzione in MM smouldering (asintomatico, SMM), che esita infine nella forma sintomatica del MM, caratterizzata dalla comparsa di un danno d'organo correlato alla proliferazione delle cellule di mieloma o alla loro produzione della paraproteina monoclonale¹. Il fatto che molti pazienti ricevano una diagnosi di MM senza un precedente riscontro di MGUS o SMM si deve dunque all'assenza di segni o sintomi clinici che caratterizza questi quadri clinici che precedono l'evoluzione a MM sintomatico.

L'incidenza di MGUS nella popolazione generale è pari a circa il 3%, con un tasso di evoluzione a MM sintomatico che si mantiene costante nel tempo ed è pari a circa l'1% annuo. Al contrario, la probabilità di evoluzione del mieloma da asintomatico a

sintomatico cala nel tempo: infatti essa è pari al 5% annuo nei primi 5 anni dalla diagnosi, per diminuire poi al 3% nei 5 anni successivi e ridursi quindi all'1,5% dopo 10 anni. La diagnosi di MM si basa sull'evidenza di almeno il 10% di plasmacellule monoclonali a livello midollare. La presenza o meno di segni o sintomi evocativi di un danno d'organo correlato alla proliferazione delle plasmacellule midollari costituisce la discriminante per definire il MM asintomatico o sintomatico.

Il mieloma multiplo smouldering (asintomatico o indolente) è un quadro clinico caratterizzato dalla presenza di almeno il 10% plasmacellule monoclonali a livello del midollo (o di una componente monoclonale sierica > 3 gr/dl o urinaria > 500 mg/die) in assenza di segni o sintomi di danno d'organo correlato alla patologia proliferativa. Biologicamente, il SMM è una patologia eterogenea: esso infatti può presentare caratteristiche simili a quelle descritte nei casi di MGUS, avendo un decorso clinico realmente indolente; oppure caratteristiche simili a quelle che si osservano nei pazienti con MM sintomatico, con una maggiore probabilità di progressione clinica. Tale quadro clinico viene quindi distinto dai quadri di MGUS innanzitutto per il rischio di progressione a MM: nel primo caso infatti tale rischio è pari al 10% annuo, nel secondo è pari invece al 1% annuo. In uno studio condotto sul registro svedese del mieloma, il 14% di pazienti con diagnosi di MM era classificato come SMM².

Sino alla fine del 2014, la diagnosi di MM sintomatico richiedeva quindi la presenza di almeno il 10% di plasmacellule monoclonali midollari (o una componente monoclonale sierica ≥ 3 gr/dl), accompagnata dalla presenza di almeno uno tra i segni o sintomi

di danno d'organo correlati al mieloma e comunemente rappresentati (e riassunti) dall'acronimo CRAB: ipercalcemia, insufficienza renale, anemia e lesioni ossee ("bone lesions"). Nel novembre 2014, tuttavia, l'*International Myeloma Working Group* (IMWG) ha pubblicato nuove linee-guida in merito ai nuovi criteri diagnostici per il mieloma. Le novità sostanziali introdotte sono due: una migliore definizione dei criteri CRAB e l'introduzione di tre ulteriori fattori che concorrono a definire il MM come patologia attiva.

Per ciò che attiene alla precisazione dei criteri **CRAB**, sono due le modifiche apportate:

1. la definizione d'insufficienza renale è stata perfezionata e, accanto a un valore di creatinemia > 2 mg/dl, è stato aggiunto un valore di clearance della creatinina < 40 /ml;
2. nella valutazione delle lesioni ossee, sono state aggiunte alla radiografia convenzionale la tomografia computerizzata (TC) e la tomografia ad emissione di positroni (PET-TC).

Per ciò che concerne i criteri di sintomaticità del mieloma, l'IMWG ha introdotto, accanto ai noti criteri CRAB, tre nuovi *myeloma defining events* (MDE), ossia quegli elementi clinico-laboratoristici in presenza dei quali si può definire il mieloma come sintomatico e pertanto meritevole di trattamento:

1. $\geq 60\%$ di plasmacellule monoclonali midollari;
2. rapporto tra catene leggere libere sieriche kappa e lambda (catena coinvolta / catena non coinvolta) > 100 (la catena coinvolta deve essere presente in misura superiore a 100 mg/L);
3. ≥ 1 lesione focale in RMN.

Il motivo dell'aggiunta di questi tre criteri nella definizione di MM sintomatico risiede nel loro valore prognostico. Sono stati, infatti identificati determinati parametri, riportati sopra, che circoscrivono una frazione dei pazienti affetti da SMM definiti ad alto rischio di evoluzione a MM, evoluzione pari a circa il 40% annuo e quindi significativamente maggiore rispetto al 10% comunemente riportato nei pazienti con SMM, per i quali si ritiene, anche alla luce dei recenti sviluppi farmacologici, che sia necessario instaurare un trattamento atto a prevenire una pressoché certa evoluzione del mieloma da asintomatico a sintomatico.

Invasione midollare da parte di plasmacellule monoclonali $\geq 60\%$

Uno studio della Mayo Clinic, condotto su una coorte di pazienti affetti da SMM diagnosticato tra il 1996 e il 2010, ha descritto una sotto-popolazione pari al 3% di pazienti con un'invasione midollare da parte di plasmacellule monoclonali superiore o uguale al 60%. A 2 anni, nel 95% di questi pazienti si è assistito a una progressione di mieloma da smouldering asintomatico, con un tempo mediano di progressione di circa 7 mesi³. Un secondo studio ha confermato i dati riportati da Rajkumar et al.: in un gruppo di 96 pazienti affetti da SMM, per coloro i quali presentavano una quota plasmacellulare $\geq 60\%$ il tempo mediano di progressione a mieloma sintomatico era pari a 15 mesi⁴.

Rapporto tra catene leggere libere sieriche ≥ 100

Il normale rapporto tra catene leggere libere kappa e lambda (K/L) misurabili nel siero è compreso tra 0,26 e 1,65; la presenza di una popolazione plasmacellulare monoclonale esprime una delle due catene K/L porta a un inevitabile sbilanciamento nel rapporto tra le due. In passato, è stato riportato dal gruppo della Mayo Clinic che un rapporto K/L sbilanciato, con un ratio maggiore di almeno 8 volte, è

associato a un rischio di progressione di SMM a MM sintomatico pari al 40% nei primi due anni⁵. Larsen et al., in una popolazione di 586 pazienti con SMM, hanno quindi definito che un rapporto tra la catena leggera libera sierica coinvolta e quella non coinvolta ≥ 100 , con una concentrazione sierica della catena leggera coinvolta ≥ 100 mg/L, è predittivo di una progressione a MM sintomatico o amiloidosi entro 2 anni nel 82% dei pazienti. Inoltre, il 27% dei pazienti con un rapporto tra catene leggere ≥ 100 ha sviluppato un quadro di insufficienza renale acuta come danno d'organo correlato alla progressione di mieloma⁶. Questi dati sono stati confermati da Kastiris et al.: su 96 pazienti affetti da SMM, il 7% di essi presentava un rapporto tra catene leggere libere ≥ 100 e la quasi totalità è andata incontro a una progressione entro 18 mesi dalla prima osservazione.

Lesioni focali in RMN >1 (> 5 mm)

Nella stadiazione e nel follow-up del mieloma, sia esso smouldering o attivo, la risonanza magnetica nucleare (RMN) riveste un ruolo fondamentale. In RMN si possono evidenziare sia anomalie diffuse che lesioni focali. Hillengass et al. hanno applicato la metodica della RMN whole-body a 196 pazienti con SMM, evidenziando lesioni focali nel 28% dei casi⁷. Il 15% dei pazienti esaminati ha presentato > 1 lesione focale; in questo gruppo di pazienti il tempo mediano di progressione è risultato pari a 13 mesi, con un 70% di pazienti progrediti a 2 anni. A conferma di questi dati, Kastiris et al. hanno pubblicato un'analisi condotta su un gruppo di 65 pazienti con SMM: nel 14% era stata evidenziata >1 lesione in RMN. A 2 e 3 anni, il tasso di progressione a MM sintomatico era pari a 69% e 85%, rispettivamente (tempo mediano di progressione: 15 mesi). Nei pazienti con una o nessuna lesione focale, invece, il tempo mediano di progressione eccedeva i 5 anni⁸.

Diagnostica del mieloma multiplo

- Esame fisico

- Esami ematici per: emocromo con formula, striscio di sangue periferico e tipizzazione su sangue periferico per la ricerca di plasmacellule circolanti, esami di funzionalità renale ed epatica, calcio sierico, vitamina D, LDH, proteine sieriche totali, elettroforesi delle proteine sieriche, dosaggio delle immunoglobuline, dosaggio delle catene leggere libere sieriche, immunofissazione sierica, albumina, beta-2-microglobulina.
- Esame urine: dosaggio della proteinuria delle 24 ore, ricerca e dosaggio della proteinuria di Bence-Jones su urine delle 24 ore, immunofissazione urinaria.
- Indagine midollare: aspirato di sangue midollare per esame microscopico, tipizzazione, analisi citogenetica e *fluorescent in situ hybridization* (FISH). Biopsia osteomidollare per analisi morfologica ed immunoistochimica.
- Indagini radiologiche: Whole-body low-dose CT; PET-CT; MRI (whole-body o colonna in toto + bacino); se non disponibili, Rx sistematica scheletrica.

Esami di stadiazione, strumentali e di laboratorio

Esami su siero e urine

Per un corretto inquadramento della malattia occorre eseguire specifici test per definire la qualità e la quantità della componente monoclonale, sia sul siero che sulle urine. È quindi necessario eseguire: quadro proteico elettroforetico su proteine sieriche, dosaggio delle immunoglobuline sieriche (IgA, IgG, IgM), immunofissazione su siero e urine e dosaggio della proteinuria e della proteinuria di Bence-Jones su urine delle 24 ore⁹.

Il dosaggio delle catene leggere libere è consigliato in ogni paziente con disordine plasmacellulare alla diagnosi, in particolare

nei pazienti con: a) mieloma non secernente (assenza di componente monoclonale, 3% di tutti i pazienti con mieloma secondo i dati pubblicati dal gruppo della Mayo Clinic); b) piccole quantità di componente monoclonale (mieloma oligosecernente); c) mieloma secernente solo catene leggere¹⁰.

A completamento diagnostico, è necessario dosare alla diagnosi: emocromo con formula, funzionalità epatica e renale (creatinina sierica e urea), calcemia sierica, livelli di lattico deidrogenasi (LDH), beta-2-microglobulina – che riflette la ‘quantità’ o “burden” di malattia – e l’albumina sierica.

Esame midollare

La presenza di plasmacellule a livello midollare è confermata mediante aspirato midollare e biopsia ossea. La percentuale di plasmacellule può essere misurata con precisione mediante l’uso di anticorpi anti-CD138, mentre la clonalità può essere valutata mediante l’identificazione della catena leggera a livello citoplasmatico. Inoltre, è necessario eseguire la FISH per la valutazione dell’assetto cromosomico delle plasmacellule in esame (preferibilmente purificate), avvalendosi di sonde per la ricerca delle seguenti alterazioni cromosomiche: del17p13, del13, t(4;14), t(14;16), t(11;14) e amplificazione del cromosoma 1q^{11, 12}. L’analisi convenzionale del cariotipo fornisce invece ulteriori informazioni sulla ploidia delle plasmacellule.

Esami radiologici

Il coinvolgimento osseo è una caratteristica frequente dei pazienti con mieloma, tra i quali circa il 70-80% presenta lesioni osteolitiche alla diagnosi¹³. Il principale esame per la rilevazione di lesioni ossee è rappresentato dalla radiografia convenzionale estesa a tutto lo scheletro (sistematica scheletrica). Le lesioni osteolitiche rilevabili mediante Rx hanno il classico aspetto litico, in assenza di orletto sclerotico; le lesioni si localizzano preferenzialmente a livello della colonna vertebrale, delle coste, del cranio e del

bacino¹⁴. Tuttavia, negli ultimi anni, alla Rx sistematica si sono affiancate metodiche radiologiche differenti che hanno dimostrato una maggiore sensibilità nell’identificare la presenza di malattia ossea: TAC total-body a bassa intensità (WBLDCT), PET-CT e RMN. Tali metodiche sono state pertanto incluse nei nuovi criteri diagnostici del mieloma pubblicati nel 2014 come tecniche di rilevazione di coinvolgimento osseo da parte di mieloma¹⁵.

WBLD-CT

La WBLD-CT permette una valutazione globale dello scheletro nella ricerca di lesioni osteolitiche; tale esame non richiede alcun mezzo di contrasto e permette di somministrare al paziente una dose totale di radiazione inferiore di 2-3 volte a quella di una TC convenzionale. Numerosi studi hanno dimostrato che la capacità di rilevare lesioni litiche della WBL-CT è superiore a quella della radiografia convenzionale¹⁶.

Tale caratteristica può potenzialmente modificare in maniera clinicamente significativa la definizione che viene assegnata al mieloma alla diagnosi, ossia la differenza tra smouldering e attivo. I vantaggi di questa metodica sono pertanto la maggiore sensibilità nel rilevare lesioni litiche (in particolare a livello della colonna e del bacino), la migliore definizione di fratture patologiche e lesioni instabili e la maggiore velocità d’esecuzione. Viceversa, i limiti sono costituiti da una dose di radiazione (3,6 mSv per le femmine e 2,8 mSv per i maschi) superiore rispetto alla Rx sistematica (1,2) e dal maggiore tempo necessario per la refertazione da parte del radiologo. Per tali motivi, la WBLD-CT viene raccomandata come metodica alternativa alla radiografia scheletrica convenzionale.

RMN

Diversamente da quanto accade con Rx e TC, le quali sono in grado di rilevare la distruzione ossea determinata dall’invasione

delle plasmacellule, la RMN evidenzia invece l'infiltrazione midollare da parte delle cellule di mieloma. In ordine di frequenza, sono 5 i pattern d'invasione midollare descritti in RMN: 1) lesioni focali di diametro > 5 mm; 2) invasione diffusa con totale sostituzione del tessuto midollare normale; 3) pattern misto con lesioni focali e invasione diffusa; 4) midollo normale; 5) pattern a sale e pepe con innumerevoli minute lesioni focali. Dati preliminari suggeriscono che la tipologia del pattern di presentazione in RMN nei pazienti con mieloma alla diagnosi costituisca un fattore prognostico indipendente (i.e. pattern d'infiltrazione diffusa, elevato numero di lesioni focali).

È stato dimostrato che la RMN è superiore alla radiografia sistematica scheletrica nel rilevare il coinvolgimento osseo in pazienti affetti da mieloma, in particolare nell'individuare le lesioni allo scheletro assile. Questa elevata sensibilità ha condotto all'utilizzo della RMN per discriminare tra mieloma smouldering e mieloma sintomatico.

La RMN riveste quindi un ruolo fondamentale nella stadiazione del paziente con SMM per una corretta definizione clinica; nella stadiazione del paziente con nuova diagnosi di mieloma sintomatico, specialmente laddove è presente un esame radiografico convenzionale negativo per coinvolgimento osseo; così come nella stadiazione dei pazienti affetti da plasmocitoma osseo solitario. Inoltre, la RMN rappresenta un esame fondamentale sia per discriminare tra cedimenti vertebrali su base osteoporotica o correlati al mieloma, sia per descrivere con precisione la compressione del midollo o delle radici nervose, risolto essenziale per un eventuale approccio chirurgico. Il ruolo della RMN nel follow-up del paziente e nella definizione della risposta ossea alla terapia è invece ancora oggetto di studio e dibattito. Una nuova metodica, la Diffusion Weighted Imaging (DWI) RMN, basata sullo studio della diversa diffusibilità

delle molecole di acqua nei tessuti esaminati, è oggetto di studio sia per ciò che concerne la rilevazione dell'infiltrazione midollare mielomatosa sia per ciò che riguarda il monitoraggio della risposta alla terapia.

PET-CT

La PET-CT è un esame strumentale che combina l'identificazione di lesioni ossee mediante TC con la valutazione funzionale dell'attività metabolica delle cellule tumorali. In primo luogo, la PET-CT ha dimostrato d'essere utile nella stadiazione del mieloma, avendo maggiore sensibilità della radiografia convenzionale nell'identificazione di lesioni osteolitiche. In secondo luogo, la PET-CT si è rivelata efficace nell'identificazione della malattia extramidollare sia come fattore predittivo dell'evoluzione delle forme asintomatiche in mieloma sintomatico, sia come fattore prognostico in corso di terapia¹⁷.

Per questa ragione, nei nuovi criteri diagnostici del mieloma IMWG la presenza di lesioni positive in PET-CT costituisce un criterio sufficiente per impostare un trattamento chemioterapico. L'analisi dell'attività metabolica della malattia mediante PET-CT ha dimostrato di costituire un fattore prognostico statisticamente significativo sia alla diagnosi sia in ambito di monitoraggio della risposta ottenuta con la terapia¹⁸. Una captazione estesa, un'intensità di captazione elevata (in termini di Standardized Uptake Value, SUV) e una presenza di malattia extra-midollare alla diagnosi rappresentano elementi prognostici sfavorevoli. Per ciò che concerne la valutazione della risposta alla terapia, la soppressione del segnale correla con la risposta biochimica ottenuta dopo la chemioterapia: la persistenza di positività alla PET-CT è significativamente associata ad una sopravvivenza inferiore rispetto ai pazienti in cui la PET-CT risulti essere negativa. Per questa ragione, la valutazione della malattia minima residua (MRD) mediante PET-CT è stata abbinata alla valutazione MRD

midollare nei criteri IMWG pubblicati nel 2016¹⁹.

In accordo con le linee-guida più recenti, dunque, tutti i pazienti con sospetto di mieloma dovrebbero essere esaminati alla ricerca di un coinvolgimento osseo mediante WBLD-CT, metodica che ha rimpiazzato la radiografia sistematica scheletrica. In assenza della WBLD-CT, la radiografia convenzionale rimane l'indagine di I livello. La RMN, preferibilmente WB, è indicata nei pazienti con SMM e in quelli con MM con esami radiografici di I livello negativo, così come in caso di compressione midollare o di malattia extramidollare a partenza ossea. La PET-CT risulta utile nella valutazione della malattia extra-midollare e nella definizione della risposta alla terapia, in base alla disponibilità della risorsa.

BIBLIOGRAFIA

1. Landgren O, Weiss BM. Patterns of monoclonal gammopathy of undetermined significance and multiple myeloma in various ethnic/racial groups: support for genetic factors in pathogenesis. *Leukemia* 2009; 23: 1691-7.
2. Mateos MV, San Miguel JF. Treatment for high-risk smoldering myeloma. *N Engl J Med* 2013; 369: 1764-5.
3. Rajkumar SV, Larson D, Kyle RA. Diagnosis of smoldering multiple myeloma. *N Engl J Med* 2011; 365: 474-5.
4. Kastritis E, Terpos E, Moulopoulos L, et al. Extensive bone marrow infiltration and abnormal free light chain ratio identifies patients with asymptomatic myeloma at high risk for progression to symptomatic disease. *Leukemia* 2013; 27: 947-53.
5. Dispenzieri A, Kyle RA, Katzmann JA, et al. Immunoglobulin free light chain ratio is an independent risk factor for progression of smoldering (asymptomatic) multiple myeloma. *Blood* 2008; 111: 785-9.
6. Larsen JT, Kumar SK, Dispenzieri A, Kyle RA, Katzmann JA, Rajkumar SV. Serum free light chain ratio as a biomarker for high-risk smoldering multiple myeloma. *Leukemia* 2013; 27: 941-6.
7. Hillengass J, Fechtner K, Weber MA, et al. Prognostic significance of focal lesions in whole-body magnetic resonance imaging in patients with asymptomatic multiple myeloma. *J Clin Oncol* 2010; 28: 1606-10.
8. Kastritis E, Moulopoulos LA, Terpos E, Koutoulidis V, Dimopoulos MA. The prognostic importance of the presence of more than one focal lesion in spine MRI of patients with asymptomatic (smoldering) multiple myeloma. *Leukemia* 2014; 28: 2402-3.
9. Kyle RA, Rajkumar SV. Criteria for diagnosis, staging, risk stratification and response assessment of multiple myeloma. *Leukemia* 2009; 23: 3-9.
10. Dispenzieri A, Kyle RA, Merlini G, et al. International Myeloma Working Group guidelines for serum-free light chain analysis in multiple myeloma and related disorders. *Leukemia* 2009; 23: 215-24.
11. Avet-Loiseau H. Role of genetics in prognostication in myeloma. *Best Pract Res Clin Haematol* 2007; 20: 625-35.
12. Anderson KC, Alsina M, Atanackovic D, et al. NCCN Guidelines Insights: Multiple Myeloma, Version 3. 2016. *J Natl Compr Canc Netw* 2016; 14: 389-400.
13. Terpos E, Berenson J, Raje N, Roodman GD. Management of bone disease in multiple myeloma. *Expert Rev Hematol* 2014; 7: 113-25.
14. Terpos E, Moulopoulos LA, Dimopoulos MA. Advances in imaging and the management of myeloma bone disease. *J Clin Oncol* 2011; 29: 1907-15.
15. Rajkumar SV, Dimopoulos MA, Palumbo A, et al. International Myeloma Working Group updated criteria for the diagnosis of multiple myeloma. *Lancet Oncol* 2014; 15: 538-48.
16. Princewill K, Kyere S, Awan O, Mulligan M. Multiple myeloma lesion detection with whole body CT versus radiographic skeletal survey. *Cancer Invest* 2013; 31: 206-11.
17. Tirumani SH, Sakellis C, Jacene H, et al. Role of FDG-PET/CT in Extramedullary Multiple Myeloma: Correlation of FDG-PET/CT Findings With Clinical Outcome. *Clin Nucl Med* 2016; 41: 7-13.
18. Zamagni E, Patriarca F, Nanni C. Prognostic relevance of 18-F FDG PET/CT in newly diagnosed multiple myeloma patients

treated with up-front autologous transplantation. Blood 2011; 118: 5989-95.

19. Kumar S, Pavia B, Anderson KC, et al. International Myeloma Working Group consensus criteria for response and minimal residual disease assessment in multiple myeloma. Lancet Oncol 2016; 17: e328-e346.

Dott.ssa Angela Rago, UOSD Ematologia ASL Roma 1

Per la corrispondenza:
angela.rago@aslroma1.it

Il Mieloma Asintomatico: terapia o osservazione

T. Caravita di Toritto

La prima descrizione di questa patologia risale al 1980, quando Kyle e Greipp pubblicarono una revisione della casistica di 334 pazienti con diagnosi di mieloma multiplo (MM), seguiti presso la Mayo Clinic, dove furono identificati 6 pazienti che soddisfacevano i criteri diagnostici per il MM senza averne il decorso aggressivo e rimanendo in assenza di sintomi per un periodo di almeno 5 anni. In analogia ad una precedente descrizione di un quadro di leucemia acuta in assenza di sintomi¹, i ricercatori indicarono questi pazienti come affetti da una nuova entità nosologica che definirono “smoldering multiple myeloma” (SMM)².

Quindi, nel 2003 furono pubblicati dall’International Myeloma Working Group (IMWG) i criteri per la classificazione delle gammopatie monoclonali, del MM e dei disordini correlati, tra cui lo SMM. Lo SMM veniva definito “mieloma asintomatico” (MA) e caratterizzato dalla presenza di una componente monoclonale sierica (CM) $\geq 3\text{g/dL}$ e/o la presenza di plasmacellule (PC) clonali $\geq 10\%$, in assenza di un danno d’organo, conseguenza della proliferazione

plasmacellulare che si manifesta tipicamente con ipercalcemia, insufficienza renale, anemia e lesioni ossee (Tab. 1)³. Questa definizione fu successivamente confermata nelle raccomandazioni per la gestione dei pazienti con gammopatie monoclonali e SMM pubblicate nel 2010 dal IMWG, dove venivano discussi anche i fattori di rischio predittivi di progressione⁴.

Nel 2014, l’IMWG ha aggiornato i criteri diagnostici per il MM, con l’intento di riconoscere precocemente i pazienti che necessitano di una terapia senza aspettare il danno d’organo⁵. A tale scopo, sono stati individuati ed utilizzati dei biomarcatori di malignità (Tab. 2) che hanno permesso di identificare pazienti con un rischio di progressione entro due anni superiore all’80%. Pertanto, una quota di pazienti, precedentemente riconosciuta come MA, viene attualmente classificata come MM e sottoposta a terapia. Attualmente la diagnosi di MA si basa sulla presenza di una CM IgG o IgA $\geq 3\text{ g/dL}$ ($\geq 0,5\text{ g/dL}$ se componente urinaria) e/o una quota di PC midollari del 10-60%, in assenza di sintomi specifici o amiloidosi.

	MGUS*	SMM	MM
CM g/dL	< 3	≥ 3	Siero e/o urine
PC clonali midollari %	< 10	≥ 10	≥ 10 o plasmocitoma
Danno d’organo: Ipercalcemia: Ca>11,5 mg/dL Insuff. Renale: Creat. >1,7 mM/L Anemia: Hb<10g/dl o \downarrow Hb>2g/dL vn Lesioni ossee (<i>Bone lesions</i>) Altre: iperviscosità sintomatica, amiloidosi, infezioni batteriche ricorrenti (> 2 episodi in 12 mesi)	No	No	Sì
	* no evidenza di malattie linfoproliferative		

Tab. 1: Criteri per la classificazione delle gammopatie monoclonali, del MM e dei disordini correlati: IMWG 2003⁽³⁾.

	CM		Plasmocitosi midollare clonale	Sintomatologia
MGUS	<3g/dLe/o BJ<0,5g/L		< 10%	No CRAB o amiloidosi
SMM	> 3g/dL e/o BJ > 0,5g/24 ore	0	10% < 60%	No EDM o amiloidosi
MM	-		> 10% o diagnosi istologica di plasmocitoma dell'osso o extramidollare	EDM (almeno uno)
Eventi che definiscono il mieloma (EDM) Evidenza di un danno d'organo che può essere attribuito alla proliferazione clonale plasmacellulare: CRAB: <ul style="list-style-type: none"> • Ipercalcemia: Ca > 0,25 mmol/L (> 1 mg/dL) maggiore del limite superiore o > 2,75 mmol/L (> 11 mg/dL); • Insufficienza renale: clearance creatinina < 40 mL/min o creatinemia > 177 µmol/L (> 2 mg/dL); • Anemia: Livelli emoglobina > 2 g/L sotto il limite inferiore normale emoglobina < 100 g/L; • Lesioni ossee: una o più lesioni litiche valutate con Rx scheletro standard, TC o 18F-FDG PET-TC. Biomarcatori di malignità: • Plasmocitosi midollare clonale ≥60% • Rapporto sFLC (<i>Freelite, The Binding Site Group</i>): ≥ 100 • RMN ≥ 1 lesione focale (≥ 5 mm) 				

Tab. 2: Nuovi criteri diagnostici per il mieloma, IMWG 2014⁵.

Incidenza e prevalenza del MA nella popolazione generale non sono ben definite. In uno studio di Hveding Blimark et al., su un totale di 4.904 pazienti con nuova diagnosi di MM (NDMM), raccolti dal 2008 al 2015 dal registro svedese, sono stati riportati 916 (18,6%) MA utilizzando i criteri IMWG del 2003⁶. In un altro studio pubblicato sulla prevalenza, incidenza e sopravvivenza dei pazienti con MA negli USA, che analizzava dati raccolti dal SEER dal 2003 al 2011, venivano riportati 86.327 MM totali, di cui 13,7% erano MA con un'età mediana alla diagnosi di 67 anni, un'incidenza annuale pari a 0,9 casi/100.000 persone ed una sopravvivenza mediana di 54,8 mesi⁷. Peraltro, considerando che lo SMM è una condizione asintomatica, è verosimile che questi numeri sottostimino la reale incidenza di questa patologia⁸.

Il MA è caratterizzato da un'ampia variabilità prognostica e per una corretta gestione del paziente è necessaria una valutazione del rischio di progressione in malattia sintomatica, attraverso l'uso di adeguati parametri predittivi che devono

essere facilmente accessibili, eseguiti routinariamente, facilmente riproducibili e validati⁹.

A tutt'oggi non esistono parametri universalmente riconosciuti in grado di predire la progressione in malattia attiva. Il MA configura uno stadio intermedio tra gammopatie monoclonali di significato incerto (Monoclonal Gammopathy of Undetermined Significance, MGUS) e MM, con un rischio di progressione in malattia sintomatica di circa il 10% anno nei primi cinque anni e successivamente significativamente inferiore⁴. Il rischio di progressione tra i singoli pazienti è ampiamente variabile e pertanto l'identificazione di parametri prognostici affidabili risulta di cruciale importanza. Il rischio di progressione nel MA dipende dalla massa tumorale, come risulta dal livello della CM e della percentuale di PC midollari^{4, 10-14}, e da numerosi altri fattori prognostici^{10, 12, 15-27}. Sono stati costruiti numerosi modelli predittivi, sulla base dei vari fattori prognostici individuati, anche se fino ad ora i più studiati, e successivamente validati in uno

studio clinico prospettico, sono quelli della Mayo Clinic e del gruppo spagnolo PETHEMA^{10, 20}. Il modello della Mayo Clinic usa il livello della CM sierica e la plasmocitosi midollare. Queste due variabili sono state usate per classificare il MA in tre gruppi di rischio: 1) CM > 3 g/dL e plasmocitosi > 10%; 2) CM ≤3 g/dL e plasmocitosi > 10%; 3) CM > 3 g/dL e plasmocitosi ≤10%. La mediana del TP in mieloma sintomatico risulta significativamente differente nei tre gruppi (rispettivamente 2, 8 e 19 anni), mentre la probabilità di progressione a 15 anni è rispettivamente dell'87%, 70% e 39%. Il modello degli spagnoli usa due fattori di rischio in presenza di una plasmocitosi ≥ 10%: immunofenotipo aberrante > 95% delle PC clonali ed immunoparesi, definita come una riduzione ≥ 25% di almeno una delle immunoglobuline non coinvolte. Pazienti con entrambi i fattori di rischio avevano una mediana di 23 mesi alla progressione, rispetto a 73 mesi in presenza di un solo fattore di rischio e una mediana non ancora raggiunta in assenza di fattori di rischio. In uno studio randomizzato condotto dal gruppo spagnolo, i pazienti erano definiti come MA ad alto rischio se soddisfacevano sia i criteri della Mayo Clinic che quelli spagnoli²⁸. Questo studio dimostrava che i pazienti ad alto rischio, così definiti, avevano un tempo mediano alla progressione in malattia sintomatica di 24 mesi, confermando la validità di questi criteri. Entrambi gli studi indicavano che la probabilità di progressione del paziente identificato come a basso rischio era quasi equivalente a quella dei pazienti con MGUS (1% anno).

I modelli della Mayo Clinic e del Gruppo spagnolo hanno consentito di effettuare un'iniziale stratificazione di rischio che è stata migliorata utilizzando ulteriori fattori

prognostici. Infatti, Dispenzieri e colleghi hanno dimostrato che il valore prognostico del modello della Mayo Clinic iniziale può essere perfezionato aggiungendo il test delle FLC come ulteriore variabile²⁹. Nel 2013 è stato pubblicato uno studio prospettico che si proponeva di definire il grado di concordanza tra questi due modelli di rischio e che dimostrava un significativo grado di discrepanza tra i due modelli (concordanza 28,6%) nel classificare questi pazienti, sottolineando la necessità di sviluppare studi prospettici che validino l'uso di fattori di rischio attendibili individuati su basi molecolari e di imaging funzionale, per individuare correttamente pazienti da arruolare in trials clinici per la valutazione di un trattamento precoce³⁰. Il dato dell'importanza delle FLC non è, peraltro, stato confermato in uno studio di ricercatori danesi che hanno proposto un nuovo modello di valutazione del rischio basato sullo studio delle seguenti variabili: CM> 3g/dL e immunoparesi¹². Comunque, in questi ultimi anni sono stati sviluppati e proposti ulteriori modelli di rischio che incorporano nuove caratteristiche cliniche e biologiche^{12, 22, 24, 31, 32}. I componenti di questi modelli non sono identici ed il rischio individuale di ogni paziente dovrebbe essere valutato sulla base di tutti i dati disponibili piuttosto che sull'uso di un singolo modello³³. Esistono diversi modelli in grado di identificare una popolazione di pazienti con un rischio di progressione in malattia sintomatica a due anni ≥ 80% che, se validati, potrebbero essere considerati un criterio addizionale per iniziare un trattamento precoce (Tab. 3). Particolarmente efficaci e promettenti, sono quelli basati su di un modello di valutazione dinamico dei biomarcatori di malattia, in grado di distinguere un pattern evolutivo da uno non evolutivo^{24, 32, 34}.

	Modello Mayo Clinic (29)	Modello PETHEMA (20)	Modello SWOG (18)	Modello Danese (12)	Modello evolutivo Mayo Clinic (35)	Modello evolutivo Spagnolo (32)	Modello IMWG (36)
FR	PC≥ 10% CM>3g/dL sFLCr<0,125->8	PC>95% Immunop.	CM>2 g/dl FLC<25 mg/dL GEP risk>-0,26	CM>3 g/dL Immunop.	eMP eHb PC>20%	EP (2 p) CM>3g/dL (1p) Immunop. (1p)	CM>2 g/dL PC>20% FLC I/nI> 20 CA
	TP5 TP	TP5 TP	TP a 2 anni	TP a 3 anni	TP	TP a 2 anni	TP a 2 anni
0		4 % NR	30%	5%	12,3 anni	2.4%	6%
1	25% 10 aa	46% 6 aa	29%	21%	4,2 anni	31%	22.8%
2	51% 5 aa	72% 1,9 aa	FR>2 71%	50%	2,8 anni	52%	45.5%
3	76% 1,9 aa				1 anno	80%	63.1%
4							

Tab. 3: Modelli di stratificazione del rischio di progressione nel Mieloma Asintomatico.

Recentemente l'IMWG ha pubblicato una proposta di modello di stratificazione del rischio per pazienti con MA, basato sullo studio delle caratteristiche di una popolazione di 1996 MA reclutati da 75 centri in 23 nazioni. Sono stati identificati ed utilizzati tre fattori indipendenti di progressione a 2 anni: una Componente Monoclonale sierica >2 g/dL (HR: 2.1), un FLC ratio delle catene coinvolte su quelle non coinvolte >20 (HR: 2.7) ed una plasmocitosi midollare >20% (HR: 2.4). Questo ha permesso di individuare tre categorie con aumentato rischio di progressione a 2 anni: 6% per basso rischio (38%; nessun fattore di rischio, HR: 1); 18% per il rischio intermedio (33%; 1 fattore; HR: 3.0) ed un 44% per alto rischio (29%; 2-3 fattori). Inoltre, l'aggiunta delle anomalie citogenetiche ((4;14), t(14;16), +1q, and/or del13q) all'analisi ha permesso di raffinare la separazione in 4 gruppi (basso rischio 0, rischio intermedio basso 1, rischio intermedio 2, alto rischio ≥3 fattori di rischio) con un rischio di progressione a due anni rispettivamente del

6, 23, 46 e 63%. Questo modello di stratificazione del rischio, noto come 2/20/20, è largamente applicabile e permette di differenziare con precisione pazienti con MA a basso rischio che si comportano come MGUS da quelli con un alto rischio di progressione a due anni superiore al 50%³⁶.

Allo stato attuale, i pazienti con diagnosi di MA dovrebbero essere classificati come:

- pazienti a basso rischio di progressione, caratterizzati dall'assenza dei fattori ad alto rischio, che hanno una probabilità di progressione a 2 anni del 6% ed a 5 anni di circa l'8%. I pazienti di questo gruppo hanno un comportamento simile a quello dei pazienti con MGUS e dovrebbero essere seguiti annualmente;
- pazienti a rischio intermedio che presentano solo alcuni dei fattori predittivi di evoluzione ad alto rischio. È verosimile ipotizzare che questi pazienti rappresentino i veri MA. Il loro tasso di progressione a 5 anni è del 42% e

dovrebbero essere seguiti semestralmente, ad eccezione del primo anno quando è raccomandato un controllo ogni 2-3 mesi per escludere un pattern evolutivo;

- pazienti ad alto rischio, sulla base di uno dei modelli di rischio discussi precedentemente, dei quali circa la metà, potenzialmente, evolve entro due anni dalla diagnosi. Questi pazienti necessitano di un'osservazione clinica a tempo indefinito particolarmente attenta (ogni 2-3 mesi) e, anche se al momento non hanno indicazione ad un trattamento precoce, preferibilmente, dovrebbero essere seguiti da Centri in grado di discutere la possibilità di una terapia nell'ambito di uno studio clinico^{8, 33, 36}.

Il MA è una patologia altamente eterogenea, dove si può avere un andamento clinico indolente sovrapponibile a quello dei pazienti con MGUS che richiede la sola osservazione clinica o una malattia ad elevato rischio di progressione che può essere considerata come "early myeloma" e per la quale è giustificato valutare un trattamento precoce.

L'attuale raccomandazione clinica di non intervento terapeutico si basa sulla carenza di dati che dimostrino un beneficio clinico della terapia precoce in termini di progressione libera da malattia (PFS), sopravvivenza globale (OS) e qualità della vita (QoL), sull'osservazione che molti pazienti possono rimanere senza terapia per molti anni e sul potenziale rischio di selezionare cloni resistenti. Gli studi che hanno supportato queste considerazioni si basano sull'impiego di agenti alchilanti, zolendronato e talidomide. La mancanza di un evidente beneficio in questi primi studi clinici, può essere spiegata da un arruolamento non selettivo della popolazione da trattare e dalla limitata efficacia e scarsa tollerabilità dei farmaci utilizzati³⁷⁻⁴⁴.

Nel 2013 uno studio condotto e pubblicato da Mateos et al. ha segnato la svolta nella gestione clinica dei pazienti con MA. Gli Autori riportavano i dati su 119 pazienti con diagnosi di MA ad alto rischio analizzati in uno studio randomizzato di fase 3, che valutava un intervento terapeutico con lenalidomide in associazione al desametasone (len-dex) verso la sola osservazione²⁸. I pazienti del braccio di trattamento ricevevano 9 cicli di induzione con lenalidomide 25 mg/die per 21 giorni e desametasone 20 mg/die nei giorni 1-4 e 12-15, seguiti da 15 cicli di lenalidomide come singolo agente alla dose di 10 mg/die per 21 giorni. La popolazione ad alto rischio veniva definita secondo i criteri del gruppo spagnolo. L'end point primario era rappresentato dal Tempo alla Progressione (TP) in mieloma sintomatico e dopo una mediana di 40 mesi, il TP mediano era significativamente più lungo nei pazienti del braccio len-dex (mediana non raggiunta vs 21 mesi; HR 5,59; $p < 0,001$) insieme ad una migliore OS a 3 anni (94% vs 80%; HR = 3,24; $p < 0,03$). Questo trial è stato successivamente aggiornato e dopo un follow up (FUP) mediano di 75 mesi, il braccio len-dex continuava a mostrare un beneficio in TP (mediana non raggiunta vs 23 mesi; HR 0,24; IC 95%, 0,14-0,41; $p < 0,0001$)⁴⁵. Il profilo di sicurezza è stato accettabile e la maggior parte degli eventi avversi era di grado 1-2. I limiti maggiori di questo studio sono rappresentati dai criteri utilizzati per la definizione dello MA ad alto rischio, dal mancato impiego delle nuove metodiche radiologiche, che potrebbero aver sottorappresentato la popolazione ad alto rischio, e dalla differente gestione delle progressioni biochimiche nei due bracci che potrebbe spiegare un rilievo inaspettato di decessi nel braccio di controllo^{9, 46-48}.

Comunque, successivamente, il Eastern Cooperative Oncology Group (ECOG) ha condotto uno studio randomizzato (E3A06) con la lenalidomide come singolo agente versus osservazione in pazienti con MA. La

lenalidomide veniva somministrata a 25 mg die per 21 giorni in cicli di 28 giorni e l'obiettivo principale era la PFS. Nello studio sono stati arruolati complessivamente 182 pazienti e con un FUP mediano di 35 mesi la PFS era significativamente più lunga nel braccio lenalidomide (hazard ratio, 0.28; 95% CI, 0.12 to 0.62; P = .002). La PFS ad 1, 2 e 3 anni era rispettivamente 98%, 93%, and 91% per il braccio di trattamento contro 89%, 76%, and 66% per quello di osservazione. Una tossicità non ematologica di grado $\frac{3}{4}$ è stata registrata nel 28% dei pazienti in trattamento con lenalidomide. Le conclusioni degli autori di questo studio sono state che la terapia con lenalidomide nel MA ritarda in maniera significativa la progressione verso una forma sintomatica e lo svilupparsi di un danno d'organo⁴⁹.

Il MM, sintomatico ed asintomatico, è caratterizzato da alti livelli di eterogeneità clonale^{50, 51} ed una terapia di associazione con tre farmaci, comprendenti un farmaco immunomodulante ed un inibitore del proteasoma, si è dimostrata capace di ridurre significativamente la massa tumorale in pazienti con NDMM^{52, 53}, nonostante la eterogeneità intra clonale⁵⁴.

Recentemente sono stati pubblicati i dati di uno studio pilota condotto dal National Institute of Health Clinical Center che valutava l'associazione carlfizomib, lenalidomide e desametazone (KRd), seguita da lenalidomide in mantenimento, in 45 pazienti con NDMM e 12 MA ad alto rischio, arruolati tra luglio 2011 ed ottobre 2013. I pazienti erano classificati come MA ad alto rischio in accordo ai criteri PETHEMA e nessuno aveva lesioni litiche rilevate secondo radiografia tradizionale e PET/TC. Il FUP mediano per i pazienti con MA era di 15,9 mesi e 11 pazienti completavano gli 8 cicli previsti di KRd e successivamente ricevevano la terapia di mantenimento con lenalidomide per due anni. Undici pazienti continuavano a ricevere il trattamento programmato senza evidenza di progressione, un paziente

sospendeva la terapia per l'insorgenza di insufficienza cardiaca congestiva. Le risposte più profonde erano osservate nei pazienti con MA, con un tasso di remissione completa del 100% contro il 62% di quanto registrato negli NDMM⁵⁵, e una sostenuta negatività della malattia residua per oltre 4 anni nel 63% dei casi⁵⁶. La tossicità registrata era prevalentemente ematologica (linfopenia e piastrinopenia) e gastrointestinale; venivano inoltre riportati due tumori della pelle nel FUP di questi pazienti. Infine, in questo trial, sono stati condotti studi biologici (exome sequencing and RNA sequencing) che hanno dimostrato un diverso profilo molecolare tra il MA ad alto rischio e il NDMM. Pertanto, l'insieme dei dati clinici e biologici descritti in questo studio supporta l'ipotesi di una biologia dei MA ad alto rischio più responsiva al trattamento rispetto a quella degli NDMM, fornendo le basi per programmare studi più ampi con regimi terapeutici in grado di ottenere risposte profonde e durature in questi pazienti. Le sempre maggiori conoscenze biologiche sui meccanismi patogenetici della progressione tumorale nelle discrasie plasmacellulari, hanno permesso di sviluppare terapie sempre più mirate anche verso potenziali pathway di progressione. Uno studio condotto dal Lust e colleghi ha valutato l'associazione di un antagonista per il recettore dell'IL-1 (anakinra), più o meno desametazone, in pazienti con MA^{57, 58}.

L'introduzione degli anticorpi monoclonali nell'armamentario terapeutico per la gestione dei pazienti con MM, ha fornito le basi per un nuovo approccio al trattamento di questi pazienti e, in considerazione dell'efficacia e della sicurezza, ha indotto a pianificare studi nel trattamento precoce di questa malattia e quindi anche in pazienti con diagnosi di MA ad alto rischio⁵⁹⁻⁶¹.

I risultati pubblicati di uno studio di fase 2, condotto su una popolazione con MA ad alto rischio, per valutare elotuzumab in monoterapia non sono stati particolarmente

positivi⁶². È in valutazione uno studio di combinazione con elotuzumab, lenalidomide e desametasone in pazienti con SMM con risultati preliminari incoraggianti in termini di ORR e profilo di sicurezza⁶³.

Sono stati recentemente riportati i dati preliminari di uno studio clinico randomizzato che si propone di valutare tre diverse posologie di daratumumab in monoterapia (prolungata, intermedia e corta) su pazienti con MA a rischio medio-alto. I risultati dello studio hanno indicato che daratumumab era generalmente ben tollerato, con un profilo di sicurezza paragonabile a daratumumab nel trattamento del mieloma multiplo recidivato/refrattario. Con un follow up mediano di 15,8 mesi (range, 0,0-23,9), sono stati riportati dei risultati migliori nel braccio di terapia prolungato rispetto al braccio intermedio e corto, con una ORR rispettivamente del 56%, 54% e 38% e una PFS a 12 mesi del 95%, 88% e 81%⁶⁴.

Allo stato attuale sono allo studio altri trattamenti innovativi nel setting di pazienti con MA che utilizzano anticorpi monoclonali, da soli o in combinazione, inibitori dei checkpoint immunologici ed altri farmaci di nuova generazione in strategie più o meno complesse, con il tentativo di ritardare o prevenire la progressione del mieloma⁶⁵.

Attualmente, nell'ambito degli studi clinici per il trattamento dei pazienti con MA ad alto rischio, è possibile individuare due differenti approcci:

- un approccio più gentile che mira a ritardare l'eventuale progressione e si basa fondamentalmente su principi di immunoterapia, utilizzando prevalentemente anticorpi monoclonali (elotuzumab, daratumumab ed altri) in monoterapia o in associazione con lenalidomide e desametasone⁶²⁻⁶⁴;
- un approccio aggressivo con l'intento di prevenire l'evoluzione in malattia attiva e perfino di curare il paziente, eradicando il

clone maligno. Questa è la strategia impiegata in programmi terapeutici impegnativi che prevedono lo stesso schema di terapia utilizzato per i pazienti con mieloma attivo di nuova diagnosi eleggibili per una procedura trapiantologica, come negli studi CESAR (Curative Estrategia Smouldering Alta Riesgo) condotto dal PETHEMA⁶⁶ e nel ASCENT (Aggressive Smoldering Curative Approach Evaluating Novel Therapies) sponsorizzato dal International Myeloma Foundation/Black Swan Research⁶⁵. Pertanto, le attuali raccomandazioni per la gestione di pazienti con diagnosi di MA prevedono una stratificazione del rischio di progressione per un'adeguata programmazione delle tempistiche dei controlli ematologici, più o meno ravvicinati, a seconda che il paziente presenti delle caratteristiche biologiche tipo early myeloma o tipo gammopatia monoclonale. Per poter escludere un pattern di malattia evolutivo, si raccomanda nel primo anno dalla diagnosi un controllo ematologico ogni 2-3 mesi. Successivamente, i controlli verranno programmati sulla base delle caratteristiche di rischio: annuale per pazienti a basso rischio, equiparabili ad una gammopatia monoclonale, annuale; bimestrali per ulteriori 5 anni e successivamente annuali per i rischi intermedi; ogni 2-3 mesi per quelli ad alto rischio^{9, 8, 33}.

Il work up diagnostico del paziente con SMM deve essere lo stesso previsto per il MM, in considerazione della necessità di escludere una condizione di altissimo rischio che necessita di immediato trattamento (Tab. 4).

Al di fuori degli studi clinici, non è prevista nessuna terapia per i pazienti con diagnosi di SMM, anche se la raccomandazione è di avviare i pazienti classificati come SMM HR in centri specializzati che li possano seguire in maniera completa, eventualmente discutendo un arruolamento in studi clinici.

Anamnesi ed esame obiettivo, speciale attenzione per segni e sintomi sistemici associati all'amiloidosi
Esame emocromocitometrico, eventuale ricerca plasmacellule circolanti (non mandatorio)
Valutazione della funzionalità epato-renale compresi creatinemia, azotemia, calcemia, fosfatasi alcalina, albumina, LDH, Beta-2-microglobulina, NT-proBNP
Elettroforesi proteica e immunofissazione sierica, dosaggio immunoglobuline siero, FLC nel siero, raccolta urine 24 ore per elettroforesi ed immunofissazione
Agoaspirato midollare per morfologia, citometria a flusso multiparametrica e FISH
Biopsia ossea
TC a bassa intensità di dose e/o PET/CT
RMN della colonna e pelvi (se possibile di tutto il corpo)

Tab. 4: Work up diagnostico per i pazienti con sospetto di MA.

