



Università degli Studi di Cagliari

DOTTORATO DI RICERCA  
TERAPIA PEDIATRICA E FARMACOLOGIA DELLO SVILUPPO

Ciclo XXIV

TITOLO TESI

**Sindromi drepanocitiche: studio di fattibilità di strategie di  
prevenzione e rimodellamento della rete assistenziale in un  
contesto in evoluzione**

Settore/i scientifico disciplinari di afferenza

MED/38 PEDIATRIA GENERALE E SPECIALISTICA

<b>Presentata da:</b>	<b>Dott.ssa Simona Roggero</b>
<b>Coordinatore Dottorato:</b>	<b>Prof. Renzo Galanello</b>
<b>Tutor/Relatore:</b>	<b>Prof. Antonio Piga</b>

**Esame finale anno accademico 2010 - 2011**

# INDICE

**INTRODUZIONE** **Pag. 4**

**Sindromi drepanocitiche (SCD)** **Pag. 6**

*Eziopatogenesi*

*Epidemiologia*

*Aspetti clinici della SCD*

*Aspetti diagnostici*

*Diagnosi prenatale*

*Aspetti di terapia e presa in cura*

**Sindromi drepanocitiche e regione PIEMONTE** **Pag . 41**

**Screening ed emoglobinopatie** **Pag. 35**

*Aspetti di screening*

*Screening neonatale*

*Metodiche di screening*

*Screening in Italia*

*Screening in Piemonte*

*Screening neonatale per le emoglobinopatie*

**OBIETTIVO DELLO STUDIO** **Pag. 67**

**MATERIALI E METODI** **Pag. 60**

*I: studio epidemiologico descrittivo*

*dei casi SCD nella regione Piemonte*

*II: analisi dell'attività di prevenzione per SCD nella regione Piemonte*

*III: organizzazione di una rete di presa in cura e prevenzione*

*Analisi dei costi*

## **RISULTATI**

**Pag. 65**

*I: studio epidemiologico descrittivo*

*dei casi SCD nella regione Piemonte*

*II: analisi dell'attività di prevenzione per SCD nella regione Piemonte*

*III: organizzazione di una rete di presa in cura e prevenzione*

*Analisi dei costi*

## **DISCUSSIONE**

**Pag. 117**

## **BIBLIOGRAFIA**

**Pag. 124**

## **ALLEGATI**

**Pag. 131**

## INTRODUZIONE

Le sindromi drepanocitiche (SCD), e in generale le emoglobinopatie, rappresentano un problema emergente per la politica sanitaria globale [1].

Stime dell'Organizzazione Mondiale della Sanità indicano circa 250.000 nuove nascite/anno di bambini con SCD. Patologie fino a qualche decennio fa caratteristiche delle sole regioni in cui erano endemiche, oggi risultano essere in notevole aumento anche alle nostre latitudini. Infatti, oltre alla quota di casi con SCD già presenti in alcune regioni italiane, oggi si aggiunge una più ampia popolazione portatrice del difetto emoglobinico, a causa dei flussi migratori, delle adozioni internazionali e, più in generale, di un maggiore dinamismo delle popolazioni.[2, 3]

Le sindromi drepanocitiche, oggi tra le più frequenti malattie ereditarie gravi in Europa, sono patologie per le quali disponiamo da una parte di mezzi diagnostici e terapeutici di comprovata efficacia, ma, allo stesso tempo, non sono ancora abbastanza conosciute dal personale medico nè è stato raggiunto un efficiente adeguamento dei servizi rispetto le necessità di questi pazienti. Una corretta strategia di progettazione e pianificazione degli interventi (rete assistenziale, prevenzione, sensibilizzazione) può determinare un buon controllo della malattia e un'ottimizzazione dei risultati, in termini di riduzione di mortalità e morbidity e di miglioramento della qualità di vita dei pazienti .[4]

Alla fine degli anni '80 il Cooperative Study of Sickle Cell Disease (CSSCD) dimostrò che l'identificazione precoce della malattia (e in questo lo screening neonatale è un mezzo efficace), parallelamente ad un attento programma di educazione dei genitori alla malattia, follow-up e profilassi delle malattie infettive (fenossimetilpenicillina e schemi vaccinali adeguati), sia efficace nella riduzione delle complicanze e della mortalità.[5]

Il decorso naturale della malattia, in assenza di trattamento, comporta rischio elevato in termini di mortalità e morbidity nei primi cinque anni di vita, con possibili danni d'organo irreversibili.

La diagnosi precoce rappresenta quindi un elemento cruciale nella buona gestione della malattia, in modo tale da permettere che precocemente si attuino le misure di monitoraggio e di trattamento più adeguate al paziente.

Con questo scopo, lo screening neonatale per le emoglobinopatie è stato pianificato in un numero sempre maggiore di nazioni europee e statunitensi, dal momento che i cambiamenti nei flussi migratori hanno portato a un aumento significativo di neonati a rischio di SCD. Anche alcuni stati africani, nonostante la restrizione delle risorse economiche e le difficoltà logistiche, hanno programmato piani di screening neonatale per le emoglobinopatie, vista l'epidemiologia relativa nelle loro regioni.[4]

Lo stesso trend si sta affacciando negli ultimi anni anche in Italia, dove c'è stato un importante cambiamento nella presentazione delle emoglobinopatie, visti i dati epidemiologici che presentano un incremento dell'incidenza, in particolar modo nelle regioni con un più alto indice di immigrazione dall'Africa, dal Sud America e dall'Europa Orientale.[6]

## SINDROMI DREPANOCITICHE (SCD)

La Sindrome Drepanocitica (SCD) è un disordine ereditario a trasmissione autosomica recessiva, caratterizzato da un'alterazione genetica della struttura dell'emoglobina senza riduzione della sintesi.