BIBLIOGRAFIA

- Rheingold JJ, Kaufman R, Adelson E, Lear AN. Smoldering acute leukemia. *N Engl J Med* 1963; 268: 812-5.
- Kyle RA, Greipp PR. Smoldering multiple myeloma. *N Engl J Med* 1980; 302: 1347-9.
- International Myeloma Working Group. Criteria for the classification of monoclonal gammopathies, multiple myeloma and related disorders: a report of the International Myeloma Working Group. *Br J Haematol* 2003; 121: 749-57.
- Kyle RA, Durie BG, Rajkumar SV, et al; International Myeloma Working Group. Monoclonal gammopathy of undetermined significance (MGUS) and smoldering (asymptomatic) multiple myeloma: IMWG consensus perspectives risk factors for progression and guidelines for monitoring and management. *Leukemia*. 2010; 24: 1121-7.
- Rajkumar SV, Dimopoulos MA, Palumbo A, et al. International Myeloma Working Group updated criteria for the diagnosis of multiple myeloma. *Lancet Oncol* 2014; 15: e538-48.
- Blimark CH, Turesson I, Genell A, et al. Outcome and survival of myeloma patients diagnosed 2008-2015. Real-world data on 4904 patients from the Swedish Myeloma Registry. *Haematologica* 2018; 103: 506-13.
- Ravindran A, Bartley AC, Holton SJ, et al. Prevalence, incidence and survival of smoldering multiple myeloma in the United States. *Blood Cancer J* 2016; 6: e486.
- Landgren O. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2017; 2017: 194-204.
- Caers J, Fernández de Larrea C, Leleu X, et al. Changing Landscape of Smoldering Multiple Myeloma: A European Perspective. *Oncologist* 2016; 21: 333-42.
- Kyle RA, Remstein ED, Fterneau TM, et al. Clinical course and prognosis of smoldering (asymptomatic) multiple myeloma. *N Engl J Med* 2007; 356: 2582-90.
- Cesana C, Klersy C, Barbarano L, et al. Prognostic factors for malignant transformation in monoclonal gammopathy of undetermined significance and smoldering multiple myeloma. *J Clin Oncol* 2002; 20: 1625-34.
- Sørrig R, Klausen TW, Salomo M, et al. Smoldering multiple myeloma risk factors for progression: a Danish population- based cohort study. *Eur J Haematol* 2016; 97: 303-9.
- Kyle RA, Larson DR, Fterneau TM, et al. Clinical course of light-chain smoldering multiple myeloma (idiopathic Bence Jones proteinuria): a retrospective cohort study. *Lancet Haematol* 2014; 1: e28-e36.
- Kyle RA, Fterneau TM, Rajkumar SV, et al. Prevalence of monoclonal gammopathy of undetermined significance. *N Engl J Med* 2006; 354: 1362-9.
- Turesson I, Kovalchik SA, Pfeiffer RM, et al. Monoclonal gammopathy of undetermined significance and risk of lymphoid and myeloid malignancies: 728 cases followed up to 30 years in Sweden. *Blood* 2014; 123: 338-45.
- González-Calle V, Dávila J, Escalante F, et al. Bence Jones proteinuria in smoldering multiple myeloma as a predictor marker of

- progression to symptomatic multiple myeloma. *Leukemia* 2016; 30: 2026-31.
17. Sawyer JR. Prognostic significance of cytogenetics and molecular profiling in multiple myeloma. *Cancer Genet* 2011; 204: 3-12.
 18. Khan R, Dhodapkar M, Rosenthal A, et al. Four genes predict high risk of progression from smoldering to symptomatic multiple myeloma (SWOG S0120). *Haematologica* 2015; 100: 1214-21.
 19. Rawstron AC, Orfao A, Beksac M, et al. European Myeloma Network. Report of the European Myeloma Network on multiparametric flow cytometry in multiple myeloma and related disorders. *Haematologica* 2008; 93: 431-8.
 20. Pérez-Persona E, Vidriales MB, Mateo G, et al. New criteria to identify risk of progression in monoclonal gammopathy of uncertain significance and smoldering multiple myeloma based on multiparameter flow cytometry analysis of bone marrow plasma cells. *Blood* 2007; 110: 2586-92.
 21. Madan S, Kyle RA, Greipp PR. Plasma cell labeling index in the evaluation of smoldering (asymptomatic) multiple myeloma. *Mayo Clin Proc* 2010; 85: 300.
 22. Gonsalves WI, Rajkumar SV, Dispenzieri A, et al. Quantification of circulating clonal plasma cells via multiparametric flow cytometry identifies patients with smoldering multiple myeloma at high risk of progression. *Leukemia* 2017; 31: 130-5.
 23. Rosiñol L, Bladé J, Esteve J, et al. Smoldering multiple myeloma: natural history and recognition of an evolving type. *Br J Haematol* 2003; 123: 631-6.
 24. Fernández de Larrea C, Isola I, Pereira A, et al. Evolving M-protein pattern in patients with smoldering multiple myeloma: impact on early progression. *Leukemia* 2018; 32: 1427-34.
 25. Moulopoulos LA, Dimopoulos MA, Smith TL, et al. Prognostic significance of magnetic resonance imaging in patients with asymptomatic multiple myeloma. *J Clin Oncol* 1995; 13: 251-6.
 26. Mariette X, Zagdanski AM, Guermazi A, et al. Prognostic value of vertebral lesions detected by magnetic resonance imaging in patients with stage I multiple myeloma. *Br J Haematol* 1999; 104: 723-9.
 27. Cavo M, Terpos E, Nanni C, et al. Role of 18F-FDG PET/CT in the diagnosis and management of multiple myeloma and other plasma cell disorders: a consensus statement by the International Myeloma Working Group. *Lancet Oncol* 2017; 18: e206-e217.
 28. Mateos MV, Hernández MT, Giraldo P, et al. Lenalidomide plus dexamethasone for high-risk smoldering multiple myeloma. *N Engl J Med* 2013; 369: 438-47.
 29. Dispenzieri A, Kyle R, Merlini G, et al. International Myeloma Working Group. International Myeloma Working Group guidelines for serum-free light chain analysis in multiple myeloma and related disorders. *Leukemia* 2009; 23: 215-24.
 30. Cherry BM, Korde N, Kwok M, et al. Modeling progression risk for smoldering multiple myeloma: results from a prospective clinical study. *Leuk Lymphoma* 2013; 54: 2215-8.
 31. Kastritis E, Terpos E, Moulopoulos L, et al. Extensive bone marrow infiltration and abnormal free light chain ratio identifies patients with asymptomatic myeloma at high risk for progression to symptomatic disease. *Leukemia* 2013; 27: 947-53.
 32. Fernández de Larrea C, Isola I, Cibeira MT, et al. Smoldering multiple myeloma: impact of the evolving pattern on early progression. *ASH Annual meeting Abstracts* 2014; 124: 3363.
 33. Mateos MV, González-Calle V. Smoldering Multiple Myeloma: Who and When to Treat. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk* 2017; 17: 716-722.
 34. Dispenzieri A, Kyle RA, Katzmann JA, et al. Immunoglobulin free light chain ratio is an independent risk factor for progression of smoldering (asymptomatic) multiple myeloma. *Blood* 2008; 111: 785-9.
 35. Ravi P, Kumar S, Larsen JT, et al. Evolving changes in disease biomarkers and risk of early progression in smoldering multiple myeloma. *Blood Cancer J* 2016; 6: e454.
 36. Mateos MV, Kumar S, Dimopoulos MA, et al. International Myeloma Working Group risk stratification model for smoldering multiple myeloma (SMM). *Blood Cancer Journal* 2020; 10: 102.
 37. Hjorth M, Hellquist L, Holmberg E, Magnusson B, Rödger S, Westin J. Initial versus deferred melphalan-prednisone

- therapy for asymptomatic multiple myeloma stage I—a randomized study. *Eur J Haematol* 1993; 50: 95-102.
38. Riccardi A, Mora O, Tinelli C, et al. Long-term survival of stage I multiple myeloma given chemotherapy just after diagnosis or at progression of the disease: A multicentre randomized study. *Br J Cancer* 2000; 82: 1254-60.
 39. Detweiler-Short K, Hayman S, Gertz MA, et al. Long-term results of single-agent thalidomide as initial therapy for asymptomatic (smoldering or indolent) myeloma. *Am J Hematol* 2010; 85: 737-40.
 40. Barlogie B, van Rhee F, Shaughnessy JD Jr, et al. Seven-year median time to progression with thalidomide for smoldering myeloma: Partial response identifies subset requiring earlier salvage therapy for symptomatic disease. *Blood* 2008; 112: 3122-5.
 41. Witzig TE, Laumann KM, Lacy MQ, et al. A phase III randomized trial of thalidomide plus zoledronic acid versus zoledronic acid alone in patients with asymptomatic multiple myeloma. *Leukemia* 2013; 27: 220-5.
 42. D’Arena G, Gobbi PG, Broglio C, et al. Pamidronate versus observation in asymptomatic myeloma: Final results with long-term follow-up of a randomized study. *Leuk Lymphoma* 2011; 52: 771-5.
 43. Martín A, García-Sanz R, Hernández J, et al. Pamidronate induces bone formation in patients with smouldering or indolent myeloma, with no significant anti-tumour effect. *Br J Haematol* 2002; 118: 239-42.
 44. Musto P, Petrucci MT, Bringhen S, et al. A multicenter, randomized clinical trial comparing zoledronic acid versus observation in patients with asymptomatic myeloma. *Cancer* 2008; 113: 1588-95.
 45. Mateos MV, Hernández MT, Giraldo P, et al. Lenalidomide plus dexamethasone versus observation in patients with high-risk smouldering multiple myeloma (QuiRedex): long-term follow-up a randomised, controlled, phase 3 trial. *Lancet Oncol* 2016; 17: 1127-36.
 46. Rajkumar SV, Landgren O, Mateos MV. Smoldering multiple myeloma. *Blood* 2015; 125: 3069-75.
 47. Neben K, Jauch A, Hielscher T, et al. Progression in smoldering myeloma is independently determined by the chromosomal abnormalities del(17p), t(4;14), gain 1q, hyperdiploidy, and tumor load. *J Clin Oncol* 2013; 31: 4325-32.
 48. Dispenzieri A, Stewart AK, Chanan-Khan A, et al. Smoldering multiple myeloma requiring treatment: Time for a new definition? *Blood* 2013; 122: 4172-81.
 49. Lonial S, Jacobus S, Fonseca R, et al. Randomized trial of lenalidomide versus observation in smoldering multiple myeloma. *J Clin Oncol* 2019; 38: 1126-37.
 50. Walker BA, Wardell CP, Melchor L, et al. Intracлонаl heterogeneity is a critical early event in the development of myeloma and precedes the development of clinical symptoms. *Leukemia* 2014; 28: 384-90.
 51. Bolli N, Avet-Loiseau H, Wedge DC, et al. Heterogeneity of genomic evolution and mutational profiles in multiple myeloma. *Nat Commun* 2014; 5: 2997.
 52. Jakubowiak AJ, Dytfeld D, Griffith KA, et al. A phase 1/2 study of carfilzomib in combination with lenalidomide and low-dose dexamethasone as a frontline treatment for multiple myeloma. *Blood* 2012; 120: 1801-9.
 53. Richardson PG, Weller E, Lonial S, et al. Lenalidomide, bortezomib, and dexamethasone combination therapy in patients with newly diagnosed multiple myeloma. *Blood* 2010; 116: 679-86.
 54. Roschewski M, Korde N, Wu SP, Landgren O. Pursuing the curative blueprint for early myeloma. *Blood* 2013; 122: 486-90.
 55. Korde N, Roschewski M, Zingone A, et al. Treatment with carfilzomib-lenalidomide-dexamethasone with lenalidomide extension in patients with smoldering or newly diagnosed multiple myeloma. *JAMA Oncol* 2015; 1: 746-54.
 56. Mailankody S, Kazandjian D, Korde N, et al. Baseline mutational patterns and sustained MRD negativity in patients with high-risk smoldering myeloma. *Blood Adv* 2017; 1: 1911-8.
 57. Lust JA, Lacy MQ, Zeldenrust SR, et al. Induction of a chronic disease state in patients with smoldering or indolent multiple myeloma by targeting interleukin 1{beta}-induced interleukin 6 production and the myeloma proliferative component. *Mayo Clin Proc* 2009; 84: 114-22.

58. Lust JA, Lacy MQ, Zeldenrust SR, et al. Reduction in C reactive protein indicates successful targeting of the IL-1/ IL-6 axis resulting in improved survival in early stage multiple myeloma. *Am J Hematol* 2016; 91: 571-4.
59. Chim CS, Kumar SK, Orlowski RZ, et al. Management of relapsed and refractory multiple myeloma: novel agents, antibodies, immunotherapies and beyond. *Leukemia* 2018; 32: 252-62.
60. Varga C, Laubach JP, Anderson KC, Richardson PG. Investigational agents in immunotherapy: a new horizon for the treatment of multiple myeloma. *Br J Haematol* 2018; 181: 433-46.
61. Terpos E, International Myeloma Society. Multiple Myeloma: Clinical Updates From the American Society of Hematology Annual Meeting, 2017. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk* 2018; 18: 321-34.
62. Jagannath S, Laubach J, Wong E, et al. Elotuzumab monotherapy in patients with smoldering multiple myeloma: a phase 2 study. *Br J Haematol* 2018; 182: 495-503.
63. Ghobrial IM, Badros A, Vredenburgh J, et al. Phase II trial of combination of elotuzumab, lenalidomide, and dexamethasone in high-risk smoldering multiple myeloma. *ASH Annual Meeting Abstracts* 2016; 128: 976.
64. Hofmeister CC, Chari A, Cohen Y, et al. Daratumumab monotherapy for patients with intermediate or high-risk smoldering multiple myeloma (SMM): CENTAURUS, a randomized, open-label, multi-center phase 2 study. *ASH Annual Meeting Abstracts* 2017; 130: 510.
65. ClinicalTrials.gov Identifier: NCT01248455. A phase 2 trial of Anti-KIR in Smoldering Multiple Myeloma. Full Text View. <https://ClinicalTrials.gov>.
66. Mateos MV, Lopez JM, Rodriguez-Otero P, et al. Curative strategy for high-risk smoldering myeloma (GEM-CESAR): Carfilzomib, lenalidomide and dexamethasone (KRd) as induction followed By HDT-ASCT, consolidation with KRd and maintenance with Rd. *Blood* 2017; 130: 402.

Dott. Tommaso Caravita di Toritto,
Responsabile UOSD Ematologia ASL Roma 1

Per la corrispondenza:
tommaso.caravita@aslroma1.it

Terapia del Mieloma Multiplo

M. T. Petrucci, F. Fazio

Principi generali

Gli importantissimi progressi terapeutici, ottenuti sia grazie a una più approfondita conoscenza della biologia della patologia¹⁻³ che alla possibilità di utilizzare nuove molecole per il trattamento dei pazienti affetti da Mieloma Multiplo (MM), hanno indubbiamente modificato la prognosi di questa malattia prolungando in modo significativo la sopravvivenza dei pazienti fino a 8-10 anni⁴. Tuttavia, al momento, non è ancora possibile parlare di guarigione. Generalmente la storia terapeutica dei pazienti affetti da MM viene divisa in tre ere: la prima a partire dagli anni sessanta quando si iniziò ad utilizzare il melfalan da solo o in associazione con il prednisone; la seconda negli anni ottanta con l'avvento del trapianto autologo di cellule staminali emopoietiche (ASCT), trattamento riservato ai pazienti più giovani senza comorbidità e la terza era dal 1999 quando sono stati introdotti nuovi farmaci come immunomodulanti, a partire dalla talidomide e dalla lenalidomide⁵, e l'inibitore del proteasoma di prima generazione, bortezomib⁶. Successivamente il panorama terapeutico si è ampliato con l'impiego degli inibitori del proteasoma di seconda generazione, carfilzomib e ixazomib⁷, l'analogo della talidomide pomalidomide⁸, gli anticorpi monoclonali come elotuzumab e daratumumab⁹ e altri farmaci e combinazioni di farmaci che sempre più vengono testati come possibili ulteriori evoluzioni del trattamento del MM¹⁰⁻¹³.

Dato il notevole aumento delle opzioni terapeutiche disponibili per i pazienti con MM,

una delle principali sfide per il clinico è decidere quali farmaci usare e in quale ordine e/o combinazione^{14, 15}. La terapia di combinazione, che utilizza farmaci di diverse classi con meccanismi d'azione distinti e sinergici, viene sempre più utilizzata nell'intento di indurre una risposta più profonda duratura e ridurre il rischio di sviluppare resistenza ai farmaci^{16, 17}. Tuttavia, quando si prendono decisioni terapeutiche, è importante considerare i fattori correlati al paziente (ad es. età, comorbidità e eleggibilità al ASCT), i fattori correlati alla malattia (ad es. citogenetica, *tumor burden* e aggressività della malattia) e, nel caso di pazienti in recidiva, le terapie precedentemente eseguite (cioè il numero di precedenti linee terapeutiche, il tipo di molecola utilizzata, la risposta e la tollerabilità a terapie precedenti e la durata della risposta ottenuta)^{14, 16, 18-20}. La possibile tossicità indotta dai farmaci è un aspetto molto importante considerando che la terapia multi-farmaco intensiva richiesta per raggiungere una maggiore profondità di risposta può provocare una significativa tossicità correlata al trattamento, tale da richiederne l'interruzione. Inoltre, l'obiettivo primario del trattamento può differire se siamo di fronte ad un paziente con una malattia di nuova diagnosi piuttosto che con una malattia in recidiva/refrattaria, cosa che può influenzare la scelta del regime farmacologico da utilizzare.

Trattamento del MM di nuova diagnosi – pazienti eleggibili al trapianto di cellule staminali emopoietiche

L'attuale paradigma di trattamento per i pazienti affetti da MM di nuova diagnosi elegibili per l'ASCT è costituito da 4 fasi: induzione pre-trapianto, trapianto, consolidamento e mantenimento post-trapianto²¹. Il trattamento di induzione consiste generalmente in 4-6 cicli di immunochimioterapia con l'obiettivo di ottenere un rapido controllo della malattia, migliorarne i sintomi e consentire la successiva raccolta di cellule staminali da sangue venoso periferico. Durante gli anni '90 lo schema VAD (vincristina, doxorubicina e desametasone), basato sulla sola chemioterapia, era il regime di induzione maggiormente utilizzato²². Con l'introduzione della talidomide e del bortezomib lo schema di induzione al momento approvato in Italia per questa categoria di pazienti è il VTd (Bortezomib, Talidomide e Desametasone) che è stato valutato in numerosi studi randomizzati dimostrando una efficacia e durata di risposte migliori rispetto agli schemi di controllo^{23, 24}. Numerosi studi in corso stanno valutando altre combinazioni di farmaci quali inibitori del proteasoma e immunomodulanti di seconda e terza generazione in associazione o meno agli anticorpi monoclonali. Anche se in precedenza si pensava che una efficace terapia di combinazione dovesse essere impiegata solo nel caso di malattia in recidiva, attualmente si ritiene che il suo utilizzo precoce in prima linea possa aumentare le possibilità di ottenere una risposta profonda e duratura, con risultati migliori a lungo termine. Ciò si basa sull'ipotesi che un trattamento efficace in una fase precoce di malattia può aumentare la probabilità di eradicare la maggior parte, o addirittura tutti, i subcloni del MM²⁵. Inoltre, i pazienti hanno maggiori probabilità di presentare comorbidità e quindi complicanze correlate alla malattia e al trattamento nelle successive linee di terapia con conseguente incapacità di tollerare combinazioni di farmaci più potenti. Pertanto, l'uso precoce di schemi terapeutici che si basano sulla combinazione di più

farmaci aumenta l'efficacia e la probabilità di una risposta profonda e duratura²⁵. Sebbene siano necessari ulteriori studi per determinare il beneficio dei moderni regimi di trattamento di combinazione in prima linea di terapia, si prevede che essi possano migliorare le risposte e l'andamento della malattia a lungo termine²⁶ e quindi di sostituire lo schema VTd come terapia di induzione. Il regime di condizionamento standard prima del trapianto autologo è quello con melfalan (HDM) somministrato per via endovenosa ad una dose di 200 mg/m². In passato sono stati utilizzati dosaggi più bassi di melfalan (140, 70 e 100 mg/m²) e dosaggi più elevati (7 gr/m²) che tuttavia non sono stati confrontati in modo prospettico²⁷. Altri regimi di condizionamento, compresi i nuovi farmaci, sono stati finora valutati solo in studi a braccio singolo²⁸. Data l'efficacia e il profilo di tossicità favorevole di HDM, questo regime rimane tutt'ora lo standard terapeutico. Il consolidamento è un approccio comunemente adottato dopo il trapianto autologo per migliorare la profondità della risposta ottenuta. È una procedura molto utilizzata in Europa, ma non è stata ancora approvata in Italia a causa di risultati discordanti ottenuti negli studi randomizzati^{29, 30}. La fase successiva consiste nell'impiego di una terapia di mantenimento che ha l'obiettivo di prolungare la durata della remissione senza influire sulla qualità della vita dei pazienti. Al momento in Italia i farmaci approvati con questa indicazione sono la talidomide e la lenalidomide³¹. Quest'ultima è, di gran lunga, la più utilizzata perché meglio tollerata per l'assenza di neurotossicità indotta invece dalla talidomide.

Trattamento del MM di nuova diagnosi – pazienti non elegibili al trapianto di cellule staminali emopoietiche

I criteri di non elegibilità alla terapia ad alte dosi e trapianto autologo non sono ben definiti, ma si ritiene che l'uso di misurazioni strutturate del *performance status* o di un

indice di fragilità, piuttosto che della semplice età, rappresentino strumenti più appropriati per determinare il miglior approccio terapeutico per i pazienti più anziani affetti da MM^{19, 32}. Tuttavia, anche per questa categoria di pazienti, l'obiettivo del trattamento iniziale è quello di ottenere la risposta più profonda possibile senza però indurre una tossicità che comprometta la qualità di vita o che determini riduzione della sopravvivenza. Infatti, in questa categoria di pazienti una maggiore intensità di trattamento non si traduce necessariamente in una migliore efficienza di cura. Questi risultati sottolineano ulteriormente la necessità di terapie attive ed efficaci per i pazienti più anziani e, allo stesso tempo, richiedono ulteriori studi per bilanciare gli effetti collaterali e il peso del trattamento, che sono più accentuati in questa popolazione.

Le combinazioni di melfalan e prednisone più talidomide o bortezomib (MPT e MPV, rispettivamente) sono state approvate nel 2009 anche in Italia e raccomandate dalle linee guida internazionali (EMN, ESMO, IMWG) per il trattamento di pazienti non eleggibili per ASCT³³⁻³⁵. A queste due opzioni terapeutiche si è poi aggiunto nel 2015 lo schema Rd (lenalidomide e desametasone) che al momento viene preferito al MPT a causa della neurotossicità indotta dalla talidomide.

Trattamento dei pazienti recidivati o refrattari

Per identificare il trattamento idoneo in caso di recidiva/progressione nel MM, è necessario prendere in considerazione una serie di fattori prima di iniziare la terapia³⁶⁻³⁸. Molti fattori influenzano la decisione o la scelta della terapia di salvataggio, come il tipo di schema terapeutico utilizzato in prima linea (le linee guida suggeriscono di utilizzare una molecola diversa da quella utilizzata precedentemente), l'età del paziente (ad esempio, se è ancora eleggibile per un

secondo ASCT), la durata della risposta a una precedente induzione o ASCT, gli effetti collaterali residuati dai trattamenti precedenti (ad esempio, neuropatia periferica), co-morbidità (ad es. va fatta attenzione all'uso di lenalidomide nella compromissione della funzione renale o di carfilzomib nell'insufficienza cardiaca) o presenza di alterazioni citogenetiche, come la delezione del cromosoma 17, che permette di definire il paziente ad alto rischio citogenetico, caratteristica predittiva di una risposta di breve durata anche alla chemioterapia ad alte dosi seguita da un doppio ASCT^{39, 40}. Negli ultimi anni, nuovi farmaci e schemi di trattamento sono stati proposti per i pazienti recidivati o refrattari⁴¹. Due schemi di trattamento basati sull'utilizzo dell'anticorpo monoclonale anti-CD38 (Daratumumab) hanno mostrato efficacia in questo setting di pazienti con buon profilo di tollerabilità e sicurezza: daratumumab-lenalidomide-desametasone (DRd) e daratumumab-bortezomib-desametasone (DVd). Ulteriori alternative considerate efficaci in termini di risposta e sicure in termini di tossicità, basate sempre su combinazioni di più farmaci, comprendono: carfilzomib-lenalidomide-desametasone (KRd); ixazomib-lenalidomide-desametasone (IRd); elotuzumab-lenalidomide-desametasone (ERd).

Sono in corso numerosi studi per valutare l'efficacia e la sicurezza della immunoterapia: nello specifico, anticorpi coniugati con farmaci citotossici che si legano a specifiche proteine espresse sulla superficie delle cellule patologiche come il B-cell maturation antigen (BCMA); anticorpi bispecifici che sono in grado di legarsi contemporaneamente a due diversi antigeni di superficie sulla plasmacellula e sul linfocita T attivando la risposta immunitaria contro le cellule patologiche e la terapia cellulare con *chimeric antigen receptoris T cells* (CAR-T) dirette verso diversi antigeni di superficie della plasmacellula. Altri farmaci valutati in

studi prospettici, ma attualmente non in indicazione per la recidiva di malattia in Italia, comprendono il venetoclax, inibitore orale della proteina anti-apoptotica bcl-2, che sembra avere attività come farmaco singolo in pazienti con MM che presentano la traslocazione (11; 14)⁴². L'altro anticorpo anti CD38 isatuximab⁴³, il selinexor⁴⁴ e la molecola LGH-447 (un inibitore della pan PIM chinasi)⁴⁵.

In conclusione possiamo affermare che la prognosi dei pazienti affetti da MM, negli ultimi anni, è decisamente migliorata grazie alla possibilità di utilizzare molecole sempre più attive e numerose che tuttavia al momento non ci consentono ancora di parlare di guarigione. È possibile però essere ottimisti considerando i tanti farmaci e combinazioni di essi che ci aspettiamo di poter utilizzare nei prossimi anni.

BIBLIOGRAFIA

- Keats JJ, Chesi M, Egan JB, et al. Clonal competition with alternating dominance in multiple myeloma. *Blood* 2012; 120: 1067-76.
- Egan JB, Shi C-X, Tembe W, et al. Whole-genome sequencing of multiple myeloma from diagnosis to plasma cell leukemia reveals genomic initiating events, evolution, and clonal tides. *Blood* 2012; 120: 1060-66.
- Bolli N, Avet-Loiseau H, Wedge DC, et al. Heterogeneity of genomic evolution and mutational profiles in multiple myeloma. *Nat Commun* 2014; 5: 2997.
- Kumar SK, Dispenzieri A, Lacy MQ, et al. Continued improvement in survival in multiple myeloma: changes in early mortality and outcomes in older patients. *Leukemia* 2014; 28: 1122-8.
- Mitsiades CS, Chen-Kiang S. Immunomodulation as a therapeutic strategy in the treatment of multiple myeloma. *Crit Rev Oncol Hematol* 2013; 88 (Suppl 1): S5-S13.
- Cao B, Li J, Mao X. Dissecting bortezomib: development, application, adverse effects and future direction. *Curr Pharm Des* 2013; 19: 3190-200.
- Gandolfi S, Laubach JP, Hideshima T, Chauhan D, Anderson KC, Richardson PG. The proteasome and proteasome inhibitors in multiple myeloma. *Cancer Metastasis Rev* 2017; 36: 561-84.
- Hoy SM. Pomalidomide: A Review in Relapsed and Refractory Multiple Myeloma. *Drugs* 2017; 77: 1897-908.
- Varga C, Maglio M, Ghobrial IM, Richardson PG. Current use of monoclonal antibodies in the treatment of multiple myeloma. *Br J Haematol* 2018; 181: 447-59.
- Abramson HN. The Multiple Myeloma Drug Pipeline-2018: A Review of Small Molecules and Their Therapeutic Targets. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk* 2018; 18: 611-27.
- Martin T, Huff CA. Multiple Myeloma: Current Advances and Future Directions. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk* 2019; 19: 255-63.
- Jelinek T, Paiva B, Hajek R. Update on PD-1/PD-L1 Inhibitors in Multiple Myeloma. *Front Immunol* 2018; 9: 2431.
- Ma T, Shi J, Liu H. Chimeric antigen receptor T cell targeting B cell maturation antigen immunotherapy is promising for multiple myeloma. *Ann Hematol* 2019; 98: 813-22.
- Ludwig H, Sonneveld P, Davies F, et al. European perspective on multiple myeloma treatment strategies in 2014. *Oncologist* 2014; 19: 829-44.
- Nooka A, Lonial S. Sequential or combination therapy for multiple myeloma. *Expert Rev Hematol* 2012; 5: 533-45.
- Larsen JT, Kumar S. Evolving paradigms in the management of multiple myeloma: novel agents and targeted therapies. *Rare Cancers Ther* 2015; 3: 47-68.
- Choudhry P, Galligan D, Wiita AP. Seeking Convergence and Cure with New Myeloma Therapies. *Trends Cancer* 2018; 4: 567-82.
- Cornell RF, Kassim AA. Evolving paradigms in the treatment of relapsed/refractory multiple myeloma: increased options and increased complexity. *Bone Marrow Transplant* 2016; 51: 479-91.
- Palumbo A, Bringhen S, Mateos MV, et al. Geriatric assessment predicts survival and toxicities in elderly myeloma patients: an International Myeloma Working Group report. *Blood* 2015; 125: 2068-74.
- Sonneveld P, Avet-Loiseau H, Lonial S, et al. Treatment of multiple myeloma with high-risk cytogenetics: a consensus of the

- International Myeloma Working Group. *Blood* 2016; 127: 2955-62.
21. Gay F, Engelhardt M, Terpos E, et al. From transplant to novel cellular therapies in multiple myeloma: European Myeloma Network guidelines and future perspectives. *Haematologica* 2018; 103: 197-211.
 22. M Attal, J L Harousseau, A M Stoppa, et al. A prospective, randomized trial of autologous bone marrow transplantation and chemotherapy in multiple myeloma. Intergroupe Francais du Myelome. *N Engl J Med* 1996; 335: 91-7.
 23. Rosiñol L, Oriol A, Teruel AI, et al. Superiority of bortezomib, thalidomide, and dexamethasone (VTD) as induction pre-transplantation therapy in multiple myeloma: a randomized phase 3 PETHEMA/GEM study. *Blood* 2012; 120: 1589-96.
 24. Cavo M, Tacchetti P, Patriarca F, et al. Bortezomib with thalidomide plus dexamethasone compared with thalidomide plus dexamethasone as induction therapy before, and consolidation therapy after, double autologous stem-cell transplantation in newly diagnosed multiple myeloma: a randomised phase 3. *Lancet* 2010; 376: 2075-85.
 25. Landgren O, Iskander K. Modern multiple myeloma therapy: deep, sustained treatment response and good clinical outcomes. *J Intern Med* 2017; 281: 365-82.
 26. Goldschmidt H, Ashcroft J, Szabo Z, Garderet L. Navigating the treatment landscape in multiple myeloma: which combinations to use and when? *Ann Hematol* 2019; 98: 1-18.
 27. CM Segeren, P Sonneveld, B van den Holt, et al. Overall and event-free survival are not improved by the use of myeloablative therapy following intensified chemotherapy in previously untreated patients with multiple myeloma: a prospective randomized phase 3 study. *Blood* 2003; 101: 2144-51.
 28. Shah N, Callander N, Ganguly S, et al. Hematopoietic Stem Cell Transplantation for Multiple Myeloma: Guidelines from the American Society for Blood and Marrow Transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant* 2015; 21: 1155-66.
 29. Sonneveld P, Beksac M, van der Holt B, et al. Consolidation Followed By Maintenance Therapy Versus Maintenance Alone in Newly Diagnosed, Transplant Eligible Patients with Multiple Myeloma (MM): A Randomized Phase 3 Study of the European Myeloma Network (EMN02/HO95 MM Trial). *ASH* 2016; 128: 242.
 30. Stadtmauer EA, Pasquini MC, Blackwell B, et al. Comparison of autologous hematopoietic cell transplant (autoHCT), bortezomib, lenalidomide (Len) and dexamethasone (RVD) consolidation with Len maintenance (ACM), tandem autoHCT with Len maintenance (TAM) and autoHCT with Len maintenance (AM) for up-front treatment of patients with multiple myeloma (MM): primary results from the randomized phase III trial of the Blood and Marrow Transplant Clinical Trials Network (BMT CTN 0702–StaMINA trial). *Blood* 2016; 128: LBA-1.
 31. Celgene Ltd. Revlimid (lenalidomide): summary of product characteristics. 2017.
 32. http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/EPAR__Product_Information/human/000717/WC500056018.pdf31.
 33. Salazar AS, Recinos LM, Mian HS, et al. Geriatric Assessment and Frailty Scores Predict Mortality in Myeloma: Systematic Review and Meta-analysis. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk* 2019; 19: 488-96.e6.
 34. Engelhardt M, Terpos E, Kleber M, et al. European Myeloma Network. European myeloma network recommendations on the evaluation and treatment of newly diagnosed patients with multiple myeloma. *Haematologica* 2014; 99: 232-42.
 35. Moreau P, San Miguel J, Sonneveld P, et al. ESMO Guidelines Committee. Multiple myeloma: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol* 2017; 28 (Suppl. 4): iv52-iv61.
 36. Palumbo A, Rajkumar SV, San Miguel JF, et al. International Myeloma Working Group consensus statement for the management, treatment, and supportive care of patients with myeloma not eligible for standard autologous stem-cell transplantation. *J Clin Oncol* 2014; 32: 587-600.
 37. Chim CS, Kumar SK, Orlowski RZ, et al. Management of relapsed and refractory multiple myeloma: novel agents, antibodies,

- immunotherapies and beyond. *Leukemia* 2018; 32: 252-62.
38. Sonneveld P. Management of multiple myeloma in the relapsed/refractory patient. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2017; 2017: 508-17.
 39. Cetani G, Boccadoro M, Oliva S. A look at treatment strategies for relapsed multiple myeloma. *Expert Rev Anticancer Ther* 2018; 18: 735-50.
 40. Harousseau J-L, Avet-Loiseau H, Attal M, et al. Achievement of at least very good partial response is a simple and robust prognostic factor in patients with multiple myeloma treated with high-dose therapy: long-term analysis of the IFM 99-02 and 99-04 trials. *J Clin Oncol* 2009; 27: 5720-6.
 41. Gaballa S, Saliba RM, Srour S, et al. Outcomes in patients with multiple myeloma with TP53 deletion after autologous hematopoietic stem cell transplant. *Am J Hematol* 2016; 91: 10.
 42. Rajkumar SV. Multiple myeloma: Every year a new standard? *Hematol Oncol* 2019; 37 Suppl 1: 62-5.
 43. Kumar S, Kaufman JL, Gasparetto C, et al. Efficacy of venetoclax as targeted therapy for relapsed/refractory t(11;14) multiple myeloma. *Blood* 2017; 130: 2401-9.
 44. Ghobrial I, Cruz CH, Garfall A, et al. Immunotherapy in Multiple Myeloma: Accelerating on the Path to the Patient. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk* 2019; 19: 332-44.
 45. Syed YY. Selinexor: First Global Approval. *Drugs* 2019; 79: 1485-94.
 46. Ramakrishnan VG, Kumar SK. Inhibitors of the Cyclin-Dependent Kinase and PIM Kinase Pathways in the Treatment of Myeloma. *Cancer J* 2016; 22: 7-11.

Dott.ssa Maria Teresa Petrucci
Dott.ssa Francesca Fazio
Azienda Ospedaliera Universitaria Policlinico
Umberto I, "Sapienza" Università di Roma

Per la corrispondenza:
petrucci@bce.uniroma1.it

Cuore Polmone e la pandemia COVID-19

Moderatori: Giovanni Minardi, Giuseppe Munafò

Introduzione

F. Salvati

La scelta dell'Accademia Lancisiana di proporre per l'odierna seduta dell'Anno Accademico il tema del coinvolgimento del cuore e dei polmoni nella malattia pandemica da COVID-19 mi fornisce l'occasione, in questa mia breve Introduzione, di delineare l'esigenza di prospettarsi sin da ora - principalmente da parte di noi Pneumologi e Cardiologi - le problematiche relative a quanti avranno superato la fase critica della malattia e raggiunto la guarigione clinica presumibilmente, se non inevitabilmente, caratterizzata tutt'altro che da restitutio ad integrum. Questo vale soprattutto nei soggetti giovani adulti di entrambi i generi per i quali sarà più che opportuno avviare un accurato follow-up post-dimissioni nell'ambito delle strutture territoriali, con scrupolosa attenzione da parte dei Colleghi generalisti, non trascurando in particolare tutto quel che concerne una sorta di sorveglianza periodica rivolta alla prevenzione pneumoncologica e con speciale riguardo alle fumatrici e ai fumatori.

Ma è altrettanto necessario tener presente - come ben a ragione sottolinea De Michele - che la pandemia in questione ha *"certamente reso evidente una particolare fragilità del Sistema Sanitario"*, il che a mio personale avviso - basato sull'esperienza - ha riguardato, in particolare durante la pandemia, i pazienti affetti da cronicità

respiratoria e in primis tra questi i più anziani.

Ed è proprio dai più anziani che emerge un altro dato di notevole rilevanza nell'ambito di questa pandemia e intendo riferirmi al ruolo delle comorbidità e sottolineare il loro ruolo nel complessivo quadro della infezione da COVID-19, sia per quanto concerne la patologia respiratoria che quella cardiaca, oggetto delle Relazioni odierne, specie negli ultraottantenni tra i quali si riscontrano con maggior frequenza, quanto meno nelle casistiche di maggior spessore.

Delle numerose comorbidità riferite mi limito a citare il diabete tipo 2: della vasta problematica a riguardo si sono fatti interpreti il nostro Accademico Lancisiano Visco e quasi contemporaneamente Sidoti e Tommasi della Medicina Interna dell'Ospedale Fatebenefratelli-Isola Tiberina di Roma, le quali richiamandosi agli studi di Guo et al e di Fadini et al, ne condividono le conclusioni che sottolineano una sorta di "rapporto bidirezionale" tra malattia diabetica e malattia da COVID-19 per quanto concerne lo stadio proinfiammatorio e lo stato procoagulativo.

BIBLIOGRAFIA ESSENZIALE

De Michele F. La gestione della cronicità respiratoria: criticità prima e dopo la pandemia da COVID-19. *Pneumorama* 2020; 100: 49-56.

Fadini GP, Morieri ML, Longato E, Avogaro A. Prevalence and impact of diabetes among people infected with SARS-CoV-2. *J Endocrinol Invest* 2020; 43: 867-9.

Guo W, Li M, Dong Y, et al. Diabetes is a risk factor for the progression and prognosis of COVID-19. *Diabetes Metab Res Rev* 2020; e3319, <http://dx.doi.org/10.1002/dmrr.3319>.

Sidoti AM, Tommasi V. Il diabete come fattore di rischio in corso COVID-19. *Il Policlinico, Sez. Prat.* 2020; 127: 151-8.

Visco G. Perché si può morire di COVID-19. *Il Policlinico, Sez. Prat.* 2020; 127: 143-50.

Prof. Franco Salvati, Primario Pneumologo Emerito Az. Osp. San Camillo-Forlanini, Roma

Per la corrispondenza:
francosalvati.1930@libero.it

COVID-19: Il trattamento a domicilio

G. Munafò

La Pandemia COVID-19 rappresenta un'emergenza sanitaria globale di estrema gravità, quale non si era mai verificata dall'ultimo dopoguerra ad oggi. La risposta dei Sistemi Sanitari è stata disomogenea a livello globale e la risposta dei Sistemi Sanitari Nazionali europei e, in particolare, del SSN italiano, è stata fra le migliori a livello internazionale e tuttavia non sufficiente ad arrestare la Pandemia. A tutt'oggi, nel momento nel quale scriviamo, la Pandemia appare capace di creare ulteriori vittime tra la popolazione e gli stessi sanitari, con conseguenze in primis umane e, secondariamente, con gravi ricadute sulle economie nazionali.

L'arma migliore per arrestare questa patologia, si ritiene sia la capacità di produzione di efficaci vaccini.

D'altronde occorre sottolineare che le terapie finora praticate, hanno dimostrato scarsa efficacia e che molti farmaci, inizialmente utilizzati, sono attualmente sconsigliati.

Mancano inoltre, a livello internazionale, indicazioni chiare e Linee Guida efficaci soprattutto per quanto riguarda il trattamento delle prime fasi della malattia, trattamento che è cruciale. E su questo, in particolare, tratteremo nel presente articolo.

Infatti, se il trattamento delle prime fasi della malattia è inefficace, le complicanze si verificano nel giro di pochi giorni e il trattamento tardivo, una volta attivata la cascata citochinica, è purtroppo, con ogni evidenza di limitata utilità.

Per affrontare correttamente la gestione del paziente con COVID-19, bisogna partire dalla successione temporale della patologia. Risulta evidente infatti che le complicanze maggiori, che iniziano a manifestarsi tra la settima e la decima giornata, sono legate non

alla replicazione virale, ma alla tempesta citochinica.

Noi distinguiamo in questa patologia diverse fasi:

1. Fase presintomatica.

Va dal giorno dell'infezione fino al giorno dell'inizio dei sintomi. Dura in media 5 giorni.

2. Prima Fase.

Va dal giorno 1 (intendendosi per giorno 1, il giorno dell'inizio dei sintomi) fino al giorno 6 incluso. È la fase della replicazione virale. È caratterizzata da sintomi di entità variabile con Febbre, Tosse, Mialgie, Astenia, Anoressia, Diarrea, Ageusia, Anosmia. A volte il paziente, soprattutto se paucisintomatico, non è in grado di riferire il giorno esatto dell'inizio dei suoi disturbi. Pertanto, in questo caso, noi abitualmente definiamo come giorno 1, il giorno della positività del Tampone molecolare o del Test Antigenico Rapido.

È indispensabile l'automonitoraggio del paziente (e contatto telematico col MMG e con lo Pneumologo). Noi consigliamo di tenere un diario clinico, nel quale, oltre ai sintomi e ai farmaci assunti, registrare dalle 4 alle 6 volte al dì, Frequenza Cardiaca, Pressione Arteriosa, Temperatura Corporea, Saturazione (SpO₂) a riposo e durante il cammino.

In questa prima fase consigliamo di utilizzare farmaci sintomatici, quali il Paracetamolo (500 mg, solo se febbre superiore a 38°C), associato a un FANS, quale ad esempio un derivato dell'Acido Fenilpropionico (Ibuprofene o simili) a basso dosaggio. Associamo anche NAC (N-Acetilcisteina, 200 mg x 3 per 20 giorni) e, in casi selezionati, ad esempio i BPCO, anche Azitromicina 500 mg die per os per 6 giorni.

In questa fase il trattamento che noi proponiamo, è simile al Protocollo del Professor Giuseppe Remuzzi (Istituto Mario Negri. Dicembre 2020), che propone tuttavia l'utilizzo preferenziale di farmaci inibitori della COX-2, come il Celecoxib, in grado verosimilmente di prevenire la cascata citochinica, oltre che avere ovviamente un effetto sintomatico importante. Dubbio è l'utilizzo dell'Azitromicina. Noi valutiamo caso per caso, ma nei BPCO iniziamo comunque abitualmente l'Azitromicina 500 mg al dì per os, al mattino, per 6 giorni. Associamo preparati vitaminici, fermenti lattici, consigliamo attività motoria lieve in casa e decubito, se possibile, prono. Al momento non viene utilizzata l'Idrossiclorochina, che inizialmente aveva fatto sperare in un'utile azione antivirale e immunomodulatrice; non escludiamo tuttavia che in futuro questo farmaco possa nuovamente essere preso in considerazione.

Controllo, nei primi giorni, degli esami con prelievo a domicilio (PCR, Emocromo e FL, Azotemia, Glicemia, Creatinina, Transaminasi, LDH, Amilasi, Lipasi, Esame urine e, se possibile Protidogramma, Elettroliti, Calcemia, Sideremia, D-Dimero etc.). Se possibile eseguire Radiografia del Torace a domicilio ed Elettrocardiogramma a domicilio.

3. Seconda Fase.

Dalla settima alla decima giornata. È questa la fase critica, in quanto qui si riduce la replicazione virale e si ha l'inizio della tempesta citochinica. Noi riteniamo necessario, nei casi selezionati, iniziare una terapia di prevenzione e modulazione della cascata citochinica. È opportuno selezionare i pazienti in base ai fattori di rischio e alla sintomatologia. I fattori di rischio sono noti e sono la BPCO, l'Obesità, l'Ipertensione arteriosa, il Diabete mellito, il sesso maschile, l'età, l'immunosoppressione e le patologie croniche in generale. Se a questi fattori di rischio si aggiunge la persistenza, peraltro

quasi costante, dei sintomi, quali febbre o febbricola, tosse, astenia, diarrea etc. noi proponiamo di iniziare la terapia.

La terapia che proponiamo dalla settima giornata è con Prednisone (Deltacortene) 25 mg una compressa al mattino, dopo colazione, per 3 giorni; quindi Prednisone (Deltacortene) 25 mg ½ compressa al mattino, dopo colazione, per ulteriori 3 giorni. Questo nel caso che i sintomi regrediscano dopo gli iniziali tre giorni di trattamento, in caso contrario la terapia per i casi lievi e lievemente desaturanti, prevede di proseguire Prednisone (Deltacortene) 25 mg una compressa al mattino, a giorni alterni, fino alla cessazione dei sintomi.

Considerata anche la scarsa mobilità di questi pazienti e le complicazioni microemboliche polmonari pressoché costanti nei casi sintomatici, consigliamo inoltre profilassi con eparina a basso dosaggio (Clexane- Enoxaparina- 4000 Unità UID s.c.).

Se la Saturazione (SpO₂) a riposo e durante il cammino, scende sotto il 94% consigliamo, essendo di facile reperibilità, l'utilizzo di Ossigeno gassoso, da somministrare con occhiali nasali. In genere è sufficiente l'utilizzo di un basso flusso di Ossigeno, circa 2 litri al minuto, per tenere la SpO₂ a valori superiori al 90%, valore che rimane, a nostro avviso, accettabile.

Nei BPCO ripetiamo abitualmente l'Azitromicina 500 mg al dì per os, al mattino, per 3 giorni, per più cicli, intervallati da 7 giorni di sospensione. Associamo NAC, preparati vitaminici, fermenti lattici. Consigliamo attività motoria lieve in casa e decubito, se possibile, prono.

I nostri consigli terapeutici sono schematizzati nella Tab. 1.

La carenza di Linee Guida, alla quale abbiamo accennato all'inizio, in particolare per quanto riguarda il trattamento delle fasi

iniziali della malattia, ci induce a sottolineare alcuni punti di riflessione:

1. Le evidenze sulla terapia della COVID-19 sono limitate.
2. La difficoltà di eseguire Studi Randomizzati e Controllati in corso di Pandemia, crea una carenza di indicazioni chiare e scarsità di Linee Guida.
3. Questo in particolare è evidente nel caso dei pazienti in terapia domiciliare (la maggioranza e spesso gravi).
4. D'altronde la difficoltà della EBM (Evidence Based Medicine) di creare utili Linee Guida in casi come questo, è un evidente problema della Medicina attuale, da tempo basata sulle evidenze.
5. Il Medico pratico, il clinico, sono soli davanti al quesito come affrontare la Malattia?

Le considerazioni provvisorie che ci sentiamo di trarre sono le seguenti: La Medicina Basata sulle Evidenze, negli ultimi decenni ha cambiato (sottolineerei giustamente cambiato) l'approccio moderno alla Medicina e l'impostazione del Medico Pratico e del Clinico. Il nostro approccio alla pratica quotidiana è certamente più scientifico rispetto all'approccio in uso alcuni decenni orsono. L'approccio allora, era certamente altrettanto rigoroso, ma spesso non privo di pecche sotto l'aspetto scientifico, in particolare riguardo alla terapia specie farmacologica.

Tuttavia, come in ogni attività umana, l'approccio fideistico e cieco a principi di per sé corretti, crea dei problemi (nella religione, in politica, e anche nel nostro campo, quello della medicina).

In particolare l'attesa di Linee Guida sulla questione cruciale del trattamento iniziale e domiciliare della COVID-19, Linee Guida che non sono mai arrivate, per i motivi ai quali accennavamo prima, ha portato a una sorta di paralisi terapeutica, all'assenza pressoché totale di indicazioni propositive e non ostative. Non mancano certamente poco utili, a nostro avviso, indicazioni ostative, che non definirei Linee Guida (farmaci da non utilizzare, spesso ostracizzati senza reale motivo), ma viceversa, mancano totalmente indicazioni propositive (farmaci e terapie da utilizzare).

Alla mancanza di supporto per il clinico e il medico pratico, c'è qualche lodevole eccezione:

1. Il Protocollo Giuseppe Remuzzi, tuttavia giunto solo a dicembre 2020, a quasi un anno dall'inizio della COVID-19 in Italia,
2. Protocollo Gennaro D'Amato (su Multidisciplinary Respiratory Medicine 2021 Volume 16-748).

Questi protocolli sono simili al protocollo che noi proponiamo. In particolare nel Protocollo Remuzzi, la terapia domiciliare prevede l'utilizzo di FANS fin dal 1° giorno dei sintomi (Ibuprofene o Inibitori COX-2), Steroidi anche in fase iniziale, se sintomi importanti, quali febbre elevata, Eparina a basso dosaggio se Dimero D elevato, Ossigeno in caso di Desaturazione.

Certamente non mancheranno nel prossimo futuro ulteriori, necessari apporti a questo indirizzo, più che protocollo che abbiamo voluto fornire, rivolto principalmente al Medico di Medicina Generale e allo Pneumologo clinico.

Tab. 1. TERAPIA DOMICILIARE COVID-19

Schema (da far valutare al Medico Curante e da praticare sotto suo controllo).

Valutare i giorni di malattia a partire da inizio sintomi. Autocontrollo di Temperatura, Saturazione (Acquisire un Saturimetro, controllare valori anche durante il cammino in casa), Pressione (con apparecchio automatico da polso) e Frequenza più volte al giorno.

Controllo, nei primi giorni, degli esami con prelievo a domicilio (PCR, Emocromo e FL, Azotemia, Glicemia, Creatinina, Transaminasi, LDH, Amilasi, Lipasi, Esame urine e, se possibile Protidogramma, Elettroliti, Calcemia, Sideremia).

Terapia:

- A. Dal 1° giorno al 6° Azitromicina 500 mg cs, al mattino dopo colazione (con Fermenti lattici).
- B. NAC (Fluimucil o analoghi) bustine da 200 mg dopo colazione, pranzo e cena per 20 giorni, bevendo molta acqua oligominerale non gassata.
- C. Paracetamolo solo 500 mg al bisogno (se TC >38°C o cefalea), eventualmente associabile a Ibuprofene (Moment o analoghi) 200 mg al bisogno.
- D. Vitamina C 500 mg x 2 per 20 giorni.
- E. Dal 7° giorno, nei soggetti a rischio (persistenza di febbre o sintomi oppure età, sesso maschile, ipertensione etc.), iniziare Enoxaparina (Clexane o analoghi) 4000 die s.c. salvo controindicazioni, per 10/20 giorni.
- F. Negli stessi soggetti, dal 7° o 8° giorno, Deltacortene 25 mg die, dopo colazione per 3 giorni, poi Deltacortene 25 mg die 1/2 compressa per ulteriori giorni 3 (si prosegue in caso di persistenza dei sintomi, passando a Deltacortene 25 mg a giorni alterni); valutare associazione di gastroprotezione con Pantoprazolo 20 mg.
- G. Decubito Prono nei limiti del possibile.
- H. Ossigeno gassoso con occhiali nasali se SpO₂ < 94% in AA.