E' una patologia di cui abbiamo primi cenni già nel 1600 tra le popolazioni del Ghana, le quali descrivevano i soggetti con crisi dolorose caratteristiche della malattia come "corpi tormentati, battuti, morsiati".

La prima descrizione scientifica di un caso di drepanocitosi risale a inizio '900; James Herrick esaminando lo striscio periferico di una studentessa originaria del West Indies di 20 anni che lamentava astenia, cefalea, febbre, e dispnea, accompagnati da ittero sclerale, pallore delle mucose e cardiomegalia, osservò "peculiari corpuscoli rossi del sangue a forma allungata e di falce".[7]. In Italia Maggiore nel 1936 e Silvestroni e Bianco nel 1944 descrissero il primo caso di associazione di malattia drepanocitica e talassemia, definendola "microdrepanocitosi", in una ragazza del Lazio, con febbre, crisi di dolore osseo e epato-splenomegalia.[8]

Negli anni successivi, vennero definite le basi genetiche dell'anemia drepanocitica e furono evidenziate anche le modalità di trasmissione ereditaria(FIG. 1) .[9]

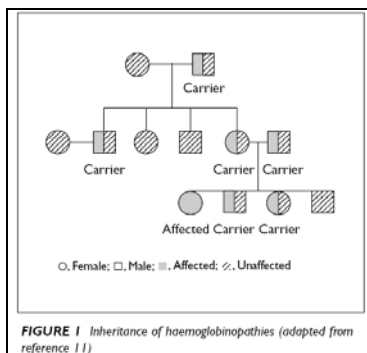


FIG. 1 **Trasmissione ereditaria delle emoglobinopatie (Davies e tale 2000)**

Infine, nel 1949 Pauling dimostrò la distinzione dell'HbS dall'emoglobina del soggetto sano, evidenziando il diverso comportamento elettroforetico.[10]

### - **Eziopatogenesi**

Il difetto genetico che dà luogo all'emoglobina alterata tipica della malattia drepanocitica (HbS) è una mutazione puntiforme del gene della catena beta dell'emoglobina a livello del

locus 11p15.5. (sostituzione dell'adenina con la timina (GAG → GTG) con conseguente sostituzione del Glutammato in posizione 6 in Valina; ciò determina un cambiamento della forma della proteina.[11] La sostituzione di un amminoacido idrofilo con uno idrofobico riduce la solubilità di questa proteina, HbS, rispetto all'HbA, in configurazione deossigenata con precipitazione dell'HbS e formazione di fibrille nelle emazie.

con deformazione a sickle o "falce" dell'eritrocita. Il processo di polimerizzazione dell'HbS, dal punto di vista cinetico, prevede una fase lenta e reversibile ed una fase di reazione rapida ed irreversibile. Il ripetersi di episodi di falcizzazione e di ritorno allo stato normale induce un danno di membrana a livello dei globuli rossi e comporta l'irreversibilità del fenomeno di falcizzazione. I globuli rossi a falce presentano membrane cellulari molto rigide ed indeformabili e vengono selezionati nei sinusoidi splenici per essere eliminati dal sistema reticolo-endoteliale; anche l'emolisi intravascolare è possibile, a causa dell'aumentata fragilità meccanica.

La falcizzazione degli eritrociti avviene per lo più in presenza di ipossia (FIG. 2), ma anche in altre particolari condizioni (acidemia, innalzamento della temperatura, presenza di un incremento dell'acido 2,3 bisfosfoglicerico).

Sebbene numerosi studi abbiano tentato di individuare i fattori genetici e ambientali responsabili dell'ampia variabilità fenotipica della malattia, molti aspetti non sono ancora chiari. Ad oggi è noto che il ruolo sul fenotipo della malattia della presenza di alfa talassemia e dei livelli di HbF. [12]

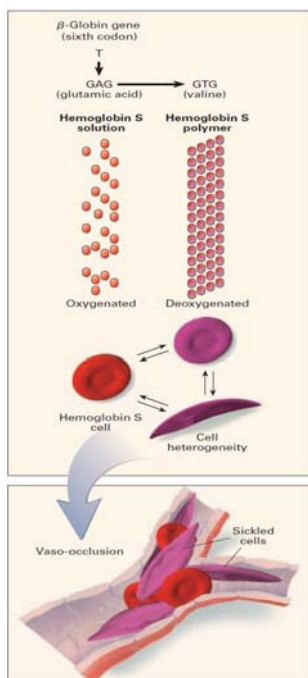


FIG. 2 Fisiopatologia della malattia drepanocitica (Steinberg,1999)

A livello molecolare sono stati individuati dei diversi aplotipi HbB Glu6Val, con una specifica collocazione geografica, che sembrano correlare con la severità della malattia: aplotipo Sen (Senegal), il più lieve, l'aplotipo Car/Bantu, il più severo, e l'aplotipo Ben (Benin), l'intermedio. Non è però pratica clinica definirli in ogni paziente. [13, 14]

Inoltre anche i singoli differenti genotipi compresi nell'ambito delle sindromi drepanocitiche possono determinare differenze di fenotipo (FIG. 3).

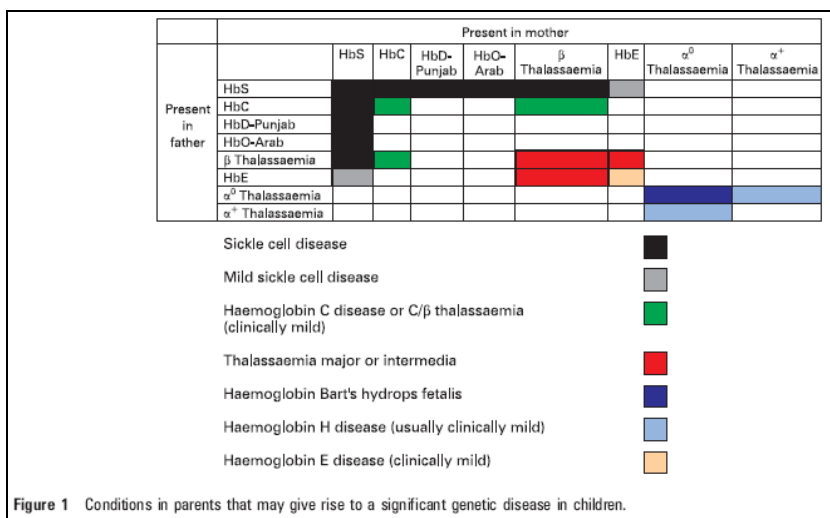


Figure 1 Conditions in parents that may give rise to a significant genetic disease in children.