Dopo 2 tamponi o 2 rapidi negativi, TAC Torace ad Alta risoluzione e Consulenza Pneumologica. In base al quadro, Deltacortene per 3/6 mesi.

BIBLIOGRAFIA ESSENZIALE

Bramante CT, Ingraham NE, Murray TA, et al. Observational Study of Metformin and Risk of Mortality in Patients Hospitalized with COVID-19. MedRxiv 2020; 06.19.20135095.

Buse JB, Wexler DJ, Tsapas A, et al. 2019 update to: Management of hyperglycaemia in type 2 diabetes, 2018. Consensus report by the American Diabetes Association (ADA) and the European Association for the Study of Diabetes (EASD). Diabetologia 2020; 63: 221-8.

Crouse AB, Tiffany G, Li P, Might M, Ovalle F, Shalev A. Metformin Use Is Associated With Reduced Mortality in a Diverse Population With COVID-19 and Diabetes. Front Endocr 2021; <https://doi.org/10.3389/fendo.2020.600439>.

Garg S, Kim L, Whitaker M, et al. Hospitalization rates and characteristics of patients hospitalized with laboratory-confirmed coronavirus disease 2019 – COVID-NET, 14 States, March 1–30, 2020. MMWR Morb Mortal Wkly Rep 2020; 69: 458-64.

Grasselli G, Zangrillo A, Zanella A, et al. Baseline characteristics and outcome of 1591 patients infected with SARS-CoV-2 admitted to ICUs of the Lombardy region, Italy. *JAMA* 2020; 323: 1574-81.

Horton R. Offline: COVID-19 is not a pandemic. *Lancet*. 2020; 396: 874.

Huang C, Huang L, Wang Y, et al. 6-month consequences of COVID-19 in patients discharged from hospital: a cohort study. *Lancet* 2021; 397: 220-32.

Huang Y, Tan C, Wu J, et al. Impact of coronavirus disease 2019 on pulmonary function in early convalescence phase. *Respir Res* 2020; 21: 163.

Marra A, Pandharipande PP, Girard TD, et al. Co-occurrence of post-intensive care syndrome problems among 406 survivors of critical illness. *Crit Care Med* 2018; 46: 1393-401.

Marshall M. The lasting misery of coronavirus long-haulers. *Nature* 2020; 585: 339-41.

Perico L, Benigni A, Casiraghi F, Ng LFP, Renia L, Remuzzi G. Immunity, endothelial injury and complement-induced coagulopathy in COVID-19. *Nat Rev Nephrol* 2020; 17: 46-64.

Porrini E, Ruggenti P, Luis-Lima S, et al. Estimated GFR: time for a critical appraisal. *Nat Rev Nephrol* 2019; 15: 177-90.

Yang J, Zheng Y, Gou X, et al. Prevalence of comorbidities in the novel Wuhan coronavirus (COVID-19) infection: a systematic review and meta-analysis. *Int J Infect Dis* 2020; 94: 91-5.

Zhang P, Li J, Liu H, et al. Long-term bone and lung consequences associated with hospital-acquired severe acute respiratory syndrome: a 15-year follow-up from a prospective cohort study. *Bone Res* 2020; 8: 8.

Zhao YM, Shang YM, Song WB, et al. Follow-up study of the pulmonary function and related physiological characteristics of COVID-19 survivors three months after recovery. *EClinicalMedicine* 2020; 25. doi: 10.1016/j.eclinm.2020.100463.

Zhou F, Yu T, Du R, et al. Clinical course and risk factors for mortality of adult inpatients with COVID-19 in Wuhan, China: a retrospective cohort study. *Lancet* 2020; 395: 1054-62.

Prof. Giuseppe Munafò, Pneumologo. Già Direttore Dipartimento di Pneumologia, Ospedale Santa Maria Goretti, Latina. Già Docente della Scuola di Specializzazione in Pneumologia, "Sapienza" Università di Roma

Per la corrispondenza:
giuseppe.munafò@gmail.com

SARS-CoV-2 e malattie cardiovascolari

G. Minardi, P. Mattacola

Introduzione

Alla fine di dicembre 2019, un nuovo coronavirus, denominato SARS-CoV-2, è emerso a Wuhan (RPC) e si è rapidamente diffuso in tutto il mondo, causando una malattia chiamata COVID-19. L'epidemia è stata dichiarata dall'OMS una emergenza di sanità pubblica di rilevanza internazionale il 30/1/2020 e definita pandemia il 11/3/2020^{1, 2}. Attualmente nel mondo risultano contagiati circa 108 milioni di persone e si contano circa 2.400.000 morti per COVID-19.

Considerazioni epidemiologiche e patogenetiche

I danni associati alla SARS-CoV-2 possono essere di 2 tipi:

1. danni acuti citotossici, causati dalla infiltrazione virale nelle cellule che hanno recettori ACE2, cioè pneumociti, cellule endoteliali, cellule miocardiche, cellule nervose, con conseguenti lesioni acute a livello polmonare, vascolare, miocardico e cerebrale³;
2. danni da progressione della malattia, causati da ipossiemia, infiammazione, trombosi vasale, con conseguenti sindromi da distress respiratorio, lesioni multiorgano di natura non ischemica (da tempesta citochinica), come cardiomiopatie, miocarditi, vasculiti, sindromi ischemiche da instabilizzazione di placche e ipercoagulabilità come IMA, tromboembolie etc.⁴.

Nella maggior parte dei casi, l'infezione da SARS-CoV-2 causa una lieve infezione delle vie respiratorie superiori e, in alcuni casi, può essere asintomatica o paucisintomatica⁵, ma il principale sito di coinvolgimento è il tratto respiratorio inferiore⁶. In un sottogruppo di pazienti, il virus provoca una polmonite grave, che può progredire rapidamente fino alla sindrome da distress respiratorio acuto (ARDS) causando insufficienza respiratoria,

shock settico, insufficienza multiorgano e infine morte⁷.

Il COVID-19 ha tassi di infezione simili in entrambi i sessi; tuttavia, i tassi di mortalità sono più alti negli uomini e nelle fasce di età più avanzate. L'età è uno dei più importanti fattori di rischio cardiovascolare e allo stesso tempo può essere implicato nella maggiore suscettibilità al COVID-19, nella maggiore frequenza di eventi avversi cardiovascolari e in una peggiore prognosi, similmente a quanto succede per altre virosi come l'influenza, con una sinergia "multifattoriale" di complessi meccanismi. In Italia la mortalità dei casi al 27/1/2021 va dal 1,1% per i pazienti di età < 50 anni (941 casi su 85418 positivi) al 40% circa per i pazienti di età > 80 anni (INSTAT).

Numerosi studi e diverse meta-analisi suggeriscono una stretta correlazione tra patologie cardiovascolari pre-esistenti e COVID-19^{8, 9}, con una elevata prevalenza di ipertensione, diabete e patologie cerebro- e cardio-vascolari. Uno studio che ha incluso 5700 pazienti di New York City, Long Island e Westchester County (USA) ha evidenziato che ipertensione (56,6%), obesità (41,7%), diabete (33,8%), coronaropatia (11,1%) e insufficienza cardiaca congestizia (6,9%) erano le comorbidità più comuni¹⁰. Nella coorte italiana dei pazienti 1/3 aveva una cardiopatia ischemica, o un diabete mellito, 1/4 soffriva di FA e 1/10 aveva una storia di ictus cerebri¹¹.

Inoltre le persone anziane e quelle con comorbidità come il diabete, l'IRC, l'ipertensione arteriosa, la BPCO, l'obesità, le neoplasie e le malattie cardiovascolari (MCV) sembrano sviluppare forme più gravi della malattia e sembrano essere a maggior rischio di morte^{12, 13}. I pazienti positivi al COVID-19 con tali comorbidità necessitano di terapia intensiva molto più frequentemente rispetto

alla popolazione “sana”. Il tasso di mortalità, di conseguenza, è nettamente più alto nei pazienti affetti da malattie cardiovascolari (10.5%), diabete (7.3%) ed ipertensione (6.0%) rispetto alla media (2.3%).

I meccanismi implicati nell'aumentata suscettibilità alle MCV sembrano essere in larga parte sovrapponibili a quelli che regolano le funzioni immunitarie. Inoltre il COVID-19 potrebbe innescare percorsi peculiari rispetto ad altri patogeni: ad esempio, una maggiore espressione dei recettori ACE2 nei pazienti ipertesi potrebbe essere correlata ad una aumentata suscettibilità al SARS-CoV2, ma i dati sono tuttora contrastanti.

Nel decorso del COVID-19 si osservano molte manifestazioni cardiache simili a quelle di altre infezioni da coronavirus come SARS e MERS: ipotensione, M.I. cardiaca, alterazioni ECGrafiche, insufficienza ventricolare sinistra sub-clinica da disfunzione diastolica, scompenso cardiaco conclamato, aumento della Troponina, complicanze trombotiche arteriose e venose (SCA¹⁴, trombosi venose o TEP), mio-pericardite¹⁵, aritmie primitive o secondarie agli effetti pro-aritmici del trattamento medico mirato al COVID-19 e alle malattie associate¹⁶. Le complicanze cardiovascolari sembrano più frequenti nei pazienti più gravi¹⁷ e sono associate ad una prognosi peggiore¹⁸.

Nel coinvolgimento cardiaco sono stati ipotizzati vari meccanismi patogenetici:

1) invasione diretta del miocardio da parte del virus e quindi danno di tipo I (per esempio una miocardite): sebbene ciò non sia stato dimostrato nel COVID-19, questo potenziale meccanismo viene suggerito sulla base di un modello murino che ha dimostrato che l'infezione respiratoria da SARS-CoV-2 potrebbe precipitare un'infezione miocardica ACE 2-dipendente³. Inoltre le autopsie di pazienti con COVID-19 hanno rivelato

l'infiltrazione del miocardio da parte di cellule infiammatorie mononucleate interstiziali¹⁹;

2) lesione miocardica conseguente a infiammazione originata dallo squilibrio dell'attivazione dei linfociti T con il rilascio disregolato di IL6, IL2, IL17 e altre citochine (danno di tipo II)⁴;

3) ischemia / infarto miocardico di tipo II a causa dell'aumentata richiesta di O₂ nei pazienti critici (danno di tipo II);

4) formazione di microtrombi nel microcircolo coronarico, causata da uno stato di ipercoagulabilità (danno di tipo II)^{20, 21};

5) il danno miocardico e/o l'infiammazione indotta dalle citochine possono compromettere ulteriormente il rilassamento miocardico nei pazienti con preesistente disfunzione diastolica, in particolare se infusi da grandi volumi di liquidi o trattati con farmaci antinfiammatori non steroidei. Questo alterato rilassamento potrebbe aumentare le pressioni di riempimento ventricolare, con un contributo anche cardiogeno all'edema polmonare esistente, determinando un aggravamento dello stato di ipossia (danno di tipo II);

6) negli anziani e nei pazienti con diabete, malattia coronarica, malattia cardiaca strutturale, ipertensione arteriosa, le anomalie della funzione diastolica possono subire modificazioni di varia entità che vanno da condizioni di irrilevanza clinica a quadri di scompenso cardiaco conclamato con funzione sistolica preservata (HFpEF). Queste ipotesi patogenetiche potrebbero, almeno in una certa misura, spiegare la gravità e il più alto tasso di mortalità tra gli anziani e tra i pazienti ipertesi, e potrebbero fornire elementi interpretativi al significato prognostico di un NT pro-BNP elevato, nonostante la normale sistolica funzione;

7) l'ACE 2, che si esprime nei polmoni, nel cuore e nei vasi, fa parte del RAS, importante nella fisiopatologia delle MCV; la MCV associata a COVID-19, probabilmente

comporta una disregolazione del sistema RAS/ACE 2 sia a causa dell'infezione che a causa di comorbidità, come l'ipertensione. Inoltre un alterato rapporto ACE/ACE2 potrebbe portare ad una maggiore attività dell'Angiotensina II, che ha effetto vasocostrittore, pro-ossidante e pro-infiammatorio ed una minore attività dell'Angiotensina 1-7, che ha effetto vasodilatatore, anti-ossidante e anti-infiammatorio²². Si è paventato che la terapia con ACE inibitori o con ARB potessero influenzare la suscettibilità al COVID-19 o a determinarne un decorso più sfavorevole²³. Al momento non vi è una chiara evidenza che l'uso di tali farmaci portino ad up-regolazione ACE2 nei tessuti umani e a conseguenze tipo ipertensione arteriosa, aumento di mortalità o maggiore tendenza all'infezione da SARS CoV-2;

8) la MCV può essere un fenomeno primario nel COVID-19 (danno di tipo I), ma può essere secondario a danno polmonare acuto, che porta ad un aumento del carico di lavoro cardiaco, potenzialmente problematico nei pazienti con SC preesistente (danno di tipo II);

9) l'attivazione del sistema immunitario e le alterazioni immunometaboliche possono provocare instabilità della placca, contribuendo allo sviluppo di eventi coronarici acuti (danno di tipo II).

Tipologia delle manifestazioni cardiovascolari

Danno miocardico

Il danno miocardico acuto, definito come un incremento dei valori sierici di troponina, rappresenta l'evento più frequente. Esso può essere conseguenza di un'ischemia miocardica o di un processo non-ischemico, come una miocardite. Il meccanismo eziopatogenetico di base è correlato alla grave insufficienza respiratoria con conseguente ipossia. Il danno miocardico può essere correlato anche alla sovraregolazione dell'ACE2 nel cuore e nei

vasi coronarici e a meccanismi immunitari attivati con rilascio di citochine proinfiammatorie.

Dolore toracico

Il dolore toracico o un senso di oppressione toracica è comune nei pazienti con infezione da COVID-19. Di solito è scarsamente localizzato e può essere associato a mancanza di respiro a causa della polmonite sottostante. L'ipossiemia profonda associata alla tachicardia può provocare dolore toracico e alterazioni elettrocardiografiche indicative di ischemia miocardica. Quando i biomarcatori sono alterati, può essere ipotizzato un IMA di tipo 2. I pazienti con SCA, tuttavia, sperimentano sintomi più tipici legati all'ischemia come la modalità di comparsa, la sede, l'irradiazione, i sintomi concomitanti etc. In alcuni casi la presenza di un'infezione da COVID-19 può rendere più difficile la diagnosi differenziale, perché i disturbi respiratori possono precedere o precipitare segni e sintomi cardiaci.

Infarto miocardico acuto (IMA)

Si definisce come IMA senza aterosclerosi coronarica ostruttiva (MINOCA) quell'infarto miocardico acuto in cui la CVG evidenzia al massimo delle irregolarità parietali endoluminali, senza stenosi >50%. Non è ancora del tutto chiaro il motivo per cui alcuni pazienti con COVID-19 presentano segni di infarto miocardico in assenza di ostruzione coronarica. I meccanismi fisiopatologici che possono causare MINOCA includono rottura della placca, spasmo delle arterie coronarie, dissezione coronarica spontanea, cardiomiopatia di Takotsubo²⁴, tromboembolia coronarica, miocardite. Un IMA di tipo 2 può derivare da una grave discrepanza tra domanda e offerta di O₂ a livello miocardico, conseguente alla infezione da COVID-19 e alle conseguenti insufficienza respiratoria ipossica e shock settico. L'IMA nei pazienti con COVID-19¹⁴ fa ipotizzare il possibile ruolo delle citochine e dell'infiammazione sistemica nella genesi

della rottura di placca o dell'infiammazione del miocardio; di conseguenza si può osservare un aumento dei biomarcatori e, in particolare, del D-Dimero, che è correlabile ad uno stato pro-trombotico, e si può evidenziare un innalzamento del segmento ST all'ECG. Tuttavia sono necessarie ulteriori ricerche per capire se e come l'IMA di tipo 2, la miocardite e la tempesta di citochine giocano un ruolo nell'infezione da COVID-19 che si presenta come MINOCA.

Miocardite

Il termine "miocardite" dovrebbe essere utilizzato solo per una diagnosi comprovata da biopsia endomiocardica (EMB) o da autopsia. Nella pandemia COVID-19 la maggior parte delle segnalazioni di miocardite si è basata invece sul rilievo di una diminuzione della funzione sistolica del VS. Sono stati riportati casi di miocardite supportati da CardioRM nel contesto della normale funzione sistolica VS o supportati dal riscontro di infiammazione miocardica all'EMB. In che misura questa infiammazione coinvolga l'interstizio cardiaco rispetto ai miociti cardiaci è ancora da chiarire. Ulteriori studi patologici sono necessari per determinare se COVID-19 è veramente un virus cardiotropico. La miocardite compare nei pazienti COVID-19 diversi giorni dopo l'inizio della febbre; ciò indicherebbe un danno miocardico causato da un'infezione virale¹⁵. In pazienti con compromissione respiratoria può verificarsi una miocardite fulminante^{25, 26}.

Aritmie

Le aritmie cardiache rappresentano un'altra possibile manifestazione cardiovascolare. Esse possono essere correlate alla coesistenza di disordini metabolici, di ipossia, di stress neuro-ormonale, di un processo infiammatorio, ma anche alla particolare suscettibilità delle fibre nervose simpatiche e parasimpatiche che sono presenti a livello del miocardio comune e del tessuto di conduzione, con i loro recettori ACE2, sensibili al SARS-CoV-2¹². La

presentazione clinica di bradiaritmie o tachiaritmie nel contesto del COVID-19 non differisce da quelle abituali, potendo manifestarsi come palpitazioni, dispnea, vertigini, dolore toracico, sincope, ecc. È disponibile una letteratura limitata sull'insorgenza di tali aritmie. In uno studio su 138 pz. ospedalizzati a Wuhan, è stata segnalata aritmia nel 16,7% dei pz. totali e in 16 dei 36 pz. ricoverati in TI. Nel 5,9% dei pz. sono stati rilevati TV ed TVS, con una incidenza significativamente più alta nei pz. con Troponina T elevata²⁷ o nei paz. in uno stadio più avanzato di malattia²⁸. L'ipossiemia e uno stato di iperinfiammazione sistemica possono portare a FA di nuova insorgenza, sebbene non ci siano dati pubblicati finora. Nei pazienti con aritmie è necessario valutare attentamente la gestione del ritmo, tenendo altresì conto delle possibili interazioni farmacologiche con i farmaci utilizzati per il trattamento del COVID-19 e con i farmaci utilizzati nella anticoagulazione.

Scopenso cardiaco (SC)

Lo SC risulta molto frequente nei pazienti affetti da COVID-19. Sarebbe ancora da chiarire se l'insufficienza cardiaca sia maggiormente correlata ad una esacerbazione di una preesistente disfunzione ventricolare sinistra o all'insorgenza di una cardiomiopatia de novo, causata da miocardite o da stress²⁹. Nella gestione e nel monitoraggio dello SC si utilizzano tra l'altro alcuni biomarcatori come il BNP/NT-proBNP.

Quadri clinici di particolare gravità.

Durante un'insufficienza respiratoria acuta da COVID-19 possono insorgere e poi coesistere quadri di edema polmonare e/o shock cardiogeno acuto^{7, 30} e di TEP. In questi casi è essenziale una diagnosi precoce, accurata e rapida. La durata mediana tra l'insorgenza dei sintomi e il ricovero in T.I. dei pazienti in condizioni critiche è di 9-10 giorni, suggerendo un graduale deterioramento respiratorio nella maggior parte di essi. Nei pazienti critici a rischio

di SC, come i pazienti con IMA esteso o con Scompenso cardiaco acuto o con sepsi, dovrebbe essere considerata un'etiologia mista di SC e shock settico e fatta una valutazione dei parametri che consentono una diagnosi differenziale, come la presenza/assenza di vasodilatazione e valori di saturazione dell'O₂ venoso centrale; in casi selezionati occorre un monitoraggio emodinamico con catetere arterioso polmonare.

Esami

In corso di COVID-19 si possono osservare aumenti della troponina T/I (espressione di danno dei cardiomiociti) o del BNP o NT-proBNP (espressione delle sollecitazioni emodinamiche) o dei D-Dimeri (che quantificano la coagulazione attivata). Lievi aumenti di troponina T/I e / o BNP/ NT-proBNP sono in generale il risultato di una malattia cardiaca preesistente, ma possono essere correlati anche al danno acuto conseguente a COVID-19.

Troponine

In assenza del tipico dolore anginoso e/o di alterazioni ischemiche all'ECG, gli aumenti lievi (<2-3 volte il limite superiore della norma) non richiedono un work-up e/o un trattamento per l'IMA; il monitoraggio va fatto solo se la diagnosi di IMA viene fatta anche su basi cliniche, o in caso di disfunzione ventricolare sinistra di nuova insorgenza. Marcati aumenti delle concentrazioni di troponina T/I possono indicare: la presenza di shock come parte di COVID-19, una grave insufficienza respiratoria, una tachicardia persistente, una ipossiemia sistemica, una miocardite, una sindrome di Takotsubo o un IMA causato da COVID-19.

BNP e NT-proBNP

Questi biomarcatori, oltre che nelle situazioni di sovraccarico emodinamico del cuore o di evidente scompenso cardiaco, sono spesso elevati tra i pazienti con malattie infiammatorie e/o respiratorie

gravi, come in altre polmoniti. Se utilizzati come marcatori quantitativi di stress emodinamico e di SC in un paziente con COVID-19 le concentrazioni di BNP/NT-proBNP vanno viste come la combinazione della presenza e dell'estensione di una malattia cardiaca (o aggravamento di una preesistente) e dello stress emodinamico acuto correlato al COVID-19. Almeno in una certa misura, il rilascio di BNP/NT-proBNP potrebbe essere correlato anche all'entità dello stress emodinamico del ventricolo destro.

D-Dimeri

Sono generati dalla scissione dei monomeri di fibrina da parte della protrombina; indicano la presenza di formazione di trombina o sono espressione di una risposta aspecifica di fase acuta da infezione o infiammazione³¹. I D-Dimeri possono indicare la presenza di una CID associata a shock. Si ipotizza che i markers di coagulazione attivata o di fibrinolisi compromessa possano contribuire al danno miocardico acuto, che alla fine colpisce anche i capillari coronarici. Pertanto, i markers di emostasi, inclusi il PTT attivato, il PT, i prodotti di degradazione della fibrina e i D-Dimeri devono essere monitorati regolarmente. Gli aumenti dei D-Dimeri sono stati associati a risultati sfavorevoli.

ECG

Nei pazienti affetti da infezione da SARS-CoV-2 si applicano gli stessi criteri ECGrafici, interpretativi e diagnostici, che si utilizzano nella popolazione generale e nei pazienti con le diverse condizioni cardiache³². Finora non sono state descritte alterazioni specifiche del COVID-19.

Implicazioni terapeutiche

Molteplici sono le possibili implicazioni cardiovascolari delle terapie finora utilizzate nell'infezione da COVID-19^{8, 33}. Numerosi antivirali, l'idrossiclorochina e gli anticorpi monoclonali mostrano interazioni importanti con gli anticoagulanti ed antiaritmici,

potendo modificare la loro efficacia o causando effetti tossici diretti. È opportuno modificare i dosaggi, ove necessario, ed effettuare uno stretto monitoraggio. Naturalmente è da raccomandare con forza la vaccinazione che va effettuata il prima possibile, in tutte le categorie individuate secondo le priorità e i rischi, e, possibilmente, nella maggior parte della popolazione italiana, europea e mondiale, eliminando gli ostacoli di tipo economico, sociale, razziale e di marketing, mettendo così, a disposizione di tutti, questa terapia, che, al momento, si dimostra la più efficace nel contenimento della diffusione del virus e delle sue varianti.

Considerazioni prognostiche

Oltre alle complicanze acute, va ricordato che l'infezione da COVID-19 può essere collegata anche ad un elevato rischio cardiovascolare a lungo termine. È ben noto che nei pazienti con varie forme di polmoniti, l'ipercoagulabilità e l'attività infiammatoria sistemica possono persistere per un lungo periodo. Studi di follow-up dell'epidemia di SARS hanno dimostrato che i pazienti con una storia di infezione da SARS-coronavirus spesso avevano iperlipidemia, anomalie del sistema cardiovascolare o disturbi del metabolismo del glucosio. I dati di follow-up del COVID-19 non sono ancora noti. Osservazioni preliminari evidenziano la presenza/persistenza di implicazioni di vario tipo: psicologico (ansia, paura, depressione, accentuata emotività etc.) e fisico (astenia, dispnea, dolori osteo-muscolari, disturbi del sonno). In aggiunta vengono riferiti disturbi cardiaci tipo aritmie, dolori toracici, facile stancabilità e difficoltà respiratoria. Spesso si rilevano esiti di pericardite o di disfunzione ventricolare sinistra all'ecocardiogramma o alterazioni della fase di ripolarizzazione e/o aritmie all'ECG. In un recente studio con CardioRM³⁴ su 148 soggetti ricoverati per una forma grave di COVID-19 (con un significativo aumento della Troponina e con il 32% di casi di necessità di un supporto ventilatorio) è stato evidenziato come, a distanza di 2 mesi,

il 54% dei soggetti presentava un danno cardiaco: il 26% segni di una patologia non ischemica, il 22% segni di una patologia ischemica (infarto o ischemia inducibile), il 6% segni di entrambe le patologie. Il danno cardiaco era simile a quello che si rileva nei casi di miocardite, ma limitato a solo 3 segmenti miocardici e senza compromissione della funzione globale del VS; tuttavia il 30% presentava segni di miocardite attiva. Verosimilmente la percentuale dei soggetti con danno cardiaco residuo è sottostimata perché è stata calcolata solo sui soggetti sopravvissuti; va tuttavia sottolineato che anche tra i soggetti con forma grave di COVID-19 e Troponina alta sono stati rilevati casi senza un evidente danno cardiaco.

Conclusioni

COVID-19 è una malattia multisistemica, che colpisce i polmoni, ma spesso anche l'apparato cardiovascolare. L'interessamento cardiaco si riscontra più frequentemente nei soggetti con fattori di rischio cardiovascolare o con malattie cardio-cerebrovascolari preesistenti e comporta un aumentato rischio di morbilità e di mortalità. Tale rischio è ancora più alto quando, in seguito a meccanismi multifattoriali, si determina un ulteriore danno cardiaco, di tipo ischemico, trombotico, aritmico o un danno acuto grave e mortale, come una miocardite fulminante. Importante è anche la problematica relativa alle interazioni farmacologiche tra i trattamenti per COVID-19 e quelli per le malattie di base, che spesso rende necessari opportuni adeguamenti terapeutici. L'esperienza comune nella gestione del COVID-19 ha messo in evidenza la necessità di una gestione multidisciplinare e l'opportunità di valutare la prognosi a distanza dei pazienti sopravvissuti alle forme più gravi e complicate della malattia.

BIBLIOGRAFIA

1. WHO. Novel Coronavirus (2019-nCoV). SITUATION REPORT-1-2020. <https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/situation-reports>

/20200121-sitrep-1-2019-ncov.pdf?sfvrsn=20a99c10_4.

2. Sahu KK, Mishra AK, Lal A. Novel coronavirus (2019-nCoV): update on 3rd coronavirus outbreak of 21st century. *QJM Mon J Assoc Physicians* 2020; 113: 384-6.
3. Kabbani N, Olds, JL. Does COVID19 infect the brain? If so, smokers might be at a higher risk. *Mol Pharmacol* 2020; 97: 351-3.
4. Basu-Ray I S, Almaddah NK, Adeboye A, Soos MP. Cardiac manifestations of coronavirus (COVID-19). 2021 Jan 13. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2021 Jan–. PMID: 32310612.
5. Zou L, Ruan F, Huang, M, et al. SARS-CoV-2 viral load in upper respiratory specimens of infected patients. *N Engl J Med* 2020; 382: 1177-9.
6. Sungnak W, Huang N, Becavin C, et al. SARS-CoV-2 entry factors are highly expressed in nasal epithelial cells together with innate immune genes. *Nat Med* 2020; 26: 681-7.
7. Remy KE, Brakenridge SC, Francois B, et al. Immunotherapies for COVID-19: lessons learned from sepsis. *Lancet Respir Med* 2020; 8: 946-9.
8. Wu Z, McGoogan JM. Characteristics of and important lessons from the coronavirus disease 2019 (COVID-19) outbreak in China: summary of a report of 72314 cases from the Chinese Center for Disease Control and Prevention. *JAMA* 2020; 323: 1239-42.
9. Mehra MR, Desai SS, Kuy S, Henry TD, Patel AN. Cardiovascular disease, drug therapy, and mortality in COVID-19. *N Engl J Med* 2020; 382: e102.
10. Richardson S, Hirsch JS, Narasimhan M et al; and Northwell COVID-19 Research Consortium. Presenting characteristics, comorbidities, and outcomes among 5700 patients hospitalized with COVID-19 in the New York City area. *JAMA* 2020; 323: 2052-9.
11. Onder G, Rezza G, Brusaferro S. Case-fatality rate and characteristics of patients dying in relation to COVID-19 in Italy. *JAMA* 2020; 323: 1775-6.
12. Briguglio M, Porta M, Zuffada F, et al SARS-CoV-2 Aiming for the heart: A Multicenter Italian Perspective About Cardiovascular Issues in COVID-19. *Front Physiol* 2020; 11: 1358.
13. Moccia F, Gerbino A, Lionetti V, et al. COVID-19-associated cardiovascular morbidity in older adults: a position paper from the Italian society of cardiovascular researches. *Geroscience* 2020; 42: 1021-49.
14. Stefanini GG, Montorfano M, Trabattoni D, et al. ST-elevation myocardial infarction in patients with COVID-19: clinical and angiographic outcomes. *Circulation* 2020; 141: 2113-6.
15. Inciardi RM, Lupi L, Zacccone G, et al. Cardiac involvement in a patient with coronavirus disease 2019 (COVID-19). *JAMA Cardiol* 2020; 5: 819-24.
16. Fried JA, Ramasubbu K, Bhatt R, et al. The variety of cardiovascular presentations of COVID-19. *Circulation* 2020; 141: 1930-6.
17. Hui H, Zang Y, Yang, X, et al. Clinical and radiographic features of cardiac injury in patients with 2019 novel coronavirus pneumonia. *medRxiv* 2020 [Preprint]. doi: 10.1101/2020.02.24.20027052.
18. Clerkin KJ, Fried JA, Raikhelkar J, et al. COVID-19 and cardiovascular disease. *Circulation* 2020; 141: 1648-55.
19. Tavazzi G, Pellegrini C, Maurelli M, et al. Myocardial localization of coronavirus in COVID-19 cardiogenic shock. *Eur J Heart Fail* 2020; 22: 911-5.
20. Tang N, Bai H, Chen X, Gong J, Li D, Sun Z. Anticoagulant treatment is associated with decreased mortality in severe coronavirus disease 2019 patients with coagulopathy. *J Thromb Haemost* 2020; 18: 1094-9.
21. Tang N, Li D, Wang X, Sun Z. Abnormal coagulation parameters are associated with poor prognosis in patients with novel coronavirus pneumonia. *J Thromb Haemost* 2020; 18: 844-7.
22. Pagliaro P, Penna C. ACE/ACE2 ratio: a key also in 2019 coronavirus disease (COVID-19)? *Front Med* 2020; 7: 335.
23. Shibata S, Arima H, Asayama. et al. Hypertension and related diseases in the era of COVID-19: a report from the Japanese Society of Hypertension Task Force on COVID-19. *Hypertens Res* 2020; 43: 1028-46.
24. Meyer P, Degrauwe S, Van Delden C, Ghadri JR, Templin C. Typical Takotsubo syndrome triggered by SARS-CoV-2 infection. *Eur Heart J* 2020; 41: 1860.
25. Hu H, Ma F, Wei X, Fang Y. Coronavirus fulminant myocarditis saved with glucocorticoid and human immunoglobulin. *Eur Heart J* 2021; 42: 206.

26. Zeng JH, Liu YX, Yuan J, et al. First case of COVID-19 complicated with fulminant myocarditis: a case report and insights. *Infection* 2020; 48: 773-7.
27. Kuck KH. Arrhythmias and sudden cardiac death in the COVID-19 pandemic. *Herz* 2020; 45: 325-6.
28. Ferrari F. COVID-19: updated data and its relation to the cardiovascular system. *Arq Bras Cardiol* 2020; 114: 823-6.
29. Xiong TY, Redwood S, Prendergast B, Chen M. Coronaviruses and the cardiovascular system: acute and long-term implications. *Eur Heart J* 2020; 41, 1798-800.
30. Li Li H, Liu L, Zhang D, et al. SARS-CoV-2 and viral sepsis: observations and hypotheses. *Lancet* 2020; 395: 1517-20.
31. Lippi G, Plebani M, Henry BM. Thrombocytopenia is associated with severe coronavirus disease 2019 (COVID-19) infections: a meta-analysis. *Clin Chim Acta* 2020; 506: 145-8.
32. Bangalore S, Sharma A, Slotwiner A, et al. ST-segment elevation in patients with COVID-19 - a case series. *N Engl J Med* 2020; 382, 2478-80.
33. Zheng YY, Ma YT, Zhang JY, Xie X. COVID-19 and the cardiovascular system. *Nat Rev Cardiol* 2020; 17: 259-60.
34. Kotecha T, Knight DS, Razvi Y, et al. Patterns of myocardial injury in recovered troponin-positive COVID-19 patients assessed by cardiovascular magnetic resonance *Eur Heart J* 2021; 00:1-13.

Prof. Giovanni Minardi, MD, FESC, già Dirigente UOC Cardiologia A.O. San Camillo-Forlanini, Roma; già Prof. Incaricato "Sapienza" Università di Roma, Vice Presidente Accademia Lancisiana

Dott.ssa Patrizia Mattacola, Infermiera DH Oncologia della mammella, A.O. San Camillo-Forlanini

Per la corrispondenza:
giovanniminardi1950@gmail.com

Cuore Polmone: COVID-19 tra Ospedale e Territorio

Moderatori: Alfonso Maria Altieri, Giovanni Peliti

Introduzione

F. Salvati

L'odierna seconda Seduta dedicata a "Cuore Polmone: COVID-19 tra Ospedale e Territorio" verte sostanzialmente su aspetti della integrazione tra queste due entità nella gestione della malattia. In questa breve Introduzione intendo sottolineare che, a mio modesto avviso, il Territorio non riesce a realizzare appieno le sue potenzialità per quanto concerne la fase iniziale del COVID-19: sarebbe infatti fondamentale (come condivisibilmente sostiene Banzi et al nelle considerazioni espresse in uno studio effettuato nell'ambito della Epidemiologia dell'Istituto "Mario Negri") che in prima istanza nel dubbio/timore di essere portatore del virus – anche se paucisintomatico – non ci si rivolga, come il più delle volte avviene, al medico di famiglia, ma ci si rivolga al Pronto Soccorso ovvero – nella migliore delle ipotesi – ci si precipiti a contattare il Sistema di emergenza territoriale. Ne consegue che questi comportamenti esprimono sottoutilizzazione della funzione di filtro territoriale la quale è destinata a bilanciare al meglio la complessa gestione che la situazione pandemica comporta; d'altra parte deve essere evitato il rischio che, pur presentando condizioni cliniche che suggerirebbero di avviarsi al Pronto Soccorso, alcuni soggetti non possano essere accettati a causa della saturazione delle possibilità logistiche di ricovero. Va anche considerato peraltro che talvolta i medici del Territorio non sempre sono nelle condizioni di farsi completamente carico di assolvere alla

funzione di filtro, certamente non priva di complessità, compresa quella di ordine burocratico.

La sopra citata sottovalutazione del ruolo del Territorio non è certamente frutto della mia personale interpretazione della realtà: ne trovo conferma nella constatazione espressa da Greenhalg et al in base alla loro esperienza per come hanno gestito nel loro ambito territoriale soprattutto pazienti respiratori COVID-19 ricorrendo anche a visite a distanza con misurazione della saturazione in O₂ a riposo e dopo sforzo.

Per quanto concerne "COVID-19 e Ospedale", sottolineo unicamente un aspetto, senza dubbio tra i più essenziali tanto che viene ritenuto – a giusta ragione – un problema di ordine etico-clinico. Mi riferisco alla ammissione e alla sospensione dei trattamenti intensivi in situazioni di rilevante squilibrio tra la necessità di intervenire con immediatezza e le risorse al momento disponibili sia in termini di strumenti che di personale specializzato o comunque adeguatamente esperto. È uno scenario sul quale nel 2020 la Società Italiana di Anestesia, Analgesia, Rianimazione e Terapia Intensiva (SIAARTI) ha formulato raccomandazioni operative e considerazioni etiche, come puntualmente illustrato da Riccioni et al, delle quali vengono riportate da Piccinini et al le prospettive di ordine giuridico, che peraltro si richiamano ai criteri definiti da Barbisan et al.

BIBLIOGRAFIA ESSENZIALE

Banzi R, Sala L, Colmi A, et al. Fattibilità ed efficacia di un modello di monitoraggio domiciliare avanzato dei pazienti affetti da COVID-19 o sospetti. *Recenti Prog Med* 2020; 111: 584-92.

Barbisan C, Casonato C, Palermo Fabris E, Piccinni M, Zatti P. Parte III. Aspetti etici e giuridici nelle insufficienze croniche d'organo "end-stage". Documento di consenso per una pianificazione condivisa delle scelte di cura. *Recenti Prog Med* 2014; 105: 40-4.

Greenhalgh T, Koh GC, Car J. Covid-19: a remote assessment in primary care. *BMJ* 2020; 25: 368.

Piccinini M, Aprile A, Benciolini P, et al. Considerazioni etiche, deontologiche e giuridiche sul Documento SIAARTI "Raccomandazioni di etica clinica per l'ammissione a trattamenti intensivi e per la

loro sospensione, in condizioni eccezionali di squilibrio tra necessità e risorse disponibili". *Recenti Prog Med* 2020; 111: 212-22.

Riccioni L, Bertolini G, Giannini A, et al. Raccomandazioni di etica clinica per l'ammissione a trattamenti intensivi e per la loro sospensione, in condizioni eccezionali di squilibrio tra necessità e risorse disponibili. *Recenti Prog Med* 2020; 111: 207-11.

Prof. Franco Salvati, Primario Pneumologo Emerito Az. Osp. San Camillo-Forlanini, Roma

Per la corrispondenza:
francosalvati.1930@libero.it

Pandemia COVID-19 e Medicina Generale

C. Felici, G. Peliti

La pandemia COVID-19 ha visto i Medici di Medicina Generale (MMG) operare in prima linea, spesso senza Dispositivi di Protezione Individuali (DPI) adeguati.

Una delle conseguenze più drammatiche della loro assistenza ai Pazienti territoriali è l'alto numero di MMG deceduti per COVID-19: al 03/02/2021 la FNOMCeO¹ riportava i nomi dei 306 Medici deceduti a quella data in Italia a causa dell'infezione da SARS-CoV-2. Ebbene più della metà erano MMG! Per onorare la memoria di tutti i Medici caduti si riportano i nomi del primo e dell'ultimo:

- 11 marzo 2020: Roberto Stella, MMG Presidente Ordine dei Medici di Varese;
- 03 febbraio 2021: Maria Giuseppa Glammalva, MMG.

I MMG erano impegnati a fronteggiare una epidemia di influenza particolarmente aggressiva con 638.000 casi segnalati nella 4ª settimana di gennaio². I MMG continuavano ad effettuare le visite a studio e presso il domicilio dei Pazienti senza prendere particolari precauzioni né utilizzando DPI adeguati, non essendoci stata alcuna segnalazione di pericolo. Il 30 gennaio 2020 il Direttore Generale della OMS ha dichiarato il nuovo focolaio di coronavirus di Wuhan un'emergenza sanitaria pubblica di interesse internazionale (PHEIC)³, il più alto livello di allarme dell'OMS. Il 21 febbraio 2021 un uomo di 38 anni viene ricoverato all'Ospedale di Codogno con febbre altissima e dispnea. Viene intubato. Il tampone evidenzia la presenza del virus SARS-CoV-2. L'ospedale viene posto in quarantena; al personale sanitario vengono distribuite mascherine chirurgiche. I genitori vengono messi in quarantena fiduciaria⁴. Il 22 febbraio 2020 il Ministero

della Salute rilascia le seguenti raccomandazioni: i MMG e i Pediatri di libera scelta (PLS) che vengono a conoscenza di un caso sospetto devono attuare le seguenti misure precauzionali:

- raccogliere informazioni anagrafiche;
- sconsigliare di soggiornare in sala d'attesa; in alternativa programmare la visita in ambiente dedicato presso lo studio o visita domiciliare;
- dotarsi di DPI (mascherina, guanti, occhialini, camice monouso);
- disinfettare le superfici con ipoclorito di sodio 0,1%, dopo pulizia con un detergente neutro;
- smaltire i rifiuti come materiale infetto categoria B (UN3291);
- adottare sistematicamente e rigorosamente le precauzioni standard (droplets ecc.)⁵.

Il 23 febbraio 2020 gli studi medici hanno attivato le norme previste per l'emergenza COVID-19.

Per valutare quale sia stata l'esperienza dei MMG riportiamo l'esperienza della Dottoressa Claudia Felici, MMG ASL Roma 1 che da marzo 2020 a febbraio 2021 ha seguito 79 persone positive al COVID-19 su 1550 assistiti (5% della popolazione). Di questi 72 erano sintomatici/paucisintomatici, asintomatici; 3 sono risultati positivi durante un ricovero per altre cause; 4 sono stati ricoverati: 1 ha subito un peggioramento del suo stato di salute a causa del COVID-19 per cui è stato intubato ed è deceduto per emorragia duodenale; 2 per aggravamento COVID-19 su altre patologie; 1 per accertamenti in persistenza febbre. A questi vanno aggiunti 6 asintomatici che ad un controllo occasionale hanno avuto risposta positiva al test.

Primo caso seguito dalla Dottoressa Felici durante la prima ondata di COVID-19

Uomo di 69 anni molto ben portati. Si è separato da alcuni mesi e vive con l'anziana mamma. Fa una vita molto attiva, gestisce un albergo di proprietà e recentemente è stato spesso in Emilia Romagna

5 marzo: comparsa di febbre e malessere generale. Inizia isolamento, sorveglianza dei sintomi e terapia sintomatica.

7 marzo: tentativo di contatto con i colleghi dell'INMI Spallanzani come da Linee Guida della Regione Lazio e segnalazione telefonica al SISP, per sintomi e link epidemiologico dubbio. Su consiglio del collega del SISP, contatta il 118 (percorso COVID), dove viene aperta una posizione.

Dopo 3 giorni il paziente chiama autonomamente il 118, chiedendo di poter fare un tampone a domicilio.

11 marzo, settimo giorno consecutivo di piressia, inizio terapia con levofloxacina 500 bis die.

12 marzo nuovo contatto con il SISP, che consiglia di proseguire la sorveglianza.

14 marzo il 118 contatta il paziente, invitandolo a contattarmi perché io solleciti il SISP ad eseguire il tampone domiciliare (sic). Il collega del SISP, da me contattato, consiglia di proseguire con la sorveglianza.

15 marzo l'anziana madre presenta dei sintomi. Il SISP si reca a domicilio per l'esecuzione del tampone.

19 marzo esito del tampone positivo. Il paziente è in via di miglioramento

Il paziente guarisce con doppio tampone negativo il 12 aprile dopo circa 40 giorni dall'esordio.

Il 26 febbraio 2020 la Regione Lazio⁶ rilascia degli importanti chiarimenti sulle attività ambulatoriali dei MMG legate al COVID-19: l'invio della prescrizione

dematerializzata al paziente potrà avvenire attraverso adeguate forme digitali, nelle more della definitiva abolizione del promemoria; potrà essere fatto ricorso alle modalità di televisita previste dalle linee di indirizzo nazionali per la telemedicina recepite con DCA U00458/2015 attraverso le tecnologie ICT a disposizione di professionisti e assistiti (es. smartphone, pc, tablet, ecc.); a seguito della televisita, se necessario, potrà essere rilasciato l'attestato di malattia.

Sono importanti novità che aboliscono il documento cartaceo che il MMG doveva rilasciare al Paziente per comprovare l'avvenuta trasmissione telematica al MEF della ricetta elettronica obbligando, però, i Pazienti a recarsi di persona presso lo studio medico per ritirare il documento. Lo stesso documento della Regione Lazio prevede, inoltre, che i MMG debbano informare con gli strumenti a disposizione tutti gli assistiti degli studi medici, in presenza di sintomi respiratori (tosse, rinorrea, starnuti, etc. e/o simil-influenzali), sull'opportunità di non recarsi presso i loro studi, invitandoli a colloquio telefonico per consentire una valutazione clinica preliminare e, congiuntamente, del rischio di infezione da SARS-CoV-2; in presenza dei criteri di caso in valutazione, il medico deve contattare l'INMI Spallanzani al numero 06 55170. Il medico deve, inoltre, dare immediata segnalazione telefonica al Servizio di Igiene e Sanità Pubblica (SISP) della ASL territorialmente competente e, quindi, compilare ed inviare la scheda di segnalazione.

In caso di indisponibilità di DPI da parte dei MMG e dei Pediatri di libera scelta (PLS), le ASL si impegneranno a fornire almeno 3 kit a settimana di dispositivi minimi di protezione e detergenti idroalcolici per la sala d'attesa (nella pratica questo impegno non è stato rispettato in maniera adeguata).

1. Il 06/04/2020 la Regione Lazio⁷ rilascia una linea guida per la terapia domiciliare del COVID-19: 1) Paziente con sintomi lievi esordio <4gg, febbre >37,5 e < 38,5,

tosse secca, senza dispnea, sintomi di raffreddamento, alterazione di gusto/olfatto, sintomi aspecifici in assenza di fattori di rischio: terapia consigliata esclusivamente di supporto: paracetamolo 1grX3/die;

2. Paziente con sintomi lievi, esordio <4gg, TC >37,5 e < 38,5, tosse secca, senza dispnea, sintomi di raffreddamento, alterazione di gusto/olfatto, sintomi aspecifici, età > ai 60 anni, presenza di comorbidità, gravidanza o immunodepressione: la terapia consigliata prevede paracetamolo 1 grx3/die, idrossiclorochina 200 mg cp bid o cloroquina 500 mg cp bid;
3. Paziente con sintomi lievi, esordio >4gg, TC >37,5 e < 38,5, tosse secca, senza dispnea, sintomi di raffreddamento, alterazione di gusto/olfatto, sintomi aspecifici, in presenza od assenza di fattori di rischio: idrossiclorochina 200 mg cp bid o cloroquina 500 cp bid ed eventuale antibiotico a largo spettro tenendo conto delle raccomandazioni AIFA relative alla cautela nell'uso concomitante di alcune classi di antibiotici.
4. Durata terapia 10 giorni.

L'AIFA pubblica il 5 maggio 2020 un aggiornamento della scheda informativa dell'azitromicina⁸ in cui precisa che la mancanza di un solido rationale e l'assenza di prove di efficacia nel trattamento di pazienti COVID-19 non consentono di raccomandare l'utilizzo dell'azitromicina, da sola o associata ad altri farmaci con particolare riferimento all'idrossiclorochina, al di fuori di eventuali sovrapposizioni batteriche. Queste raccomandazioni pongono in difficoltà i MMG che, basandosi sulle precedenti indicazioni terapeutiche, utilizzavano sia l'azitromicina che la idrossiclorochina.

Il 9 ottobre 2020 l'INMI Spallanzani⁹ rilascia delle Linee Guida per la terapia domiciliare del COVID-19 che saranno di

riferimento per i MMG nell'affrontare la seconda ondata dell'epidemia.

Terapie di supporto:

- Il paracetamolo, come antipiretico e antidolorifico, viene utilizzato nella posologia di 500-1000 mg ogni 6-8 h, fino ad un massimo di 3-4 gr/die, in caso di persistenza della iperpiressia per più di 3 gg paracetamolo 500 più ibuprofene 150 mg 1cp ogni 6 ore.
- Idratazione: almeno due litri di acqua al di.
- Si ritengono utili integratori contenenti zinco, amminoacidi e glutazione; utile altresì considerare la supplementazione, qualora non già in terapia, di vitamina D: colecalciferolo 25.000 UI 1 flc a settimana x os per almeno 8 settimane.
- L'ossigenoterapia è di fondamentale importanza, per pazienti selezionati, in quanto l'inizio precoce si associa ad un migliore outcome.
- Uso pulsossimetro (indicazioni all'O2 terapia) se:
 - SpO2 a riposo < 94% (dotare il Paziente di pulsossimetro e informarlo sul suo corretto uso)
- Terapia antibiotica è suggerita per:
 - pazienti in cura al domicilio
 - pazienti ricoverati con evidenza clinica di possibile malattia batterica acquisita in comunità (prime 48 dal ricovero)
 - Dopo 3-4 giorni di iperpiressia (temperatura corporea > 38°C) non responsiva a terapia di supporto
 - e/o nel caso di sospetto clinico di sovrainfezione batterica (es. espettorato muco-purulento) valutare l'inizio di terapia antibiotica con:
 - amoxicillina/acido clavulanico 875/125 mg 1 compressa ogni 8 ore;

- (levofloxacin 500 mg 1 compressa/die in caso di allergia ad amoxicillina/clavulanato);
- se dopo 2 giorni persiste febbre (temperatura corporea > 38°C) e/o vi è il sospetto clinico di sovrainfezione batterica associare:
 azitromicina 500 mg 1 compressa/die Per almeno 5 giorni (o più, secondo decorso clinico).

Le linee di indirizzo AIFA per l'uso terapeutico di azitromicina sottolineano la mancanza di un solido rationale e l'assenza di prove di efficacia nel trattamento di pazienti COVID-19; per questo motivo non consentono di raccomandare l'utilizzo dell'azitromicina, da sola o associata ad altri farmaci con particolare riferimento all'idrossiclorochina, al di fuori di eventuali sovrapposizioni batteriche.

Terapia anticoagulante

In assenza di controindicazioni, valutare per il paziente sul territorio e in ospedale l'avvio di profilassi antitromboembolica con:

- enoxaparina 4.000 UI 1 fl sc/die, sino a risoluzione dei sintomi e ripresa dell'attività fisica.

Si consiglia di ponderare l'avvio del trattamento sulla base delle caratteristiche del paziente (fattori di rischio presenti, comorbidità, quadro sintomatologico al momento della valutazione medica); si consiglia altresì di attuare stretto monitoraggio clinico e laboratoristico (dosaggio D-dimero).

Terapia steroidea

Considerare l'utilizzo dello steroide sistemico in caso di segni di incipiente deterioramento della funzionalità respiratoria. È pertanto indicata nei pazienti ospedalizzati o al domicilio, con polmonite in

ossigenoterapia (in qualsiasi modalità, da reservoir a ventilazione meccanica), con il seguente schema:

- desametasone 6 mg/die ev o per os una volta/die per 10 giorni, a cui associare, per tutta la durata del trattamento:
- calcio citrato 500 mg/die ore 12.00
- colecalciferolo 25.000 UI a settimana (se non già in terapia)

Se il paziente è in terapia cronica con bifosfonati orali, denosumab o teriparatide, richiedere consulenza endocrinologica.

Profilassi delle emorragie digestive

Considerati i molteplici fattori di rischio presenti nei pazienti con COVID-19: lansoprazolo 30 mg 1 cp/die sino risoluzione dei sintomi.

Terapia antivirale

È indicata nei pazienti ospedalizzati, di peso superiore a 40 kg ed età maggiore di 12 anni, con polmonite e con ossigeno terapia.

Terapia antipertensiva

In seguito a segnalazioni e intensi dibattiti scientifici sul potenziale effetto peggiorativo di inibitori dell'enzima di conversione dell'angiotensina (ACE) e i bloccanti del recettore per l'angiotensina (ARB, sartani) sul decorso della malattia COVID-19, il 23 marzo 2020 EMA si è espressa contro l'eventuale modifica della terapia antiipertensiva contenente tali molecole. EMA ha dichiarato: *“Attualmente, non vi sono evidenze di studi clinici o epidemiologici che stabiliscano un legame tra gli ACE-inibitori o gli ARB e il peggioramento della malattia da COVID-19.”*

Le Linee Guida dello Spallanzani hanno permesso ai MMG di affrontare la seconda ondata del COVID-19.

Caso seguito della dott.ssa Felici durante la seconda ondata

S. 56 anni, non patologie di rilievo. Contatto di positivo (ufficio).

7 novembre insorgenza di mal di gola e cefalea, con rialzo febbrile 37,5 °C

9 novembre Tampone NF con esito positivo. Apiretico con lieve cefalea.

15 novembre nuovo rialzo febbrile 38 °C.

16 novembre 38,5 °C. Consegna del saturimetro che fino ad allora non aveva voluto procurarsi. SO2 94/96.

18 novembre, persistendo TC a 38°C comincia azitromicina 500 mg/die e dal giorno successivo anche Prednisone 25 mg al mattino e enoxaparina 4000 UI 1/die. SO2 94/95.

21 novembre inizia il miglioramento.

27 novembre tampone NF negativo.

Il 1 dicembre 2020 la FNOMCeO¹⁰ rilascia delle Linee Guida per la gestione domiciliare dei pazienti COVID-19 che non si discostano da quelle dello Spallanzani, permettendo ai MMG di proseguire con i loro interventi terapeutici domiciliari.

L'esperienza del COVID-19 ha evidenziato in modo drammatico che nelle Regioni in cui la Medicina Generale era stata esautorata per un sistema ospedale-centrico si sono avute la maggior parte degli infetti e delle morti, come in Lombardia.

Una relazione strutturata tra i MMG ed i Medici Ospedalieri del medesimo territorio, che permetta loro di avere incontri tra pari sui temi di approfondimento, potrà sicuramente giovare ad un miglioramento dei reciproci rapporti.

Una esigenza che questa epidemia ha evidenziato è l'affiancamento al MMG dell'Infermiere di Famiglia, figura già prevista dalla Regione Lazio, ma che ancora non ha visto una concreta attuazione.

BIBLIOGRAFIA

1. FNOMCeO. Elenco medici caduti nel corso dell'epidemia di Covid19. <https://portale.fnomceo.it/>
2. I.S.S. Rapporto Epidemiologico InFluNet. 2020; 12. www.salute.gov.it.
3. WHO. Coronavirus: WHO declares global health emergency. DW News 30.01.2020.
4. Ordinanza del Ministero della Salute e Regione Lombardia 21/02/2020. <https://www.trovanorme.salute.gov.it/norme/>
5. Ministero della Salute. Ordinanza 22 febbraio 2020. Ulteriori interventi urgenti di protezione civile in relazione all'emergenza relativa al rischio sanitario connesso all'insorgenza di patologie derivanti da agenti virali trasmissibili. (Ordinanza n. 638). (20A01254). G.U. Serie Generale, n. 48 del 26 febbraio 2020.
6. Ordinanza del Presidente della Regione Lazio n. Z00002 del 26/02/2020 – Misure per la prevenzione e gestione dell'emergenza epidemiologica da COVID-19. BURL 2020; 17, Suppl. 2.
7. Regione Lazio. Ordinanza del Presidente della Regione Lazio 5 novembre 2020, n. Z00065. Ordinanza ai sensi dell'articolo 32, comma 3 della legge 23 dicembre 1978, n. 833 in materia di igiene e sanità pubblica. Ulteriori misure per la prevenzione e gestione dell'emergenza epidemiologica da COVID-19. BURL 2020; 134.
8. AIFA. Azitromicina nella terapia dei pazienti adulti con COVID-19. Update del 5 maggio 2020. https://www.aifa.gov.it/documents/20142/1123276/azitromicina_05.05.2020.pdf/.
9. IRCCS L. Spallanzani. Protocollo clinico e terapeutico pazienti COVID-19. <https://www.inmi.it/protocollo-clinico-e-terapeutico-pazienti-covid-19>.
10. FNOMCeO. Gestione domiciliare dei pazienti con infezione da SARS-CoV-2. <https://portale.fnomceo.it/wp-content/uploads/2020/12>.

Dott.ssa Claudia Felici, Medico di Medicina Generale ASL Roma 1

Dott. Giovanni Peliti, già Medico di Medicina Generale ASL Roma 1

Per la corrispondenza: cla.felici@gmail.com

COVID-19 e Ospedale

G. Gencarelli

L'infezione da virus SARS-CoV-2, denominata COVID-19 (COroNaVIrus Disease 19), è stata inizialmente rilevata in Cina nel dicembre 2019, e successivamente si è diffusa rapidamente in tutto il mondo, al punto che l'11 marzo 2020 l'OMS ha dichiarato che il focolaio poteva essere definito come una pandemia. Oggi continua a colpire milioni di persone in tutto il mondo producendo cambiamenti sismici nella società in generale.

La malattia COVID-19 varia da lievi episodi simil-influenzali ad altre condizioni gravi e pericolose per la vita a causa dell'insufficienza respiratoria acuta; nello specifico i dati pubblicati suggeriscono che 81% dei COVID-19 è lieve, il 14% è grave e che il 5% richiede cure intensive. Il tasso di mortalità varia dall'1,4% nei pazienti ospedalizzati al 61,5% nei pazienti critici.

Questi pazienti sono frequentemente ammessi nei nostri reparti di Medicina Intensiva in relazione alla Sindrome da Distress Respiratorio Acuto (ARDS).

Nella fase iniziale della pandemia, il numero sproporzionato di pazienti con grave insufficienza respiratoria ipossiémica acuta, rispetto alle risorse disponibili, ha costretto i medici ad assistere i pazienti con tecniche non invasive al di fuori delle Unità di Terapie Intensive, mantenendo la respirazione spontanea preservata nonostante gli scambi dei gas fossero compromessi. I dati sul fallimento della NIV hanno sollecitato la ventilazione invasiva (VMI), a sua volta con dati negativi sul tasso di mortalità e con un numero elevato di sanitari infetti in seguito all'intubazione tracheale per mancanza di dispositivi di protezione individuali (DPI) adeguati ed impostazioni del ventilatore che potessero limitare la dispersione delle particelle virali.

I dati analizzati dei pz. sottoposti a VMI ha portato all'ipotesi di diversi fenotipi con COVID-19, a partire dalla risposta infiammatoria del malato (tempesta di citochine) che contribuisce al danno polmonare acuto con risposta diversa in termini di successo e fallimento. Inoltre la conoscenza dell'attivazione della coagulazione intravasale ha dato una spiegazione all'evoluzione più grave di COVID-19, poiché andava ad interferire con i processi di riparazione e cicatrizzazione delle lesioni, predisponendo così gli individui a meccanismi aberranti di riparazione e fibrosi.

Sulla base dei dati pubblicati e sulle conoscenze acquisite, sono stati sviluppati degli algoritmi per la gestione del paziente con grave insufficienza respiratoria acuta ipossiémica sia all'interno che al di fuori delle ICU, per mezzo di staff addestrati, con la giusta attrezzatura e una finestra di monitoraggio stretto in modo da procedere ad intubazione tempestiva al peggiorare dello stato respiratorio.

L'algoritmo prevede l'avvio del paziente all'ossigeno terapia convenzionale se SpO₂ <92% con maschera di Venturi fino ad arrivare una SpO₂ tra il 92-96%. Se dopo 4 ore, la SpO₂ e la RR (< 30 atti/min) si mantengono stabili, il paziente mantiene ossigeno, altrimenti si passa ad ossigenoterapia ad alti flussi con cannule casali (HFNC).

L'utilizzo degli HFNC è indicato quando PaO₂/FiO₂ <300 con O₂>5l/min, con la possibilità di avere rampa da 30 fino a 60 L/min di flusso per mantenere una SpO₂ > 93%. Prima di iniziare la terapia, è necessario posizionare una mascherina chirurgica sul naso e sulla bocca con cannula nasale adattata. Questo permette non solo di ridurre la deposizione di goccioline ma

migliora l'ossigenazione senza alcun effetto collaterale, eccetto una riduzione della clearance della CO₂. Ciò potrebbe comportare un aumento del lavoro respiratorio che potrebbe richiedere un aumento della velocità di flusso degli HFNC. Il beneficio degli HFNC viene valutato attraverso l'indice di ROX in maniera seriata a distanza di 2, 4, 6 e 12 ore. Questo indice descritto da Roca et al, definito come il rapporto tra la pulsiossimetria/frazione di ossigeno inspirato e frequenza respiratoria (RR), identifica i pz. a rischio fallimento del NHF, in particolare ROX di 4,88 è associato ad un alto rischio di intubazione.

Lo step successivo al fallimento HFNC (P/F <200 o PaO₂ >60 mmHg o RR >30) è la CPAP tramite Elmetto o maschera oronasale, iniziando con 10 cmH₂O. Si raccomanda di non superare i 12-13 cmH₂O per evitare barotraumi, lesioni polmonari auto inflitte (S-

ILI) o impatto emodinamico negativo, l'obiettivo è ottenere una SpO₂ > 93%.

Se sotto CPAP, rapporto P/F <100 e RR >30/distress respiratorio, è consigliato cambiare modalità di ventilazione in PS con PEEP di 10-12 cmH₂O e PS impostati con l'obiettivo di VT 4-6 ml/Kg e una FiO₂ target di 90-95%.

Indicatori di fallimento della NIV e passaggio all'intubazione, dopo un'ora, sono: arresto respiratorio, pausa respiratoria con incoscienza, grave instabilità emodinamica, P/F < 100 con pO₂ < a 60 mmHg e RR > 30.

Importante in tutti gli step la Prone-positioning come strumento per migliorare l'ossigenazione. Gli studi sull'argomento sono tanti e con durata e frequenza diverse; non essendoci un protocollo uniformato ha senso applicare l'auto-pronazione tanto quanto tollerato dal paziente e, se efficace, prolungarlo per 3-5 giorni.

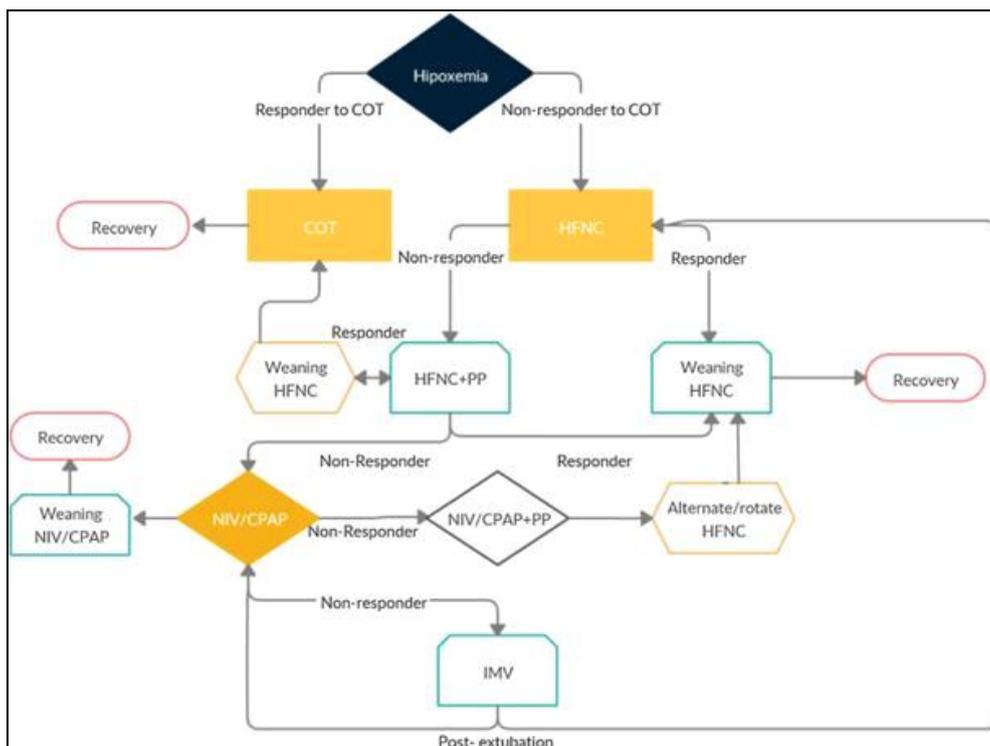


Fig. 1: Step successivi di assistenza respiratoria.

Oltre al supporto ventilatorio, come da LG, tutti i pazienti con insufficienza respiratoria acuta vengono trattati con terapia medica a base di corticosteroidi sistemici (desametasone 6 mg/die per un massimo di 10 giorni), profilassi farmacologica del tromboembolismo venoso (TEV) con enoxaparina 100 UI/kg; l'uso del remdesivir ev entro le 72 ore dal test antigenico per 6 giorni solo per i paziente critici ma non ventilati, mentre sconsigliato nel pz critico in ventilazione meccanica, così come è sconsigliato l'uso del plasma se non per studi clinici.

È raccomandata la profilassi antibiotica per le sovra infezione per un massimo 5-7 giorni.

È fortemente raccomandato per gli operatori sanitari che eseguono procedure generatrici di aerosol nei reparti di ICU e di

Medicina Intensiva utilizzare maschere respiratorie adeguate (N95, facciale filtrante protezione 2 o equivalenti), tubi a prova di virus, stanze a pressione negativa.

Ad oggi la migliore strategia per sconfiggere la pandemia rimane la prevenzione mirata a ridurre la trasmissione nella popolazione e la vaccinazione di massa.

Dott.ssa Giorgetta Gencarelli, Dirigente Medico Az. Osp. Univ. Sant'Andrea, "Sapienza" Università di Roma

Per la corrispondenza:
ggencarelli@ospedalesantandrea.it

Conferenza

16 febbraio 2021

Demografia, Cardiologia e futuro della Medicina

A. Boccanelli

Il XX secolo è stato quello in cui si è assistito ai più grandi mutamenti nell'umanità rispetto a tutti i tempi precedenti. Secolo di rivoluzioni politiche, economiche, ambientali, tecnologiche e scientifiche che hanno posto le basi per un XXI secolo inimmaginabile solo fino a poche decenni fa. Le condizioni mutate dell'umanità si accompagnano e reciprocamente determinano in incessante sviluppo le mutate condizioni politiche, economiche, ambientali, tecnologiche e scientifiche.

Primo risultato misurabile è la rapidissima transizione demografica. La storia comincia nel 1928, con la scoperta della Penicillina da parte di Alexander Fleming. L'introduzione degli antibiotici generò il primo grande *tsunami* epidemiologico, con un aumento, in brevissimo tempo, dell'attesa media di vita di circa 15 anni. Negli anni '80 l'attesa di vita di un maschio italiano non era molto superiore a 65 anni ed era l'epoca in cui si cominciava a lanciare l'allarme sulla crescente incidenza delle malattie cardio e cerebrovascolari.

Il secondo balzo in avanti inizia negli anni '70 e '80 con la lotta alle malattie aterosclerotiche. Gli studi epidemiologici delle ultime decenni del secolo scorso hanno avuto il grande pregio di aver messo a fuoco il rapporto causale tra i fattori di rischio e le malattie cardio e cerebrovascolari (MCV), aprendo la strada alle strategie di intervento, farmacologiche e comportamentali, che hanno radicalmente cambiato, negli ultimi 50 anni, la storia delle MCV e modificato in modo consistente l'attesa di vita.

Parallelamente alla sistematizzazione della ricerca epidemiologica, entravano nella disponibilità della Cardiologia farmaci e procedure destinati a rivoluzionare l'andamento delle MCV. Il Captopril, capostipite degli ACE-inibitori, viene sviluppato nel 1975 e approvato per l'uso clinico nel 1977¹. Nel 1976 Akira Endo individua la Mevastatina nel riso rosso fermentato, ma è solo nel 1987 che viene approvata la Lovastatina e nel 1988 la Simvastatina². Si mettevano così a disposizione della classe medica i farmaci che avrebbero rivoluzionato la storia e l'epidemiologia dell'aterosclerosi, abbattendo l'incidenza di ictus cerebrale e di infarto miocardico. La prima angioplastica coronarica risale al 1977, ad opera di Gruntzig³ l'uso della trombolisi con streptochinasi al 1986⁴. A seguire, l'angioplastica primaria nell'infarto miocardico acuto e lo sviluppo della rete organizzativa per la riperfusione precoce dell'infarto. In pochissimi anni si è assistito ad un balzo in avanti di oltre 10 anni nell'insorgenza delle malattie coronariche, alla riduzione della encefalopatia ipertensiva multinfartuale e degli ictus, alla immissione in circolazione di una grande quantità di persone scampate al pericolo della malattia cardio e cerebrovascolare, acuta o cronica.

E come nelle decenni precedenti, problemi nuovi e soluzioni nuove: parallelamente al mutare della epidemiologia, venivano infatti a maturazione le tecniche di sostituzione/riparazione valvolare transcateretere: nel 2002 veniva realizzata la

prima sostituzione valvolare aortica transcaterere (TAVI)⁵ e nel 2011 la MitraClip⁶ e sono in corso di perfezionamento le tecniche di sostituzione transcaterere della mitrale e della tricuspide.

Quell'onda che si generò in pochissimi anni ha prodotto la riduzione progressiva degli STEMI a favore dei NSTEMI, con un balzo in avanti di oltre 10 anni nell'insorgenza delle malattie coronariche, la riduzione della encefalopatia ipertensiva multifartuale e degli ictus, la immissione in circolazione di una grande quantità di persone scampate al pericolo della malattia cardio e cerebrovascolare, acuta o cronica.

Nei 30 anni che vanno dal 1985 al 2015 l'attesa di vita alla nascita è cresciuta di circa 10 anni (Fig. 1) e parallelamente è cresciuta l'attesa di vita residua per ogni fascia di età (Fig. 1). L'attuale attesa di vita di un maschio italiano è di circa 81 anni e della femmina di circa 84, e cresce di circa 3 mesi ogni anno. Questo balzo in avanti è dovuto soprattutto alla lotta contro l'arteriosclerosi degli ultimi due decenni del secolo scorso, così da poter considerare quella epidemia secolare debellata, come lo erano state nei secoli precedenti peste, sifilide e tubercolosi (ciascuna con il proprio secolo di riferimento).

anni	1985		2015	
	Maschi	Femmine	Maschi	femmine
0	72,0	78,5	80,1	84,6
50	25,4	30,7	31,9	35,6
60	17,5	21,8	22,8	26,3
70	11,0	13,8	14,8	17,6
75	8,3	10,3	11,3	13,6
80	6,1	7,3	8,1	9,9
85	4,4	4,9	5,6	6,8
90	3,1	3,3	3,8	4,5
95	2,1	2,2	2,6	3,0
100	1,5	1,5	1,7	1,9

Fig. 1: Cambiamento dell'attesa di vita in Italia 1985-2015, alla nascita e nelle diverse fasce di età (Dati ISTAT).

Se si pensa che l'aumento dell'attesa di vita è dovuto soprattutto alla mutata epidemiologia delle MCV, si comprende l'enorme importanza che la prevenzione cardiovascolare ha assunto nel nostro lavoro di Cardiologi.

La composizione della popolazione per fasce di età va altrettanto rapidamente cambiando. Attualmente la maggior parte della popolazione in Italia si colloca nella fascia di età compresa fra 40 e 50 anni, mentre si prevede che crescerà progressivamente nelle prossime decadi, fino ad arrivare, nel 2050, alla fascia compresa fra 60 e 70 anni.

Cercheremo di accennare alle principali rivoluzioni già in corso o prossime venture all'interno e a causa delle quali si verificherà la transizione demografica e, di conseguenza, epidemiologica.

L'era della Cronicità

Abbiamo ottenuto il risultato dell'aumento dell'attesa di vita e la principale conseguenza, in termini di salute pubblica, è stata quella di vedere apparire e moltiplicarsi condizioni croniche legate soprattutto alla degenerazione di organi e tessuti, le patologie cronic-degenerative. Sono condizioni ben diverse da quelle curabili in Ospedale, perché accompagnano il paziente per tutta la vita e richiedono soluzioni di cura che seguono un paradigma del tutto diverso. Questa è la principale modifica che dovremo apportare ai nostri sistemi sanitari, finalizzandoli non tanto all'aumento della durata (che ovviamente rimane come obiettivo) quanto alla qualità della vita⁷.

L'esempio della Cardiologia è sotto gli occhi di tutti: con il ridursi delle cause "vascolari" di cardiopatia, sono emerse quelle più propriamente "tissutali" o degenerative. Si è dato tempo allo sviluppo di malattie da invecchiamento del sistema cardiovascolare, che riconoscono alla propria base numerosi meccanismi a livello cellulare, che includono la senescenza replicativa,

l'apoptosi, processi infiammatori. Le modifiche da invecchiamento si traducono in aumento della massa ventricolare, aumento delle dimensioni atriali, deposizione di collagene miocardico e deposizione di calcio a livello valvolare e coronarico, con aumento di rigidità della parete arteriosa. Le conseguenze di queste alterazioni sono l'ipertensione sistolica isolata, la sclerosi valvolare aortica calcifica con stenosi, l'amiloidosi cardiaca senile, insieme con la coronaropatia calcifica multivasale. Ecco pertanto l'incremento dello scompenso cardiaco, non a caso a sempre più prevalente fisiopatologia diastolica, non legata cioè a fenomeni di perdita di tessuto contrattile necrotico, ma piuttosto a sostituzione fibrotica progressiva e perdita di miociti. Ed ecco quindi l'incremento della fibrillazione atriale, legata a fenomeni degenerativi del tessuto atriale. Queste sono situazioni che interessano una fetta molto importante (fino al 15 %) della popolazione degli ultraottantenni.

Il trattamento con statine, modificando la biologia di placca, ne ha impedito l'evoluzione verso la rottura, ma non verso l'evoluzione sclerotica. Questa modifica della struttura di placca si è tradotta in una riduzione degli infarti con meccanismo trombotico (STEMI) ed in un aumento degli infarti con meccanismo non trombotico, ma emodinamico (NSTEMI) più tipico della fragilità e comorbilità delle fasce più avanzate della popolazione. Insieme e a causa dell'invecchiamento della popolazione, sono inoltre venute a maturazione in misura epidemiologicamente rilevante, le cosiddette "cardiopatie strutturali", in particolare le malattie degenerative delle valvole cardiache, per le quali si sta sviluppando una nuova consapevolezza, dovuta anche alle soluzioni interventistiche maturate nelle ultime due decadi.

Le soluzioni organizzative che si stanno prospettando per le patologie croniche sono soprattutto legate alla medicina di comunità

e alla prevenzione. In questo settore, un grande aiuto verrà dalla tecnologia digitale e dai sistemi di controllo remoto.

L'evoluzione tecnologica e l'invasione della intelligenza artificiale

Un nuovo tipo di società, costituita da "nativi digitali", sta sostituendo la generazione precedente, i cosiddetti "immigrati digitali". Le generazioni successive agli anni '80 interagiscono con la tecnologia fin dalla prima infanzia. I "nativi digitali" non rappresentano solo i pazienti di oggi, ma ritraggono anche i pazienti del futuro.

La tecnologia consente di accorciare i tempi da dedicare ad attività accessorie e che richiedono tempo, come quelle amministrative, di facilitare la diagnosi, di favorire i contatti, di somministrare terapie, di organizzare in modo efficiente l'assistenza.

La telemedicina e il teleconsulto consentono l'accesso a competenze specialistiche a gran parte della popolazione e sono in programma grandi investimenti sulla e-health. I sistemi di controllo remoto e lo sviluppo di piattaforme digitali per la raccolta dati faciliteranno la migliore distribuzione dell'assistenza domiciliare. Le nuove generazioni di medici e infermieri disporranno pertanto di strumenti e metodologie che rivoluzioneranno la pratica medica. Sicuramente l'intelligenza artificiale e la tecnologia non sostituiranno la figura del medico, ma i medici che non sapranno utilizzare la tecnologia saranno sostituiti da quelli che lo sanno fare.

La genetica e la Medicina di precisione

Citeremo gli esempi derivanti dalla Cardiologia, ma che si stanno verificando in tutti i settori della Medicina. Il trattamento di malattie ad enorme impatto sulla popolazione quali le MCV, come sopra riportato, si è dovuto necessariamente servire di un approccio "probabilistico", come espresso dalle tradizionali carte del rischio. Su di esse si basano a tutt'oggi le indicazioni delle linee guida relativamente al

trattamento dei fattori di rischio modificabili, sia in termini di variazioni di stile di vita che di prescrizione di farmaci. Relativamente a quest'ultima, mentre sono abbastanza chiari i benefici nelle persone classificate ad alto rischio o in prevenzione secondaria, nella gran parte della popolazione classificabile a rischio intermedio o basso rimangono molte incertezze sulle indicazioni all'uso di farmaci. Al fine di avvicinarsi per quanto possibile alla pratica di una "Medicina di precisione", si rende necessario affinare le metodiche di valutazione del rischio individuale. Negli ultimi 15 anni si sono riposte molte speranze sugli studi di Genetica, che hanno portato alla elaborazione di "score" poligenici fortemente predittivi di rischio di ammalare di malattie cardiovascolari. Grazie all'utilizzo di grandi dataset genomici, raccolti in studi longitudinali con follow-up di più di 10 anni, è stato possibile validare la capacità predittiva degli score poligenici. Un esempio di un grande dataset genomico è la UK Biobank⁸: lo studio, promosso dal governo inglese ed effettuato in Gran Bretagna, che comprende più di 500.000 partecipanti genotipizzati e con la loro storia clinica a disposizione tramite gli *electronic health records*, ha permesso di accelerare la ricerca nella Medicina di precisione. Gli score poligenici sono basati sul contributo di centinaia di migliaia o addirittura milioni di variazioni genetiche comuni, ognuna con un piccolo effetto nell'aumento del rischio, ma che quando sono considerate nella loro totalità, riescono ad identificare persone con rischio superiore al 300% rispetto al resto della popolazione⁹. Le variazioni genetiche presenti negli score vengono identificate grazie all'uso di sofisticati algoritmi di *machine learning* e l'analisi di studi caso controllo chiamati *Genome wide association study (GWAS)*¹⁰. Negli ultimi tre anni la ricerca nel campo della Genetica dell'infarto miocardico ha fatto dei progressi importantissimi, riuscendo a raggiungere valore clinico nell'identificare persone sane a rischio. Il valore è dato dalla possibilità di

identificare persone con rischio equivalente ai portatori di ipercolesterolemia familiare⁹, ma che, a differenza di questi, non hanno livelli di LDL elevati o altri fattori di rischio, risultando quindi invisibili ai modelli di rischio tradizionali. Inoltre lo score poligenico ha dimostrato di poter modulare il rischio di infarto conferito dal colesterolo LDL. Uno studio recentissimo pubblicato su *Circulation* ha evidenziato come persone con livelli di LDL intermedi (e.g. tra 130 e 160 mg/dL), ma con score elevato, abbiano lo stesso rischio di chi ha ipercolesterolemia¹¹. Lo score poligenico può essere utilizzato come strumento aggiuntivo a quelli in uso nella pratica clinica, come supporto per aiutare nel prendere decisioni terapeutiche in persone a rischio intermedio, spesso difficili da effettuare con gli strumenti a disposizione¹². Inoltre, è stato dimostrato che le statine e gli inibitori del PCSK9, sono risultati più efficaci nelle persone con alto score poligenico, apportando benefici più elevati^{13, 14}.

La prevenzione di precisione e di comunità

Altre ricerche sulla stratificazione o riclassificazione del rischio coronarico si sono focalizzate, oltre che sulla Genetica ed i suoi score, sui biomarcatori, in particolare dell'infiammazione¹⁵ sull'imaging sia ultrasonografico^{16, 17} che radiologico¹⁸ e sulla loro integrazione¹⁹, favorita dalle applicazioni di *machine learning*²⁰, approccio basato su sistemi informatici in grado di apprendere e adattarsi senza seguire istruzioni esplicite, utilizzando algoritmi e modelli statistici per analizzare e trarre inferenze da pattern nei dati. Infine si stanno studiando fenotipi metabolici "*metabotypes*" per ottenere una "*precision prevention*", prevenzione di precisione soprattutto dal punto di vista alimentare²¹.

Questi scenari sono certamente interessanti, ma emergono subito due problemi:

1) una volta identificati gli strumenti migliori per una "prevenzione di precisione" vanno

valutati il loro costo e la loro reale applicabilità a livello di popolazione, in particolare in prevenzione primaria;

2) parlando di popolazione emerge anche per il futuro il contesto di comunità, soggetto essenziale e non riducibile della prevenzione, come anche la pandemia da Covid-19 sta dimostrando. Gli individui vivono in un contesto comunitario che ne influenza le scelte soprattutto comportamentali e qui rimane ancora molto da fare nonostante le evidenze²² anche italiane sul “basso rischio”^{23, 24} e le raccomandazioni, anche recenti, ai due lati dell’Atlantico^{25, 26}.

BIBLIOGRAFIA

1. Hoorntje SJ, Donker AJ. Clinical use of captopril. *Hypertension* 1981; 3: 507-8.
2. Li JJ. *Triumph of the Heart: The Story of Statins*. Oxford Scholarship Online 2020. DOI:10.1093/oso/9780195323573.001.0001
3. Grüntzig AR, Myler RK, Hanna ES, Turina MI. Coronary transluminal angioplasty. *Circulation* 1977; 55-56(III): 84.
4. Rovelli F, De Vita C, Feruglio G, et al. GISSI Trial: Early Results and Late Follow-Up. *JACC* 1987; 10: 33B-39B.
5. Cribier A, Eltchaninoff H, Bash A, et al. Percutaneous transcatheter implantation of an aortic valve prosthesis for calcific aortic stenosis: First human case description. *Circulation*; 2002; 106: 3006-8.
6. Jilaihawi H, Hussaini A, KarJ S. MitraClip: a novel percutaneous approach to mitral valve repair. *Zhejiang Univ Sci B* 2011; 12: 633-7.
7. Rinnenburger D. *La cronicità, come prendersene cura, come viverla*. Il Pensiero Scientifico Editore, 2019.
8. Bycroft C, Freeman C, Petkova D, et al. The UK Biobank resource with deep phenotyping and genomic data. *Nature* 2018; 562: 203-9.
9. Khera AV, Chaffin M, Aragam KG, et al. Genome-wide polygenic scores for common diseases identify individuals with risk equivalent to monogenic mutations. *Nat Genet* 2018; 50: 1219-24.
10. Wand H, Lambert SA, Tamburro C, et al. Improving reporting standards for polygenic scores in risk prediction studies. *Nature* 2011; 591: 211-9.
11. Bolli A, Di Domenico P, Pastorino R, Busby GB, Bottà G. Risk of Coronary Artery Disease Conferred by Low-Density Lipoprotein Cholesterol Depends on Polygenic Background. *Circulation* 2021; 143: 1452-4.
12. Aragam KG, Dobbyn A, Judy R, et al. Limitations of contemporary guidelines for managing patients at high genetic risk of coronary artery disease. *JACC* 2020; 75: 2769-80.
13. Damask A, Steg PG, Schwartz GG, et al. Patients with high genome-wide polygenic risk scores for coronary artery disease may receive greater clinical benefit from alirocumab treatment in the ODYSSEY OUTCOMES trial. *Circulation* 2020; 141: 624-36.
14. Natarajan P, Young R, Stitzel NO, et al. Polygenic risk score identifies subgroup with higher burden of atherosclerosis and greater relative benefit from statin therapy in the primary prevention setting. *Circulation* 2017; 135: 2091-101.
15. Frary CE, Blicher MK, Olesen TB, et al. Circulating biomarkers for long-term cardiovascular risk stratification in apparently healthy individuals from the MONICA 10 cohort. *Eur J Prev Cardiol* 2020; 27: 570-8.
16. Kozakova M, Palombo C. Imaging subclinical atherosclerosis in cardiovascular risk stratification. *Eur J Prev Cardiol* 2021; 28: 247-9.
17. Faggiano P, Dasseni N, Gaibazzi N, et al. Cardiac calcification as a marker of subclinical atherosclerosis and predictor of cardiovascular events: A review of the evidence. *Eur J Prev Cardiol* 2019; 26: 1191-204.
18. Antonopoulos AS, Angelopoulos A, Tsioufis K, Antoniades C, Tousoulis D. Cardiovascular risk stratification by coronary computed tomography angiography imaging: current state-of-the-art. *Eur J Prev Cardiol* 2021; doi.org/10.1093/eurjpc/zwab067.
19. Tamarappoo BK, Lin Ab,1, Commandeur F, et al. Machine learning integration of circulating and imaging biomarkers for explainable patient-specific prediction of cardiac events: a prospective study. *Atherosclerosis* 2021; 318: 76-82.

20. Quer G, Arnaout R, Henne, M, Arnaout R. Machine learning and the future of cardiovascular care. JACC State-of-the-Art Review. JACC 2021; 77: 300-13.
21. Palmnäs M, Brunius C, Shi L, et al. Perspective: metabotyping—a potential personalized nutrition strategy for precision prevention of cardiometabolic disease. Advances in Nutrition 2020; 11: 524-32.
22. O'Connor EA, Evans CV, Rushkin, MC, et al. Behavioral counseling to promote a healthy diet and physical activity for cardiovascular disease prevention in adults with cardiovascular risk factors Updated Evidence Report and Systematic Review for the US Preventive Services Task Force. JAMA 2020; 324: 2076-94.
23. Palmieri L, Donfrancesco C, Giampaoli S, et al. Favorable cardiovascular risk profile and 10-year coronary heart disease incidence in women and men: results from the Progetto CUORE. Eur J Cardiovasc Prev Rehabil 2006; 13: 562-70.
24. Giampaoli S, Palmieri L, Panico S, et al. Favorable cardiovascular risk profile (low risk) and 10-year stroke incidence in women and men: findings from 12 Italian population samples. Am J Epidemiol 2006; 163: 893-902.
25. US Preventive Services Task Force. Behavioral counseling interventions to promote a healthy diet and physical activity for cardiovascular disease prevention in adults with cardiovascular risk factors US Preventive Services Task Force Recommendation Statement. JAMA 2020; 324: 2069-75.
26. Piepoli MF, Abreu A, C Albus C, et al. Update on cardiovascular prevention in clinical practice: A position paper of the European Association of Preventive Cardiology of the European Society of Cardiology. Eur J Prev Cardiol 2020; 27: 181-205.

Prof. Alessandro Boccanelli, Presidente Società Italiana di Cardiologia Geriatrica (SICGe), Casa di cura Quisisana, Roma

Per la corrispondenza:
 boccanelli.alessandro@gmail.com

Simposio

23 febbraio 2021

Registrazione di parametri biologici in Medicina Subacquea

Moderatore: Lucio Pastena

EEG, ECG: problematiche di registrazione

L. Pastena, V. Del Nero

La registrazione di potenziali bioelettrici in Medicina Subacquea pone diversi problemi.

I potenziali bioelettrici più importanti e più usati sono l'EEG e l'ECG.

L'elettroencefalogramma mostra potenziali bioelettrici registrati sullo scalpo dell'ordine di microvolt, l'ECG mostra potenziali bioelettrici registrati sul torace dell'ordine di millivolt; la differenza dei voltaggi registrati rende la registrazione dell'EEG più difficile rispetto alla registrazione dell'ECG; inoltre è da considerare che i punti da cui si registrano i potenziali EEG sono molto vicini, essendo situati sullo scalpo (sono dell'ordine di meno di un centimetro), mentre i punti di registrazione dell'ECG sul torace sono più distanti e dell'ordine di più di un centimetro.

Queste differenze sono state importanti nello sviluppo delle tecniche di registrazione in Medicina Subacquea, dove si "dovrebbero" registrare i potenziali bioelettrici sia sul torace sia sullo scalpo immersi in un mezzo dielettrico conduttore come l'acqua che viene ad essere ancor più conduttrice se acqua marina ricca di NaCl.

Le registrazioni di ECG sul torace immerso in acqua hanno richiesto elettrodi stagni, ricoperti da una superficie impermeabile, di per sé ingombrante, ma fattibile, poiché gli elettrodi sono posti a distanza di più di un centimetro, inoltre i

potenziali di registrazione dell'ECG sono dell'ordine di millivolt, per cui i cavi di collegamento con gli apparati di registrazione non creano particolari problemi se ben collegati agli indumenti protettivi (muta) del subacqueo.

Queste particolarità hanno permesso lo sviluppo di un sistema di registrazione ECG in acqua sia per soggetti senza la protezione di particolari indumenti protettivi, sia per soggetti con indumenti protettivi. È da considerare che gli indumenti protettivi, generalmente, permettono il passaggio di acqua fra il corpo e la superficie interna della muta, acqua che non circola e quindi non raffredda il corpo, ma è pur sempre, un mezzo conduttore.

In generale per l'ECG sono sufficienti elettrodi stagni collegati ad un apparato di registrazione contenuto in un contenitore impermeabile, fermato o alla muta oppure alla cintura o alle spalle del subacqueo.

La registrazione in acqua dell'EEG non è così immediata come per l'ECG; infatti, gli elettrodi di registrazione EEG sono estremamente vicini e, anche se si ricoprono di vernice isolante, l'acqua scorre sullo scalpo collegandoli elettricamente e rendendo così impossibile registrare.

Per questa ragione, sino a ora, le registrazioni EEG si sono svolte in camera iperbarica. La camera iperbarica è un cilindro d'acciaio in cui si può far variare sia la

pressione ambientale sia la miscela respiratoria, per cui, nelle registrazioni si sono potuti studiare solo gli eventuali cambiamenti provocati dalle variazioni di pressione ambientale e dalle miscele respiratorie e, non si è potuto eseguire alcuno studio nel “vero” ambiente subacqueo in cui lavorano gli operatori.

Anche le registrazioni EEG in camera iperbarica hanno molti problemi. La camera iperbarica è, in pratica, una gabbia di Faraday che scherma i segnali sia in ingresso sia in uscita, quindi, per eseguire una registrazione è necessario condurre i segnali al di fuori della camera. Si possono condurre i segnali all'esterno con un passaggio a scafo, cioè con una presa che abbia lo stesso numero di ingressi sia in entrata sia in uscita. In questa presa, i collegamenti fra entrata ed uscita sono immersi in una sostanza resinosa solida, resistente alla pressione; la presa, poi, inserita nella parete della camera, consente l'uscita dei segnali che vengono registrati su di una apparecchiatura esterna; ciò è necessario perché le apparecchiature di registrazione, alimentate a corrente alternata, non possono essere introdotte nella camera iperbarica per pericolo di incendio. Esiste, poi, il problema della lunghezza dei cavi di trasmissione. I cavi debbono avere una lunghezza minima, altrimenti con il loro movimento provocano correnti parassite che interferiscono con i segnali EEG.

Con l'introduzione di apparecchi di registrazione con estesa capacità di memoria si è sviluppata la tecnica Holter. Un registratore alimentato a batterie consente di seguire per molte ore segnali elettroencefalografici; il registratore, alimentato a corrente continua di basso voltaggio, può essere introdotto in camera iperbarica. Questa soluzione permette di minimizzare la lunghezza dei cavi e consente una registrazione in differita da esaminare dopo l'apertura della camera.

L'inconveniente della tecnologia Holter di non poter vedere una registrazione in tempo reale è stato superato dall'impiego della tecnologia “Bluetooth®” che trasmette i segnali senza bisogno di cavi. Dalla camera iperbarica, nonostante questa sia una gabbia di Faraday, che impedisce il passaggio dei segnali all'esterno, questi sono trasmessi all'ambiente esterno attraverso gli oblò costituiti da materiale plastico resistente alla pressione. I segnali EEG, amplificati e trasmessi all'esterno con tecnologia Bluetooth®, sono registrati su apparati al di fuori della camera, ciò consente una ottima registrazione minimizzando i cavi e le conseguenti correnti parassite.

I segnali EEG ed ECG, registrati in camera, sono di ottima qualità, poiché lo spazio in cui si lavora è artificiale e non rispecchia le reali situazioni lavorative in ambiente “umido”.

Non sono, infatti, considerati fattori come l'isolamento, la temperatura, la consapevolezza di trovarsi in un ambiente “ostile” dove è richiesto uno stato di allerta continuo per poter fronteggiare situazioni improvvise e pericolose e, dove, la sopravvivenza è legata al corretto funzionamento di un congegno meccanico: l'autorespiratore. Si può, così, facilmente dedurre che gli studi, finora condotti sono parziali e non rispecchiano la realtà operativa.

Per questa ragione si è voluto procedere cercando di utilizzare la tecnologia disponibile. Innanzi tutto è da considerare che l'EEG deve essere registrato solo in un ambiente “secco” dove l'aria permette un isolamento ottimale fra i punti di registrazione. Si è pensato ad un casco impermeabile, costruito in vetroresina, dove, con un opportuno sistema di valvole, scorra, in continuo, un flusso d'aria che renda lo spazio di registrazione “secco” e non umido. Si è utilizzata nello stesso casco la tecnica Holter, che permette di avere una registrazione continua dei segnali che

possono essere esaminati in differita alla fine del lavoro subacqueo. Questo ha portato ad affrontare la soluzione di vari problemi: il casco deve essere scomponibile in due parti per permettere una messa a punto degli elettrodi prima della registrazione (posizionamento corretto, misura della loro resistenza). Il posizionamento corretto può in parte essere risolto ponendo, sempre nella stessa posizione, gli elettrodi in una cuffia precablata da far, poi, indossare all'operatore. Questo posizionamento preconstituito ha anche il vantaggio di rendere comparabili registrazioni di diversi operatori, perché eseguite con la stessa modalità. Nei primi modelli di casco si è adoperata una apparecchiatura Holter costruita per operare in ambienti clinici, quindi ingombrante, nei futuri modelli si può ovviare a questo inconveniente, avendo a disposizione una apparecchiatura costruita ad hoc. Il casco in questione, simile ad un casco da motociclista, è realizzato in maniera da poter avere il viso libero, anche se protetto da occhiali, in modo da poter utilizzare un comune respiratore fornito di boccaglio; può, così, essere utilizzato da varie categorie di operatori subacquei sia militari che civili, che operano con finalità diverse ma adoperano sempre un respiratore ubicato a livello del viso.

Si è pensato di poter utilizzare la stessa tecnica (cuffia precablata, Holter EEG con tecnologia Bluetooth®) in un casco da palombaro leggero (casco Kirby Morgan) dove normalmente circola aria o una miscela

respiratoria secca. Ciò ha portato ad affrontare alcuni problemi: riduzione della cuffia senza gli elettrodi frontali, cosa già necessaria anche nel casco precedentemente descritto, adeguamento dell'apparecchiatura Holter Bluetooth® al nuovo casco. Il casco Kirby Morgan può essere collegato a una muta che ha un cordone ombelicale, dove passano i tubi per il rifornimento della miscela respiratoria e, potrebbe in futuro, permettere di avere una registrazione EEG in linea e non in differita come si è realizzato sino ad ora.

BIBLIOGRAFIA ESSENZIALE

Pastena L, Formaggio E, Faralli F, et al. Bluetooth Communication Interface for EEG Signal Recording in Hyperbaric Chambers. IEEE Trans Neural Syst Rehabil Eng 2015; 23: 538-47.

Pastena L, Formaggio E, Storti SF, et al. Tracking EEG changes during the exposure to hyperbaric oxygen. Neurophysiol 2015; 126: 339-47.

Prof. Lucio Pastena, Dipartimento di Scienze Neurologiche, "Sapienza" Università di Roma

Dott.ssa Valentina Del Nero, Servizio Sanitario COMSUBIN, La Spezia

Per la corrispondenza:
lucio.pastena@gmail.com

Un casco subacqueo per la registrazione di segnali biologici (EEG/ECG)

L. Ricciardi

La Fisiologia subacnea ha preso in esame nel tempo un gran numero di variabili connesse all'esposizione dell'uomo all'ambiente acqua: dai problemi più pratici e tecnici – fornitura di aria respirabile, resistenza alla pressione, mute stagne, rapporto profondità/durata dell'immersione eccetera – fino a quelli clinici, strettamente legati alla fisica ambientale, alla cinetica dei gas respiratori, ai possibili danni ai principali organi, in particolare l'encefalo.

A partire dalla seconda metà degli anni '70 la Marina Militare ha intrapreso lo studio delle problematiche neuro-cognitive collegate all'immersione subacnea in maniera approfondita. La Sezione di Fisiologia subacnea dell'Ufficio Studi del Raggruppamento Subacquei e Incursori della Marina (COMSUBIN) ha iniziato pertanto a organizzare ricerche volte a definire tali problematiche, prima di tutto in funzione della tipologia dell'immersione; l'immersione con autorespiratore a ossigeno (ARO), tipica dell'Incursore, porta con sé il rischio degli effetti tossici dell'ossigeno iperbarico, quelli dell'ipossia e dell'ipercapnia; l'immersione ad aria, sia con appoggio di superficie (Palombaro), sia libera con autorespiratore ad aria (ARA), annovera, oltre che i problemi precedenti, soprattutto il rischio della malattia da decompressione (MDD) e della narcosi da gas inerte, conseguenti il comportamento dell'azoto.

Molto concisamente, ricordiamo che la tossicità dell'ossigeno iperbarico si manifesta a livello polmonare (effetto Lorrain Smith) e cerebrale (effetto Paul Bert) e può instaurarsi sia respirando ossigeno puro, sia aria compressa o miscele, per vari motivi. Mentre gli effetti polmonari si manifestano con tempi di esposizione più lunghi, l'ossigeno iperbarico è tossico in tempi brevi sul cervello

e la variabilità interindividuale della risposta a questo effetto si può giustificare sulla base dell'entità di ritenzione di anidride carbonica (abbastanza frequente negli operatori subacquei e dipendente anche dal carico di lavoro), il cui effetto vasodilatatorio sul circolo cerebrale facilita l'aggressività dell'ossigeno sul tessuto (Fig. 1).

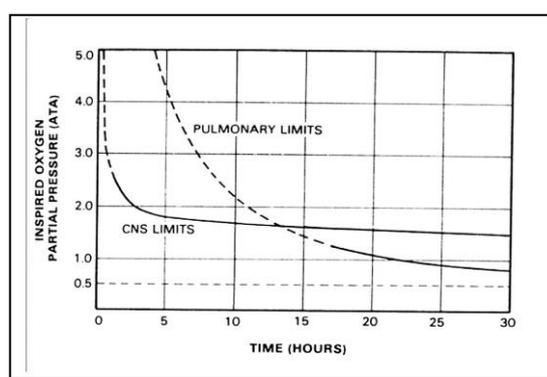


Fig. 1: Curva di tolleranza all'ossigeno iperbarico: proporzionalità inversa fra tempo di esposizione e pressione parziale di ossigeno nel sangue.

Il limite fisiologico della respirazione di ossigeno iperbarico si situa a 1,6 bar, rispetto agli 0,21 bar cui siamo abituati nel nostro normale ambiente aereo. Al di sopra di 1,6 bar gli effetti e i sintomi prodromici sono molteplici:

- pallore
- sudorazione
- bradicardia
- tachicardia
- sonnolenza
- depressione
- euforia
- visione a tunnel
- scotomi scintillanti
- allucinazioni uditive, gustative, olfattive

- dispnea
- nausea, vomito
- vertigini
- fascicolazioni
- apprensione

Fra questi, l'euforia può essere letale perché compromette le capacità critica e decisionale in immersione.

Da ultimo può scatenarsi una crisi iperossica, come può avvenire anche durante sedute di ricompressione/decompressione o ossigeno-terapia iperbarica (OTI), con le classiche fasi tonica, clonica e di depressione post-critica.