FIG.3 **Combinazioni genotipiche in coppie a rischio di prole affetta da SCD (Bain et al 2009)**

<u>SCD Form</u>	<u>Hb electroforesis</u>	<u>Clinical Course</u>
SCD – SS	S, F, A <sub>2</sub>	Severe
SCD – SC	S, C, F, A <sub>2</sub>	Moderate severe
SCD - Sβ <sup>0</sup> thal	S, F, A <sub>2</sub>	Severe
SCD - Sβ <sup>+</sup> thal	S, A, F, A <sub>2</sub>	Mild

FIG. 4 **SCD-common variants (Driscoll,2007)**

Gli individui eterozigoti per HbS (HbAS), possiedono uno solo dei due geni responsabili della produzione dell'HbS e sono portatori sani della malattia (Sickle Cell Trait-SCT); generalmente non presentano sintomi. Gli indici globulari sono normali, con contenuto di HbS di solito intorno al 40%. Tuttavia, è possibile l'insorgenza di quadri clinici SCD-like in



situazioni di stress con sensibile riduzione nella concentrazione dell'ossigeno (esercizio fisico, disidratazione, altitudine) per la codominanza a livello molecolare delle due varianti alleliche; in alcuni casi sembrano soggetti a un maggior rischio di tromboembolismo venoso [15]

In caso di doppia eterozigosi HbS/ $\beta$ -talassemia:(HbS/ $\beta^0$ -talassemia o HbS/ $\beta^+$ -talassemia)i), HbS/HbC, HbS/HbE, o per altre varianti emoglobiniche più rare (Hb D-Punjab e HbO-Arab), sono possibili espressioni fenotipiche differenti, da gradi lievi pressoché asintomatici a quadri severi per la compromissione d'organo in termini di morbidità e mortalità.

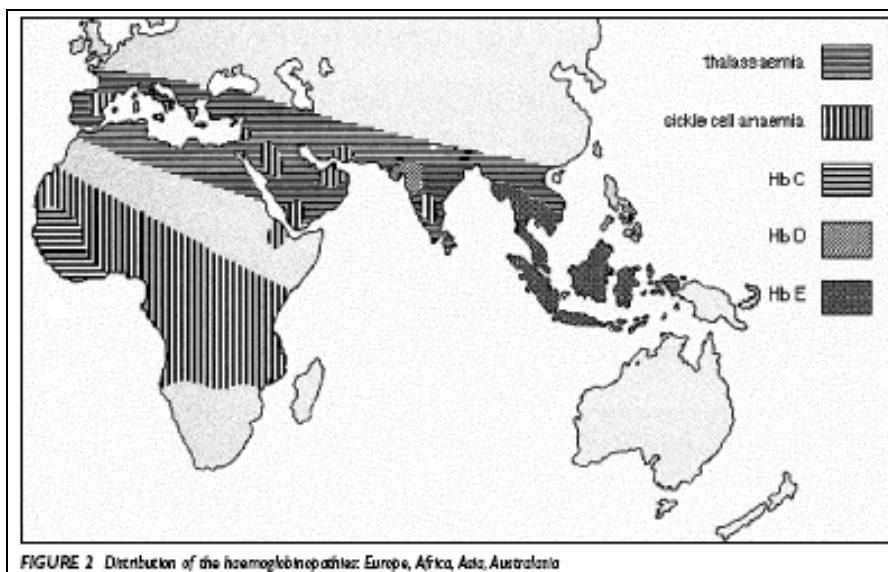
### - **Epidemiologia**

E' stato stimato che, approssimativamente, il 7% della popolazione mondiale sia portatore di emoglobinopatia e che, ogni anno nel mondo, nascono 300.000–400.000 bambini con una forma severa di emoglobinopatia, di cui circa 250 000 affetti da SCD. [16]

Sebbene queste alterazioni siano tipiche e molto frequenti in alcune regioni del mondo, gli importanti spostamenti degli ultimi 10-15 anni hanno portato a una nuova geografia della malattia con un notevole aumento dei valori di incidenza della SCD, portandola a frequenze non dissimili in alcune nazioni europee dalle più abituali malattie genetiche come l'emofilia e la fibrosi cistica.[2]

La più alta prevalenza di SCD rimane nelle regioni dell'Africa Sub Sahariana, dell'Arabia Saudita, dell'India e delle regioni mediterranee (aree malariche); è dimostrato infatti che la condizione di eterozigosi per emoglobinopatia rende i soggetti infettati dal Plasmodium Falciparum meno sensibili all'azione patogena del parassita malarico (FIG. 5).

La malaria, in questo caso, ha rappresentato un fattore di pressione selettivo positivo. [17]; analogamente è accaduto per altre emoglobinopatie pur con peculiarità nelle aree specifiche di distribuzione geografica (FIG. 6). La mutazione HbC (Glu6Lys) è più comune in Africa Occidentale; la mutazione HbD (Glu121Gln) è più comune nei soggetti di origine da aree mediterranee e indiane, ma anche di zone Thai e turche; la mutazione HbO-Arab (Glu121Lys) è molto comune in Medio Oriente.



**FIG. 5** Distribuzione delle emoglobinopatie in Europa, Africa e Asia (Davies et al 2000)

**Table 2. Geographic distribution of ethnic populations at increased risk for thalassaemia or sickle cell disorders**

Regions of Origin	Thalassaemia	Sickle Cell Disease
<b>Africa</b>	↑	↑
<b>Mediterranean region</b> e.g., Sardinia, Corsica, Sicily, Italy, Spain, Portugal, Greece, Cyprus, Turkey, Egypt, Algeria, Libya, Tunisia, Morocco, Malta	↑	↑
<b>Middle East</b> e.g., Iran, Iraq, Syria, Jordan, Saudi Arabia and other Arabian peninsula countries, Qatar, Lebanon, Palestine, Israel (both Arabs and Sephardic Jews affected), Kuwait	↑	↑
<b>South East Asia</b> e.g., India, Afghanistan, Pakistan, Indonesia, Bangladesh, Thailand, Myanmar	↑	↑ in parts of India
<b>Western Pacific region</b> e.g., China, Vietnam, Philippines, Malaysia, Cambodia, Laos	↑	–
<b>Caribbean countries</b>	↑	↑
<b>South American countries</b>	↑	↑

**FIG. 6** Regioni a rischio di SCD e Talassemia (Langlois et al 2008)

La prevalenza dei neonati con SCD varia tra lo 0,1/1000 (in paesi non endemici) al 5/1000 (India, Albania) al 20/1000 (Africa). (WHO 2008)

Annualmente, ci sono circa 332.000 concepimenti di feti affetti, Circa 275.000 hanno una malattia drepanocitica.

La maggior parte delle nascite (75%) di bambini affetti da emoglobinopatia ha luogo nelle regioni endemiche, mentre un 13% in regioni ad alta immigrazione (FIG. 7),

Table 2. Indicators of annual service needs for haemoglobin disorders

WHO and component regions	Indicator 1				Indicator 2	Indicator 3	Indicators 4 and 5	
	Annual affected conceptions				Total annual births (1000s)	Annual pregnant carriers (1000s)	Annual pregnancies	
	Sickle cell disorders	$\beta$ thalassaemias	$\alpha$ thalassaemias	Total disorders			Both parents carriers	At risk carriers
<b>African region</b>	<b>233 289</b>	<b>1 520</b>	<b>11</b>	<b>234 819</b>	<b>22 895</b>	<b>4 363</b>	<b>1 005 752</b>	<b>939 277</b>
Northern Africa	181	337	0	518	627	35	2 882	2 073
Western Africa	167 224	971	0	168 195	9 622	2 551	738 373	672 781
Middle Africa	40 688	27	0	40 715	4 184	804	162 934	162 861
Eastern Africa	25 184	183	11	25 377	6 974	966	101 510	101 509
Southern Africa	11	2	0	13	1 487	7	53	53
<b>American region</b>	<b>9 047</b>	<b>533</b>	<b>442</b>	<b>10 022</b>	<b>16 483</b>	<b>523</b>	<b>44 769</b>	<b>40 088</b>
Northern America	2 637	268	429	3 334	4 435	122	15 780	13 337
Central America	175	2	0	176	3 627	20	724	705
Caribbean	3 333	16	0	3 349	778	4 505	14 369	13 394
South America	2 902	248	13	3 163	7 643	278	13 895	12 651
<b>Eastern Mediter-ranean region</b>	<b>6 491</b>	<b>9 715</b>	<b>1</b>	<b>16 207</b>	<b>16 776</b>	<b>670</b>	<b>66 079</b>	<b>64 828</b>
Northern Africa	1 456	1 829	0	3 285	3 776	152	13 986	13 140
Eastern Africa	8	19	0	27	3 067	19	109	109
Western Asia	4 479	1 815	1	6 294	3 540	218	25 178	25 178
South central Asia	547	6 053	0	6 600	6 393	281	26 806	26 401
<b>European region</b>	<b>1 292</b>	<b>1 347</b>	<b>162</b>	<b>2 800</b>	<b>10 459</b>	<b>153</b>	<b>12 064</b>	<b>11 201</b>
Northern Europe	429	82	73	533	1 162	15.0	2 660	2 333
Western Europe	387	78	56	521	1 949	23.2	2 556	2 085
Southern Europe	204	313	33	550	1 458	39	2 263	2 202
Eastern Europe	0	25	0	25	2 881	8	98	98
South central Asia	0	365	0	365	1 190	27	1 461	1 461
Western Asia	272	484	0	756	1 819	41	3 027	3 023
<b>South-east Asian region</b>	<b>26 037</b>	<b>21 693</b>	<b>1 383</b>	<b>49 114</b>	<b>38 139</b>	<b>2 363</b>	<b>421 398</b>	<b>196 454</b>
South central Asia	26 037	9 348	0	35 386	31 210	1 476	230 905	141 542
South-eastern Asia	0	12 345	1 383	13 728	6 929	887	190 493	54 912
<b>Western Pacific region</b>	<b>13</b>	<b>7 601</b>	<b>10 524</b>	<b>18 138</b>	<b>23 914</b>	<b>1 038</b>	<b>191 045</b>	<b>72 554</b>
Eastern Asia	0	1 672	8 106	9 778	18 502	420	39 129	39 110
South-eastern Asia	0	5 846	2 373	8 219	4 774	607	151 173	32 878
Melanesia, Micronesia, Tokelau	0	54	0	54	242	6	214	214

FIG. 7 Global epidemiology of hemoglobin disorders (Modell et al-2008)E' noto il dinamismo e flusso di popolazioni degli ultimi decenni hanno determinato scenari nuovi per l'epidemiologia delle emoglobinopatie in Europa (FIG 7BIS).