Fra i sintomi della narcosi da azoto, conseguenti alla respirazione di azoto iperbarico, vi sono alcuni, quali la capacità mentale rallentata e la perdita della memoria a breve termine, in parte simili a quelli dell'iperossia.

Gli studi al riguardo hanno avuto inizio a COMSUBIN verso la fine degli anni '70, inizio anni '80. Essi hanno focalizzato l'attenzione sulle possibili anomalie elettroencefalografiche (EEG) conseguenti alla respirazione di ossigeno iperbarico e sulle eventuali modificazioni di potenziali evocati cognitivi, con l'obiettivo di comprendere gli effetti dannosi dell'ossigeno sulla corteccia e la circolazione cerebrale, ai fini di migliorare la sicurezza delle immersioni e di prevenire il più possibile incidenti subacquei.

Come si conviene, lo studio, articolatosi negli anni in due grandi fasi principali, si è fondato su studi di tipo simulativo (a secco in aria ambientale, a secco con immersioni in camera iperbarica a varie quote) e "sul campo",

ovvero in immersione vera e propria. A questo proposito vale la pena ricordare che, negli anni '80, è stata eseguita un'immersione a secco in saturazione, nell'impianto di Nave Anteo, a 250 m di profondità, con registrazione dei tracciati EEG e dei potenziali evocati.

Per arrivare a questo stadio si è pensato di costruire un casco subacqueo che potesse sostituire il normale cappuccio di neoprene o l'elmo da palombaro e, contemporaneamente, fosse resistente e sagomato per poter contenere la cuffia di registrazione e il registratore Holter miniaturizzato, strumenti necessari per registrare e memorizzare (e/o trasmettere) il segnale EEG.

Anche per il casco si è passati attraverso lunghe fasi sperimentali, a tutt'oggi non ancora pienamente concluse. Esteticamente l'evoluzione di questo strumento ha mantenuto l'aspetto di elmo romano con cimiero, ora di dimensioni più contenute; i nuovi materiali hanno permesso di rendere il casco più leggero e maneggevole, e le nuove tecnologie Holter e Bluetooth® consentono di produrre ottimi tracciati EEG e, nelle immersioni in camera, di trasmettere i dati in tempo reale a un PC (Fig. 2, 3). Il circuito elettrico permette anche di registrare l'elettrocardiogramma (ECG) e, al bisogno, ha alcuni canali liberi per altre variabili quali lo spiogramma, la saturazione arteriosa dell'ossigeno, la temperatura corporea.

Anche le cuffie di registrazione sono state modificate col tempo, fino a contenere un numero minimo di elettrodi, necessario e sufficiente a ottenere un tracciato di buona qualità e con il minimo di artefatti (Fig. 4).

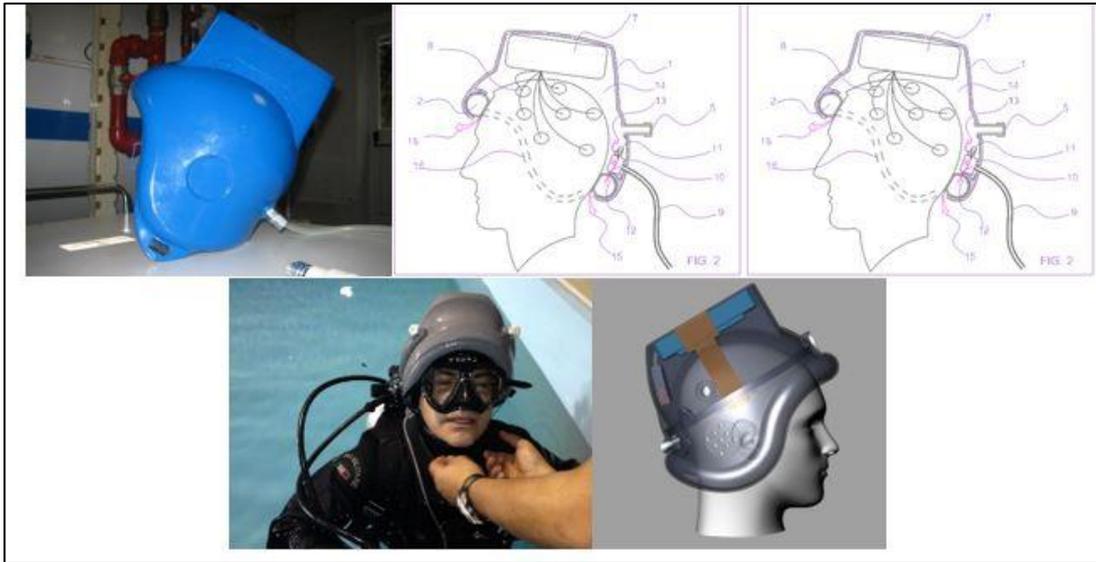


Fig. 2: Casco per registrazioni EEG/ECG subacquee. In azzurro modello XX secolo; in grigio XXI secolo.

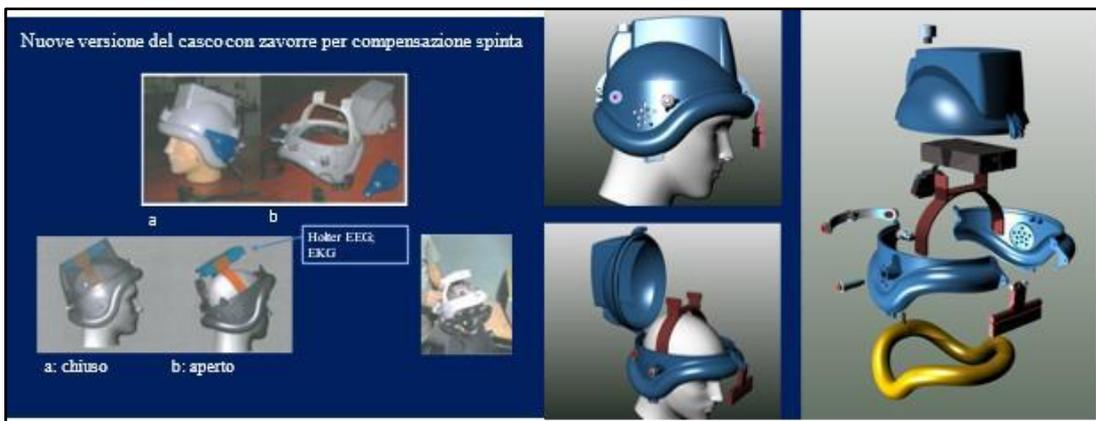


Fig. 3: Il casco nella sua ultima versione, scomponibile.



Fig. 4: A sinistra una cuffia di vecchia generazione; a destra una di ultima generazione.

I dispositivi di tenuta stagna e le valvole di equilibratura fra pressione interna ed esterna sono coperti da brevetto.

Nell'ultima fase di perfezionamento, al casco è stato aggiunto un piccolo visore a LED, per lo studio dei potenziali evocati visivi (Fig. 5). La sequenza di presentazione delle luci, alcune singole, altre doppie, va memorizzata dall'operatore sottoposto alla prova e riferita, in seguito, allo sperimentatore. Eventuali errori nella memorizzazione delle sequenze possono essere ascritti a una influenza dei gas respiratori – ossigeno o azoto – sui circuiti cerebrali, che vengono contemporaneamente studiati tramite un programma di amplificazione del segnale EEG, che mette in luce i potenziali evocati visivi.



Fig. 5: Il visore, qui senza casco, posizionato davanti agli occhi e sollevabile (v. Fig. 3).

Tutte le registrazioni subacquee possono essere studiate off-line al rientro del soggetto esaminato.

Il casco ha dimostrato un'ottima tenuta a profondità fino a 50 m (6 ATA).

BIBLIOGRAFIA ESSENZIALE

Pastena L, Formaggio E, Storti SF, et al. Tracking EEG changes during the exposure to hyperbaric oxygen. *Neurophysiol* 2015; 126: 339-47.

Pastena L, Gagliardi R, Faralli F, Mainardi G. EEG patterns associated with nitrogen narcosis (breathing air at 9 ATA). *Aviat Space Environ Med* 2005; 76: 1031-6.

Pastena L, Mainardi G, Faralli F, Gagliardi R. Analysis of cerebral bioelectrical activity during the compression phase of a saturation dive. *Aviat Space Environ Med* 1999; 70(3 Pt 1): 270-6.

Prof. Lucio Ricciardi, Università di Pavia

Per la corrispondenza:
lucio.ricciardi@unipv.it

La registrazione dell'EEG con casco Passor

M. Melucci

Nelle sperimentazioni svolte in camera iperbarica, il fattore cuffia se pur importante non rappresentava un grosso problema, gli operatori venivano preventivamente addestrati affinché durante le saturazioni operassero il posizionamento della cuffia ed intervenissero su ogni singolo elettrodo qualora fosse necessario per stabilizzare il segnale.

Per fare questo con una certa facilità gli elettrodi delle cuffie furono marcati scrivendo sulla cuffia il nome di ogni singolo elettrodo; in questo modo lo staff tecnico che si trovava all'esterno e che avviava e controllava la registrazione poteva suggerire gli aggiustamenti necessari all'operatore deputato al montaggio cuffia (Fig. 1).

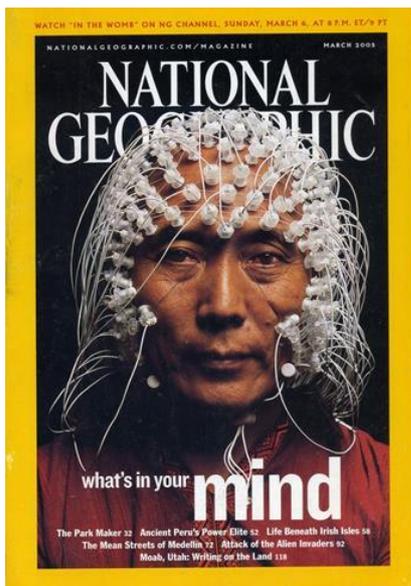


Fig. 1: Esempio di cuffia precablata ad elettrodi multipli (da National Geographic).

Nella prima progettazione del casco Passor tutte le energie furono impiegate per risolvere il grosso problema della impermeabilità prima e della resistenza alla pressione poi.

Furono effettuate numerose prove volte a garantire la resistenza ad alte pressioni, fu perfino effettuato uno stress test in mare in cui si fece esplodere la guarnizione aumentandone il quantitativo di aria proveniente dalle bombole.

Il test permise anche di testare un aspetto legato alla sicurezza del subacqueo, visto che l'esplosione della guarnizione non fece alcun danno all'operatore che dovette solo riemergere (Fig. 2, 3).

Risolti questi due determinanti problemi, impermeabilità e resistenza alla pressione, senza la cui soluzione sarebbe stato impossibile procedere, il gruppo di lavoro alle prese con le prime prove di registrazione si trovò dinanzi ad un ulteriore problema, ma che questa volta riguardava la cuffia ed i suoi elettrodi.

Come si può vedere dalle immagini il primo prototipo di casco Passor era costituito da un solo manufatto che veniva calzato dall'operatore dopo che la cuffia era stata correttamente posizionata e tutti i controlli sulle impedenze degli elettrodi erano stati fatti (Fig. 4).



Fig. 2: Implosione della guarnizione del casco Passor.



Fig. 3: Risalita senza alcuna conseguenza dell'operatore in superficie.



Fig. 4: Casco Passor.

La calzata del casco di per sé non è cosa agevole e la presenza della cuffia con rispettivi elettrodi contribuiva a rendere complicata questa manovra, ma ciò che pose

i ricercatori di fronte ad un nuovo problema fu l'impossibilità di poter intervenire sulla cuffia e su ogni singolo elettrodo una volta calzato il casco.

Rendere il casco inaccessibile all'acqua e ad ogni altro agente era una qualità che si ritorceva contro il suo corretto utilizzo.

I primi tracciati presentavano oltre agli inevitabili artefatti dovuti ai movimenti muscolari, che il palombaro faceva, artefatti dovuti allo spostamento di qualche elettrodo durante la calzata del casco. Di questi secondi artefatti si veniva a conoscenza solo a termine registrazione e spesso la loro massiccia presenza vanificava tutto il lavoro rendendo il tracciato illeggibile (Fig. 5).

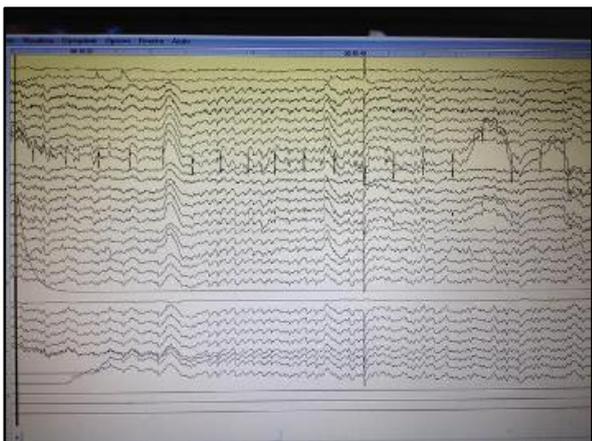


Fig. 5: Tracciato EEG ricco di artefatti.

Si ricorda che l'esame elettroencefalografico, non è altro che la misurazione, attraverso l'applicazione di un certo numero di elettrodi, dell'attività elettrica del cervello che a sua volta è la somma dell'attività elettrica di ogni singolo neurone.

Essendo il voltaggio di questa attività elettrica molto piccolo, il segnale deve essere amplificato di un milione di volte per essere misurato e registrato. Ad essere amplificati sono anche gli artefatti che se presenti in grosse quantità possono rendere illeggibile il tracciato.

La problematica in questione rendeva di fatto inutilizzabile il casco così come era. Per ovviare a questa problematica si decise di riprogettare il casco confermando tutto il sistema di valvole, ma dividendolo in due parti che ne avrebbero permesso l'apertura (Fig. 6).

La possibilità di poter accedere agli elettrodi una volta indossato il casco ha permesso di perfezionare l'abbattimento delle resistenze di ogni singolo elettrodo anche dopo aver avviato la registrazione e di poter visualizzare in tempo reale la parte iniziale della registrazione.

Solo quando sulla stazione di registrazione collegata si vede una traccia leggibile e pulita la parte superiore del casco viene posizionata e assicurata ermeticamente alla parte inferiore già calzata, in questo modo si riducono di molto le possibilità che qualche elettrodo si mal posizioni dopo aver indossato il casco.



Fig. 6: Casco Passor costruito in due porzioni.

BIBLIOGRAFIA ESSENZIALE

Pastena L, Formaggio E, Faralli F, et al. Bluetooth Communication Interface for EEG Signal Recording in Hyperbaric Chambers. *IEEE Trans Neural Syst Rehabil Eng* 2015; 23: 538-47.

Pastena L, Formaggio E, Storti SF, et al. Tracking EEG changes during the exposure to hyperbaric oxygen. *Neurophysiol* 2015; 126: 339-47.

Dott. Massimo Melucci, Servizio Sanitario Comsubin, La Spezia

Per la corrispondenza:
massimo.melucci@me.com

La registrazione di EEG nel casco da palombaro leggero

F. Faralli

La necessità di registrare segnali bioelettrici in ambienti straordinari quale quello subacqueo ha costretto la ricerca a trovare modalità di adattamento ad attrezzature e sistemi di immersione utilizzati sia in ambito ricreativo che in ambito professionale. È dato acquisito il fatto che la miscela di gas respiratori influenzi l'attività elettrica cerebrale, molto spesso in modo non prevedibile; ciò maggiormente in situazioni d'iperbarismo. L'attività d'immersione, sia essa condotta "a secco" in camera iperbarica sia essa condotta in ambiente acquatico, presenta, anche sul piano tecnico, significative difficoltà d'indagine.

L'attività subacquea professionale è caratterizzata dall'impiego di attrezzature che permettono il continuo collegamento dell'operatore con la superficie fornendogli comunicazioni, miscele respiratorie, riscaldamento e illuminazione.

In particolare è da segnalare l'attrezzatura denominata "palombaro leggero".

Il vestito da palombaro, che più si conosce, è costituito da una tuta gommata impermeabile all'acqua (scafandro), un elmo in rame, scarponi zavorrati per camminare sul fondo; l'elmo riceve aria da un tubo di gomma collegato a una pompa ad aria situata in superficie. È questa un'attrezzatura molto pesante che permette scarsa mobilità all'operatore.

Il palombaro leggero ha una muta che isola l'operatore dall'ambiente, lasciando libere solo le mani; la muta è collegata tramite un collare stagno ad un casco, con un grande visore in policarbonato. Collegati al casco sono posti un erogatore, un modulo per telecomunicazioni e valvole per eliminare la condensa dell'aria inspirata. La muta è collegata alla superficie con un ombelicale per

il rifornimento dell'aria in cui vi è anche il cavo per le telecomunicazioni; sulle spalle dell'operatore si pone una bombola per sopperire ad eventuali situazioni di emergenza.

In generale si usa il palombaro leggero, che è dotato di grande mobilità, per lavori sino a profondità di 50\60 mt.

Volendo registrare i segnali elettroencefalografici durante le immersioni, è necessario adattare il sistema di rilevazione al particolare casco che viene utilizzato.

In generale si usa il Casco subacqueo Kirby Morgan (il modello in uso è il KM-37 500-051). Il casco è costituito da due unità: il cofano, che copre la testa del subacqueo, e la corazza che sostiene il peso del casco sulle spalle del subacqueo. Il cofano viene fissato e sigillato alla corazza ed al collo in modo da creare una tenuta stagna.

Il casco è provvisto di un modulo di comunicazione a scambio rapido e di un erogatore bilanciato ad elevate prestazioni che fornisce un flusso di gas respiratorio agevolato durante le attività più intense.

L'interno del casco è stato appositamente modificato al fine di consentire l'inserimento della cuffia EEG sulla quale sono posizionati gli elettrodi che consentono di acquisire i segnali elettroencefalografici prima, dopo e durante l'immersione. I segnali vengono registrati su un apparato Holter racchiuso in una custodia impermeabile posta sulle spalle dell'operatore. La custodia è posta sotto la muta per evitare contatti umidi.

L'adattamento del registratore Holter EEG al casco permette di avere dati unici sulla attività cerebrale in immersione, con notevoli ricadute in termini di prevenzione e sicurezza.

Il casco offre al subacqueo una vestibilità comoda e sicura per lunghi periodi di tempo, anche quando si agisce in posizione rivolta verso il basso.

Una attrezzatura di questo tipo, se collegata a un impianto iperbarico, consente di lavorare anche a grandi profondità, respirando oltre che aria anche miscele gassose sintetiche quali il trimix (elio-azoto-ossigeno) e l'Heliox (elio-ossigeno).

Per l'acquisizione dei segnali elettroencefalografici si è utilizzata una cuffia con elettrodi cilindrici Ag-AgCl da montarsi con pasta EEG. Sopra di essa si è posizionata una sovracuffia in modo tale da limitare il movimento degli elettrodi durante le operazioni di fissazione del casco alla muta e durante la successiva registrazione.

Si è utilizzata una cuffia con montaggio 10-20 privata degli elettrodi frontali che avrebbero interferito con l'interno del casco.

I tracciati registrati durante i protocolli di immersione hanno presentato pochi artefatti, concentrati soprattutto sui canali occipitali.

Dal punto di vista strettamente tecnico la procedura di registrazione elettroencefalografica in acqua risulta abbastanza complessa e richiede diverso tempo per essere ultimata. Infatti spesso le condizioni ambientali possono presentarsi poco ottimali, per la presenza di correnti parassite che interferiscono con la registrazione dei segnali elettrici cerebrali.

La registrazione dei segnali EEG, anche se offline, permette di verificare le modificazioni dei livelli di coscienza dell'operatore durante le immersioni e individuare le attività EEG che possono precedere un'alterazione di stato di coscienza, si ottimizzano così le condizioni di lavoro, eliminando situazioni di pericolo e si migliorano gli strumenti e le procedure di intervento.

BIBLIOGRAFIA ESSENZIALE

Costi A, Ricci FMF, Labbate P, Del Nero V, Meloni G. Rilevazioni di segnali biologici in mare con

casco Kirby Morgan attraverso registrazioni elettroencefalografiche nell'ambito del progetto di ricerca "Iperbarismo e stati alterati di coscienza: il modello della narcosi da azoto". Valutazione preliminare. *Giornale di Medicina Militare* 2021; In Press.

Di Piero V, Cappagli M, Pastena L, et al. Cerebral effects of hyperbaric oxygen breathing: a CBF spect study on professional divers. *Eur J Neurol* 2002; 9: 419-21.

Pastena L, Caraceni A, Gagliardi R, et al. Cognitive potentials (P300) during the breathing of oxygen. 5th European Congress of Clinical Neurophysiology. *Neurophysiol Clin* 1990; 20: Suppl. 1s-99s.

Pastena L, Formaggio E, Storti SF, et al. Bluetooth Communication interface for EEG Signal Recording in Hyperbaric Chambers. *IEEE Trans Neural Syst Rehabil Eng* 2015; 23: 538-47.

Pastena L, Formaggio E, Storti SF, et al. Tracking EEG changes during the exposure to hyperbaric oxygen. *Neurophysiol* 2015; 126: 339-47.

Pastena L, Gagliardi R, Faralli F, Mainardi G. EEG patterns associated with nitrogen narcosis (breathing air at 9 ATA). *Aviat Space Environ Med* 2005; 76:1031-6.

Pastena L, Gagliardi R, Maroni W, et al. Considerazioni su un caso di iperossia documentata con EEG". *Atti del IX Congresso SIMSI. Lericì (SP)* 1990.

Pastena L, Gagliardi R, Maroni W, et al. Nuove metodologie di rilevamento di dati elettrofisiologici in medicina subacquea e iperbarica. *Atti del IX Congresso SIMSI. Lericì (SP)* 1990.

Storti SF, Formaggio E, Melucci M, et al. Alterations of source and connectivity EEG patterns under simulated deep-sea condition. *Proceedings International Symposium on Biomedical Imaging* 2015; 2015: 339-42.

Storti SF, Formaggio E, Pastena L, et al. Expertise-related global efficiency of functional brain networks in professional and new divers under simulated deep-water. *IEEE Trans Neural Syst Rehabil Eng* 2015 Jan 24.

Dott. Fabio Faralli, Servizio Sanitario Comsubin, La Spezia

Per la corrispondenza:

fabio.faralli1958@gmail.com

Simposio

02 marzo 2021

Patologie pancreatiche 'meno frequenti' di interesse chirurgico

Moderatori: Eugenio Santoro, Giuseppe Maria Ettore

Il trattamento dei Tumori NeuroEndocrini del Pancreas

M. Carlini, D. Spoletini, S. Iacovitti, F. Passafiume, R. Marcellinaro, R. Menditto

I Tumori NeuroEndocrini del Pancreas (P-NETs) sono abbastanza rari se confrontati ai più frequenti tumori esocri, ma la loro incidenza appare in aumento ponendo prima o poi il chirurgo oncologo di fronte al difficile trattamento, chirurgico e non, di questa patologia.

Scopo di questa trattazione è fornire una conoscenza sintetica precisa dei principi per una corretta gestione dei pazienti affetti da P-NETs, sulla base delle conoscenze più aggiornate e attuali dei vari aspetti della malattia, sia da un punto di vista teorico che pratico.

I P-NETs hanno origine dalle insule di Langherans. Sebbene possano essere simili o identici nell'aspetto istologico ai NETs del tratto gastrointestinale, le differenze biologiche e le probabili differenze nella risposta agli agenti terapeutici indicano che dovrebbero essere trattati e studiati come un'entità distinta. La maggior parte dei P-NETs è sporadica, ma alcuni si verificano come parte della neoplasia endocrina multipla di tipo 1 (MEN-1).

I tumori delle insule possono essere funzionanti o non funzionanti. Più del 70% dei tumori sporadici non è funzionante (NF P-NETs) e la diagnosi è correlata all'effetto massa del tumore stesso, in genere caratterizzata da dolore, nausea o sanguinamento. I tumori neuroendocrini del pancreas sono elencati in Tab. 1. Tra i tumori neuroendocrini del pancreas Gastrinoma e Insulinoma sono i due tumori funzionanti più frequenti e rappresentano il 15-20% di tutti i P-NETs, mentre gli altri sono estremamente rari (Tab. 1). Tutti i F P-NETs producono una sindrome correlata agli ormoni circolanti.

Da un punto di vista istologico di solito sono tumori ben differenziati (G1 e G2), composti da cellule molto simili alla loro controparte normale e caratterizzati da atipie cellulari da lievi a moderate, con un pattern di crescita solido, giriforme, trabecolare o ghiandolare. I Carcinomi NeuroEndocrini (NECs) sono piuttosto rari, a volte associati a sindromi da secrezione ormonale e prognosticamente assai sfavorevoli.

P-NETs non funzionanti (70% dei casi)

P-NETs funzionanti (30% dei casi)

- Gastrinoma: eccessiva produzione di gastrina - S. di Zollinger-Ellison
- Insulinoma: eccessiva produzione di insulina - S. ipoglicemica
- Glucagonoma: eccessiva produzione di glucagone - S. da glucagonoma
- VIPoma: eccessiva produzione di Peptide Intestinale Vasoattivo (VIP) - diarrea acquosa, ipokaliemia. S. da acloridria
- Somatostatinoma: eccessiva produzione di somatostatina

P-NETs funzionanti estremamente rari (rari casi riportati)

- CRHoma: eccessiva produzione di corticotropo-RH
- Calcitoninoma: eccessiva produzione di calcitonina
- GHRHoma: eccessiva produzione di GH-RH
- ACTHoma: eccessiva produzione di ormone adrenocorticotropo
- GRFoma: eccessiva produzione di GH-RF
- Tumore secernente polipeptide correlato all'ormone paratiroideo

Tab. 1: I Tumori NeuroEndocrini del Pancreas.

Il trattamento chirurgico

L'approccio chirurgico ai P-NETs è spesso impegnativo¹. L'intervento chirurgico deve essere preso in considerazione solo dopo un adeguato studio radiologico, funzionale, clinico e patologico. Lo studio preoperatorio dei P-NETs Funzionanti e Non-Funzionanti deve basarsi su esami biochimici (secrezione di ormoni e dosaggio della Cromogranina A), diagnostica per immagini non funzionale (Ecografia, Ecoendoscopia, TC, RM) e funzionale (Scintigrafie, PET) per stadiare la patologia². Di recente alcuni autori hanno suggerito la possibilità di eseguire PET/TC con analoghi della somatostatina marcati con ⁶⁸Ga (SSAs) come indagini di primo livello per lo studio dei P-NETs, ad eccezione degli insulinomi, per i quali questa metodica ha mostrato una bassa sensibilità (25%)^{2,3}.

Il trattamento chirurgico dei P-NETs funzionanti

Sindrome di Zollinger-Ellison (ZES)

L'obiettivo del trattamento chirurgico dei gastrinomi pancreatici è duplice: controllare i sintomi legati all'ipersecrezione ormonale e trattare l'aspetto oncologico della malattia.

Una volta confermata la presenza di un gastrinoma pancreatico sporadico, dovrebbe

essere eseguita una resezione pancreatica tipica (DCP) con linfoadenectomia regionale, in un centro ad alto volume e con competenze chirurgiche specifiche². L'estensione della linfoadenectomia è ancora oggetto di dibattito, ma le recenti linee guida suggeriscono che l'asportazione sistematica dei linfonodi della regione peritumorale dovrebbe essere parte integrante di tutti i trattamenti chirurgici dei gastrinomi^{2, 4, 5}. Nelle MEN1/ZES il trattamento chirurgico è ancora controverso a causa della tendenza alla multifocalità della malattia e dell'alto tasso di recidive.

L'enucleazione chirurgica è generalmente raccomandata solo per lesioni > 2 cm e/o tumori che crescono e metastatizzano durante il follow-up. Le resezioni chirurgiche estese dovrebbero essere indicate solo in casi selezionati (ad es. gastrinomi duodenali multipli con metastasi linfonodali), in virtù dei maggiori tassi di complicanze^{1,2}.

I gastrinomi di dimensioni ≤ 2 cm hanno un'ottima prognosi a lungo termine con tassi di sopravvivenza a 5 anni intorno al 100%, pertanto per queste lesioni è consigliato un trattamento conservativo^{2,6}.

Insulinomi

Il trattamento chirurgico determina un alto tasso di guarigione. Nei casi sporadici e nella MEN1 (25%) l'enucleazione laparoscopica è il gold standard^{2, 7, 8}. Lo studio preoperatorio dovrebbe includere la TC o la RM, l'ecoendoscopia (EUS) e l'ecografia intraoperatoria (IOUS) al fine di misurare la distanza tra il tumore e il dotto pancreatico principale (MPD), in modo da ridurre il rischio di una eventuale lesione intraoperatoria e per stabilire la migliore strategia chirurgica di resezione con risparmio di parenchima⁹. Una distanza di almeno 3 mm tra il tumore e il MPD è considerata sufficiente per eseguire l'enucleazione in sicurezza¹⁰. Per evitare la lesione del dotto principale e ridurre al minimo il rischio di una fistola pancreatica ad alta portata, è stata suggerita l'esecuzione di una Colangio-Pancreatografia Retrograda Endoscopica (CPRE) preoperatoria con posizionamento di uno stent da 5 Fr nel MPD¹¹. Qualora l'enucleazione non sia fattibile o il rischio di una lesione del MPD sia troppo alto, deve essere eseguita una resezione pancreatica tipica o una resezione con risparmio di parenchima².

Primitività sconosciuta

Quando non è possibile individuare il tumore primitivo (10-20% dei casi di gastrinomi e insulinomi), ma viene riscontrata una sindrome da ipersecrezione ormonale, l'obiettivo principale è la ricerca della lesione. In questi casi, la laparotomia esplorativa deve includere la manovra di Kocher, la dissezione del margine superiore e di quello inferiore del pancreas e la sua esplorazione manuale bi-digitale con l'aiuto della IOUS. Se anche questo approccio non consente l'identificazione della lesione, sono sconsigliate resezioni "alla cieca" e il paziente

va sottoposto ad un rigoroso follow-up e a terapia medica per il controllo dei sintomi¹.

Trattamento chirurgico dei P-NETs non funzionanti

La chirurgia dei NF P-NETs è limitata alle lesioni > 2 cm Ø e/o alle lesioni con caratteristiche biologiche-morfologiche di patologia aggressiva localizzata (G2 sec. WHO 2010¹², dilatazione del MPD e/o dei dotti biliari, ittero, segni radiologici di infiltrazione vascolare). Il trattamento chirurgico consiste in resezioni tipiche o atipiche a seconda della sede del tumore^{2, 13}:

- *resezioni tipiche*: i P-NETs della testa del pancreas vengono trattati con una duodenocefalopancreasectomia (DCP) mentre le lesioni del corpo/coda con una pancreasectomia distale laparoscopica (PD) con o senza splenectomia. Alcuni importanti studi hanno evidenziato che DCP e PD presentano un tasso di mortalità molto basso (3% e 0% rispettivamente), ma con una elevata incidenza di fistole pancreatiche postoperatorie (POPF) del 30% e del 19%, un tasso di emorragie perioperatorie del 20% e del 6% e l'insorgenza di diabete secondario nel 18% e nel 26% dei casi¹⁴⁻¹⁶. La linfoadenectomia dovrebbe essere eseguita routinariamente, ma l'entità della sua estensione rimane un argomento controverso^{5, 7}. La pancreasectomia totale (PT) con o senza splenectomia dovrebbe essere eseguita quando l'intera ghiandola è interessata dalla neoplasia, in presenza di lesioni multifocali (Fig. 1) o nei casi in cui il parenchima residuo non sia sufficiente a garantire una funzionalità adeguata¹³.

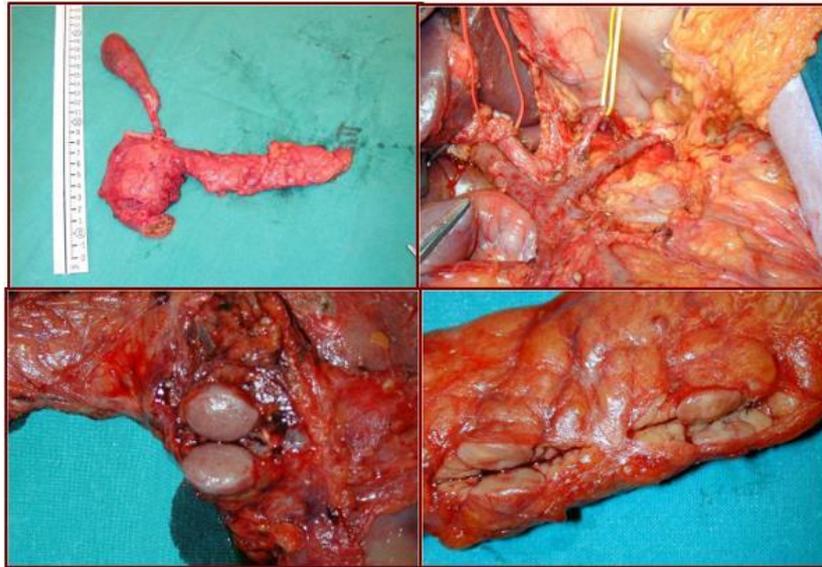


Fig. 1: Pancreasectomia totale per tumori neuroendocrini multipli.

- *resezioni atipiche*: queste resezioni sono state proposte per i P-NETs di piccole dimensioni (non c'è ancora accordo sulla dimensione di cut-off) e di grado basso o intermedio. Sebbene il rischio di malignità non possa essere completamente escluso, un cut-off di 2 cm può essere considerato sufficientemente sicuro. Per i tumori del corpo pancreatico generalmente viene eseguita una pancreatectomia centrale (Fig. 2),

mentre l'enucleazione deve essere presa in considerazione solo quando è possibile preservare il MPD in sicurezza. Le resezioni con risparmio di parenchima sono associate ad una minore incidenza di insufficienza pancreatica endocrina/esocrina se comparate alle resezioni standard, ma di contro determinano un'alta incidenza di fistole pancreatiche (50%)^{10, 13}. Il sampling linfonodale non è indicato⁵.

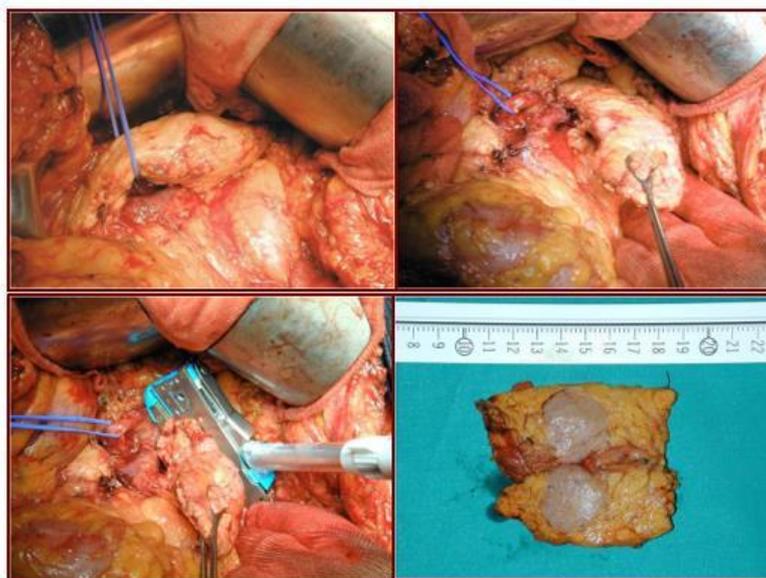


Fig. 2: Pancreasectomia centrale per tumore neuroendocrino singolo (insulinoma) a localizzazione profonda del corpo del pancreas, $\varnothing > 2$ cm.

Per i NF P-NETs associati a MEN1 di dimensioni < 2 cm, non è generalmente indicato il trattamento chirurgico², mentre quelli associati a lesioni > 2 cm vengono trattati come descritto in precedenza.

A causa della tendenza alla multifocalità dei P-NETs associati a MEN1, si raccomanda un'accurata ecografia intraoperatoria al fine di garantire un trattamento chirurgico adeguato, anche con un'eventuale pancreatectomia totale (PT)¹³. Nei pazienti giovani affetti da MEN1, dovrebbero essere favorite le resezioni con risparmio di parenchima in modo da ridurre l'incidenza di diabete.

I pazienti affetti da sindrome di Von Hippel-Lindau con P-NETs devono essere sottoposti a trattamento chirurgico quando si presentino le seguenti condizioni:

- (a) dimensione del tumore ≥ 3 cm;
- (b) mutazione dell'esone 3;
- (c) tempo di raddoppiamento del tumore ≤ 500 giorni¹⁸.

Trattamento conservativo dei P-NETs non funzionanti

Un approccio conservativo può essere adottato in sicurezza per lesioni piccole (<2 cm) e indolenti (G1)¹² in assenza di segni di malignità, soprattutto laddove il trattamento chirurgico consisterebbe in una resezione pancreatica maggiore². In questi pazienti il rischio di coinvolgimento linfonodale è intorno all'8-14%¹⁹.

Le indagini diagnostiche devono includere tecniche di imaging funzionali e non-funzionali²⁰⁻²². La caratterizzazione istologica dovrebbe basarsi, quando possibile, sull'endoscopia con biopsia.

La decisione di intraprendere un follow-up anziché un trattamento chirurgico dovrebbe essere presa collettivamente da un gruppo multidisciplinare e deve tenere in considerazione dati morfologici e biologici della malattia e del paziente (l'età, le comorbidità, il performance status, la sede

del tumore, le conseguenze di un eventuale intervento chirurgico, la volontà del paziente). In caso di trattamento conservativo, il follow-up deve comprendere una RMN dell'addome ed un'ecoendoscopia ogni 6-12 mesi¹³.

Trattamento chirurgico della malattia avanzata

P-NETs localmente avanzati

In casi selezionati di P-NETs localmente avanzati non resecabili (ad esempio nei tumori funzionanti non controllati come la sindrome da carcinoide, l'insulinoma refrattario, il glucagonoma, il VIPoma o tumori secernenti peptide correlato al PTH) può essere eseguito un intervento chirurgico di debulking.

Per i NF P-NETs localmente avanzati con stabilità di malattia negli ultimi 6 mesi, la resezione chirurgica potrebbe alleviare i sintomi legati all'effetto massa del tumore².

La radicalità chirurgica può essere raggiunta mediante una linfadenectomia estesa e, qualora si rendesse necessario, con resezioni multi-viscerali.

I criteri di non resecabilità sono rappresentati da: invasione circonfrenziale del sistema venoso portale con cavernoma portale (escluso il trombo neoplastico) e invasione circonfrenziale dell'arteria mesenterica superiore. L'infiltrazione del tronco celiaco non è una controindicazione assoluta al trattamento chirurgico di PD¹³.

La presenza di trombi venosi portali nei pazienti con P-NETs non è una condizione rara e non rappresenta una controindicazione alla chirurgia. Un recente studio ha definito come sicura e fattibile la rimozione del trombo in pazienti attentamente selezionati e seguendo specifiche precauzioni:

- (a) il trombo neoplastico deve essere mobile senza determinare *encasement* del vaso;

(b) se si rendessero necessarie resezioni di vasi supplementari e/o resezioni multi-viscerali dovrebbero essere eseguite prima della trombectomia;

(c) una strategia terapeutica multimodale (es. trattamento citoriduttivo) dovrebbe essere considerata prima dell'intervento chirurgico²³.

P-NETs con metastasi epatiche

In caso di metastasi epatiche, la resezione della lesione pancreatica primitiva sembrerebbe migliorare la prognosi, ma l'argomento è ancora molto dibattuto. In ogni caso la chirurgia di debulking è raccomandata solo per i P-NETs G1-G2^{24, 25}.

Approccio mini-invasivo

I P-NETs costituiscono una patologia ideale per la laparoscopia perché spesso sono piccoli e indolenti. L'approccio laparoscopico è considerato sicuro sia per le lesioni benigne che per quelle maligne ed è associato ad un minor tasso di complicanze e a una degenza ospedaliera più breve^{8, 25}.

Il trattamento medico

Il trattamento medico dei P-NETs G1-G2 avanzati si avvale di diverse opzioni terapeutiche. La scelta fra i diversi regimi chemioterapici, la terapia con radionuclidi del recettore peptidico (PRRT) o la terapia a bersaglio molecolare si basa sulle caratteristiche cliniche del paziente, sui caratteri biologici della malattia e sull'obiettivo terapeutico. Quando l'obiettivo è la citoriduzione, sia nel caso di malattia sintomatica che a scopo neoadiuvante, si preferiscono trattamenti con il più alto tasso di risposta obiettivabile, come la chemioterapia o, in casi selezionati, la PRRT. Fra tutti i NETs gastro-entero-pancreatici (GEP-NETs) quelli pancreatici presentano la chemiosensibilità più alta.

Quando invece l'obiettivo è la stabilizzazione della malattia, la somministrazione di un analogo della somatostatina (SSA) e le terapie a bersaglio

molecolare sono opzioni valide. Per i P-NETs G3 la chemioterapia rappresenta il trattamento terapeutico di prima linea.

Ruolo della Chemioterapia

I P-NETs mostrano una risposta da moderata a buona ad alcuni agenti antitumorali. La mono-chemioterapia ha un'attività limitata sui P-NETs: la dacarbazina (DTIC) ha mostrato un tasso di risposta (RR) del 26% con una sopravvivenza media libera da progressione (PFS) di 10 mesi²⁶; la streptozotocina (STZ) ha un RR che varia dal 21 al 36% con una PFS di 16.5-33 mesi²⁷; la clorozotocina determina una risposta parziale nel 30% con una PFS di 17 mesi²⁸. La Temozolomide, che è stata testata in una popolazione eterogenea di 36 pazienti con tumori neuroendocrini toraco-addominali, di cui solo 12 P-NETs, ha mostrato un RR globale dell'8% e una PFS non superiore ai 7 mesi²⁹.

In uno dei primi studi controllati randomizzati che confrontavano la mono- e la poli-chemioterapia, la streptozotocina (STZ) è stata confrontata con la combinazione di STZ e 5-fluorouracile (STZ/5-FU). Sia il RR (36% vs 63%) che la Overall Survival (OS) (16.5 mesi vs 26 mesi) erano significativamente migliori nel gruppo a cui sono stati somministrati i farmaci in combinazione. Gli stessi autori, in uno RCT a tre bracci, hanno comparato la clorozotocina da sola, con due regimi terapeutici basati su STZ: STZ/5FU e doxorubicina/STZ (ADM/STZ). Quest'ultimo è stato significativamente superiore a STZ/5FU in termini di RR (45% vs 69%), PFS (13 vs 22 mesi) e OS (17 vs 26 mesi)²⁸. Tuttavia, la stessa combinazione non ha mostrato risultati simili in altri due studi retrospettivi a braccio singolo sulla polichemioterapia^{30, 31}.

L'oxaliplatino ha un'attività moderata nei confronti dei tumori neuroendocrini moderatamente o ben differenziati. È stato testato in associazione con capecitabina in un gruppo di 15 pazienti con P-NETs ben differenziati. Tale associazione ha

determinato una risposta parziale in circa il 27% dei pazienti con una PFS di 20 mesi ed una OS di 40 mesi³². Quando utilizzato in associazione alla gemcitabina, l'oxaliplatino non ha mostrato un'efficacia simile, probabilmente a causa di una limitata attività della gemcitabina nei confronti di questo istotipo³³. La dacarbazina e il cisplatino sono i farmaci più frequentemente testati in combinazione con STZ/5FU o 5FU/ADM. L'associazione dei tre farmaci ha mostrato un RR dal 19.5% al 58%, una PFS da 9.1 a 21 mesi e una OS da 21 a 38 mesi³⁴⁻³⁸. La combinazione di temozolomide e capecitabina (regime CAPTEM) ha mostrato risultati promettenti. L'efficacia di questo regime è stata valutata in 30 pz con P-NETs come trattamento di prima scelta, con un tasso di remissione parziale del 70%, una PFS media di 18 mesi e una OS a 2 anni del 92%³⁹. Un piccolo studio retrospettivo ha valutato l'attività di CAPTEM anche come trattamento di seconda linea. Tra i 7 pazienti trattati è stato registrato un tasso di risposta del 43% e un beneficio clinico nel 71% dei casi⁴⁰.

Terapie a bersaglio molecolare

La via PI3K-Akt-mTOR è una via di regolazione fondamentale nella biologia dei tumori neuroendocrini⁴¹. La sua attivazione è descritta in molti tumori maligni, inclusi i P-NETs.

I dati provenienti da diversi studi clinici supportano il ruolo centrale della via PI3K-Akt-mTOR nella tumorigenesi dei P-NETs. Nel primo studio della serie RADIANT (RADIANT-1) l'everolimus è stato somministrato da solo o in combinazione con l'octreotide LAR (se questo trattamento era già in corso al momento dello studio). L'obiettivo primario era il RR nella popolazione in monoterapia con everolimus (n=115 pazienti). In questo gruppo è stato registrato un RR del 9.6% vs. il 4.4% del gruppo a cui l'everolimus è stato somministrato in associazione con l'octreotide (n=45 pazienti)⁴².

Lo studio RADIANT-3 ha ulteriormente indagato il ruolo dell'everolimus nella

gestione dei PanNETs avanzati. L'everolimus ha portato un aumento significativo della PFS nei pazienti con P-NETs avanzati in progressione (la PFS era stata di 11.4 mesi per il gruppo trattato con everolimus e di 5.4 mesi per il gruppo trattato con placebo). Questo ha comportato una riduzione del rischio di progressione per il braccio sperimentale di quasi il 65%⁴³.

I P-NETs sono tumori altamente vascolarizzati e l'elevata espressione del fattore di crescita endoteliale (VEGF) rappresenta un fattore prognostico negativo. Ad oggi sono disponibili molti farmaci ad uso clinico ad azione anti-angiogenetica. Attualmente i risultati di molti studi condotti in pazienti affetti da GEP-NETs avanzati che prevedevano l'utilizzo di bevacizumab in combinazione con chemioterapia o con altre terapie a bersaglio molecolare hanno portato ad un cauto ottimismo⁴⁴.

Anche il sunitinib è stato testato come agente anti-angiogenetico multi-target nei tumori neuroendocrini. La prima esperienza, in uno studio di fase II a braccio singolo, ha mostrato risultati promettenti in 109 pazienti con tumori neuroendocrini in fase avanzata (inclusi 66 P-NETs). Il 16.7% dei pazienti con P-NETs ha mostrato una risposta parziale con una PFS media di 7.7 mesi⁴⁵. Successivamente è stato condotto uno studio di fase III arruolando solo pazienti con P-NETs. Sono stati selezionati in maniera randomizzata 171 pazienti affetti da P-NETs avanzati, a cui sono stati somministrati sunitinib o placebo in associazione alle migliori terapie di supporto a disposizione. Le caratteristiche principali dei pazienti arruolati erano le seguenti: il 22% presentavano tumori con Ki67 > 10% e il 66% erano stati pretrattati con chemioterapia nel braccio sperimentale. I pazienti potevano ricevere SSA in entrambi i bracci a discrezione dei ricercatori. Dopo la valutazione dei dati su 154 pazienti il Comitato di monitoraggio sulla sicurezza ha raccomandato l'interruzione dello studio a causa del gran numero di

decessi e della comparsa di gravi eventi avversi nel gruppo placebo. A quel punto dello studio era stato registrato un RR del 9.3% e dello 0% rispettivamente nel braccio sperimentale e in quello placebo. Inoltre, era stata osservata una differenza statisticamente significativa anche per quanto riguarda la PFS fra i due gruppi (11.4 vs 5.5 mesi). Tutti i sottogruppi di pazienti hanno beneficiato del trattamento con sunitinib ma l'*hazard ratio* di progressione nel braccio sperimentale rispetto al placebo sembrava favorire i pazienti con Ki-67 \leq 5%⁴⁶.

Ruolo della terapia con radionuclidi del recettore peptidico (PRRT)

La terapia con radionuclidi del recettore peptidico (PRRT) è un'opzione di trattamento relativamente nuova dei tumori neuroendocrini pancreatici non resecabili o metastatici, basata sulla somministrazione sistemica di un SSA radiomarcato con un radionuclide beta-emittente.

L'SSA radiomarcato può irradiare le cellule neoplastiche mediante l'internalizzazione attraverso i recettori della somatostatina (SSTR) iperespressi a livello della membrana cellulare.

A partire dagli anni '90 i radiofarmaci più studiati sono stati ¹¹¹In-DTPA pentetreotide, ⁹⁰Y-DOTA Tyr-octreotide e Lutezio ¹⁷⁷Lu-DOTATATE, che è il radiofarmaco più recente ed il più utilizzato nella pratica clinica. Il ¹⁷⁷Lu è un β -emittente di media energia con un'energia massima di 0,5 MeV e una penetrazione massima nei tessuti di 2 mm. La sua emivita è di 6,7 giorni. Il ¹⁷⁷Lu emette anche raggi γ a bassa energia a 208 e 113 keV rispettivamente con abbondanza del 10% e il 6%, il che consente la scintigrafia e la successiva dosimetria con lo stesso composto terapeutico. L'intervallo β più breve del ¹⁷⁷Lu fornisce una migliore irradiazione dei piccoli tumori, in contrasto con l'intervallo β più lungo del ⁹⁰Y che consente un'irradiazione più uniforme nei tumori di grandi dimensioni che possono mostrare un assorbimento eterogeneo.

Solitamente la PRRT con ¹⁷⁷Lu-DOTATATE viene somministrata per via endovenosa in più cicli. La massima attività cumulativa somministrabile dipende dall'irradiazione dei reni, che sono gli organi dose-limitante. La soglia di dose assorbita è convenzionalmente fissata a 25-27 Gy o a \sim 40 Gy per una dose biologica efficace. L'infusione concomitante di una soluzione di aminoacidi ha effetto protettivo nei confronti dei reni. Generalmente, gli effetti collaterali acuti lievi correlati agli aminoacidi sono nausea e vomito, mentre quelli correlati alla PRRT sono affaticamento, lieve perdita di capelli e raramente l'esacerbazione di sindromi da carcinoidi⁴⁷.