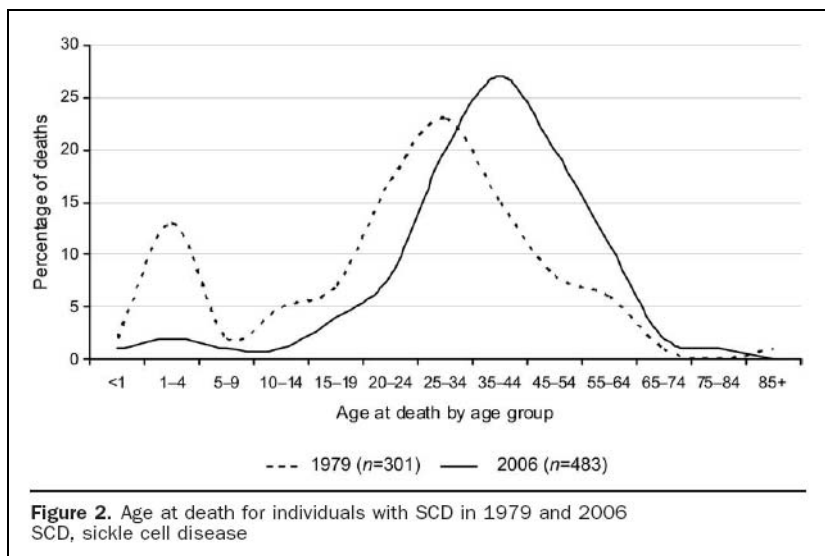
Table X. Annual births in non-indigenous groups at risk for haemoglobin disorders in Europe (adjusted estimates).

Country	Northern Africa	SS Africa high risk	SS Africa low risk	Central America	Caribbean	South America	Pakistan	Indian sub-cont other	Central Asia & Caucasus	Middle East	South East Asia	Eastern Europe	Former Yugoslavia	Southern Europe	Turkey	Mixed	Total in risk groups	Country total	% of births	
Norway	186	284	527	9	15	206	407	404			853	668	26	362	41	204	4,192	56,458	7.4	
Sweden	520	551	1,219	100	55	1,264	129	594	75	5,347	1,143	189	1,852	299	970		14,308	99,157	14.4	
Denmark	298	220	443	15	13	130	291	267	24	1,855	602	37	238	82	839		5,353	64,682	8.3	
Finland	127	101	224	10	7	51	19	80	7	317	273	26	87	25	91		1,445	56,630	2.6	
UK E&W	0	12,608	2,672				9,236	20,840	28,642		2,887	5,776			5,941	1,023	26,489	116,114	639,351	18.2
UK Scotland	0	115					39	917	453		65	194			166		860	2,810	55,733	5.0
Ireland	113	404	84	9	11	48	93	102	9	94	286	75	30	104	15		1,478	61,517	2.4	
Netherlands	7,242	2,856	792		1,746	10,540	76	255		3,553	10,137		904	1,001	5,965		45,065	200,297	22.5	
Belgium	5,054	7,046	167	40	198	392	180	268	197	422	871	106	278	3,960	2,138		21,317	114,014	18.7	
Luxembourg	0	111			7		1	8		7	17		88	895	4		1,137	5,303	21.4	
France	32,289	37,712			11,091	343		4,765			4,874			26,194	5,260		122,527	760,300	16.1	
Germany	3,108	2,846	770	15	201	141	582	1,867	579	6,086	3,346	1,289	13,777	11,203	31,822		77,631	706,721	11.0	
Austria	176	362						745		71	171		3,329	110	1,765		6,727	76,944	8.7	
Switzerland	611	795	256	31	175	963	59	919	23	580	991	110	3,707	4,269	1,584		15,074	71,848	21.0	
Italy	10,475	2,843	1,258	224	477	4,719	399	1,688	39	582	1,855	1,123	2,262	3,361	220		31,524	539,503	5.8	
Greece	755	273	120	12	23	96	164	221	1,352	462	131	605	79	7,271	1,156		12,921	104,420	12.4	
Spain	12,086	2,018	26	653	1,747	15,814	301	258	98	405	857	964	58	996	27		36,309	439,863	8.3	
Portugal	60	4,746	63	11	12	1,662	24	153	5	15	138	39	5	161	3		7,098	112,515	6.3	
Total	73,101	75,891	8,621	1,130	25,055	36,368	24,482	41,689	2,607	23,600	32,329	4,591	27,055	66,079	53,085	27,349	523,032	4,165,256	12.6	

FIG. 7BIS Annual births in non-indigenous groups at risk for haemoglobin disorders in Europe (Modelle et al – 2007)

La maggior parte dei bambini nati in regioni ad alto livello socio-economico cresce, per la disponibilità di accesso a cure adeguate, con possibilità di buona qualità di vita in base al fenotipo e precocità di inizio di intervento; la maggioranza dei bambini affetti nelle regioni a basso livello socio-economico muore rischia di andare incontro alle complicanze più gravi in termini di morbilità e mortalità: le emoglobinopatie contribuiscono al 3,4% della mortalità infantile mondiale, 6,4% in Africa.[3]

Più del 50% dei bambini malati con un fenotipo severo, se non trattato, muore prima dei 5 anni di solito per infezioni o per la gravità dell'anemia (FIG. 8). [18]



**FIG. 8 Distribuzione dell'età all'evento morte nella popolazione affetta da SCD in US nel periodo 1979-2006 (Hassell, 2010)**

Si stima che dei circa 20-25 milioni di individui malati omozigoti SCD, circa 12-15 milioni siano in Africa Sub-Sahariana (con una prevalenza della mutazione Glu6Val intorno al 25%-35%), 5-10 milioni in India e circa 3 milioni nel resto del mondo. Negli Stati Uniti si stimano circa 700.000 pazienti con SCD [19], con un'incidenza di 1 ogni 2000-2500 nuovi nati (1 ogni 346 bambini afro-americani e 1 ogni 1114 bambini ispanici nelle regioni orientali degli Stati Uniti).[20]