La PRRT con ¹⁷⁷Lu-DOTATATE viene generalmente utilizzata dopo il fallimento delle terapie mediche nei P-NET avanzati e progressivi (Fig. 3).

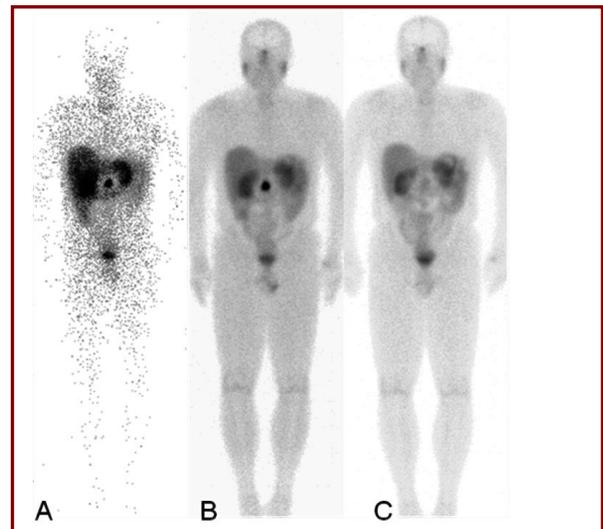


Fig. 3: P-NET G2 non resecabile in uomo di 48 anni
A ¹¹¹In-Octroskan di base; **B** ¹⁷⁷Lu-DOTATATE 24 ore dopo il primo ciclo di terapia PRRT; **C** ¹⁷⁷Lu-DOTATATE 24 ore dopo il terzo ciclo di terapia PRRT.

L'efficacia in termini di tasso di controllo della malattia (Disease Control Rate, DCR), sopravvivenza libera da progressione (Progression Free Survival, PFS),

sopravvivenza globale (Overall Survival, OS) e miglioramento della qualità della vita (Quality of Life improvement) mediante il controllo dei sintomi indotti dagli ormoni è ampiamente nota.

Recentemente, Sansovini et al. hanno pubblicato i risultati di uno studio prospettico di fase II orientato sulla patologia dei P-NET metastatici G1-G2 trattati con ¹⁷⁷Lu-DOTATATE⁴⁸. In questo studio, 60 pazienti consecutivi sono stati arruolati per ricevere 5 cicli di terapia ad intervalli da 6 a 8 settimane, con un'attività pianificata per ciclo di 3,7 o 5,5 GBq di ¹⁷⁷Lu-DOTATATE in base alla presenza o meno di fattori di rischio per reni e midollo osseo. La risposta globale (OR) è stata una risposta completa in 4 casi (6,6%), una risposta parziale in 14 casi (23,3%) e stabilità di malattia in 31 casi (51,7%), con un DCR dell'81,7%. La PFS media (mPFS) è stata di 28,7 mesi (IC al 95% 20,2-53,8) e l'OS media è risultata non valutabile. In questo studio è stato confermato il ruolo prognostico della ¹⁸FDG-PET nei P-NET G1-G2 avanzati, già documentato anche da Severi S et al⁴⁹. Tra i 55 pazienti che hanno eseguito una scansione ¹⁸FDG-PET, 32 (58%) hanno presentato un aumento del metabolismo del glucosio e 23 (42%) sono stati classificati come negativi, indipendentemente dal grado di Ki-67. I pazienti con ¹⁸FDG-PET negativa hanno mostrato risultati significativamente migliori dopo PRRT con ¹⁷⁷Lu-DOTATATE rispetto a quelli con scansioni ¹⁸FDG-PET positive. In particolare, la PFS media nei pazienti con ¹⁸FDG-PET positiva era di 21,2 mesi (IC 95% 18,1-28,7), mentre nel gruppo con ¹⁸FDG-PET negativa era 68,7 mesi (IC 95% 53,4-nr, P <0,0002), indipendentemente dall'attività totale somministrata. La OS media dei pazienti con ¹⁸FDG-PET positiva era 63,8 (IC 95% 28,2-nr), mentre non è stata valutabile nel gruppo con ¹⁸FDG-PET negativa (P = 0,006).

Attualmente diversi studi stanno valutando il potenziale ruolo del ¹⁷⁷Lu-

DOTATATE come trattamento neoadiuvante nei P-NETs non operabili. Nel 2015, uno studio olandese ha riportato risultati incoraggianti in termini di tasso di reseccabilità e mPFS quando l'intervento chirurgico è stato eseguito dopo PRRT con ¹⁷⁷Lu-DOTATATE. La mPFS è stata di 69 mesi per i pazienti che hanno subito un intervento chirurgico e di 49 mesi per i pazienti che non sono stati sottoposti ad intervento chirurgico⁵⁰. Inoltre, un altro studio italiano su 20 P-NET ha documentato che i pazienti sottoposti a PRRT neoadiuvante per P-NET metastatici e/o localmente avanzati hanno un rischio inferiore di fistola pancreatica (25% contro 65%, P = 0,011) e un tasso di PFS a due anni del 67%⁵¹.

Un'altra potenziale applicazione terapeutica del ¹⁷⁷Lu-DOTATATE è il trattamento dei P-NET di alto grado che iperesprimono SSTR⁵².

Nicolini et al. hanno valutato 26 pazienti affetti da GEP-NET con un Ki-67 > 15% che hanno ricevuto un trattamento personalizzato con PRRT con ¹⁷⁷Lu-DOTATATE. Di tutti i pazienti, 16 avevano Ki-67 tra il 15% e il 35% e 10 pazienti avevano Ki-67 > 35%. Il primo gruppo di pazienti ha mostrato una DCR dell'80% con una mPFS di 20,9 mesi (IC 95% 10,8-28 mesi), mentre il secondo gruppo ha avuto una DCR del 30% e una mPFS di 6,8 mesi (IC 95% 2,1-27 mesi) (p = 0,050)⁵³. Sebbene questo sottogruppo di pazienti abbia beneficiato meno dalla PRRT rispetto al gruppo di pazienti con P-NET ben differenziati, l'uso di ¹⁷⁷Lu-DOTATATE nei P-NET di alto grado con una PET-Gallio positiva dovrebbe essere proposto in caso di progressione del tumore dopo la prima linea di terapia medica.

Infine, considerando la loro eterogeneità biologica⁵⁴, l'uso combinato di chemioterapia e PRRT potrebbe avere un'azione sinergica, come già riportato da diversi studi⁵⁵⁻⁵⁷.

BIBLIOGRAFIA

1. Pederzoli P, Bassi C (eds). *Uncommon Pancreatic Neoplasms*. Berlin, Heidelberg, New York: Springer, 2013.
2. Falconi M, Eriksson B, Kaltsas G, et al. ENETS Consensus Guidelines Update for the Management of Patients with Functional Pancreatic Neuroendocrine Tumors and Non-Functional Pancreatic Neuroendocrine Tumors. *Neuroendocrinology* 2016; 103: 153-71.
3. Ilhan H, Fendler WP, Cyran CC, et al. Impact of (68) Ga-DOTATATE PET/CT on the surgical management of primary neuroendocrine tumors of the pancreas or ileum. *Ann Surg Oncol* 2015; 22: 164-71.
4. Krampitz GW, Norton JA, Poultsides GA, et al. Lymph nodes and survival in pancreatic neuroendocrine tumors. *Arch Surg* 2012; 147: 820-7.
5. Hashim YM, Trinkaus KM, Linehan DC, et al. Regional lymphadenectomy is indicated in the surgical treatment of pancreatic neuroendocrine tumors (PNETs). *Ann Surg* 2014; 259: 197-203.
6. Krampitz GW, Norton JA. Current management of the Zollinger-Ellison syndrome. *Adv Surg* 2013; 47: 59-79.
7. Su AP, Ke NW, Zhang Y, et al. Is laparoscopic approach for pancreatic insulinomas safe? Results of a systematic review and meta-analysis. *J Surg Res* 2014; 186: 126-34.
8. Drymousis P, Raptis DA, Spalding D, et al. Laparoscopic versus open pancreas resection for pancreatic neuroendocrine tumours: a systematic review and meta-analysis. *HPB (Oxford)* 2014; 16: 397-406.
9. Zhang T, Mu Y, Qu L, et al. Accurate combined preoperative localization of insulinomas aid the choice for enucleation: a single institution experience over 25 years. *Hepatogastroenterology* 2012; 59: 1282-5.
10. Falconi M, Zerbi A, Crippa S, et al. Parenchyma-preserving resections for small nonfunctioning pancreatic endocrine tumors. *Ann Surg Oncol* 2010; 17: 1621-7.
11. Shimura T, Suehiro T, Suzuki H, et al. Preoperative endoscopic pancreatic stenting for prophylaxis of pancreatic duct disruption during extirpation of a pancreatic head tumor. *Am J Surg* 2007; 194: 553-5.
12. Bosman FTC, Carneiro F, Hruban RH, Theise ND. WHO classification of tumours of the digestive system. *WHO Classification of Tumours, Vol. 3, 4 ed.* Lyon: International Agency for Research on Cancer, 2010.
13. Falconi M, Bartsch DK, Eriksson B, et al. ENETS Consensus Guidelines for the management of patients with digestive neuroendocrine neoplasms of the digestive system: well-differentiated pancreatic non-functioning tumors. *Neuroendocrinology* 2012; 95: 120-34.
14. Butturini G, Partelli S, Crippa S, et al. Perioperative and long-term results after left pancreatectomy: a single-institution, non-randomized, comparative study between open and laparoscopic approach. *Surg Endosc* 2011; 25: 2871-8.
15. McMillan MT, Malleo G, Bassi C, et al. Multicenter, Prospective Trial of Selective Drain Management for Pancreatoduodenectomy Using Risk Stratification. *Ann Surg* 2017; 265: 1209-18.
16. Burkhart RA, Gerber SM, Tholey RM, et al. Incidence and severity of pancreatogenic diabetes after pancreatic resection. *J Gastrointest Surg* 2015; 19: 217-25.
17. National Comprehensive Cancer Network NCCN. *Clinical Practice Guidelines in Oncology (NCCN Guidelines): Neuroendocrine Tumors (Version 2.2016)*. https://www.nccn.org/professionals/physician_gls/pdf/neuroendocrine.pdf.
18. Tamura K, Nishimori I, Ito T, et al. Diagnosis and management of pancreatic neuroendocrine tumor in von Hippel-Lindau disease. *World J Gastroenterol* 2010; 16: 4515-8.
19. Bettini R, Partelli S, Boninsegna L, et al. Tumor size correlates with malignancy in nonfunctioning pancreatic endocrine tumor. *Surgery* 2011; 150: 75-82.
20. Cingarlini S, Ortolani S, Salgarello M, et al. Role of Combined 68Ga-DOTATOC and 18F-FDG Positron Emission Tomography/Computed Tomography in the Diagnostic Workup of Pancreas Neuroendocrine Tumors: Implications for Managing Surgical Decisions. *Pancreas* 2017; 46: 42-7.
21. Sugimoto M, Takagi T, Hikichi T, et al. Efficacy of endoscopic ultrasonography-guided fine needle aspiration for pancreatic neuroendocrine tumor grading. *World J Gastroenterol* 2015; 21: 8118-24.

22. Bergeron JP, Perry KD, Houser PM, et al. Endoscopic ultrasound-guided pancreatic fine-needle aspiration: potential pitfalls in one institution's experience of 1212 procedures. *Cancer Cytopathol* 2015; 123: 98-107.
23. Prakash L, Lee JE, Yao J, et al. Role and Operative Technique of Portal Venous Tumor Thrombectomy in Patients with Pancreatic Neuroendocrine Tumors. *J Gastrointest Surg* 2015; 19: 2011-8.
24. Pavel M, O'Toole D, Costa F, et al. ENETS Consensus Guidelines Update for the Management of Distant Metastatic Disease of Intestinal, Pancreatic, Bronchial Neuroendocrine Neoplasms (NEN) and NEN of Unknown Primary Site. *Neuroendocrinology* 2016; 103: 172-85.
25. Carlini M. *Abdominal NeuroEndocrine Tumors - Monografia* 198 pages. Milan: Springer, 2018.
26. Ramanathan RK, Cnaan A, Hahn RG, et al. Phase II trial of dacarbazine (DTIC) in advanced pancreatic islet cell carcinoma. Study of the Eastern Cooperative Oncology Group-E6282. *Ann Oncol* 2001; 12: 1139-43.
27. Moertel CG, Hanley JA, Johnson LA. Streptozocin alone compared with streptozocin plus fluorouracil in the treatment of advanced islet-cell carcinoma. *N Engl J Med* 1980; 303: 1189-94.
28. Moertel CG, Lefkopoulo M, Lipsitz S, et al. Streptozocin-doxorubicin, streptozocin-fluorouracil or chlorozotocin in the treatment of advanced islet-cell carcinoma. *N Engl J Med* 1992; 326: 519-23.
29. Ekeblad S, Sundin A, Janson ET, et al. Temozolomide as monotherapy is effective in treatment of advanced malignant neuroendocrine tumors. *Clin Cancer Res* 2007; 13: 2986-91.
30. McCollum AD, Kulke MH, Ryan DP, et al. Lack of efficacy of streptozocin and doxorubicin in patients with advanced pancreatic endocrine tumors. *Am J Clin Oncol* 2004; 27: 485-8.
31. Delaunoy T, Ducreux M, Boige V, et al. The doxorubicin-streptozocin combination for the treatment of advanced well-differentiated pancreatic endocrine carcinoma; a judicious option? *Eur J Cancer* 2004; 40: 515-20.
32. Bajetta E, Catena L, Procopio G, et al. Are capecitabine and oxaliplatin (XELOX) suitable treatments for progressing low-grade and high-grade neuroendocrine tumours? *Cancer Chemother Pharmacol* 2007; 59: 637-42.
33. Kulke MH, Kim H, Clark JW, et al. A Phase II trial of gemcitabine for metastatic neuroendocrine tumors. *Cancer* 2004; 101: 934-9.
34. Turner NC, Strauss SJ, Sarker D, et al. Chemotherapy with 5-fluorouracil, cisplatin and streptozocin for neuroendocrine tumours. *Br J Cancer* 2010; 102: 1106-12.
35. Walter T, Bruneton D, Cassier PA, et al. Evaluation of the combination 5-fluorouracil, dacarbazine, and epirubicin in patients with advanced well-differentiated neuroendocrine tumors. *Clin Colorectal Cancer* 2010; 9: 248-54.
36. Kouvaraki MA, Ajani JA, Hoff P, et al. Fluorouracil, doxorubicin, and streptozocin in the treatment of patients with locally advanced and metastatic pancreatic endocrine carcinomas. *J Clin Oncol* 2004; 22: 4762-71.
37. Bajetta E, Ferrari L, Procopio G, et al. Efficacy of a chemotherapy combination for the treatment of metastatic neuroendocrine tumours. *Ann Oncol* 2002; 13: 614-21.
38. Rivera E, Ajani JA. Doxorubicin, streptozocin, and 5-fluorouracil chemotherapy for patients with metastatic islet-cell carcinoma. *Am J Clin Oncol* 1998; 21: 36-8.
39. Strosberg JR, Fine RL, Choi J, et al. First-line chemotherapy with capecitabine and temozolomide in patients with metastatic pancreatic endocrine carcinomas. *Cancer* 2011; 117: 268-75.
40. Saif MW, Kaley K, Brennan M, et al. A retrospective study of capecitabine/temozolomide (CAPTEM) regimen in the treatment of metastatic pancreatic neuroendocrine tumors (pNETs) after failing previous therapy. *JOP* 2013; 14: 498-501.
41. Jiao Y, Shi C, Edil BH, et al. DAXX/ATRX, MEN1, and mTOR pathway genes are frequently altered in pancreatic neuroendocrine tumors. *Science* 2011; 331: 1199-203.
42. Yao JC, Lombard-Bohas C, Baudin E, et al. Daily oral everolimus activity in patients with metastatic pancreatic neuroendocrine tumors after failure of cytotoxic chemotherapy: a phase II trial. *J Clin Oncol* 2010; 28: 69-76.
43. Yao JC, Shah MH, Ito T, et al. Everolimus for advanced pancreatic neuroendocrine tumors. *N Engl J Med* 2011; 364: 514-23.

44. Abdel-Rahman O, Fouad M. Bevacizumab-based combination therapy for advanced gastroenteropancreatic neuroendocrine neoplasms (GEP-NENs): a systematic review of the literature. *J Cancer Res Clin Oncol* 2015; 141: 295-305.
 45. Kulke MH, Lenz HJ, Meropol NJ, et al. Activity of sunitinib in patients with advanced neuroendocrine tumors. *J Clin Oncol* 2008; 26: 3403-410.
 46. Raymond E, Dahan L, Raoul JL, et al. Sunitinib malate for the treatment of pancreatic neuroendocrine tumors. *N Engl J Med* 2011; 364: 501-13.
 47. Kwekkeboom DJ, Krenning EP, Lebtahi R, et al. ENETS Consensus Guidelines for the Standards of Care in Neuroendocrine Tumors: peptide receptor radionuclide therapy with radiolabeled somatostatin analogs. *Neuroendocrinology* 2009; 90: 220-6.
 48. Sansovini M, Severi S, Ianniello A, et al. Long-term follow-up and role of FDG PET in advanced pancreatic neuroendocrine patients treated with 177Lu-D OTATATE. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2017; 44: 490-9.
 49. Severi S, Nanni O, Bodei L, et al. Role of 18FDG PET/CT in patients treated with 177Lu-DOTATATE for advanced differentiated neuroendocrine tumours. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2013; 40: 881-8.
 50. van Vliet EI, van Eijck CH, de Krijger RR, et al. Neoadjuvant Treatment of Nonfunctioning Pancreatic Neuroendocrine Tumors with [177Lu-DOTA0,Tyr3]Octreotate. *J Nucl Med* 2015; 56: 1647-53.
 51. Partelli S, Perali C, Bertani E, et al. Outcome of Surgical Resection after Neoadjuvant Peptide Receptor Radionuclide Therapy (PRRT) for Pancreatic Neuroendocrine Neoplasms: A Case-Matched Analysis. *Endocrine Abstract NANETS* 2016; 46: P28.
 52. Garcia-Carbonero R, Sorbye H, Baudin E, et al. ENETS Consensus Guidelines for High-Grade Gastroenteropancreatic Neuroendocrine Tumors and Neuroendocrine Carcinomas. *Neuroendocrinology* 2016; 103: 186-94.
 53. Nicolini S, Severi S, Sansovini M, et al. Toxicity and efficacy profile of PRRT with 177Lu-dotatate in GEP-NEN patients with High Grade Ki67. Poster 179 presented at AIMNXIII National Congress (2–5 March, 2017)
 54. Scarpa A, Chang DK, Nones K, et al. Whole-genome landscape of pancreatic neuroendocrine tumours. *Nature* 2017; 543: 65-71.
 55. Claringbold PG, Brayshaw PA, Price RA, et al. Phase II study of radiopeptide 177Lu-octreotate and capecitabine therapy of progressive disseminated neuroendocrine tumours. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2011; 38: 302-11.
 56. Claringbold PG, Turner JH. NeuroEndocrine Tumor Therapy with Lutetium-177-octreotate and Everolimus (NETTLE): A Phase I Study. *Cancer Biother Radiopharm* 2015; 30: 261-9.
 57. Kesavan M, Claringbold PG, Turner JH. Hematological toxicity of combined 177Lu-octreotate radiopeptide chemotherapy of gastroenteropancreatic neuroendocrine tumors in long-term follow-up. *Neuroendocrinology* 2014; 99: 108-17.
- Prof. Massimo Carlini, Domenico Spoletini, Simonetta Iacovitti, Fabiola Passafiume, Rosa Marcellinaro, Rosa Menditto; Dipartimento di Chirurgia e Divisione di Chirurgia Generale, Ospedale S. Eugenio, ASL Roma 2
- Per la corrispondenza:
maxcarlini@tiscali.it

Pancreatite cronica e litiasi pancreatica. Stato dell'arte

E. Santoro, R. Santoro

I due argomenti pancreatite cronica e litiasi pancreatica possono essere trattati insieme perché, pur avendo una propria e diversa individualità clinico-patologica, rappresentano pur sempre le due facce di una stessa medaglia, quella di patologie benigne del pancreas poco frequenti nei paesi occidentali, che spesso coesistono anche assumendo profili causali l'una per l'altra.

La pancreatite cronica è un processo infiammatorio del parenchima pancreatico che comporta una progressiva sostituzione del tessuto ghiandolare con tessuto fibroso e conseguente perdita delle funzioni esocrine ed endocrine proprie dell'organo. Il processo infiammatorio spesso si associa alla formazione di calcoli nei dotti piccoli e grandi. È difficile stabilire se la calcolosi sia la causa della pancreatite o viceversa.

Sono note più **cause di pancreatite cronica** tra le quali l'ereditarietà, l'ambiente tropicale, il consumo di alcool, i processi autoimmuni, il fumo del tabacco, l'obesità, la presenza dei calcoli duttali¹, ma in molti casi non si riconosce alcuna di tali cause.

Le teorie più accreditate sulla genesi della pancreatite cronica comprendono l'ipotesi che il flusso di bile per discinesia dello sfintere di Oddi risale nel Wirsung e determina l'instaurarsi di un processo infiammatorio intraparenchimale che spinge il tessuto acinare pancreatico e l'epitelio di copertura dei dotti verso la fibrosi. Lo stesso effetto sul parenchima potrebbe essere esercitato dal consumo eccessivo di alcool. Una teoria più recente considera pancreatite acuta e pancreatite cronica interconnesse: esisterebbe primariamente una predisposizione ambientale o genetica alla pancreatite acuta. Un primo episodio acuto sarebbe l'evento sentinella con successivo

sviluppo di uno stato infiammatorio dell'organo e con produzione di cellule stellate; successive stimolazioni di tali reazioni immunitarie produrrebbero fibrosi e la irreversibile evoluzione della pancreatite verso la cronicità².

Per quanto riguarda l'alcol va rilevato che solo il 3% degli alcolisti sviluppa la pancreatite cronica, perciò debbono esistere altre cause tra le quali sono state individuate l'alimentazione grassa ed il fumo del tabacco che ovviamente agiscono con meccanismi diversi pur producendo lo stesso risultato negativo³.

Le pancreatiti croniche tropicali sembrano legate a malnutrizione con particolare riferimento a carenze di micro nutrienti. Le pancreatiti familiari, ereditarie o genetiche deriverebbero da una mutazione familiare del gene CFTR, autosomica, dominante, di incompleta penetrazione.

Per quanto riguarda le cause della **formazione dei calcoli** oltre che alla coesistenza del processo infiammatorio parenchimale con conseguente fibrosi dei dotti e difficoltà di escrezione del succo pancreatico, vanno annoverati l'alcolismo e la malnutrizione. È stata descritta l'associazione di questa patologia con l'iperparatiroidismo responsabile di una grave alterazione del metabolismo del calcio testimoniato anche dalla nefrolitiasi. I calcoli si formano per modificazione chimica del succo pancreatico dovuta a un'alterata produzione dello stesso, oppure a ristagno del succo nei dotti per ostruzione della via di deflusso. La disfunzione determina depositi proteici nei dotti sui quali precipitano i sali di calcio formando i calcoli.

È ben noto l'effetto dell'alcol che provoca una stimolazione della secrezione

con lesione dell'epitelio duttale ed aumento di concentrazione di proteine e calcio da dove deriva l'origine della litiasi. I calcoli possono essere lisci ed ovalari nel Wirsung o racemosi in qualunque dotto piccolo o grande. Sono costituiti da calcio, da fosfato, più spesso da calcio carbonato ossia calcite, e da acidi grassi⁴.

La pancreatite cronica è associata alla litiasi pancreatica soltanto nel 20-30% dei casi e non sempre la litiasi pancreatica è associata alla pancreatite cronica. Sempre però la litiasi è associata all'infiammazione parenchimale.

Questa patologia pancreatica è abbastanza rara in Italia ed in Europa con due casi ogni 100.000 abitanti. È invece frequente in oriente soprattutto in India e in Cina con una frequenza di 200 casi ogni 100.000 abitanti, ossia 100 volte superiore a quella delle nostre latitudini.

Sul piano clinico questa patologia non sempre è sintomatica. La scoperta può essere occasionale nel corso di un esame ecografico o radiologico dell'addome condotto per altra causa. La sintomatologia, quando esiste, è costituita nel 50-80% dei casi da dolori addominali prevalentemente epigastrici talora irradiati posteriormente che sopravvengono o peggiorano dopo aver mangiato, associati a dimagrimento con diarrea e steatorrea, ed è stata attribuita ad ipertensione duttale o ad infiammazione neurale o a modificazioni neuro ormonali. Alle riesacerbazioni del dolore si può associare nausea e vomito. Tale sintomatologia dolorosa, quando presente, ed anche l'efficacia delle relative cure, si riducono con il progredire del processo patologico verso la cronicità. Altre volte sintomo rivelatore può essere il diabete mellito insulino-dipendente. Si tratta di un diabete secondario spesso legato alla ostruzione del Wirsung con conseguente aumento della pressione intraduttale ed ischemia dell'organo. Si determina così un

blocco del rilascio sia degli enzimi digestivi che di quelli glicoregolatori, per sofferenza delle insule di Langherans. Tuttavia la funzione delle cellule Beta risulta meglio conservata che nel diabete insulino-dipendente di tipo 1, con conseguente migliore glicoregolazione.

Tale diabete frequente della calcolosi pancreatica ostruente, è meno frequente nella semplice pancreatite cronica. In tali casi è stato anche rilevato una più alta concentrazione di somatostatina che può contribuire alla riduzione dei livelli del glucosio ematico⁵.

In assenza della sintomatologia dolorosa, il quadro clinico residuo è in genere ben tollerato e non è dimostrata una correlata evoluzione neoplastica.

Complicanze non frequenti della pancreatite cronica con o senza litiasi sono le pseudocisti, le fistole pancreatiche, le ostruzioni biliari con ittero, la difficoltà di svuotamento gastrico, l'ascite, il versamento pleurico, la flebotrombosi splenica, ciascuna con il proprio corteo sintomatologico che in genere si associa al quadro clinico della pancreatopatia di base².

La diagnosi oltre che sul quadro clinico si giova dei sussidi tradizionali. Il livello degli enzimi nel sangue, amilasi, lipasi, tripsina, elastasi, nelle pancreatiti croniche possono essere normali o elevati e soprattutto negli stadi iniziali non sono dimostrativi. Più sensibile è il test di stimolazione secretinica in pazienti che presentano condizioni di malassorbimento intestinale. La determinazione dei grassi nelle feci serve per definire il malassorbimento: nella normalità è pari al 7% dei grassi ingeriti, ma nella pancreatite cronica può anche raggiungere il 90%. Tuttavia tali risultati che dimostrano l'insufficienza esocrina del pancreas non sono diversi tra pancreatite cronica e carcinoma pancreatico. Altro discorso riguarda la diagnostica per immagini cioè la radiografia diretta dell'addome, la ecografia, la TAC con

e senza contrasto e la colangiopancreato-RMN con gadolinio, nonché la endoscopia gastro-duodenale e la ecoendoscopia con biopsia, che sono in grado di definire la natura della patologia nonché sede, dimensioni e numero dei calcoli ove presenti. All'imaging il pancreas appare ingrossato o più frequentemente atrofico, con bordi irregolari, cavità cistiche, densità aumentata, distorsione e dilatazione dei dotti principali con stenosi anulari del lume. Quando sono presenti calcoli con la tomografia computerizzata senza contrasto se ne può riconoscere anche la densità che avrebbe un valore prognostico per i trattamenti con onde d'urto: infatti la minore densità favorirebbe i migliori risultati⁶.

Le indicazioni al trattamento tanto nella pancreatite cronica quanto nella litiasi pancreatica derivano dalla sintomatologia dolorosa addominale continua o eccezionale, dalla insufficienza digestiva con dimagrimento e dal diabete⁷. Conseguentemente obiettivi della terapia sono l'eliminazione del dolore, il controllo del diabete ed eventualmente l'eliminazione dei calcoli. Nelle forme asintomatiche è concordemente accettata l'astensione da ogni trattamento invasivo.

Le terapie disponibili sono: quella medica sintomatica basata sull'impiego degli antidolorifici e degli antidiabetici, nonché degli enzimi digestivi come la pancreolipasi che migliora l'assorbimento intestinale, riducendo la malnutrizione ed il dimagrimento⁸; quella endoscopica per la rimozione della ostruzione litiasica del Wirsung; la litotrixxia con onde d'urto per la frammentazione dei calcoli ovunque situati nell'albero duttale pancreatico; quella propriamente chirurgica con asportazione dei calcoli e derivazione intestinale del dotto di Wirsung, o la asportazione più o meno completa dell'organo. È stata anche proposta l'infiltrazione retro peritoneale per agopuntura con farmaci analgesici anestetici per la neurolisi ed il blocco del plesso celiaco

nei casi di dolori resistenti alla terapia antalgica orale o parenterale⁹.

Per quanto riguarda la litiasi, l'orientamento terapeutico in mancanza di sintomatologia dolorosa oscilla tra nessun trattamento, come proposto da molti AA. come **Howell, Kalloo, Costamagna**¹⁰⁻¹², e la terapia endoluminale con pancreatoscopia e litotrixxia elettroidraulica di più recente introduzione, sostenuta da **Beyna**¹³.

Per la rimozione dei calcoli causa di dolore sono fattori condizionanti: la loro dimensione maggiore o minore di 5 mm, la loro sede nei piccoli o grandi dotti ed il loro numero. L'orientamento generale è che i calcoli da 0,5-1mm possono non essere trattati oppure affidati ad un tentativo di estrazione endoscopica (ERCP). I calcoli maggiori di 1mm possono essere trattati con onde d'urto (ESWL) ed ERCP eseguite in successione, prima l'una e poi l'altra con ordine variabile a seconda degli AA. I calcoli maggiori di 7 mm devono essere affrontati con la chirurgia tradizionale.

La terapia strumentale non chirurgica della litiasi pancreatica ha avuto negli anni più recenti una interessante evoluzione. Essa è basata su due diverse possibilità e strumentazioni: quella endoviscerale endoscopica duodeno-bilio-pancreatica con strumenti introdotti nel Wirsung dopo apertura della papilla di Water, e quella esterna con l'uso delle onde d'urto del litotritore (shockwave).

Nel 2007 **Dumonseau**¹⁴, sulla scorta di 55 casi sottoposti a shockwave, non ha rilevato alcuna differenza di risultati con o senza l'associazione di papillotomia endoscopica transduodenale. Nel 2010 **Tandan**¹⁵ dal riesame di 1006 casi trattati con shockwave ed endoterapia ha riscontrato un 76% di successi e nessuna complicanza. Nel 2014 **Ito**¹⁶ ha comparato i risultati positivi ottenuti con la Shockwave da sola pari al 74%, con quelli ottenuti associando a questa l'endoscopia pari all'83% od anche il

trattamento elettroidraulico pari all'89%. Infine nel 2017 **Bansal**¹⁷ ha pubblicato 100% di successi in 51 casi trattati con sfinteroplastica con palloncino, lamentando un'unica emorragia cessata spontaneamente. Risultati incoraggianti con la pancreatoscopia sono riportati nel 2017 da **Pereira**¹⁸.

Anni addietro fu proposto l'impiego del **Trimetadione** per os per lunghi periodi per la dissoluzione farmacologica dei calcoli. Furono riportati buoni risultati con riduzione della dimensione e numero dei calcoli nel 70% dei casi e benefica azione sulla sintomatologia dolorosa e sul diabete¹⁹. Si tratta di un farmaco anticonvulsivante che è risultato epatotossico e provoca fotofobia²⁰: conseguentemente non è entrato nella pratica clinica.

Infine va riportata la **terapia propriamente chirurgica** delle pancreatiti croniche e delle calcolosi pancreatiche dolorose. Gli interventi sono di due tipi: demolitivi e conservativi, i primi sono prevalenti nelle semplici pancreatiti croniche, i secondi sono indicati quando sono presenti calcoli duttali²¹.

Gli interventi demolitivi possono essere più o meno estesi ed hanno lo scopo di asportare la parte di pancreas particolarmente malata, fibrotica, multinodulare, multicistica dalla quale origina il dolore. Le resezioni pancreatiche possono perciò essere più o meno estese, ma sono in genere corpo-caudali o sinistre anche definite splenopancreasectomie distali, raramente sono destre o duodenocefaliche configurando una classica duodenocefalopancreasectomia, infine talora sono totali con o senza conservazione del duodeno²². Nelle prime è quasi sempre necessaria la asportazione della milza perché la flogosi cronica pancreatica è estesa nel retroperitoneo ben oltre i margini dell'organo ed è spesso impossibile isolare la vena splenica, tenacemente inglobata, la cui legatura comporta l'asportazione della milza.

Tali interventi ampiamente resettivi sul pancreas sinistro ove hanno prevalentemente sede le insule di Langherans, provocano un serio diabete insulino-dipendente o aggravano il preesistente. A tal fine, trattandosi di patologia benigna, è stato proposto ed ha attuato il prelievo delle insule dall'organo asportato e la loro utilizzazione per autotrapianto nel fegato dello stesso paziente. Purtroppo i risultati non hanno corrisposto alle attese²³.

Nei casi di calcolosi dolorosa il primo obiettivo è la chirurgia conservativa o derivativa con la conservazione dell'organo e l'asportazione dei calcoli che ostruiscono il dotto principale notevolmente dilatato con una condizione interna di iperpressione. L'intervento di prima scelta consiste nella apertura assiale per parecchi cm del Wirsung con estrazione del maggior numero di calcoli: ciò può risultare impossibile per quelli dei piccoli dotti e soprattutto per quelli incastrati nella parte del dotto vicina allo sbocco nella ampolla di Water. La ricostruzione avviene con una anastomosi laterolaterale su di una ansa digiunale montata alla Roux che garantisce lo svuotamento della secrezione pancreatica anche quando la terminazione del Wirsung rimanga ostruita e conseguentemente la scomparsa del dolore. Tale metodica ha preso il nome di Partington-Rochelle ossia degli AA. che l'hanno proposta.

Una diversa tecnica che però ha le stesse finalità è quella di Puestow, che richiede l'asportazione della coda del pancreas per una piccola parte sufficiente a raggiungere trasversalmente il dotto di Wirsung dove questo ha un calibro sufficiente a consentire l'introduzione di un piccolo forcipe per l'estrazione dei calcoli. L'intervento si completa con una derivazione pancreatico-digiunale mediante una anastomosi terminolaterale tra il moncone pancreatico caudale ed una ansa alla Roux, con le stesse finalità derivate dell'altra tecnica.

Con tali tecniche nel 2001 **Sakoras**²⁴ ha vantato in 48 casi l'81% di successi e **Tan**²² nel 2016 il 90% in 297 casi. **Fernandez Cruz**²⁵ nel 1997 riportò una ampia serie di 110 casi operati con successo chirurgico e clinico con una osservazione di 18 mesi: 35 casi erano stati sottoposti a duodenocefalopancreasectomia, 40 a resezione corpo caudale e 30 a Wirsung-digiunoanastomosi dopo rimozione dei calcoli.

La rassegna nazionale giapponese²⁶ è una delle pubblicazioni più illustrative dello stato dell'arte: essa riporta 1834 casi provenienti da 125 Ospedali, dei quali 499 (27,2%) non furono trattati, la shockwave più endoscopia furono praticate in 446 casi (24,3%), il solo trattamento endoscopico in 261 casi (14,2%), la chirurgia in soli 167 casi (9,1%). Trattamenti diversi furono riservati agli altri 358 casi (19,5%). La guarigione dalla sintomatologia dolorosa si ebbe nel 92,8% dopo chirurgia, nell'85,7% dopo shockwave e nell'80,8% dopo endoscopia, ma la chirurgia ebbe più complicanze nel breve (27,1%) e nel lungo periodo (8,2%). Dei pazienti sottoposti a shockwave 61 (14,6%) dovettero essere successivamente operati, come anche 32 (16%) di quelli trattati endoscopicamente. La conclusione dello studio è in prima istanza a favore della shockwave perché meno invasiva e gravata da un minor numero di complicanze.

La nostra personale esperienza concorda con l'atteggiamento astensionista nelle forme asintomatiche sia di semplice pancreatite cronica che di litiasi. Nelle forme litiasiche paucisintomatiche con episodi dolorosi rari e brevi, la shockwave con puntamento ecografico sembra da preferire perché meno invasiva, con eventuale successiva papillotomia endoscopica qualora il materiale litiasico sbriciolato non riesca a transitare spontaneamente dalla papilla. Nelle forme dolorose alitiasiche la scelta delle resezioni pancreatiche è obbligatoria: esse debbono essere estese perché un atteggiamento minimalista potrebbe non risolvere il problema clinico e costringere ad

un secondo intervento più demolitore e più laborioso con raddoppio delle sofferenze e del rischio chirurgico per il malato. Nelle calcolosi litiasiche dolorose con dilatazione del Wirsung anche nella nostra casistica l'intervento di Partington-Rochelle con toilette del Wirsung ed anastomosi derivativa Wirsung-digiunale, ha fornito risultati eccellenti nel breve con nessuna fistola e nel lungo periodo senza ritorno dei dolori. Infine con grande interesse bisogna guardare alle tecnologie del futuro, la cui strada è stata aperta dalla pancreatoscopia associata a trattamenti elettro-idraulici o con laser tanto nelle calcolosi quanto nelle stenosi del Wirsung.

BIBLIOGRAFIA

1. Talamini G, Vaona B, Bassi C, et al. Alcohol intake, cigarette smoking and body mass index in patients with alcohol-associated pancreatitis. *J Clin Gastroenterol* 2000; 31: 314-7.
2. Lee P, Stevens T. Chronic pancreatitis. *Cleveland Clinic Chronic Pancreatitis* 2014. [https://Cleveland Clinic Chronic Pancreatitis - Virtual Medical School \(teachmemedicine.org\)](https://Cleveland Clinic Chronic Pancreatitis - Virtual Medical School (teachmemedicine.org)).
3. Yadav D, Withcomb DC. Role of alcohol and smoking in pancreatitis. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2010; 7: 131-45.
4. Olexandr K, Danilenko IA, Smorodska OM, et al. Morphological and crystal chemical characteristic of pancreatic lithiasis. *Wiad Lek* 2018; 71: 237-41.
5. Larsen S. Diabetes mellitus secondary to chronic pancreatitis. *Dan Med Bull* 1993; 40: 153-62.
6. Ohyama H, Mikata R, Ishihara T, et al. Efficacy of stone density on non contrast computed tomography in predicting the outcome of extracorporeal shockwave lithotripsy in patients with chronic calcific pancreatitis. *Pancreas* 2015; 44: 422-8.
7. Andren-Sandberg A, Hafstrom A. Partington-Rochelle, when to drain the pancreatic duct and why. *Dig Surg* 1996; 13: 109-12.
8. Withcomb DC, Lehman GA, Vasileva G. Pancrelipase delayed-release capsule (CREON) for exocrine pancreatic insufficiency due to chronic pancreatitis or

- pancreatic surgery: a double blind randomized trial. *Am J Gastroenterol* 2010; 105: 2276-86.
9. Kaufman M, Singh G, Das S, et al. Efficacy of endoscopic ultrasound guided celiac plexus bloc and celiac plexus neurolysis for managing abdominal pain associated with chronic pancreatitis and pancreas cancer. *J Clin Gastroenterol* 2010; 44: 127-34.
 10. Howel DA. Pancreatic stones: treat or ignore. *Can J Gastroenterol* 1999; 13: 461-5.
 11. Kalloo AN, Norwitz L, Yeo CJ. Chronic pancreatitis. *John Hopkins Medicine* 2001. <https://www.hopkinsmedicine.org>.
 12. Costamagna G, Boskoski I. Stone breakers: the era of pancreatic stones treatments. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol* 2012; 6: 521-3.
 13. Beyna T, Neuhaus H, Gerges C. Endoscopic treatment of pancreatic duct stones under direct vision: revolution or resignation. *Systematic review. Dig Endoscopy* 2018; 30: 29-37.
 14. Dumonceau JM, Costamagna G, Tringali A, et al.: Treatment for painful calcified chronic pancreatitis. Extracorporeal shockwave lithotripsy versus endoscopic treatment: a randomized controlled trial. *Gut* 2007; 56: 545-52.
 15. Tandan M, Reddy DN, Santosh D, et al. Extracorporeal shock wave lithotripsy and endotherapy for pancreatic calculi. A large single center experience. *Indian J Gastroenterol* 2010; 29: 143-8.
 16. Ito K, Igarashi Y, Okano N, et al. Efficacy of combined extracorporeal endoscopic lithotripsy and extracorporeal shockwave lithotripsy and additional electrohydraulic lithotripsy using the Spyglass direct visualization system x-ray guided EHL as needed for pancreatic stones. *Biomed Res* 2014; 2014: 732781.
 17. Bansal LK, Patil GK, Puri R, et al. Endoscopic pancreatic balloon sphincteroplasty for difficult to treat pancreatic stones and strictures: experiences in 80 patients. *Endosc Int Open J* 2017; 5: E1229-34.
 18. Pereira P, Peixoto A, Andrade AP, Macedo G. Peroral cholangiopancreatography with SpyGlass system: What do we know 10 years later. *J Gastroenterol Liver Dis* 2017; 26: 165-70.
 19. Hashimoto A, Moritani I, Shimizu A, Shiraki K. Hepatobiliary and pancreatic oral therapy for pancreatic duct stones. *J Gastroenterol Hepatol* 2006; 21: 1496.
 20. Noda A, Okuyama M, Murayama H, et al. Dissolution of pancreatic stones by oral trimethadione in patients with chronic calcific pancreatitis. *J Gastroenterol Hepatol* 1994; 9: 478-85.
 21. Falconi M, Valerio A, et al. Changes in pancreatic resection for chronic pancreatitis over 28 years in a single Institution. *British J Surgery* 2000; 87: 428-33.
 22. Tan CL, Nuer E, Abulaiti A, Zhang H, Chen YH, Liu XB. Surgical option for chronic pancreatitis. *Zhonghua Wai Ke Za Zhi* 2016; 54: 848-53.
 23. Harris H. Systematic review of total pancreatectomy and islet autotransplantation for chronic pancreatitis. *British J Surg* 2012; 99: 761-6.
 24. Sakorafas GH, Sarr MG, Rowland CM, Farnell MB. Postobstructive chronic pancreatitis: results with distal resection. *Arch Surg* 2001; 136: 643-8.
 25. Fernandez-Cruz L, Sabater L, Pera M, Astudillo E, Saenz A, Navarro S. Conservative pancreatic resection in patients with obstructive chronic pancreatitis. *Hepatogastroenterology* 1997; 44: 1023-8.
 26. Inui K, Masamune A, Igarashi V, et al. Management of pancreatolithiasis: a National survey in Japan. *Pancreas* 2018; 47: 708-14.
- Prof. Eugenio Santoro, Presidente della Fondazione San Camillo - Forlanini, Roma
- Dott. Roberto Santoro, Direttore U.O.C. Chirurgia, Ospedale Belcolle, ASL Viterbo
- Per la corrispondenza:
eugeniosantoro@tiscali.it

COVID-19. Identikit di un virus

F. Belli

Premessa

Uno dei libri di divulgazione scientifica di maggior successo, negli ultimi anni, è stato "Spillover", di David Quammen, edito in Italia nel 2014 da Adelphi¹; il ponderoso ma scorrevole volume pone come premessa una realtà con la quale oggi, e ancor più in futuro, dobbiamo e dovremo convivere: *"...quando un patogeno fa il salto da un animale ad un essere umano (spillover) e si radica nel nuovo organismo come agente infettivo, in grado talvolta di causare malattia o morte, siamo in presenza di una zoonosi..."*. Filo conduttore trasversale di tutta l'opera è l'impatto umano sugli ecosistemi, i disastri provocati e i conseguenti eventi epi-pandemici.

Le maggiori zoonosi a cavallo fra i due millenni sono state:

- 1994: virus Hendra, Australia*
- 1997: virus H5N1, "aviaria", dalla Cina
- 1998: virus Nypah, Malaysia*
- 2002: virus SARS-Cov-1, Cina*
- 2009: virus S-OIV H1N1, "suina", dal Messico
- 2012: virus MERS-Cov, Arabia Saudita*
-1976.....2014.....: Ebolavirus, Africa centrale*.

Oggi siamo in piena emergenza globale per la pandemia da SARS-Cov-2, responsabile della malattia denominata dall'OMS "Covid-19", esordita in Cina nell'ultimo quadrimestre del 2019 e diffusasi rapidamente in tutto il mondo*.

Con l'asterisco * abbiamo indicato le infezioni i cui agenti patogeni trovano nei pipistrelli il proprio reservoir. SARS-CoV-1/2 e

MERS sono causate da Coronavirus: ospiti intermedi sono stati la civetta delle palme (viverride) per SARS-CoV-1, il dromedario per la MERS, mentre in SARS-CoV-2 sono stati indicati diversi animali, il pangolino, in particolare, ma non vi è una evidenza assoluta che ponga una parola definitiva sulla catena di trasmissione del nuovo Coronavirus².

Prima di proseguire nella nostra trattazione, è opportuno richiamare l'attenzione sulla pubblicistica, specializzata e non, in tema di Covid-19: da Gennaio ad Agosto 2020 sulle riviste scientifiche indicizzate sono stati pubblicati 50.600 articoli, saliti a 88.000 a Dicembre 2020 e a 107.500 a Febbraio 2021. Pubblicazioni e articoli sulla stampa generica e riviste non specializzate non sono quantizzabili. Come ha affermato J. Brainard su "Science", 2020³: *"...stiamo affogando in un oceano di articoli su Covid-19!..."*. Pertanto, aggiornarsi, informare e formare diventa impresa ardua; districarsi nelle migliaia di articoli quali e quantitativamente eccessivi e disomogenei, praticamente impossibile. Lo stesso Brainard e altri revisori di prestigiose riviste hanno individuato diverse questioni, al di là dei problemi di volume e quantità: numerosi articoli si occupano di argomenti di scarso rilievo, le procedure sperimentali talora non sono ortodosse e validate, le statistiche non significative, i risultati, oggi preliminarmente presentati sui social, spesso opposti e contrastanti, la scrittura affrettata. Tutto questo accomuna la maggioranza delle riviste, da quelle storiche a diffusione

globale, a quelle locali e poco conosciute. È stato coniato un termine che ben riassume la situazione: INFODEMIA, ovvero pletora di informazioni e disinformazioni. JMIR, Public Health Surveillance giunge ad un'amara conclusione: *"Misinformation of Covid-19 on the Internet has a risk to public health"*⁴.

Ecologia

L'impatto umano sul pianeta, in questo inizio di millennio, si sta rivelando devastante con crescita esponenziale dei danni arrecati, soprattutto in aree critiche per la salute della terra, quali le grandi foreste pluviali, prevalenti nelle regioni tropicali ed equatoriali, riserve di ossigeno e biodiversità; deforestazione, costruzione illimitata di strade, dighe e altre infrastrutture, bonifiche estese e sfruttamento del territorio per uso agricolo, determinano, tra le conseguenze più drammatiche, contatti più numerosi e ravvicinati fra umani e animali domestici e d'allevamento, da una parte, e fauna selvatica, dall'altra, anche in zone finora inaccessibili. I contatti possono pertanto avvenire anche con specie animali potenzialmente pericolose e vettrici di patogeni (pipistrelli, uccelli, roditori). Tutto questo, insieme ai cambiamenti climatici, innesca una miscela esplosiva e talora incontrollabile anche dal punto di vista sanitario: dobbiamo imparare a convivere con nuove malattie e conoscere una fauna vettrice di patogeni finora aliena dalla nostra preparazione medico-scientifica. Baric R e coll ("Nature", 2015), avevano richiamato l'attenzione, inascoltati, di un possibile nuovo spillover di Coronavirus e Cov2-like⁵.

Teoricamente, esiste la possibilità di uno *"spillover di/da laboratorio"*: la manipolazione off-control di virus in laboratorio, anche aumentandone virulenza e infettività, pone stringenti questioni di procedure, verifiche, sicurezza, nonché etiche ed ecologiche; basti pensare, come esempio, alle mutazioni genetiche indotte sulle zanzare vettrici della malaria e possibilità di liberare

nell'ambiente esemplari modificati, sterili o non infettanti. Nel caso di SARS-CoV-2, il suo genoma, in base ai report di autorità ispettive cinesi e internazionali, non corrisponderebbe a quello di nessun Coronavirus già identificato, sequenziato e conservato nei laboratori di Wuhan⁶.

Lo studio degli alberi filogenetici dei virus e degli animali evidenzia che le zoonosi sono antichissime: le prime dimostrate risalgono a 10.000 anni fa, agli albori del Neolitico, quando l'uomo ha iniziato a praticare allevamento e agricoltura e a modificare sensibilmente l'ambiente in cui viveva e lavorava.

Oggi e ancor più domani, nella prevenzione e nella sorveglianza contro le infezioni zoonotiche, particolare attenzione deve essere rivolta ad alcuni gruppi di animali, soprattutto gli uccelli selvatici, i roditori e i chiroteri: questi due ultimi ordini sono sempre più implicati quali serbatoi di numerosi microrganismi patogeni e nella loro trasmissione, diretta o indiretta, ad altri animali e all'uomo. Lo spillover è frequente dai roditori, molti dei quali convivono con l'uomo e dai pipistrelli, dotati di un sistema immunitario particolarmente efficiente⁷. Fondamentale è la biodiversità della fauna in ogni area geografica: vi è un rapporto di proporzionalità diretta fra numero di specie in cui alcuni ordini (roditori, chiroteri) si suddividono, e tipi di microrganismi, specie virus, anche patogeni, da queste ospitate e trasmesse mediante spillover. Roditori e chiroteri rispondono a queste caratteristiche e possono generare numerose nuove infezioni emergenti⁸.

Spillover e zoonosi stanno aumentando, e aumenteranno sempre più, per molteplici cause e fattori, interconnessi, legati al (pessimo) impatto dell'uomo sull'ambiente, inteso come un insieme di ecosistemi, molti dei quali fragili e delicati, ognuno con una fauna e una flora specifiche e spesso irripetibili⁹. I punti salienti sono:

- Distruzione di habitat naturali, sovvertendo la fauna e provocandone la migrazione verso aree urbane e peri-urbane.
- Caccia (illegale), commercio, macellazione e consumo di carne da fauna selvatica.
- Persistenza, specie in Asia, di abitudini e norme negli allevamenti e nei mercati che determinano pessime condizioni igieniche: contatti fra animali allevati, domestici e selvatici, potenziali “reservoir” di patogeni; allevamenti intensivi; consuetudine a vendere animali vivi e non carni già macellate e confezionate; consumo di carni di animali esotici e inconsueti; assenza di controlli.
- Ulteriori fattori aggravanti sono: maggior densità di popolazione, strutture sanitarie deficitarie, crescita economica incontrollata, sostituzione di foreste e altre zone “vergini” con una forte presenza umana e con le sue attività, agricole e industriali, numero crescente di viaggiatori e turisti in aree “esotiche”, a rischio sanitario e infettivo.

Un compendio di tutto quanto ora illustrato, si è avuto in Cina per la costruzione della “Diga delle tre Gole”, nella provincia di Hubei, la seconda al mondo per dimensioni e portata d’acqua; fino al 2008, sono stati sommersi più di 1300 siti archeologici, 13 città, 140 paesi e 1352 villaggi, il che ha comportato il trasferimento obbligato di circa 1,4 milioni di abitanti¹⁰. Le autorità cinesi prevedono il trasferimento di almeno altri quattro milioni di persone dalla zona delle Tre Gole entro il 2023. Molte specie animali e vegetali sono scomparse o scompariranno a causa della distruzione degli habitat in cui vivono a causa dell’inquinamento provocato dalle industrie locali e dall’eccessivo traffico di navi, che percorrono l’immenso lago creatosi. Miliardi di volatili (uccelli, chiroterri) sono fuggiti, specie a est, in direzione di Wuhan, che dista poche centinaia di Km, occupando nuovi habitat urbani¹¹.

Lo *spillover* non è un evento spontaneo in natura: serve la mano dell’uomo, ed è la conseguenza di un’interazione incongrua fra noi e la fauna selvatica.

I pipistrelli sono fra gli animali che ospitano la maggior diversità virale, talora ad alta carica infettante, ma, soprattutto, presentano tre caratteristiche fondamentali: le specie, oltre 1400, possono interagire frequentemente con i virus, generando di continuo varianti fra le quali nuovi e sconosciuti patogeni per l’uomo; vivono in gruppi numerosi e promiscui, passandosi fra loro virus e favorendone mutazioni genetiche trasmissibili nelle generazioni; si spostano in gruppi su lunghe distanze. I pipistrelli hanno un sistema immunitario innato che neutralizza efficacemente eventuali reazioni infiammatorie, compresa la cosiddetta “*cytokine storm*”, l’azione di radicali liberi, il danneggiamento del proprio DNA, l’effetto citolesivo dei virus ospitati. Pertanto possono albergare numerosi virus (e trasmetterli anche ad altre specie), senza ammalarsi. Non dobbiamo dimenticare gli effetti positivi di questi animali negli ecosistemi: sono insettivori, garantendo in agricoltura un grande risparmio in termini di pesticidi (23 miliardi di dollari l’anno negli USA!). È stato stimato che mammiferi e uccelli ospitano 1.600.000 specie virali sconosciute, il 43% delle quali avrebbe le prerogative di innescare una zoonosi nell’uomo.

Già vent’anni fa fu dimostrato che non solo il “ferro di cavallo, *Rhinolophus*”, ma anche altre specie di pipistrelli sono un reservoir di centinaia di specie geneticamente diverse di Coronavirus, molti innocui, ma alcuni capaci di infettare le cellule polmonari di altri animali e dell’uomo con effetto citolesivo¹²; ogni specie di chiroterri può ospitare diversi tipi virali e divenire un’incubatrice genetica per ulteriori, nuove specie di virus: tra questi, sono apparsi i responsabili di SARS-CoV1/2 e MERS. I pipistrelli vivono non solo nelle grotte, ma anche nelle miniere: i minatori della Cina

centro-meridionale sono, da anni, frequentemente colpiti da imprecise infezioni polmonari, che possono trasmettere agli abitanti dei villaggi limitrofi.

La costante e frequente mescolanza genetica di virus diversi determina un'imprevedibile e casuale origine di nuovi agenti patogeni. Riassortimenti, riarrangiamenti, mutazioni sono alla base di specie virali nuove, verso le quali l'uomo e altri animali non sono immuni: si verificano le condizioni per un evento pandemico, proprio come già osservato per i virus influenzali. Il monitoraggio genetico ha evidenziato ripetuti, numerosi spillover verso l'uomo, diretti o tramite ospiti intermedi.

Il genoma di SARS-CoV-2 corrisponde per il 96% a quello di Coronavirus "wild" già da tempo identificati in *Rhinolophus*; sembra che il suo passaggio dai pipistrelli (o altro ospite intermedio) all'uomo sia avvenuto in un unico evento, seguito da una ripetuta e sostanziosa trasmissione interumana. Per quanto riguarda gli ospiti intermedi, come detto sopra, quelli o quello coinvolto nell'infezione da SARS-CoV-2 rimane tuttora incerto: pangolini, zibetti, suini, pipistrelli di altre specie, tassi, rettili, primati non umani sono i più sospettati.

Riguardo l'eccezionalità del sistema immunitario dei chiroteri, lo studio e il confronto dei genomi di più specie, in particolare le sequenze geniche implicate nell'immunità innata, rivelano un doppio adattamento. Nei pipistrelli è inattiva una decina di geni, che negli altri mammiferi promuove la risposta infiammatoria per combattere le infezioni (talvolta eccessive e dannose, come in certi casi di SARS-CoV-2); in compenso però questi animali hanno copie aggiuntive e varianti inedite di alcuni geni antivirali, che possono spiegare la tolleranza ai virus. Il genoma contiene numerosi residui di DNA virali, integratisi durante passate infezioni, che testimoniano gli abbondanti contatti con i virus: nella loro storia i

pipistrelli sembrano aver subito più infezioni virali di ogni altro gruppo di mammiferi, anche da parte di specie che finora si credevano esclusive degli uccelli¹³. Questi studi potrebbero aiutarci a capire come mai i pipistrelli tollerano così bene i Coronavirus, e forse a trovare soluzioni per convivere meglio anche noi.

Monitoraggio e sorveglianza degli hot-spot, le aree da cui potrebbero originare nuovi spillover, si avvalgono di modelli predittivi e una serie di indicatori: ambientali, antropici, genetici, climatici, faunistici. I parametri considerati sono: distribuzione di mammiferi, copertura della foresta e deforestazione, densità della popolazione umana, occasioni di contatto fra uomo e animali selvatici (migratori) e consumo alimentare di questi ultimi, variazioni climatiche, densità delle aree coltivate e adibite a pascolo¹⁴.

Fra il 2015 e il 2017 venne segnalata hot-spot la provincia cinese di Hubei e le aree attorno alla città di Wuhan. La maggior concentrazione di aree a rischio è nelle regioni tropicali, anche per la notevole biodiversità della fauna selvatica.

Ma il parametro più importante da monitorare, per ora solo raramente eseguito, è l'evoluzione genetica di un virus: comincia ad occuparsene una collaborazione internazionale, il "*Global Virome Project*"; è stato delineato un programma ("*Predict/Usaid*"), con l'obiettivo di scoprire nuovi virus e sorvegliare quelli noti, attuandolo "a bocce ferme", con finalità preventive, per fornire dati e informazioni prima che origini uno spillover e possa scatenarsi una pandemia¹⁵. Ma molti spillover avvengono (apparentemente?) per caso o ci sfuggono le vere motivazioni e responsabilità umane.

Come SARS-CoV-2 si è diffuso nel mondo. Dal Paziente 1 a Wuhan alla Pandemia globale

La storia evolutiva del virus, l'indagine del genoma, le differenze e le mutazioni occorse fra ceppi, nelle diverse aree geografiche del mondo, contribuiscono a ricostruire i percorsi della sua diffusione globale, da dove è partito e quando è giunto in una determinata località, dunque tempi e itinerari del contagio. A oggi possiamo affermare quanto segue:

- In Cina è avvenuto lo spillover da una specie animale (verosimilmente un pipistrello) all'uomo, direttamente o tramite altre specie animali diverse e ancora non ben identificate.
- In Cina sono avvenuti i primi contagi interumani.
- Dalla Cina il virus si è diffuso in altre parti del mondo tramite viaggiatori infetti¹⁶.
- Con il passare del tempo, specie dopo Marzo 2020, il numero delle mutazioni è diminuito.
- La pandemia è stata generata e implementata dai contatti umani, non da mutazioni ripetute di un virus "wild": il che lascia supporre che poteva forse essere meglio contenuta adottando determinate misure prima e diffusamente, a iniziare dalla stessa Cina (test a tappeto, distanziamento sociale, adozione di barriere, limitazione o proibizione dei viaggi¹⁷).

In base a indagini epidemiologiche retrospettive e ad alcune mutazioni fatte risalire all'autunno 2019, in Cina l'infezione (paziente 1), sarebbe iniziata tra il 9 Ottobre e il 20 Dicembre, prima di quanto fu segnalato in seguito (il 31 Dicembre, le Autorità Sanitarie comunicarono la presenza di un focolaio a Wuhan di polmonite febbrile da agente sconosciuto¹⁸). Tra il 1 e il 21 Dicembre 2019 in Cina il virus si stava già diffondendo nella provincia di Hubei e nella città di Wuhan, per cui era lecito sin da allora parlare di epidemia: questo è quanto dicono alcune mutazioni rilevate sin dal 10 Dicembre¹⁹. Il 9 Gennaio 2020 il CDC cinese

comunica che l'agente patogeno è stato isolato e identificato in un nuovo Coronavirus, del quale è resa pubblica la sequenza genomica e l'11 Febbraio l'OMS ne annuncia l'inquadramento tassonomico: SARS-CoV-2 e chiama la nuova malattia Covid-19. Il 30 gennaio 2020 l'OMS dichiara che questa epidemia rappresenta un'emergenza internazionale di salute pubblica.

E poi....: Febbraio/Marzo, rilevazione dei primi casi di Covid-19 "out of China", la cui diffusione probabilmente era iniziata alcune settimane prima; 8 Marzo: inizio Lockdown in Italia; 11 Marzo: l'OMS dichiara pandemia la nuova infezione da SARS-CoV-2.

Infine, riportiamo alcune situazioni ormai dimostrate di come il virus si è diffuso tra l'inverno e la primavera 2020, in quella che definiamo (e come tale passerà alla storia) come "prima ondata". In Italia l'epidemia che ha colpito il nord del paese è iniziata da 2/3 contagi diversi, in Lombardia e Veneto²⁰. Negli USA sono entrate diverse varianti virali in momenti differenti, anche nell'ambito di un singolo stato, dunque portatori molteplici. Solo nello stato di Washington l'epidemia sarebbe da ricondurre ad un'unica variante virale. Comunque SARS-CoV-2 sarebbe giunto in Italia, mediante viaggiatori infettatisi in Asia, almeno due settimane prima che in America. Nella nave da crociera "Grand Princess", sono state rilevate ben 9 varianti virali tra passeggeri ed equipaggio, ma tutte originate da un unico ceppo portato sulla nave da un crocierista americano. In Iran, sembra che diverse varianti siano giunte nel paese da USA, Gran Bretagna e Australia²¹.

Origine e struttura di SARS-CoV-2

Il nuovo Coronavirus responsabile della malattia COVID-19 è stato tassonomicamente inquadrato nella famiglia Coronaviridae, sottofamiglia Orthocoronavirinae, genere Betacoronavirus, sottogenere Betacoronavirus Sarbecovirus²².

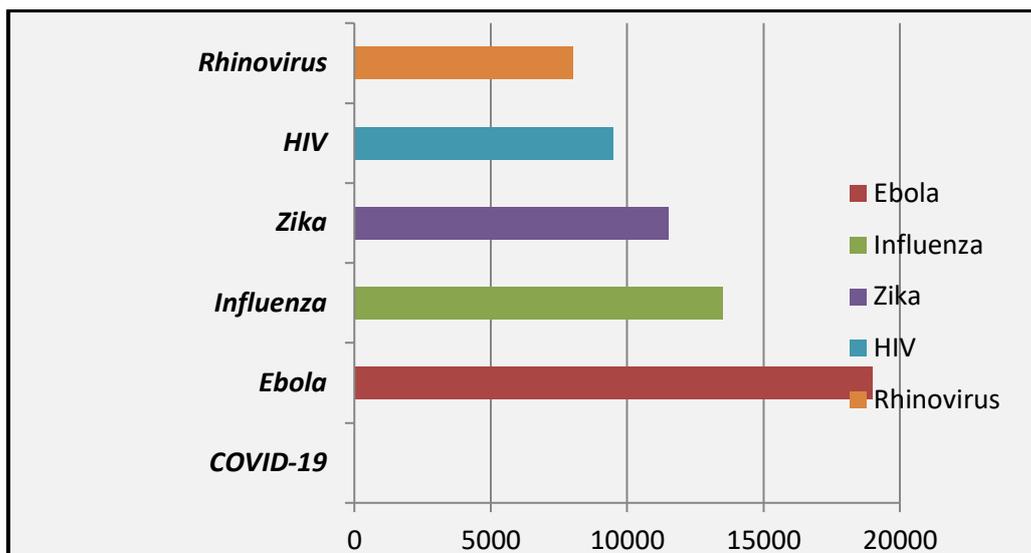


Fig. 1: Dimensioni dei principali virus a RNA: numero di basi. COVID-19: 29.891/903. Ebola: 19.000. Influenza: 13.500. Zika: 11.000. HIV: 9.200. Rhinovirus: 8.000.

È un virus a filamento positivo unico a RNA, tra i più grandi finora identificati (Fig. 1): le sue dimensioni e la complessità della struttura, che ora illustreremo brevemente, dovrebbero porre fine a polemiche e illazioni sul presunto allestimento di SARS-CoV-2 in laboratorio, a fronte di un'origine naturale; oggi non siamo ancora in grado di costruire virus minori e più semplici, come ad esempio i Rhinovirus, pertanto in vitro la genesi sintetica di un Coronavirus sfugge ancora alle nostre conoscenze e capacità tecnologiche. Purtroppo i mass-media, involontariamente (o no?) fanno disinformazione scientifica, scambiando il sequenziamento o l'editing genetico per la creazione ex novo di una struttura complessa.

Le dimensioni favoriscono, durante la replicazione, il verificarsi di errori di copia e mutazioni, ma SARS-CoV-2 possiede meccanismi di correzione-copie ed eliminazione di quelle difettose, assai frequenti nei virus a DNA ma insoliti in quelli a RNA. Dopo che la polimerasi RdRp ha agito per replicare l'RNA virale, l'enzima esonucleasi (ExoN) trova errori puntiformi e mutazioni casuali e li elimina dal nuovo filamento; è un meccanismo di correzione

che posseggono solo i virus grandi >20.000 basi.

Vi sono 6 geni accessori, ORF3a/6/7a/7b/8/10: tuttora piuttosto oscuri, forse sono la chiave per spiegare l'elusione del virus nei confronti del sistema immunitario dell'ospite²³.

Proteine strutturali. Sono essenziali per l'assemblaggio dei virioni e l'infettività delle particelle virali. Ricordiamo:

- S (Spike protein): è il fattore principale del tropismo del virus e del legame con le cellule infettate;
- M (Membrane protein): ha 3 domains transmembrana, modella i virioni, favorisce la curvatura della membrana e si lega al nucleocapside;
- E (Envelope protein): fondamentale per l'assemblaggio del virus e per il rilascio delle particelle virali;
- N (Nucleocapsid protein): ha 2 domains che legano l'RNA mediante meccanismi differenti e nsp3, impacchettando il genoma incapsidato ai virioni. È anche un antagonista di interferon e un repressore del sistema di "interferenza virale", con ottimizzazione della replicazione del virus.

Proteine non strutturali. 1-16, sono importanti nella replicazione e nel bloccare la risposta dell'immunità innata dell'ospite. Alcune di queste proteine, nsp1-2-3-5-16, come è stato chiaramente dimostrato, sono sicuramente implicate nei sistemi di immunoevasione del virus, che illustreremo più avanti nei meccanismi molecolari; in particolare, fondamentale è nsp3, che, in tutti i Coronavirus, inibisce la cascata di segnali che portano alla sintesi e/o all'attivazione degli Interferon tipo I e III, blocca la risposta immunitaria innata promuovendo la lisi cellulare e impedendo la traslazione dell'RNA dell'ospite, favorisce l'espressione di citochine proinfiammatorie e il clivaggio pre-attivazione delle poliproteine virali. In tutto questo, nsp3 SARS-CoV-2 si mostra più efficiente rispetto a SARS-CoV-1 e MERS²⁴.

Origine ed evoluzione. L'analisi genomica del virus dimostra una identità del 96% dei nucleotidi con un CoV isolato dai pipistrelli: BetaCoV/RaTG13/2013²⁵. Fra i pipistrelli, diverse specie dei *Rhinolophus* (ferro di cavallo) nel sud della Cina, sono un ricco reservoir di Cov-like-SARS, tra i quali il sub-genere Sarbecovirus: questi presentano una notevole variabilità genetica e frequenti episodi di ricombinazione, che possono incrementare le possibilità di trasmissione fra più specie anche di nuove varianti. È stata ricostruita la storia evolutiva del cluster cui appartiene il responsabile della pandemia attuale. In base alle analisi delle ricombinazioni e agli alberi filogenetici, abbiamo trovato che SARS-CoV-2 condivide un antenato comune (MRCA) con BetaCoV/RaTG13/2013, poiché entrambi i virus appartengono allo stesso cluster. Il cluster suddetto può essere l'esito di una evoluzione convergente o di complessi eventi di ricombinazione che hanno coinvolto almeno due specie virali con differenti storie evolutive. I due segmenti esterni del genoma di questo cluster virale, i cui nucleotidi vanno

da 1 a 13521 e da 23687 a 30079, sono simili a quelli di bat-SL-CoVZC45 e bat-SL-CoVZXC21²⁶, isolati in forme respiratorie SARS-like. Il primo segmento include ORF1a, il secondo la parte C terminale della proteina S, ORF3, E, M, ORF6, ORF7a, N, ORF10. Questi aspetti sono anche supportati dalla ricostruzione degli alberi filogenetici, in base ai quali i due segmenti esterni sono propri dei Sarbecovirus. Il segmento centrale (nucleotidi da 13522 a 23686) del genoma di SARS-CoV-2 e RaTG13 non appartiene ai cluster dei Sarbecovirus: forma invece un nuovo branch nell'albero filogenetico, localizzato tra i Sarbecovirus e Coronavirus non classificati. Inoltre, BRD della proteina S di questi 2 genomi condivide una similitudine di sequenza molto bassa. La divergenza indica una possibile fonte alternativa per la sequenza che codifica BRD nel nuovo virus²⁷. Sono infine state trovate sequenze CoV nel pangolino con similitudine dall'83 al 92% a quelle di SARS-CoV-2: questo lascia supporre che il pangolino sia (uno) dei possibili ospiti intermedi. Diviene pertanto indispensabile il monitoraggio e la sorveglianza virologica nei pipistrelli e altri animali selvatici.

Gli alberi filogenetici, comprese le sequenze della proteina Spike e mutazioni occorse, mostrano una forte similitudine tra i campioni isolati dall'uomo, indicando così una variazione genetica assai contenuta, che è un evento inaspettato nell'evoluzione dei virus a RNA²⁸. Tutto questo potrebbe essere la conseguenza di possedere, questi virus, lo stesso MRCA e di essere emersi recentemente. Studi ulteriori dimostrano che la fonte virale dello spillover è stata assai concentrata e persino limitata ad un singolo evento. Infine, la forte uguaglianza nelle sequenze provenienti da più isolati umani, indica una introduzione recente nella nostra specie. Si conferma inoltre come Wuhan sia stata l'epicentro dell'iniziale pandemia e non ci sono altre dimostrazioni convalidate di ulteriori fonti e origini di SARS-CoV-2.

Caratteristiche dell'infezione. I pipistrelli sono verosimilmente gli ospiti naturali e il reservoir d'origine di SARS-CoV-2, che in seguito ha avuto un passaggio evolutivo di adattamento in ospiti intermedi, prima di infettare l'uomo, quale fonte concentrata di trasmissione. Il rapporto filogenetico fortemente ristretto con RaTG13 sostiene, in maniera praticamente definitiva, queste osservazioni.

L'identità nelle sequenze genomiche fra SARS-CoV-2 e, rispettivamente, SARS-CoV-1 e MERS è del 79/88% e 50%. L'indice di riproduzione (R_0) basale di SARS-CoV-2 va da 2 a 3.5, assai superiore a quelli di SARS-CoV-1 e MERS. L'analisi filodinamica basata su 52 sequenze genomiche di SARS-CoV-2, provenienti da campioni raccolti e testati in diverse regioni del mondo da GISAID, evidenzia un tasso evolutivo stimato medio, pari a 7.8×10^{-4} subs/site/year (range 1.1×10^{-4} to 15×10^{-4}), in linea con quelli di SARS-CoV-1 e MERS e degli altri betacoronavirus²⁹.

Le informazioni sulle variazioni del virus hanno un forte impatto biologico e clinico in tema di prevenzione, diagnosi e terapia dell'infezione. L'analisi genomica dimostra una robusta associazione tra il momento di raccolta dei campioni, il luogo e l'accumulo di mutazioni, nonché le dinamiche dell'evoluzione dei sottotipi e la comparsa e la persistenza di nuove varianti antigeniche. Tra le mutazioni rilevate, il 40% sono missense, il 45% sinonimi, il 12% a carico di alleli non codificanti, il 3% delezioni; quelle più frequenti riguardano i geni ORF1ab, ORF8, S e N. Le mutazioni condizionano l'infettività e la diffusione di SARS-CoV-2³⁰.

I pazienti affetti da SARS-CoV-1 e MERS trasmettevano il virus perlopiù in fase sintomatica; nel caso di SARS-CoV-2 il contagio può avvenire anche da asintomatici³¹. Le cellule infettate, soprattutto elementi dell'epitelio respiratorio e gastrointestinale, o muoiono per esaurimento delle proprie risorse molecolari,

sfruttate dal virus per la replicazione, o lisate dal sistema immunitario dell'ospite³².

Le tre fasi dell'infezione di una cellula^{33, 34}

1) Interazione con una cellula polmonare. Dopo il legame fra proteina spike (regione BRD) del virus e recettore ACE-2 del pneumocita, una proteasi di quest'ultimo (TMPRSS2) taglia la testa dello spike e viene rilasciato il macchinario di fusione che è compreso nel gambo della stessa proteina spike.

2) Ingresso nella cellula polmonare del materiale virale. Il macchinario di fusione si dispiega, si incunea nella membrana cellulare, determina l'aderenza fra l'involucro esterno del virus e la membrana cellulare; le due pareti vengono poi divaricate, in modo che si formi un canale attraverso il quale RNA e proteine virali entrano nella cellula dell'ospite.

3) Replicazione e uscita dalla cellula ospite. Sono una ventina le proteine essenziali: alcune modellano il reticolo endoplasmatico per formare vescicole protettive, altre servono ad assemblare le nuove particelle che fuoriescono dalla cellula; mediante la polimerasi è copiato l'RNA, nelle vescicole; la proteina N si lega all'RNA per stabilizzarlo; S, M e E sono proteine strutturali essenziali. L'uscita dei nuovi virus avviene con un meccanismo quasi simile a quello dell'ingresso, con adesione delle due membrane, formazione di canali e rilascio^{35, 36}.

Proteina Spike, recettore ACE2 e corecettori. Il gene che codifica per la proteina Spike di SARS-CoV-2 diverge da tutti quelli precedentemente descritti nei Coronavirus, SARS-CoV-1 incluso, con identità di sequenza che non supera il 75%, ad eccezione di RaTG13, 93.1%. Le regioni BRD (Receptor-binding Domain) di SARS-CoV-1 e 2 sono invece piuttosto simili. I due virus infettano le cellule dell'ospite tramite il recettore ACE2. Cd26, che è utilizzato da MERS-CoV, può comportarsi da co-recettore

nell'infezione da SARS-CoV-2, mentre Cd147 è un co-fattore di legame addizionale e necessario con Spike. Tuttavia l'affinità di legame fra proteina Spike e recettore ACE2 è 10/20 volte maggiore nel virus attuale rispetto a SARS-CoV-1 (BRD del nuovo Coronavirus ha una conformazione ad un tempo più compatta e flessibile, per cui l'interfaccia BRD/ACE2 ne risulta maggiormente stabilizzata); tutto ciò suggerisce che SARS-CoV-2 sia molto più infettante del suo predecessore³⁷.

Esiste una bassa barriera di specie per la trasmissione del virus dagli animali selvatici a quelli domestici, infine agli uomini, evidenziata da un discreto grado di omologia dei recettori dell'ospite che legano BRD della proteina Spike di SARS-CoV-1/2.

SARS-CoV-2 ha un'unica sequenza ripetuta RRAR nella proteina Spike che non è stata trovata nei Coronavirus isolati dai pangolini, il che contribuisce ad indicare che il virus non proviene direttamente da questo animale.

Nella proteina Spike sono state trovate diverse mutazioni, di cui 3 (D³⁵⁴, Y³⁶⁴, e F³⁶⁷) localizzate in BRD; ciò suggerisce che il virus può evolvere rapidamente per eludere la risposta immune e adattarsi, in futuro, ad altri, nuovi ospiti.

I ceppi portatori della mutazione S-D614G³⁸ possono essere più virulenti, aumentando la gravità della malattia nei soggetti infettati, specie in Europa, ove la mutazione è preminente, e il tasso di mortalità. Il dato è stato confermato dal raffronto tra pazienti con malattia a bassa, media e alta gravità: in quest'ultimo gruppo la mutazione è più frequente. S-D614G è particolarmente diffusa in Europa occidentale: Belgio, Spagna, Italia, Francia, Paesi Bassi e Svizzera.

Le mutazioni nella proteina Spike, come S-D614G, causano modifiche conformazionali che cambiano la sua antigenicità, verosimilmente simulando uno stato di

apertura permanente dei siti critici di legame e facilitando l'esposizione e il clivaggio di questi da parte delle proteasi, FURINA o TMPRSS2; in questo modo il clivaggio e il taglio della testa di Spike è anticipato e troppo rapido.

Alcuni polimorfismi (SNP's) di ACE2 (ne sono stati descritti almeno 30 con impatto clinico accertato) possono essere un fattore di rischio nell'infezione da SARS-CoV-2, condizionarne il decorso e interferire con la risposta dei singoli pazienti, soprattutto anziani, ai trattamenti della sintomatologia legata alla sindrome acuta da distress respiratorio (ARDS). Importante è anche il rapporto fra i diversi tipi di recettori ACE2 (AT1 e AT2); morbilità, decorso della malattia e mortalità possono essere condizionati in senso negativo, in Europa, dall'allele ACE1-D, assai frequente. I ricercatori si chiedono se il doppio cromosoma X nelle donne sia un fattore protettivo nei confronti del virus e in corso di malattia, rispetto agli uomini che ne posseggono solo uno. Il gene ACE1 è presente sul cromosoma 17, mentre il gene ACE-2 si trova sul cromosoma X, pertanto le donne ne hanno una doppia copia. Sul cromosoma X si trovano anche i geni che codificano per numerosi fattori dell'immunità innata³⁹⁻⁴².

Infettività e replicazione dei Coronavirus patogeni.

Mediante indagini immunoistochimiche condotte su cellule ciliate, muco-secerenti e di Clara dell'epitelio bronchiale, pneumociti tipo I, mucosa congiuntivale infettati da SARS-CoV1 e 2, MERS e alcuni virus influenzali, è stato effettuato un raffronto tra il grado di infettività e la capacità di replicazione dei diversi virus respiratori. Si ottengono indicazioni importanti sulle vie di penetrazione nell'ospite e gli steps iniziali del complesso processo patogenetico.

Nei bronchi: SARS-CoV-2 e MERS replicano parimenti, ma maggiormente di SARS-CoV-1 e meno di H1N1. Nei polmoni: il

grado di replicazione di SARS-CoV-1 e2 e H1N1 è uguale, ma inferiore a MERS. Nella congiuntiva il grado di infettività e replicazione del nuovo virus supera quello di tutti gli altri esaminati⁴³. Infine, SARS-CoV-2 è un potente induttore di citochine proinfiammatorie, superando di gran lunga i Coronavirus e i virus influenzali conosciuti⁴⁴.

La risposta immune

Immunità innata. A seguito di un'infezione virale, comprese quelle da Coronavirus, è indotta la sintesi e il rilascio di Interferon (IFN) tipo I (alfa/beta) e tipo III (lambda), che reclutano e attivano centinaia di molecole con potenzialità anti-virale e mediano l'innescamento della reazione immune adattiva. L'acido nucleico (RNA) del genoma dei Cov è riconosciuto innanzitutto da due gruppi di recettori appartenenti a PRRs (Pattern Recognition Receptors), TLRs e RIG1: entrambi individuano anche diverse altre componenti virali, generano e conducono a valle una serie di segnali molecolari il cui esito finale è la produzione di IFN e di citochine proinfiammatorie⁴⁵, attraverso l'attivazione di fattori di trascrizione, quali IRF3 (specifico per IFN), IRF7 e NF-kappaB.

I TLRs coinvolti nelle infezioni da CoV sono 3, 4 e 7: TLR3 riconosce l'RNA a doppia elica, TLR7 a singola elica, mentre il ligando di TLR4 rimane sconosciuto. TLR3 e 4 attivano la molecola "*adaptor-TIR-domain-containing-adaptor-inducing-interferon-Beta*" o TRIF, mentre tutti gli altri attivano la molecola "*Myeloid differentiation primary response 88*" o MyD88. Di tutti questi fattori si conoscono varianti genetiche, che possono predisporre a una maggior suscettibilità e a quadri più gravi d'infezione, come già dimostrato per Herpes Simplex e Influenza, in presenza di mutazioni di TLRs, RIG 1 e IRF; potrebbe accadere lo stesso nel caso dei CoV.

Nella cascata di segnali e attivazioni, TRIF e MyD88 (quest'ultimo con l'interposizione di IRAK) attivano la molecola TBK1 (*TANK-binding-kinase*), che infine attiva IRF3 e 7 e

NF-kappaB: il risultato finale è la produzione di IFN e citochine proinfiammatorie. TBK1 può essere attivato anche dalla molecola MAVS (*Adaptor-Molecules-Mitochondrial-Antiviral-Signalling-Protein*), che è innescata dai recettori RIG1 e MDAS, in grado di riconoscere RNA, rispettivamente, corti e lunghi.

Una risposta cito/chemochinica aberrante, da esagerata immunoreazione infiammatoria, è simile nelle tre principali infezioni umane da Cov. Un irregolare e alterato controllo della replicazione virale può condurre ad una risposta immuno-infiammatoria eccessiva e a danni patologici immuno-dipendenti d'organo e/o sistemici durante le fasi successive dell'infezione⁴⁶. MyD88 e IRAK4 sono quantitativamente e funzionalmente sovrabbondanti in corso di risposta immune antivirale nell'uomo.

Mentre i TLRs riconoscono strutture virali situate entro gli endosomi, altri recettori, come RIG1, legano molecole virali nel citosol della cellula ospite.

I CoV, incluso SARS-CoV-2, adottano diverse strategie per eludere la ricognizione dei recettori, contrastare la cascata successiva di invio e trasmissione dei segnali intracellulari e l'attivazione immune (vedi oltre). Rimangono tuttavia diversi punti oscuri riguardo i meccanismi di immunoevasione del virus, legati anche all'attività di quelle proteine accessorie che devono ancora essere studiate in modo approfondito.

Tra gli eccessi della risposta immunitaria, e il successivo danno d'organo, specie a livello polmonare, citiamo l'iper-attivazione ed espressione delle componenti dell'inflammasoma. Numerose proteine virali, E, ORF-8b e viroporina 3a, iperstimolano almeno 3 componenti proteiche dell'inflammasoma (NLRP3): ne consegue un preciso, severo quadro clinico caratterizzato da neutrofilia (la cui entità ben

correla con la gravità di COVID-19), danno d'organo esteso al polmone, ma non solo, poli-micro-trombosi e altre turbe della coagulazione, insufficienza respiratoria e alta mortalità^{47, 48}.

IFNs I e III sono i principali effettori della risposta immune innata antivirale, e il nuovo virus è fortemente suscettibile a questi potenti mediatori, come dimostra l'inibizione della replicazione virale qualora sia possibile somministrare IFN come trattamento terapeutico. Tuttavia il virus è in grado di limitare la quota di IFN prodotta, specie tipo I e di subordinarla nel tempo al rilascio delle citochine proinfiammatorie. Inoltre le cellule alveolari rispondono poco all'azione della molecola.

SARS-CoV-2 replica efficacemente nei tessuti bronco-polmonari, eludendo l'azione antivirale degli IFNs e degli altri meccanismi cellulari e umorali dell'immunità innata. A seguito dell'infezione, comunque, sono prodotte in varia misura citochine che reclutano le cellule dell'immunità adattiva. Le citochine pro-infiammatorie, specie IL1 β e IL6, sono rilasciate prevalentemente dai macrofagi, attivati dagli IFNs e in grado di auto mantenere e auto amplificare lo stato di iperattività, che in sostanza diviene input e caratteristica cruciale della "cytokine storm"^{49, 50}.

Numerose le chemochine prodotte, nell'ambito della risposta infiammatoria, per reclutare cellule immunocompetenti, perlopiù da monociti-macrofagi: CXCL17, specifica di questa infezione e non di altre da CoV; CXCL1/2/8, che reclutano neutrofili; CXCR2, recettore delle 3 precedenti chemochine; CCL2 e CCL7, che reclutano monociti; CXCL10, CCL3,4 e 8, CXCL9 e 16; infine CCL5 o RANTES, significativamente elevata, sin dai primi stadi dell'infezione, nelle forme lievi/medie, ma non in quelle severe^{51, 52}. Sono incrementati, anch'essi sin dalle fasi precoci, mediatori inibitori e antagonisti, quali IL10 e IL1RA, in misura

proporzionale alla gravità dell'infezione; la combinazione dei livelli di RANTES, IL10 e IL1RA può essere impiegata, secondo diversi Autori, come indice predittivo per l'evoluzione di Covid-19. È stato recentemente osservato che, nei pazienti con forme severe di Covid-19, specie se anziani, caratterizzati da marcata "cytokine storm", una particolare sottopopolazione di monociti, poi differenziati in macrofagi, a livello polmonare, è particolarmente aumentata: sono i cosiddetti Cd14+Cd16+ o monociti intermedi, di norma solo il 5% del totale, che in questa situazione particolare possono raggiungere anche il 50%, dunque preminenti rispetto ai Cd14+Cd16- (classici) e Cd14-Cd16+ (non-classici)⁵³. Esprimono anche diversi marker HLADr. Questi monociti non solo si differenziano in macrofagi tissutali, ma producono grandi quantità di citochine proinfiammatorie, IL1 β e IL6⁵⁴.

T-reg. Riguardo la congerie di cellule regolatorie e numerose funzioni loro attribuite, sono stati pubblicati contributi anche fra loro contrastanti, che non aiutano a fare chiarezza su questi delicati passaggi dell'immunità in corso di Covid-19. Sicuramente le T-reg giocano un ruolo cruciale nel sopprimere una risposta immunitaria eccessiva e protratta verso i patogeni, inoltre nelle mucose respiratorie agiscono come cellule effettrici soppressorie nei meccanismi di danneggiamento tissutale⁵⁵. È dimostrato che nelle infezioni virali delle vie aeree, le cellule T-reg possono limitare gli effetti immunopatogeni sul polmone. I meccanismi molecolari coinvolti nella regolazione e nell'espressione di FOXP3 nella risposta antigene-specifica delle T-reg nell'infezione da Covid-19 rimangono oscuri e ulteriori studi saranno necessari per ipotizzare un'eventuale applicabilità in campo clinico. Un decremento delle T-reg circolanti (Cd3+Cd4+Cd25+Cd127^{low+}) rientra nel quadro della grave linfopenia osservata nell'infezione da SARS-CoV-2.

Transizione immunità innata / immunità adattiva e intervento di quest'ultima nell'infezione da SARS-CoV-2. È una fase critica per l'evoluzione biologica e clinica dell'infezione e le strategie adottate dall'ospite per contrastarla; è in questo momento cruciale, che gli eventi immunoregolatori, peraltro poco conosciuti, possono portare sia ad una risposta immunitaria protettiva, che ad un'esacerbazione della reazione infiammatoria. La prima, T-dipendente, si manifesta mediante cellule effettrici Cd4+, che cooperano con i B, guidando la produzione di anticorpi specifici neutralizzanti, e Cd8+ citotossici, in grado di eliminare le cellule dell'ospite infettate. Nel secondo caso, una risposta disfunzionale, non in grado di inibire la replicazione virale e l'eliminazione delle cellule infettate, può sfociare in una reazione infiammatoria "off control" con i quadri della "cytokine storm", dell'ARDS e della DIC^{56, 57}.

In modelli sperimentali animali, la replicazione del virus nei polmoni è massima fino al decimo giorno dopo l'infezione, mentre la reazione infiammatoria d'organo e sistemica ha il suo acme tra il 14° e il 28° giorno ed è bifasica: precoce, virus-dipendente, tardiva, immuno-dipendente ma virus-sganciata. Non sappiamo in qual misura questo modello trovi corrispondenza anche nell'uomo.

Interazione e transizione incongrue tra immunità innata e adattiva, peraltro non ben conosciute, sembrano essere cause potenziali per l'evoluzione verso forme severe di malattia, fino ad un esito infausto; in particolare, una mancata corrispondenza temporale (leggi: ritardo) nella transizione dall'immunità innata a quella adattiva, può avere un forte impatto negativo sulla progressione di Covid-19. La risposta immune adattiva, di solito, si manifesta già in maniera evidente prima del raggiungimento del picco della carica virale, al contrario di quanto avviene in corso di infezione da virus

influenzali. Un ritardo nella transizione espone a ulteriori danni a livello polmonare, con persistenza dei meccanismi che comportano la deplezione delle cellule epiteliali.

Per quanto riguarda la produzione degli anticorpi, numerose sono le questioni irrisolte: quali sono gli antigeni più immunogeni e le differenze nel grado di neutralizzazione; la possibilità o meno di una cross-reattività con le precedenti infezioni da coronavirus (SARS-CoV-1 e MERS) e se queste possano conferire una qualche immunità verso il nuovo virus (vedi oltre); tempi di durata e azione neutralizzante da parte degli anticorpi naturali e/o ottenuti mediante vaccino; persistenza delle cellule della memoria; possibilità di reinfezioni e riemergenza del virus in soggetti già infettati^{58, 59}.

Durante l'infezione da SARS-CoV-2, osserviamo neutrofilia e linfopenia globale, che coinvolge Cd4+ e Cd8+, in particolare quelli IFN γ + e IFN γ R+, regolatori e cloni della memoria. Nei pazienti con malattia severa, rispetto a quelli con forme lievi o intermedie, l'entità della riduzione dei subset T è decisamente più marcata e si protrae più a lungo, anche per diverse settimane. Contemporaneamente sono fortemente incrementate le citochine pro-infiammatorie: IL1 β , IL6, IL8 e TNF α , che caratterizzano il quadro della "cytokine storm" e dell'ARDS.

L'imponente linfopenia, che distingue le infezioni da Coronavirus dalla maggioranza delle altre infezioni virali⁶⁰, soggiace a diverse cause: infezione diretta dei linfociti da parte del virus e loro morte; danneggiamento e infezione del midollo e del timo, con conseguente rilascio di cellule in misura ridotta o disfunzionanti; promozione dell'apoptosi dei linfociti da parte delle citochine infiammatorie; sequestro e trapping dei linfociti nei tessuti danneggiati. Il rapporto neutrofili/linfociti, spostato a favore dei primi, in maniera tanto più marcata quanto più severo è il quadro clinico, è stato

proposto come indice prognostico in corso di infezione: più è elevato, maggiormente infausta è la prognosi.

Le cellule T provenienti da pazienti COVID+ mostrano diverse alterazioni, che coinvolgono gli elementi naive, quelli centrali ed effettori della memoria, le cellule funzionalmente differenziate, così come quelle T regolatorie; alterazioni significative si riscontrano, in diverse linee cellulari, a carico dei fattori di trascrizione e dei recettori per le chemochine. Le cellule T ben differenziate proliferano meno rispetto a quelle di soggetti sani. È stato evidenziato un netto incremento dei marker di esaurimento funzionale delle cellule immunocompetenti e di morte programmata, soprattutto se provenienti da pazienti con malattia severa e/o protratta, quali PD1, NKG2A, CTLA4+, TIGIT+ e Tim-3; da queste cellule (neutrofili, macrofagi, linfociti) si liberano molecole quali granzyme e perforina, tossiche per i tessuti dell'ospite, alveoli, in particolare, non solo per i microrganismi. Le cellule Cd8+, importanti nella clearance e nella lisi dei virus respiratori e delle cellule infettate, come detto, sono deficitarie, per cui l'eliminazione delle particelle virali e di debris è compromessa⁶¹.

Studi sperimentali recenti hanno dimostrato che le cellule T, tanto cloni Cd4+, quanto Cd8+, tramite TCR, rispondono ai segnali di attivazione degli interferon tipo I e III, sottolineando i rapporti e la transizione fra immunità innata e adattiva. Nei pazienti in convalescenza o già guariti, le cellule T riprendono i marker di attivazione e, soprattutto, aumentano i cloni della memoria, tanto centrali quanto effettori; questi indici si manifestano in modo effimero o affatto nel caso di malattia protratta e nelle forme più severe con ARDS⁶².

La risposta anticorpale si manifesta fra i 10 e i 14 giorni dopo l'infezione, IgM+/-IgA e IgG sono prodotte in successione o quasi contemporaneamente e sono rivolte verso antigeni delle proteine nucleari ma soprattutto verso componenti epitopici della

proteina Spike: questi ultimi in particolare sono di tipo neutralizzante⁶³. La produzione di IgA a livello delle mucose respiratorie è precoce, tuttavia le evidenze dimostrano non essere in grado di contrastare in modo risolutivo nessuna delle azioni del virus contro le cellule e i tessuti dell'ospite, dall'esibizione della proteina Spike, al contatto coi recettori cellulari, all'entrata nei pneumociti, ai danni diretti e indiretti provocati nei tessuti.

La durata della protezione immune naturale, anticorpo-dipendente, così come la possibilità di reinfezioni, dipendono dalla funzionalità delle memory cells, B e T, spesso compromessa, ma anche dalle mutazioni dei ceppi infettanti; di tutti questi aspetti e delle loro interconnessioni in realtà ne sappiamo ancora assai poco.

Mentre nel sangue periferico osserviamo neutrofilia e linfopenia globale, nei tessuti sede di infiammazione e lesione l'infiltrato cellulare è composto prevalentemente da macrofagi e linfociti, in particolare Cd8+citotossici.

Carica virale e risposta immunitaria.

La maggioranza dei pazienti con malattia grave (ARDS, ventilazione meccanica) presenta un'alta carica virale non solo nei polmoni, ma anche in altri tessuti, ancora a 20-40 giorni dall'inizio dell'infezione; al contrario, i pazienti con malattia lieve o intermedia, a dieci giorni dall'esordio dell'infezione hanno una carica virale residua solo nelle vie respiratorie, che si estingue non oltre le due settimane. Vi è una significativa differenza nella risposta anticorpale: la presenza di IgM è da subito elevata nei pazienti seri, poco rimarchevole in quelli meno gravi, mentre non vi sono differenze fra i due gruppi per quanto riguarda le IgG, che presentano un titolo rilevabile di anticorpi con capacità neutralizzante già a 10 giorni, un picco fra 20-30 che rimane tale anche fino a 40 giorni, quando inizia a declinare⁶⁴.

Per riprendere il discorso, già accennato, delle interazioni fra anticorpi indotti a seguito di diverse infezioni da CoV, è stata evidenziata una cross-reattività fra anticorpi di pazienti con SARS1 e 2, ma non fra quest'ultima e la MERS; sieri di soggetti che hanno avuto SARS1, neutralizzano particelle virali di soggetti con l'infezione attuale, ma, da evidenze preliminari, in misura molto limitata e con scarsissimo effetto terapeutico, mentre da pazienti MERS+ l'effetto è nullo.

Immuno-evasione dei Coronavirus.

Diversi i meccanismi adottati dai Coronavirus per eludere le risposte immunitarie dell'ospite, anche con strategie complesse di mimetizzazione, antagonizzazione e interazioni molecolari raffinate. Ecco alcune, necessariamente non esaustive, che interessano anche SARS-CoV-2⁶⁵:

- Spike può rivestirsi di glicani e altri carboidrati: la nuova molecola non solo non viene riconosciuta dagli anticorpi neutralizzanti, ma, per il maggior peso acquisito, diviene instabile e oscilla tanto da impedire fisicamente il legame antigene-anticorpo⁶⁶;
- nelle APC (c. dendritiche, macrofagi infettati) le particelle virali sono in grado di inibire il rilascio di IFN γ e IL12, dunque i mediatori dell'immunità cellulare. SARS-CoV-2 si differenzia dai virus influenzali, la cui infezione è caratterizzata da iperespressione dei geni MHC I classe e codificanti citochine antivirali e fattori del complemento;
- il virus, entrato nella cellula ospite, è incluso in vescicole delimitate da una doppia membrana, che si comporta da scudo alla ricognizione dei PRR, specie quelli che interagiscono con l'RNA; nelle membrane vescicolari vengono inserite molecole simili a strutture della cellula, sì che, riconosciute come self, eludono le prime interazioni con l'immunità naturale

dell'ospite, un vero meccanismo di mimetizzazione. Il percorso molecolare è guidato dalle nsp14, che iniziano l'incapsulamento virale e successivamente modificano la struttura dell'involucro mediante le informazioni di geni del proprio RNA e l'azione guidata di nsp16⁶⁷;

- SARS-CoV-2 ha almeno 8 proteine, perlopiù nsp o accessorie, in grado di bloccare l'interferon a vari livelli, dalla sintesi alle azioni effettrici. Nsp1 è un gruppo di proteine che può sopprimere l'attività di IFN tipol attraverso l'inattivazione del macchinario traslazionale dell'ospite, la degradazione dell'RNA dell'ospite stesso e l'inibizione della fosforilazione di STAT1. Tutte queste strategie provocano il fallimento di IFN tipol nella sua azione anti-virale e, di conseguenza, una replicazione e disseminazione del virus più accentuata sin dalle fasi iniziali e, infine, una malattia di maggior severità⁶⁸;
- Nsp3 promuove il clivaggio delle poliproteine virali, funzione specifica che SARS-CoV-1 e MERS non hanno (forse sostituita da DUB, deubiquitina, un enzima che anche il nuovo virus possiede); sia DUB che le poliproteine virali, attivate, sono antagonisti degli interferon;
- un segmento genico localizzato in ORF3b antagonizza anch'esso IFN mediante l'inibizione dei suoi segnali e provoca la mancata attivazione di tutte quelle cellule e mediatori che, a cascata, sono regolati da IFN come inibitori della replicazione virale, che pertanto ne risulta svincolata e può incrementare. In ORF6 un altro gene provoca la disattivazione delle attività connesse con il fattore STAT1.

A conclusione del capitolo, riportiamo nella sottostante Tab. 1 il profilo citochinico e linfocitario che osserviamo nel sangue periferico in pazienti affetti da COVID-19 di medio/grave severità.

CITOCHINE	> IL2, IL2R, IL6, IL7, IL10, GSCF, IP10, MCP1, MIP1A, TNF α , IL1 β	< Interferon- γ
LINFOCITI	>Cd4+/45Ro+, Cd4+Cd25+ e HLADR	< Cd4+ e Cd8+, specie quelli esprimenti R-IFN γ , Cd19+, γ/δ , Nkcells, Treg Cd25+, Cd28+ e Cd69+ in Cd4+ e Cd8+

Tab. 1: Profilo citochinico e linfocitario nel sangue periferico in pazienti affetti da COVID-19 di medio/grave severità.

Suscettibilità e resistenza a Covid-19: fattori congeniti e acquisiti che predispongono all'infezione

Nella popolazione generale naive, una parte diviene sintomatica qualora infettata. Quadri severi tendono a verificarsi negli anziani o in quei pazienti che presentano comorbidità. Comunque, casi gravi, rari, possono verificarsi anche tra i giovani e nell'età di mezzo, con o senza senza comorbidità: è stato ipotizzato che vi siano (con)cause monogeniche. La maggioranza della popolazione, quando infettata, rimane asintomatica, resistente al virus, sieronegativa, anche se successivamente esposta più volte: in queste situazioni vi sono senz'altro fattori genetici genericamente "protettivi" e "condizionanti". Non riportiamo volutamente percentuali, in quanto molto variabili a seconda dell'età, del sesso, dei ceppi infettanti, delle aree geografiche, tra prima e seconda ondata pandemica. In questo capitolo prendiamo in considerazione alcune delle cause monogeniche che condizionano la suscettibilità o la resistenza al virus, determinando, la prima, una malattia medio-grave con frequenza legata anche all'età del paziente, la seconda, una condizione di non-infettività, pur esposti a più ceppi e in più occasioni.