Inizialmente, la sopravvivenza media della SCD in USA era stimata intorno ai 42 anni per gli uomini e 48 per le donne [21], oggi invece i considerevoli miglioramenti in campo diagnostico e terapeutico hanno portato a un miglioramento nella sopravvivenza.[22]

Le principali cause di morte sono le infezioni, gli eventi cerebrovascolari, la sindrome acuta toracica e l'ipertensione polmonare.[23] [24]

A causa del costante aumento dei bambini affetti da emoglobinopatia negli ultimi anni e del peso crescente della gestione della SCD sui sistemi sanitari, nel 2006 l'Organizzazione Mondiale della Sanità rilasciava il Rapporto "Sickle Cell Anemia" A59/9, che invitava i Sistemi Sanitari dei vari Stati a: ***"to design, implement, reinforce in a systematic, equitable and effective manner, comprehensive national integrated programs for the prevention and management of SCD reducing morbidity and mortality"***.

Il 22 Dicembre 2008 l'Assemblea Generale delle Nazioni Unite approvava la risoluzione "Recognition of sickle-cell anaemia as a public health problem" (documento A/63/L.63) che

invitava i vari Stati a “raise global awareness on SCD” ed istituiva la Giornata Mondiale della Drepanocitosi il 19 Giugno di ogni anno.

Per quanto riguarda l'Italia, è un reservoir naturale della SCD per due motivi: l'alta frequenza del gene S nella popolazione siciliana e meridionale (2-13%) e l'alta frequenza delle mutazioni della beta talassemia nella popolazione italiana in generale. L'ultima survey nazionale è piuttosto datata e sottostima in maniera evidente l'incidenza attuale della malattia, in considerazione dell'andamento in crescendo del flusso d'immigrazione in questi ultimi anni [25], cosa che accade anche nella più recente trattazione del 2008 sull'ampliamento dello screening neonatale piemontese alle malattie metaboliche.

Nel 2011 sono state pubblicate raccomandazioni italiane per la gestione delle sindromi drepanocitiche in età pediatrica, segno di un'attenzione nuova al problema nel contesto nazionale [26].

Mancano, infatti, dati accurati riguardo l'incidenza e prevalenza dei vari paesi e sarebbe necessario realizzare processi di mappatura riguardo la frequenza di queste patologie per definire meglio l'entità del fenomeno e poter programmare in maniera più adeguata la politica sanitaria[16].

### - **Aspetti clinici della SCD**

Il quadro clinico delle SCD consegue ai principali eventi fisiopatologici determinati dalla polimerizzazione delle molecole di HbS. (emolisi-danno endoteliale-vasocclusione – FIG. 9).

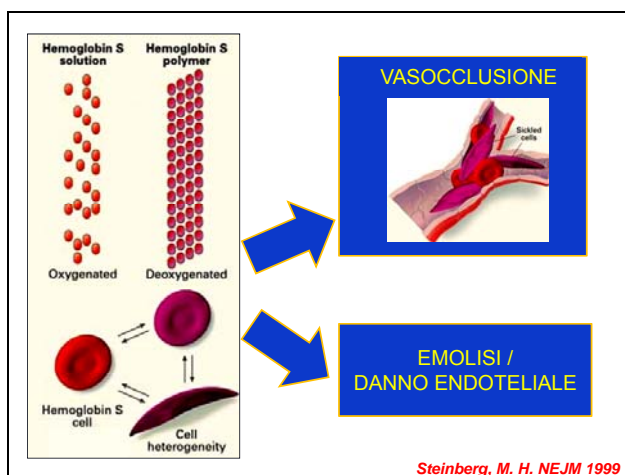


FIG.9: eventi fisiopatologici secondari a polimerizzazione nella SCD

Il profilo clinico che ne deriva si caratterizza per:

- Storia naturale di malattia a decorso clinico cronico con progressivo danno d'organo e tissutale intervallato da episodi emolitici e vasocclusivi acuti sintomatici (CRISI) (FIG.10)
- espressività fenotipica molto variabile:

eterogeneità di tipologia di manifestazioni cliniche, a fenotipo emolitico/endoteliale o a fenotipo vasocclusivo, con possibilità di evoluzione nel tempo; in una minoranza dei casi la malattia presenta poche complicanze e decorso pressoché silente, la maggior parte dei soggetti affetti da SCD presentano un decorso a fenotipo intermedio; un'altra minoranza può andare incontro a complicanze gravi e invalidanti (in particolare stroke in età pediatrica).

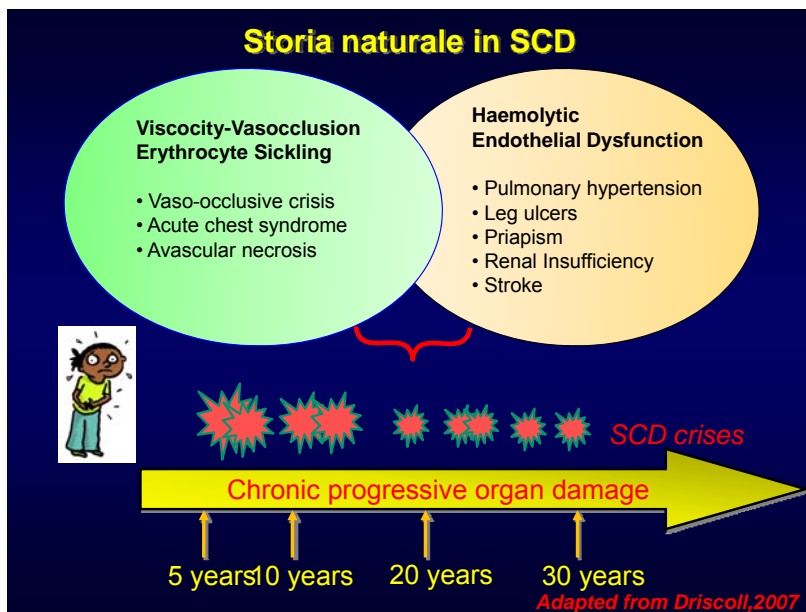


FIG. 10 Storia naturale della SCD

Le linee guida internazionali [27] [26] raccomandano un adeguato follow-up in ogni età della vita per definire puntualmente il fenotipo clinico del soggetto, individuando precocemente soggetti a fenotipo severo su cui applicare terapie preventive adeguate.