Ogni variante genetica che provoca una disregolazione o un'amplificazione della risposta immunitaria, può contribuire ai danni immuno-dipendenti del polmone e altri organi e alle più gravi manifestazioni cliniche che mettono a rischio la vita del paziente⁶⁹.

Manifestazioni congenite.

- SNPs dei geni OAS1 e MX1 (alcuni, ma non i soli, che presiedono all'induzione di interferon tipo I), possono determinare scarsa o assente sintesi della molecola, condizione che si associa ad un aumento della suscettibilità a contrarre l'infezione da SARS-CoV-2 e a sviluppare forme gravi.
- Mutazioni dei recettori nell'ambito dei PRR e delle molecole che, in seguito alla ricognizione del virus, sono coinvolte nella conduzione intracellulare dei segnali: sia l'interazione PRR-virus che la cascata di signalling subiscono alterazioni o interruzioni. Sono state descritte mutazioni riguardanti RIG1, MDA5 e TLR3; a valle, nella cascata dei messaggeri, IRF3 e 7 e le molecole implicate nelle funzioni effettrici degli interferon tipo I e III, quali IFNAR1/2; infine, altri trasduttori di segnali, il sistema Janus-kinase (JAK) e il trasduttore-attivatore dei segnali di trascrizione, STAT.
- Deficit congenito di MBL (lectina legante il mannosio), recettore del PRR che riconosce e lega carboidrati della superficie di virus e batteri, innescando la cascata complementare; una carenza del recettore espone le cellule all'azione del microrganismo e a danni immunopatogeni, privandole della protezione del sistema del complemento e di un'adeguata fagocitosi.
- Immunodeficienze congenite, specie CVID e agammaglobulinemie, predispongono all'infezione da SARS-CoV-2 e alle forme più gravi.

- HLA: diversi alplotipi e varianti, frequenti in determinate popolazioni, sono stati messi in relazione ad una maggior suscettibilità o resistenza a contrarre l'infezione e a quadri clinici particolari (vedi Tab. 2).
- Gruppi sanguigni ABO: A è correlato ad un maggior rischio di contrarre l'infezione, O con forme più lievi.
- Inflammasoma: diversi geni (NLRP1, NLRP3, CASP1 e MEV1) implicati nella sintesi di proteine dell'inflammasoma, in seguito a mutazioni, sono iper o ipo-espressi, aumentando o riducendo gli effetti delle molecole da loro codificate.
- Molecole recettoriali per SARS-CoV-2 (e altri CoV) sulla superficie delle cellule umane: ACE2 presenta diverse varianti polimorfiche, che rendono le cellule più resistenti al virus, in analogia a quanto si osserva nella mutazione delta32 di CCR5 omozigote nei confronti di HIV. Più rara appare la situazione opposta, presenza di polimorfismi che accrescono la capacità recettoriale di ACE2 con conseguenti Nelle Tab. 2 e 3 abbiamo sintetizzato alcuni di questi elementi⁷⁰⁻⁷².

Manifestazioni acquisite. Tutti gli eventi etichettati come genericamente immunodepressivi, specie a carico delle cellule T, HIV, malattie autoimmuni, dismetaboliche, croniche e tumori causano una maggior suscettibilità a contrarre le infezioni virali e/o aggravarne il quadro clinico. Importante è il fattore età, considerando che con l'accrescere dell'età anagrafica e biologica declinano diverse funzioni immunitarie e i complessi meccanismi di regolazione.

Risposta infiammatoria e genere

Diverse osservazioni cliniche dimostrano come vi sia una differenza sostanzialmente significativa nella mortalità per Covid-19 tra uomini e donne: nei primi è superiore, e in tutto il mondo. La suscettibilità a SARS-CoV-2 legata al genere è dovuta alle differenze fra i due sessi dell'immunità, sia innata che adattiva. Anche in altre situazioni

infiammatorie, come le sepsi batteriche, le donne sopravvivono di più e meglio. Sebbene uomini e donne reagiscano con le stesse armi, mediante l'infiammazione, ai patogeni, le donne risolvono la fase acuta e prevengono l'iperinfiammazione, compresa la *cytokine storm*, meglio degli uomini. Questa capacità delle donne di modulare l'infiammazione senza compromettere la risposta immune innata e adattiva in parte è dovuta ad una produzione più regolata di mediatori specializzati come lipoxine, protectine, resolvine e maresine. Dopo legame fra recettori di superficie (TLR) e diversi ligandi, l'uomo rilascia aliquote maggiori di citochine pro-infiammatorie, scatenando una risposta esagerata più facilmente delle donne.

Il cromosoma X gioca un ruolo chiave nell'induzione e nella risoluzione dell'infiammazione, in quanto molti mediatori coinvolti nella risposta immune sono codificati da geni siti in questo cromosoma: TLRs, CD40L e proteine associate al pattern di segnale di NF-Kb⁷³. Sebbene gran parte di uno dei due cromosomi X nella donna sia a random inattivato da processi di metilazione, il 15% dei geni del cromosoma X inattivo evita la metilazione, aumentando di fatto l'attività complessiva delle proteine legate a X nella donna in confronto all'uomo. Le donne sono composte da un mosaico di cellule derivanti dai cromosomi X paterno e materno, il che determina e conferisce loro un maggior polimorfismo di risposte immuni, nonché una miglior modulazione nella reazione infiammatoria mediante il rilascio di aliquote congrue di mediatori e una migliore e più efficace risposta T e B, rispetto agli uomini. Dato che i marker d'infiammazione sono significativamente diversi tra ragazzi e ragazze in età prepubere, gli eterocromosomi appaiono ben più importanti degli ormoni sessuali in corso di flogosi. Queste nozioni sono state ben supportate dai dati offerti dalle malattie X-correlate; nella sindrome di Turner, i cui soggetti sono fenotipicamente

donne ma con un cromosoma X, la risposta infiammatoria è simile a quella dei maschi; nella sindrome di Klinefelter, i pazienti, fenotipicamente maschi e con alti livelli di testosterone, ma con due cromosomi X come le femmine, hanno una risposta infiammatoria come queste ultime. Il mosaicismo dei geni X-relati sui cromosomi omologhi condiziona l'espressione del pattern di segnalazione dei TLRs⁷⁴. Pertanto, la secrezione più bilanciata di citochine pro-infiammatorie nelle donne, così come la capacità di risolvere meglio un processo infiammatorio, sono indiziate per un deciso effetto protettivo in corso di gravi infezioni, quale una sepsi, di un trauma e della stessa malattia COVID-19.

Cenni di terapia anti-virale

Il trattamento dei pazienti con malattia severa, a un anno dai primi casi, è ormai

standardizzato nella sua complessità e può essere schematizzato in 6 steps fondamentali, i quali, combinati fra loro, affrontano sia i preminenti sintomi a carico dell'apparato respiratorio, che le numerose complicanze sistemiche: 1) assistenza respiratoria; 2) terapia eparinica; 3) terapia antivirale^{75, 76}; 4) terapia immuno-infiammatoria⁷⁷; 5) fisioterapia respiratoria; 6) terapia con plasma iperimmune.

Per quanto riguarda i punti 3) e 4), strettamente associati agli argomenti qui trattati, nelle Tab. 4, 5 e 6 sono illustrati diversi trattamenti, di cui sono in corso trials clinici o che li hanno superati con benefici per i pazienti, con le seguenti finalità: impedire al virus di entrare nelle cellule, bloccare la replicazione virale, ridurre l'eccessiva risposta immunitaria (*cytokine storm*)⁷⁸⁻⁸².

GENI E PROTEINE COINVOLTE	SUSCETTIBILITA'	RESISTENZA
METABOLISMO LIPOPROTEINE	ApoL1: Africani, grave malattia renale ApoE e4e4	
Gene proteina IFITM3, interferon-relata	C-allele (rs12252): Cinesi	
DBP-gene (met. vitamina D)	GENOTIPO TT: Asiatici e Africani	
	GENOTIPO TG: Europei e Messicani	
Proteasi TMPRSS2	Varianti rs112657409, rs713400, rs11910678, rs77675406	
Corecettore Cd26+	Variante rs13015258-C-allele	
Sistema HLA	HLA-B*46:01: Cinesi	HLA-B*15:03: Africani
Gruppo sanguigno ABO	A, AB	0
Cluster di geni sul cromosoma 3 che codificano per fattori dell'immunità innata	Popolazioni Eurasiatriche e Amerinde	Africani: la resistenza è legata alla mancata espressione di molti di questi geni

Tab. 2: Suscettibilità e resistenza a SARS-CoV-2 in base a parametri genetici dimostrati.

Disease	ACE2 Single Nucleotide Polymorphisms
Essential hypertension	rs1514283, rs2074192, rs233575, rs4646155, rs4646176, rs2285666, rs879922, rs2106809, rs4646188, rs4240157, rs4830542, rs2158083, rs879922
Cardiovascular death	rs2285666
Left ventricular hypertrophy	rs2106809, rs2074192, rs4646156, rs879922, rs4240157, rs233575
Atrial fibrillation	rs2106809
Dyslipidemia	rs1978124, rs2106809, rs233575, rs4646188, rs879922, rs2285666, rs4646142, rs4646155

Abbreviation: ACE2, angiotensin-converting eEnzyme 2.

Tab. 3: Polimorfismi (SNPs) del recettore ACE2.

<i>FARMACI</i>	<i>MECCANISMO D'AZIONE</i>
APNO1	forma decoy di ACE2
Anticorpi umani policlonali	anti-spike, neutralizzazione del virus
Anticorpi monoclonali chimerici	Anti-spike, neutralizzazione del virus
TAK 888 (anticorpi sintetici)	neutralizzazione e lisi del virus
Cloroquina +/- azitromicina	Come HCQ + interferiscono con la glicosilazione di ACE2-R

Tab. 4: Trattamenti impiegati per impedire a SARS-CoV-2 di entrare nelle cellule.

<i>FARMACO</i>	<i>MECCANISMO D'AZIONE</i>
Remdesivir	Interruzione della sintesi di RNA virale, mediante disattivazione dell'esonucleasi
EIDD-2801	come sopra; agisce anche contro mutanti virali
Favipiravir	Inibizione competitiva RdRp
Danoprevir/Ritonavir	Inibizione delle proteasi virali
Farmaci a RNA	Blocco della sintesi di RNA virale
Lopinavir/Ritonavir	Inibizione della proteasi 3CL + incremento della biodisponibilità
L/R +/- IFN o Ribavirina	Inibitori nucleosidici e/o interferenza con RdRp
Galidesivir	Inibizione dell'RNA polimerasi
Idrossiclorochina (HCQ) +/- azitromicina	>pH endosomiale e inibizione degli steps-pH-dipendenti nella replicazione virale
Ivermectin	Blocco di Importina-R, che trasferisce le proteine virali nel nucleo della cellula ospite

Tab. 5: Trattamenti impiegati per bloccare la replicazione di SARS-CoV-2.

<i>FARMACO</i>	<i>MECCANISMO D'AZIONE</i>
Sarilumab	blocco del recettore di IL6
Tocilizumab	come sopra
Epamalumab + Anakinra	Mab umano anti γ -IFN + antagonista R-IL1
Remestemcel-L, Nitazoxanide, Ivermectin	Immunomodulazione
Tofacitinib	Inibizione dell'inflammatione cellulare
Leronlimab	Inibizione CCR5 e signalling

Tab. 6: Trattamenti impiegati per ridurre l'eccessiva risposta infiammatoria e la "cytokine storm" in corso di COVID-19.

Remdesivir agisce su un sito target in una proteina comune a tutti i Coronavirus; usato in malati di Covid-19, riduce la carica virale. Disattiva l'esonucleasi, che è un enzima necessario, durante la replicazione dell'RNA virale, alla revisione, correzione ed eliminazione delle copie errate, formatesi in seguito all'azione della polimerasi virale; pertanto si formano meno copie del nuovo virus⁸³.

Enzimi e proteine impiegate da SARS-CoV-2 per replicarsi, sono comuni ad altri Coronavirus (SARS-CoV-1, MERS), quindi già noti ai ricercatori ancor prima del sequenziamento del nuovo virus.

Diversi Autori (Gurwitz et al) hanno suggerito di bloccare i recettori ACE, come AT1R, con molecole quali il losartan, per ridurre l'impatto virus-cellula e la gravità della malattia. Fondamentale è capire ruolo ed entità delle mutazioni del virus in relazione alla sua capacità (accresciuta o ridotta) di legarsi ai recettori umani⁸⁴.

Numerosi sono i farmaci proposti e in via di sperimentazione per trattare alcuni dei numerosi sintomi o complicanze della malattia^{85, 86}. Al di là di terapie bizzarre e senza alcun costrutto scientifico, ecco un ulteriore elenco di molecole ad azione antivirale e/o antiinfiammatoria.

- Antagonisti AT1R, come il Losartan;
- Antivirali impiegati in altre infezioni: Sofosbuvir (HCV) e Tenofovir (HBV), entambi antiRdRp; Arbidolo (influenza); Darunavir (HIV);
- Altri antivirali: Indinavir, Saquinavir, Atazanavir, Tipranavir, Fosamprenavir, Enzaplatovir, Presatovir, Abacavir, Elvitegravir, Maribavir, Raltegravir, Cinanserin;
- Inibitori specifici delle M^{pro} proteasi: alpha-ketoamide inhibitors per via inalatoria;
- Antitumorali: Carfilzomib, Bortezomib, Carmofur;
- Antiossidanti: Deoxyrhapontin, Polidantina, Chalcone, Ebselen;
- Vari: Montelukast (asma), Disulfiram (alcoolismo), Shikonin (antiinfiammatorio), Tideglusib (anti-Alzheimer);
- Inibitori IAK-STAT, NAK, AAK1 e altre vie di signalling, con attività anti-infiammatoria e anti-citochinica: Baricitinib, Ruxolitinib, Fedratinib;
- Immunomodulanti/stimolanti: Ciclosporina A, Tacrolimus (riduce la crescita virale);
- Terapie immunologiche: Interferon- α -pegilato, Interferon- β , IL22 (azione antivirale), Leronlimab (Mo-Ab umanizzato anti-CCR5).

Vaccini

Un anno fa fu scritto che un vaccino anti-SARS-CoV-2 sarebbe stato pronto in un tempo misurabile in mesi, anziché anni, solo con l'apporto dell'ingegneria genetica: DNA ricombinante, editing genetico, vettori ingegnerizzati (plasmidi, mRNA, virus, etc.)^{87, 88}. La previsione si sta positivamente verificando, per contribuire a cambiare la storia dell'infezione e della pandemia, si spera, in modo radicale. Finora erano stati sviluppati diversi vaccini genetici anti-virus, anche in meno di un anno, in zootecnia, ma nessuno in patologia umana. Sommariamente, in un cosiddetto "vaccino genetico" la procedura segue questi steps: introduzione di geni virali mediante un vettore → sintesi di antigeni (proteina Spike e/o altro) → produzione di anticorpi.

Oggi ci si avvale largamente della "Reverse vaccinology", strategia di ricerca e preparazione in cui numerosi Istituti italiani sono all'avanguardia nel mondo: partendo dagli anticorpi individuati in soggetti immuni o convalescenti o guariti, si selezionano i migliori per diverse proprietà, prima fra tutte la capacità neutralizzante, si risale agli antigeni virali, agli epitopi maggiormente immunogeni, infine ai geni codificanti^{89, 90}.

In un vaccino anti-SARS-CoV-2 il target primario è la proteina Spike (BRD domain), secondario le proteine N/M/nsp3: queste 3 ultime hanno epitopi comuni a SARS-CoV-1 e MERS e si candidano per un vaccino universale anti-CoV⁹¹⁻⁹⁴.

In questo, come in altri vaccini genetici, tre sono gli approcci per introdurre geni o antigeni nelle cellule umane:

- 1) mediante plasmidi a DNA, allestiti in modo da ospitare il gene virale⁹⁵. Impiegati in veterinaria, nell'uomo attraversano con difficoltà le membrane cellulari: si può superare questo limite impiegando l'elettroporazione;
- 2) mediante RNA (vaccini a RNA): filamenti di mRNA incorporano il gene virale, sono inglobati in nanoparticelle a base di lipidi

che passano facilmente le membrane cellulari⁹⁶. Sembra che inducano una risposta anticorpale più robusta. Sono in sperimentazione vaccini a RNA per Covid-19, HIV, Zika e rabbia. Sono poco stabili, assai meno di quelli veicolati da plasmidi, degradati dal calore, vanno conservati a basse temperature creando problemi logistici in paesi poco attrezzati;

- 3) mediante virus apatogeni, come gli adenovirus ingegnerizzati: AD dei gorilla (Italia), scimpanzè (GB), AD5 umano (Cina), AD26 (USA)⁹⁷.

Di seguito, una serie di domande e questioni irrisolte riguardo i vaccini anti-SARS-CoV-2, poste sia dai ricercatori che dai mass-media e futuri fruitori, al di là, ovviamente, dei temi "sicurezza" ed "efficacia" che sono la base irrinunciabile di ogni allestimento e terapia in campo vaccinologico.

Trattandosi di preparazioni innovative, quasi sperimentali, potrebbero essere necessari più tempo e casi per i trial clinici. Non conosciamo con esattezza l'indice di mutazione di SARS-CoV-2, comunque inferiore a quello dei virus influenzali. Dosi e numero di somministrazioni sono ancora da ottimizzare. I punti precedenti condizionano il tempo di protezione e l'efficacia neutralizzante degli anticorpi, che potrebbero variare anche in base al tipo di vaccino. Tra i problemi legati alla sicurezza, dati preliminari evidenziano una reazione infiammatoria relativamente frequente, rarissimamente grave, perlopiù locale; non sono note statistiche conclusive sulla comparsa di un'ADE (vedi oltre). Produzione: a oggi, nessuna azienda è in grado di allestire, commercializzare e distribuire grandi quantitativi di vaccini mediante plasmidi; la produzione di quelli mediante adenovirus potrebbe invece raggiungere rapidamente livelli quantitativi assai elevati; per quelli a RNA le problematiche sembrano in via di soluzione, a partire dall'inconveniente della

crioconservazione. I costi sono ancora elevati per i vaccini genetici, qualunque sia la tecnica di preparazione.

La presenza di anticorpi neutralizzanti ad alto titolo anti-Ad5 può compromettere l'antigenicità del vaccino e la sierconversione e attenuare il picco di risposta delle cellule T, limitando o annullandone l'efficacia, nelle popolazioni in cui l'adenovirus è endemico. L'alta sieroprevalenza (30/80%) di questi virus-vettori (V/V) in molti paesi ha stimolato lo sviluppo di vaccini basati su V/V diversi: adenovirus con sierotipi rari, di primati non-umani, o virus completamente differenti come retrovirus resi apatogeni. Tra gli eventi avversi che possono complicare una vaccinazione, ricordiamo la cosiddetta ADE (*antibody-dependent enhancement*), associata ad una risposta anticorpale debole o non neutralizzante⁹⁸.

È probabile che un vaccino veramente efficace non debba stimolare solo la produzione di anticorpi, ma anche l'immunità innata, con l'aggiunta, ad esempio, di adiuvanti naturali o sintetici, come nel caso delle ultime versioni aggiornate del BCG⁹⁹. A proposito di quest'ultimo vaccino, report preliminari sembrano indicare un suo effetto protettivo, anche a lungo termine, legato ad un potenziamento dell'immunità innata e della "*trained immunity*" (l'immunità innata può sviluppare una memoria, che è definita "*trained immunity*", attraverso una riprogrammazione epigenetica di diversi citotipi)¹⁰⁰; risulta invece aggravare il quadro fino all'exitus in pazienti infettati da mutanti virali (S614G) o con determinati alplotipi HLA, ad es. HLA/A*11:01+.

Ad oggi, di progetti di ricerca di un vaccino anti-COVID-19, alcuni compiuti, altri nelle fasi iniziali, ne sono stati annunciati almeno 200. I centri di ricerca sono così distribuiti geograficamente: 40% in nord-America, 28% in Cina, 18% in Europa, 14% in Australia e altri paesi asiatici. L'87% dei

vaccini allo studio è finanziato con fondi privati, il 10% da centri universitari indipendenti, il 3% con fondi interamente pubblici. Per quanto riguarda la tipologia di vaccini, possono essere così ripartiti: 35% composti da frazioni proteiche, 14% a RNA, 13% mediante vettori virali non replicanti, 10% vettori virali replicanti, 6% vettori virali inattivi, 6% particelle virus-like, 5% vaccini a DNA, 11% altre tipologie. Al 31 Dicembre 2020, i vaccini già commercializzati o in trial clinici avanzati erano 25¹⁰¹.

Confronti fra Pandemia attuale e del passato

Ci chiediamo perché in alcune aree del mondo, come l'Africa centrale e sub-sahariana, la pandemia da SARS-CoV-2 abbia finora inciso meno pesantemente sia come numeri, che nella gravità dei quadri clinici. La risposta potrebbe venire da uno studio recente¹⁰² di Ellinghaus et al, che ha identificato un cluster genico sul cromosoma 3 associato ad un alto rischio di danno e insufficienza respiratoria in Covid-19. L'indagine è stata condotta su 3200 pazienti ospedalizzati con malattia di media/severa gravità di varie etnie: interessati sono Eurasiatici e Amerindi, che hanno ereditato il cluster dopo antiche ibridazioni fra noi e i Neanderthal¹⁰³, rispetto agli Africani in cui è quasi assente (4:1). Il cluster comprende molti geni che codificano per fattori e mediatori dell'immunità innata e della flogosi e potrebbe contribuire alla eccessiva reazione infiammatoria caratterizzata dalla "*cytokine storm*".

Sono inoltre state evidenziate interessanti analogie fra la pandemia attuale e altre, da virus influenzali, occorse negli ultimi cento anni e di cui abbiamo ricostruito dati molecolari e manifestazioni cliniche.

Per quanto riguarda la Spagnola, NS1 e H1, ma non N1, del virus H1N1 ricostruito del 1918/20, sono risultati in grado di inibire IFN e di iperstimolare i geni tissutali preposti alle reazioni infiammatorie e all'apoptosi: è

ipotizzabile che anche allora si verificassero una “cytokine storm” ed un esteso danno polmonare immunogeno¹⁰⁴. È stato dimostrato che H1N1 penetrava, si replicava e provocava lesioni emorragiche non solo a carico delle cellule delle alte e medie vie respiratorie, come la maggior parte dei virus influenzali, ma anche delle basse vie e in particolare degli alveoli, attraverso le cui pareti, danneggiate, fuoriusciva sangue che inondava le cavità alveolari¹⁰⁵. Anche SARS-CoV-2 penetra e provoca lesioni non solo a carico delle cellule delle alte e medie vie respiratorie, ma anche bronchiolo-alveolari, con meccanismi e danni molecolari e istologici differenziati e peculiari.

Riportiamo da ultimo alcune osservazioni istologiche relative alla polmonite interstiziale da virus H2N2 che provocò la pandemia Asiatica nel 1957/58; sono evidenti profonde analogie con i quadri che evidenziamo oggi: *“Il virus ha un’azione lesiva diretta, oltre che sulle pareti dell’epitelio respiratorio, alveoli inclusi, anche sulle pareti vascolari, per cui si verificano fenomeni plasmorragici, un’intensa e diffusa essudazione endo-alveolare siero-ematica, raramente fibrinosa, talora esclusivamente emorragica. Viene ben precisato il carattere interstiziale congestizio primitivo ed emorragico, considerando anche il danno diretto virale e reattivo-infiammatorio dei setti interalveolari interstiziali”*¹⁰⁶.

Alcune considerazioni conclusive

Il salto di specie del Coronavirus che ha causato la pandemia attuale, non è stato il primo evento nell’ambito delle zoonosi e non sarà l’ultimo: è importante prevedere dove potrebbero generarsi i prossimi e attuare una sorveglianza ambientale, faunistica, sanitaria.

Un virus trasmesso da una specie ad un’altra non sempre causa infezione, malattia ed epidemia: intervengono complesse interazioni genetiche, immunitarie ed ambientali. Un virus può non essere in grado di infettare il nuovo ospite, può farlo in maniera blanda e poco efficace (suina), non

sapersi trasmettere tra gli esseri umani (aviaria), può rimanere nel serbatoio animale passando all’uomo solo sporadicamente (Ebola), necessita durante la sua storia evolutiva di adattamenti e mutazioni nell’ospite umano (HIV).

Continuiamo a violare le ultime grandi riserve verdi e altri ecosistemi, finora intatti, della terra, scacciando e distruggendo le comunità animali e umane che, da sempre, vi abitano. Gli stessi animali li uccidiamo, mangiamo o commerciamo. Ci installiamo al loro posto. Sostituiamo alle specie native, come gli erbivori, i nostri animali domestici. Si stima che i pipistrelli attualmente ospitino almeno 5000 virus, Coronavirus, ma non solo, potenzialmente patogeni per l’uomo.

L’ambiente mutato e offeso fornisce opportunità per gli spillover: l’evoluzione le coglie, ne sonda le potenzialità, fornisce i mezzi per trasformare gli spillover in pandemie. Miliardi di umani devastano la propria terra e stuzzicano vecchi e nuovi microrganismi, spesso letali. Ma abbiamo farmaci e vaccini per prevenire e curare e *“quella ricerca scientifica di cui ci ricordiamo solo quando sentiamo il suono delle sirene delle ambulanze (T. Pievani)”*¹⁰⁷.

BIBLIOGRAFIA

1. Quammen D. Spillover. Milano: Adelphi, 2014.
2. Sun J, He WT, Wang L, et al. COVID-19: Epidemiology, evolution, and cross-disciplinary perspectives. Trends Mol Med 2020; 26: 483-95.
3. Brainard J. Scientists are drowning in COVID-19 papers. Can new tools keep them afloat? Science 2020; 368: 12-5.
4. Yunam Cuam-Baltazar J, Munoz-Perez MJ, Robledo-Vega C, et al. Misinformation of COVID-19 on the Internet: infodemiology study. JMIR Public Health Surveill 2020; 2:e18444. doi: 10.2196/18444.
5. Baric RS, Menachery VD, Yount BL, et al. A SARS-like cluster of circulating bat coronaviruses shows potential for human emergence. Nat Med 2015; 21: 1508-13.

6. Wang Y, Wang Y, Chen Y, et al. Unique epidemiological and clinical features of the emerging 2019 novel coronavirus pneumonia (COVID-19) implicate special control measures. *J Med Virol* 2020; 92: 568-76.
7. Lai CC, Shih TP, Ko WC, et al Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) and coronavirus disease-2019 (COVID-19): the epidemic and the challenges. *Int J Antimicrob Agents* 2020; 55: 105924.
8. Mollentze N, Streicker DG. Viral zoonotic risk is homogenous among taxonomic orders of mammalian and avian reservoir hosts. *PNAS* 2020; 117: 9423-30.
9. Yang CL, Qiu X, Zeng YK, et al. Coronavirus disease 2019: a clinical review. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2020; 24: 4585-96.
10. Cammelli S. Storie di uomini e di fiumi. Lungo le rive del Fiume Azzurro cercando la Cina di ieri e di oggi. Bologna: Il Mulino, 2016.
11. Marchegiani A. Viaggi In Cina. Roma: ThunderEmme, 2019.
12. Kirtipal N, Bharadwaj S, Kang SG, et al. From SARS to SARS-CoV-2, insights on structure, pathogenicity and immunity aspects of pandemic human coronaviruses. *Infect Genet Evol* 2020; 85: 104502.
13. Jebb D, Huang Z, Teeling E et al. Six reference-quality genomes reveal evolution of bat adaptations. *Nature* 2020; 583: 578-84.
14. "COVID-19 Host Genetics Initiative". The COVID-19 Host Genetics Initiative, a global initiative to elucidate the role of host genetic factors in susceptibility and severity of the SARS-CoV-2 virus pandemic. *Eur J Hum Genet* 2020; 28: 715-8.
15. Casanova JL, Su HC. A global effort to define the human genetics of protective immunity to SARS-CoV-2 infection. *Cell* 2020; 181: 1194-9.
16. Kamel Boulos MN, Geraghty EM. Geographical tracking and mapping of coronavirus disease COVID-19/severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) epidemic and associated events around the world: how 21st century GIS technologies are supporting the global fight against outbreaks and epidemics. *Int J Health Geogr* 2020; 19: 8.
17. Du RH, Liang LR, Yang CQ, et al. Predictors of mortality for patients with COVID-19 pneumonia caused by SARS-CoV-2: a prospective cohort study. *Eur Respir J* 2020; 55: 2000524.
18. Ovsyannikova IG, Haralambieva IH, Crooke SN, et al. The role of host genetics in the immune response to SARS-CoV-2 and COVID-19 susceptibility and severity. *Immunol Rev* 2020; 296: 205-19.
19. Yin C, Yin C. Genotyping coronavirus SARS-CoV-2: methods and implications. *Genomics* 2020; 112: 3588-96.
20. Prezioso C, Maccocci ME, Palamara AT, et al. The "Three Italy" of the COVID-19 epidemic and the possible involvement of SARS-CoV-2 in triggering complications other than pneumonia. *J Neurovirol* 2020; 26: 311-23.
21. Ronchetti R, Bianco PM. The pandemic characteristics of 2019-nCoV: case-control study for severity and geographic locations for 2019-nCoV epidemics worldwide. *Ital J Pediatr* 2020; 46: 94.
22. Jogalekar MP, Veerabathini A, Gangadaran P, et al. Novel 2019 coronavirus: genome structure, clinical trials, and outstanding questions. *Exp Biol Med* 2020; 245: 964-9.
23. Khailany RA, Safdar M, Ozaslan M, et al. Genomic characterization of a novel SARS-CoV-2. *Gene Rep* 2020; 19: 100682.
24. Hui KPY, Cheung MC, Perera RAPM, et al. Tropism, replication competence, and innate immune responses of the coronavirus SARS-CoV-2 in human respiratory tract and conjunctiva: an analysis in ex-vivo and in-vitro cultures. *Lancet Respir Med* 2020; 8: 687-95.
25. Li X, Zai J, Zhao Q, et al. Evolutionary history, potential intermediate animal host, and cross-species analysis of SARS-CoV-2. *J Med Virol* 2020; 92: 602-11.
26. Zhou Y, Zhang S, Chen J, et al. Analysis of variation and evolution of SARS-CoV-2 genome. *Nan Fang Yi Ke Da Xue Xue Bao* 2020; 40: 152-8.
27. Chen Y, Guo Y, Pan Y, et al. Structure analysis of the receptor binding of 2019-nCoV. *Biochem Biophys Res Commun* 2020; 525: 135-40.
28. Pillay TS, Pillay TSj. Gene of the month: the 2019-nCoV/SARS-CoV-2 novel coronavirus spike protein. *J Clin Pathol* 2020; 73: 366-9.

29. Wang C, Liu Z, Chen Z, et al. The establishment of reference sequence for SARS-CoV-2 and variation analysis. *J Med Virol* 2020 92: 667-74.
30. Abdullahi IN, Emeribe AU, Ajayi, et al. Implications of SARS-CoV-2 genetic diversity and mutations on pathogenicity of the COVID-19 and biomedical interventions. *J Taibah Univ Med Sci* 2020; 15: 258-64.
31. Awadasseid A, Wu Y, Tanaka Y, et al. Initial success in the identification and management of the coronavirus disease 2019 (COVID-19) indicates human-to-human transmission in Wuhan, China. *Int J Biol Sci* 2020; 16: 1846-60.
32. Song JW, Zhang C, Fan X, et al. Immunological and inflammatory profiles in mild and severe cases of COVID-19. *Nat Commun* 2020; 11: 3410.
33. Shang J, Ye G, Shi K, et al. Structural basis of receptor recognition by SARS-CoV-2. *Nature* 2020; 581: 221-4.
34. Ge H, Wang X, Yuan X, et al. The epidemiology and clinical information about COVID-19. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2020; 39: 1011-9.
35. Siracusano G, Pastori C, Lopalco L, et al. Humoral immune responses in COVID-19 patients: a window on the state of the art. *Front Immunol* 2020; 11: 1049.
36. Ibrahim IM, Abdelmalek DH, Elshahat ME, et al. COVID-19 spike host cell receptor GRP78 binding site prediction. *J Infect* 2020; 80: 554-62.
37. Chen Y, Qiu F. Spike protein in the detection and treatment of novel coronavirus. *Sheng Wu Yi Xue Gong Cheng Xue Za Zhi* 2020; 37: 246-50.
38. Eaaswarkhanth M, Al Madhoun A, Al Mulla F. Could the D614G substitution in the SARS-CoV-2 spike (S) protein be associated with higher COVID-19 mortality? *Int J Infect Dis* 2020; 96: 459-60.
39. Sienko J, Kotowski M, Bogacz A, et al. COVID-19: the influence of ACE genotype and ACE-I and ARBs on the course of SARS-CoV-2 infection in elderly patients. *Clin Interv Aging* 2020; 15: 1231-40.
40. Devaux CA, Rolain JM, Raoult D, et al. ACE2 receptor polymorphism: susceptibility to SARS-CoV-2, hypertension, multi-organ failure, and COVID-19 disease outcome. *J Microbiol Immunol Infect* 2020; 53: 425-35.
41. Gemmati D, Bramanti B, Serino ML, et al. COVID-19 and individual genetic susceptibility/receptivity: role of ACE1/ACE2 genes, immunity, inflammation and coagulation. Might the double X-chromosome in females be protective against SARS-CoV-2 compared to the single X-chromosome in males? *Int J Mol Sci* 2020; 21: 3474.
42. Zhang Y, Qin L, Zhao Y, et al. Interferon-Induced Transmembrane Protein 3 genetic variant rs12252-C associated with disease severity in Coronavirus Disease 2019. *J Infect Dis* 2020; 222: 34-7.
43. Calabrese S, Pezzuto F, Fortalezza F, et al. Pulmonary pathology and COVID-19: lessons from autopsy. The experience of European Pulmonary Pathologists. *Virchows Arch* 2020; 477: 359-72.
44. Coperchini F, Chiovato L, Croce L, et al. The cytokine storm in COVID-19: an overview of the involvement of the chemokine/chemokine-receptor system. *Cytokine Growth Factor Rev* 2020; 53: 25-32.
45. Vardhana SA, Wolchock JD. The many faces of the anti-COVID immune response. *J Exp Med* 2020; 217: e20200678.
46. Maggi E, Canonica GW, Moretta L. COVID-19: unanswered questions on immune response and pathogenesis. *J Allergy Clin Immunol* 2020; 146: 18-22.
47. Henry BM, Vikse J, Benoit S, et al. Hyperinflammation and derangement of renin-angiotensin-aldosterone system in COVID-19: a novel hypothesis for clinically suspected hypercoagulopathy and microvascular immunothrombosis. *Clin Chim Acta* 2020; 507: 167-73.
48. Raucci F, Mansour AA, Casillo GM, et al. Interleukin-17A (IL-17A), a key molecule of innate and adaptive immunity, and its potential involvement in COVID-19-related thrombotic and vascular mechanisms. *Autoimmun Rev* 2020; 19: 102572.
49. Ye Q, Wang B, Mao JY, et al. The pathogenesis and treatment of the 'Cytokine Storm' in COVID-19. *J Infect* 2020; 80: 607-13.
50. Bianco-Melo D, Nilsson-Payant BE, Liu WC, et al. Imbalanced host response to SARS-CoV-2 drives development of COVID-19. *Cell* 2020; 18: 1036-45.

51. McKechnie JL, Blish CA. The innate immune system: fighting on the front lines or fanning the flames of COVID-19? *Cell Host Microbe* 2020; 27: 863-9.
52. Pelaia C, Tinello C, Vatrella A, et al. Lung under attack by COVID-19-induced cytokine storm: pathogenic mechanisms and therapeutic implications. *Ther Adv Respir Dis* 2020; 14: 1753466620933508.
53. Pence BD. Severe COVID-19 and aging: are monocytes the key? *Geroscience* 2020; 42: 1051-61.
54. Kadkhoda K. COVID-19: an immunopathological view. *mSphere* 2020; 5: e00344-20.
55. Azkur AK, Akdis M, Azkur D, et al. Immune response to SARS-CoV-2 and mechanisms of immunopathological changes in COVID-19. *Allergy* 2020; 75: 1564-81.
56. Du SQ, Yuan W. Mathematical modeling of interaction between innate and adaptive immune responses in COVID-19 and implications for viral pathogenesis. *J Med Virol* 2020: 10.1002/jmv.25866.
57. Garcia LF. Immune response, inflammation, and the clinical spectrum of COVID-19. *Front Immunol* 2020; 11: 1441.
58. Grifoni A, Weiskopf D, Ramirez SI, et al. Targets of T cell responses to SARS-CoV-2 Coronavirus in humans with COVID-19 Disease and unexposed individuals. *Cell* 2020; 181: 1489-501.
59. Wang B, Wang L, Kong X, et al. Long-term coexistence of SARS-CoV-2 with antibody response in COVID-19 patients. *J Med Virol* 2020: 10.1002/jmv.25946.
60. Guihot A, Litvinova E, Autran B, et al. Cell-mediated immune responses to COVID-19 infection. *Front Immunol* 2020; 11: 1662.
61. De Biasi S, Meschiari M, Gibellini L, et al. Marked T cell activation, senescence, exhaustion and skewing towards TH17 in patients with COVID-19 pneumonia. *Nat Commun* 2020; 11: 3434.
62. Wang F, Hou H, Luo Y, et al. The laboratory tests and host immunity of COVID-19 patients with different severity of illness. *JCI Insight* 2020; 5: e137799.
63. Weiskopf D, Schmitz KS, Raadsen MP, et al. Phenotype and kinetics of SARS-CoV-2-specific T cells in COVID-19 patients with acute respiratory distress syndrome. *Sci Immunol* 2020; 5: eabd2071.
64. Wang Y, Zhang L, Sang I, et al. Kinetics of viral load and antibody response in relation to COVID-19 severity. *J Clin Invest* 2020: 138759.
65. Astuti I, Ysrafil A. Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2): an overview of viral structure and host response. *Diabetes Metab Syndr* 2020; 14: 407-12.
66. Watanabe Y, Allen JD, Wrapp D et al. Site-specific glycan analysis of the SARS-CoV-2 spike. *Science* 2020; 369: 330-3.
67. Prompetchara E, Kelloy C, Palaga T, et al. Immune responses in COVID-19 and potential vaccines: lessons learned from SARS and MERS epidemic. *Asian Pac J Allergy Immunol* 2020; 38: 1-9.
68. Vabret N, Britton GJ, Gruber C, et al. Immunology of COVID-19: current state of the science. *Immunity* 2020; 5: 910-41.
69. Zhang SY, Zhang Q, Casanova JL, et al. Severe COVID-19 in the young and healthy: monogenic inborn errors of immunity? *Nat Rev Immunol* 2020; 20: 455-6.
70. Kuo CL, Pilling LC, Atkins JL, et al. APOE e4 genotype predicts severe COVID-19 in the UK Biobank community cohort. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 2020: glaa131.
71. Nguyen A, David JK, Maden SK, et al. Human Leukocyte Antigen Susceptibility Map for Severe Acute Respiratory Syndrome. *J Virol* 2020; 94: e00510-20.
72. Senapati S, Kumar S, Singh AK, et al. Assessment of risk conferred by coding and regulatory variations of TMPRSS2 and CD26 in susceptibility to SARS-CoV-2 infection in human. *J Genet* 2020; 99: 53.
73. Manjili RH, Zarei M, Habibi M, et al. COVID-19 as an acute inflammatory disease. *J Immunol* 2020; 205: 12-9.
74. Rao VUS, Arakeri G, Subash A, et al. COVID-19: loss of bridging between innate and adaptive immunity. *Med Hypotheses* 2020; 144: 109861.
75. Sheervalilou R, Shirvaliloo M, Dadashzadeh N, et al. COVID-19 under spotlight: A close look at the origin, transmission, diagnosis, and treatment of the 2019-nCoV disease. *J Cell Physiol* 2020: 10.1002/jcp.29735.
76. Dong L, Hu S, Gao J, et al. Discovering drugs to treat Coronavirus disease 2019 (COVID-19). *Drug Discov Ther* 2020; 14: 58-60.

77. Stebbin J, Phelan A, Griffin I, et al. COVID-19: combining antiviral and anti-inflammatory treatments. *Lancet Infect Dis* 2020; 20: 400-2.
78. Elfiky AA. Anti-HCV, nucleotide inhibitors, repurposing against COVID-19. *Life Sci* 2020; 248: 117477.
79. Galluccio F, Ergonenc T, Garcia Martos A, et al. Treatment algorithm for COVID-19: a multidisciplinary point of view. *Clin Rheumatol* 2020; 39: 2077-84.
80. Tufan A, Avanoglu Guler A, Matucci-Cerinic M, et al. COVID-19, immune system response, hyperinflammation and repurposing antirheumatic drugs. *Turk J Med Sci* 2020; 50: 620-2.
81. Scijns V, Lavelle EC. Prevention and treatment of COVID-19 disease by controlled modulation of innate immunity. *Eur J Immunol* 2020; 50: 932-8.
82. Asai A, Konno M, Ozaki M, et al. COVID-19 drug discovery using intensive approaches. *Int J Mol Sci* 2020; 21: 2839.
83. Wang Y, Zhang D, Du G, et al. Remdesivir in adults with severe COVID-19: a randomised, double-blind, placebo-controlled, multicentre trial. *Lancet* 2020; 395: 1569-78.
84. Mousavizadeh L, Ghasemi L. Genotype and phenotype of COVID-19: their roles in pathogenesis. *J Microbiol Immunol Infect* 2020; S1684-1182(20)30082-7.
85. Zhang L, Lin D, Sun X, et al. Crystal structure of SARS-CoV-2 main protease provides a basis for design of improved α -ketoamide inhibitors. *Science* 2020;368: 409-12.
86. Mehta N, Mazer-Amirshahi M, Alkindi N, et al. Pharmacotherapy in COVID-19. A narrative review for emergency providers. *Am J Emerg Med* 2020; 38: 1488-93.
87. Thanh Le T, Andreadakis Z, Kumar A, et al. The COVID-19 vaccine development landscape. *Nat Rev Drug Discov* 2020; 19: 305-6.
88. Frederiksen LSF, Zhang Y, Foged C, et al. The long road toward COVID-19 herd immunity: vaccine platform technologies and mass immunization strategies. *Front Immunol* 2020; 11: 1817.
89. Ong E, Wong MU, Huffman A, et al. COVID-19 Coronavirus vaccine design using reverse vaccinology and machine learning. *bioRxiv* 2020: 2020.03.20.000141.
90. Dhama K, Sharun K, Tiwari R, et al. COVID-19, an emerging Coronavirus infection: advances and prospects in designing and developing vaccines, immunotherapeutics, and therapeutics. *Hum Vaccin Immunother* 2020; 16: 1232-8.
91. Ahmed SF, Quadeer AA, McKay MR, et al. Preliminary identification of potential vaccine targets for the COVID-19 Coronavirus (SARS-CoV-2) based on SARS-CoV immunological studies. *Viruses* 2020; 12: 254.
92. Hotez PJ, Corry DB, Bottazzi ME, et al. COVID-19 vaccine design: the Janus face of immune enhancement. *Nat Rev Immunol* 2020; 20: 347-8.
93. Chen WH, Hotez PJ, Bottazzi ME, et al. Potential for developing a SARS-CoV receptor-binding domain (RBD) recombinant protein as a heterologous human vaccine against coronavirus infectious disease (COVID)-19. *Hum Vaccin Immunother* 2020; 16: 1239-42.
94. Al-Kassmy J, Pedersen J, Kobinger G, et al. Vaccine candidates against Coronavirus infections. Where does COVID-19 stand? *Viruses* 2020; 12: E861.
95. Smith TRF, Patel A, Ramos S, et al. Immunogenicity of a DNA vaccine candidate for COVID-19. *Nat Commun* 2020; 11: 2601.
96. Lv H, Wu NC, Mok CKP, et al. COVID-19 vaccines: knowing the unknown. *Eur J Immunol* 2020; 50: 939-43.
97. Lee N, McGeer A. The starting line for COVID-19 vaccine development. *Lancet* 2020; 395: 1815-6.
98. Burton DR, Walker LM. Rational vaccine design in the time of COVID-19. *Cell Host Microbe* 2020; 27: 695-8.
99. O'Neill LAJ, Netea MG. BCG-induced trained immunity: can it offer protection against COVID-19? *Nat Rev Immunol* 2020; 20: 335-7.
100. Hegarty PK, Sfakianos JP, Giannarini G, et al. COVID-19 and Bacillus Calmette-Guérin: what is the link? *Eur Urol Oncol* 2020; 3: 259-61.
101. Amanat F, Krammer F. SARS-CoV-2 vaccines: status report. *Immunity* 2020; 52: 583-9.
102. Ellinghaus D, Degenhardt F, Bujanda L, et al. Genome-wide association study of severe Covid-19 with respiratory failure. *NEJM* 2020; 383: 1522-34.

103. Zeberg H, Pääbo S. The major genetic risk factor for severe COVID-19 is inherited from Neandertals. *Nature* 2020; 587: 610-2.
104. Stevens J, Taubenberger JK, Wilson I, et al. Structure of the uncleaved human H1 hemagglutinin from the extinct 1918 influenza virus. *Science* 2004; 303: 1866-70.
105. Kobasa D, Takada A, Kawaoka Y. Enhanced virulence of influenza A viruses with the hemagglutinin of the 1918 pandemic virus. *Nature* 2004; 431: 703-7.
106. Fegiz G, Belli N. Influenza e tubercolosi polmonare. *Riv Tuberc App Resp* 1959; 7: 3-32.

107. Pievani T. Memorie della peste. *Le Scienze* 2020; 622: 15.

Prof. Francesco Belli, già Dirigente Medico Microbiologia e Virologia, A. O. San Camillo-Forlanini, Roma; già Docente Immunologia C.d.L. Biotecnologie, "Sapienza" Università di Roma

Per la corrispondenza: f.belli11@virgilio.it

Norme da rispettare per la pubblicazione delle Relazioni sugli "Atti della Accademia Lancisiana".

Gli "Atti" costituiscono il documento dell'attività scientifica dell'Accademia Lancisiana. Al tempo stesso sono un titolo di prestigio tale da promuovere riconoscimenti morali e contributi economici, indispensabili per la vita dell'Accademia, da parte degli Enti. È quindi impegno di tutti gli Accademici e i Soci che gli "Atti" riportino sempre il resoconto completo dell'attività scientifica svolta.

L'Accademia Lancisiana pubblica sugli "Atti" i testi delle relazioni dei Simposi, Conferenze e Comunicazioni tenute nel corso di ogni anno accademico. A norma dello Statuto dell'Accademia (Regolamento per la pubblicazione degli Atti, art. 5) «Chiunque svolga una relazione, una conferenza, una comunicazione è tenuto a pubblicarne il testo negli "Atti"».

I testi dovranno essere inediti, non consegnati contemporaneamente ad altre riviste scientifiche, ed il loro contenuto conforme alla legislazione vigente in materia etica della ricerca.

La responsabilità dell'osservanza di quanto sopra e quella del contenuto scientifico è esclusivamente degli Autori.

Testi. I lavori redatti in formato elettronico dovranno pervenire alla Segreteria dell'Accademia Lancisiana (e-mail: lancisi@aruba.it) entro il giorno della Seduta e dovranno riportare: titolo, Autore/i, Istituzione presso cui il lavoro è stato svolto, indirizzo e-mail dell'Autore che si impegna a tenere la corrispondenza con la Rivista.

I Moderatori dei Simposi sono invitati a garantire che ogni Relatore si attenga alle presenti norme e a sollecitarli affinché inviino i testi delle rispettive relazioni entro i termini indicati.

La redazione si riserva il diritto di apportare al testo eventuali necessarie modifiche.

Abbreviazioni e simboli. Eccetto che per quelle standard (unità di misura, simboli chimici, matematici, statistici ecc.), l'uso delle abbreviazioni deve essere evitato. I termini ricorrenti nel testo possono essere abbreviati riportandoli una prima volta per intero e facendoli seguire dall'abbreviazione.

Bibliografia. Le voci bibliografiche devono essere numerate in ordine di citazione e riportate nel testo con *numero ad esponente*. Per gli acronimi delle riviste si faccia riferimento all'Index Medicus, indicandone, invece, il nome per intero ove non siano tra quelle citate. In caso di *bibliografia essenziale* seguire rigorosamente l'ordine alfabetico delle citazioni, senza alcuna numerazione.

Si usi lo stile più sotto esemplificato:

Citazioni da riviste: 1) Articoli standard (elencare tutti gli Autori quando siano sei o meno; se sono sette o più elencare solo i primi tre ed aggiungere et al.):

You CH, Lee KY, Chey RY, Menguy R. Electrogastrographic study of patients with unexplained nausea, bloating and vomiting. *Gastroenterology* 1980; 79: 311-4.

2) Autore non riportato: Coffee drinking and cancer of the pancreas [editoriale]. *BMJ* 1981; 283: 628.

Citazioni da libri ed altre monografie: 1) Capitoli di libri: Weinstein L, Swartz MN. Pathogenic properties of invading microorganism. In: Sodeman WA Jr, Sodeman WA, eds. *Pathologic physiology: mechanism of disease*. Philadelphia: Saunders, 1974; 457-72.

2) Atti di congressi: Harley NH. Comparing random daughter dosimetric and risk models. In: Gammage RB, Kaye SV, eds. *Indoor air and human health. Proceedings of the Seventh Life Sciences Symposium, 1984* Ocl 29-31; Knoxville (TN). Chelsea (MI): Lewis, 1985; 69-78.

Tabelle e figure. Le tabelle devono avere un breve titolo. Tabelle e figure non devono essere inserite nel testo di Word, ma allegate a parte come file grafici con le relative didascalie.

Per quanto non espressamente specificato nelle presenti norme si rimanda alle indicazioni fornite dall'*International Committee of Medical Journal Editors*, pubblicate su: *N Engl J Med* 1991; 324: 424-8 e *BMJ* 1991; 302: 338-41.