Le manifestazioni cliniche in acuzie variano per frequenza e gravità: dalle caratteristiche crisi dolorose vasocclusive che si manifestano con frequenza variabile nella maggior parte dei soggetti con SCD ad altri eventi acuti, meno frequenti, ma potenzialmente fatali e/o

invalidanti (sepsi, sindrome toracica acuta da crisi vasocclusiva polmonare, stroke da crisi vasocclusiva cerebrale, sequestro splenico).

Le crisi vasoocclusive rappresentano episodi di danno ipossico e conseguente infarto; in base alle caratteristiche di micro e macrocircolo risultano interessati prevalentemente alcuni organi quali ossa, milza, fegato, cervello, polmoni, reni e articolazioni. In molti casi è individuabile un evento scatenante la crisi (processi infettivi, esposizione a basse temperature, disidratazione, immobilizzazione prolungata), ma spesso resta ignoto.

- Le crisi di **DOLORE** osseo e/o addominale: rappresentano la causa più frequente di morbilità e ospedalizzazione nella SCD. Il dolore è causato da vasocclusione e danno ischemico tissutale conseguente in tessuti con buona rappresentazione di terminazioni nervose nocicettive. Rientra in questa categoria di sintomi ladattilite (sindrome mani-piedi), spesso tra le prime manifestazioni di malattia nei primi due anni di vita. [28]

- **STROKE**: evento grave, evento severo con possibilità di mortalità o invalidità permanente. Powars [29] per primo descrisse circa 25 anni fa la storia naturale dello stroke nella SCD, documentando un picco di incidenza nei soggetti di giovane età. In seguito, l'indicazione più esaustiva dell'incidenza dello stroke è stata fornita dal Cooperative Study of Sickle cell Disease (CSSCD), uno studio americano, multicentrico disegnato per definire la storia naturale della SCD in USA, che ha raccolto con valutazione prospettica i dati di circa 4000 pazienti con SCD seguiti per 10 anni dal 1978 al 1988, di cui 700 in età pediatrica [30]. Questo studio ha confermato le precedenti segnalazioni di un elevato rischio di infarto cerebrale sintomatico o asintomatico nei bambini con SCD, documentando:

- entro i 20 anni di età, un'incidenza cumulativa di stroke sintomatico dell'11% e una prevalenza di infarti silenti (inattesi in base alla clinica, documentati solo mediante RMN) del 17% [31]
- entro i 45 anni di età, un'incidenza cumulativa di stroke del 24%
- maggior incidenza dello stroke nei soggetti con drepanocitosi omozigote (SCA); minor incidenza negli altri genotipi di SCD.

In generale i dati della letteratura indicano che nei soggetti con SCD l'incidenza dello stroke ischemico è maggiore nella prima decade di vita, con un'incidenza dell'1,02% per anno nella fascia di età compresa tra i 2 e 5 anni di vita [32]. Il rischio si riduce nella seconda decade; a partire dai 29 anni di età è descritto un secondo picco di incidenza, inferiore comunque a quello descritto nell'età infantile. L'infarto emorragico è invece più frequente dopo la III decade di vita (FIG. 11).



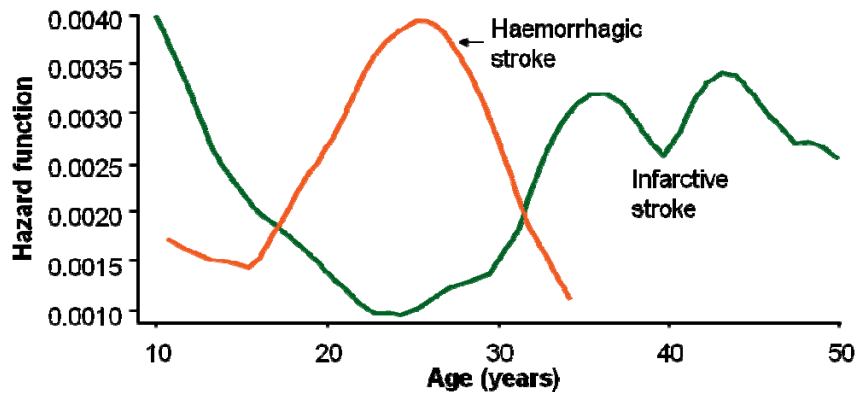


FIG. 11 Rischio per 100 anni-persona di infarto ischemico (linea continua) ed infarto emorragico (linea tratteggiata) in soggetti con SCA secondo ai dati raccolti dal CSSCD. [30]. L'incidenza di stroke ischemico è risultata di 0,44 per 100 anni-persona al di sotto dell'età di 20 anni.

Le manifestazioni cerebrovascolari della SCA variano da infarti estesi nel territorio di distribuzione di grossi vasi arteriosi, a infarti lacunari; differiscono per epidemiologia, clinica e caratteristiche fisiopatologiche (Tabella 1).

Nella popolazione pediatrica con SCD la maggior parte degli stroke sono ischemici; gli infarti emorragici sono più comuni in età adulta [30]. Lo stroke è **sintomatico (ischemico o emorragico)** quando la riduzione/assenza di flusso cerebrale si verifica nel territorio di distribuzione di una o più delle grosse arterie intracerebrali, in genere per occlusione mono o bilaterale delle arterie carotidi interne nella porzione distale (DICA), e/o delle due arterie cerebrali medie (MCA) e/o delle arterie cerebrali anteriori (ACA) [33] (Figura 2A/2B). La vasculopatia di tipo moyamoya deriva dal progressivo restringimento di questi vasi con formazione di un circolo collaterale vasale compensatorio; si sviluppa in circa il 30% dei pazienti con stroke ed indica una severa compromissione cerebrovascolare [34]. I bambini con pregresso stroke e quadro neuroradiologico di sindrome di moyamoya mostrano una maggiore compromissione neuropsicologica rispetto a quelli in cui risulta assente [34]. Questi bambini sono tra l'altro a maggior rischio di stroke ricorrente, nonostante la terapia trasfusionale regolare [34].

**Lo stroke ischemico** non è in genere mortale, ma può esitare in danni permanenti, in particolare spasticità, epilessia, alterazioni neurocognitive; nei bambini in cui si verifica un buon recupero, spesso persistono comunque lievi deficit motori, una riduzione del quoziente intellettivo e delle abilità nella sfera linguistica [35]. Quando ricorrente, lo stroke ischemico esita in genere in tetraparesi spastica e in paralisi pseudo bulbare.

**Lo stroke emorragico**, mortale in circa il 26% dei casi è in genere dovuto alla rottura di piccoli vasi collaterali di tipo moyamoya o di aneurismi [30].

**Gli infarti asintomatici**, cosiddetti “silenti”, si presentano alla RMN come segnali puntiformi di iperintensità nella sostanza bianca cerebrale. Queste lesioni ischemiche conseguono all'occlusione di piccoli vasi, in genere arterie terminali. I bambini con infarti silenti identificati mediante RMN possono essere asintomatici, ma se sottoposti a test neuropsicologici presentano risultati inferiori rispetto ai soggetti con RMN cerebrale non patologica [36] e sono a maggior rischio di futuri stroke.

- Le **INFEZIONI** sono la principale causa di morte nei soggetti affetti da SCD, soprattutto nei bambini di età inferiore ai cinque anni.[37] [38]. La sepsi pneumococcica è una frequente causa di morte nei primi tre anni di vita. Gli individui affetti da SCD sono suscettibili di sviluppare un'asplenia funzionale sin dai primi anni di vita, per i possibili infarti ricorrenti a questo livello. Questi soggetti sono a rischio nettamente maggiore rispetto alla popolazione generale, di sviluppare batteriemia, sepsi e meningite da infezioni da batteri capsulati (*Streptococcus pneumoniae*, *Hemophilus influenzae* e *Neisseria meningitidis*) e osteomielite e/o artite settica da *Salmonella* spp, *Staphylococcus aureus* e *Streptococcus pneumoniae*. Le infezioni possono essere la causa scatenante ma anche l'evoluzione delle complicanze tipiche della malattia e ciò va sempre tenuto presente nella corretta gestione di una patologia complessa come l'SCD; ad esempio *Streptococcus pneumoniae*, *Mycoplasma pneumoniae* e *Chlamydia pneumoniae* sono talora anche implicati nello sviluppo di Acute Chest Syndrome. Prevenzione e trattamento immediato ed aggressivo delle infezioni batteriche sono il cardine della corretta gestione del paziente drepanocitico. Sono raccomandati i vaccini contro questo organismi e la profilassi con penicillina, vista l'evidente riduzione dell'incidenza di infezioni.[39]

- La **SINDROME TORACICA ACUTA (CHEST SYNDROME)** è una complicanza acuta polmonare tra le possibili cause di morte nei soggetti affetti da SCD. Si manifesta con un nuovo infiltrato polmonare sulla radiografia del torace e di solito in concomitanza di sintomatologia respiratoria, ipossiemia e possibile febbre. Spesso si sviluppa durante o in seguito ad una crisi vasocclusiva dolorosa [40], motivo per il quale è richiesto un attento monitoraggio del paziente per almeno 24 ore dalla comparsa di una crisi dolorosa, anche in pazienti che si presentino normali ad un primo esame obiettivo. Può evolvere rapidamente nel giro di ore, fino a situazioni estreme con necessità di intubazione e supporto di ventilazione meccanica.[41] Diversi fattori eziologici possono causarla come ad esempio emboli di grasso conseguenti a infarti del midollo osseo, infezioni (in particolar modo le polmoniti acquisite in comunità, le polmoniti da *Mycoplasma Pneumoniae*, quelle da *Chlamydia Pneumoniae* e quelle virali) e infarti polmonari.[42]

- Le **SINDROMI da SEQUESTRO** sono causate dall'intrappolamento e distruzione delle emazie specie all'interno dei sinusoidi splenici ed epatici. Il sequestro nel bambino è di solito splenico, nell'adulto è più frequente il sequestro epatico. Il sequestro splenico costituisce un'importante causa di morbidità e mortalità del bambino con SCD [43].

Si caratterizza per la rapida anemizzazione, associato ad improvvisa splenomegalia rispetto ai valori basali e a segni di attiva ematopoiesi, talora in seguito a malattia febbrile. Le manifestazioni cliniche del sequestro splenico sono conseguenza del collasso cardiocircolatorio dovuto all'ipovolemia improvvisa, dello shock e del rapido ingrandimento della milza.

La mortalità è elevata, dal 7 al 30% dopo il primo episodio. Il rischio di ricorrenza è elevato, in più della metà dei pazienti, e in questi pazienti la mortalità è ancora più elevata [44]. In circa un terzo dei pazienti, dopo una crisi di sequestro splenico acuto, residua ipersplenismo cronico. La diagnosi precoce di SCD mediante lo screening neonatale e la successiva adeguata informazione dei genitori, educandoli alla palpazione della milza, determina il precoce riconoscimento del sequestro splenico; il conseguente tempestivo inizio di trattamento ha determinato una significativa riduzione della mortalità [45].

- Il **PRIAPISMO**: nella SCD è un priapismo ischemico a basso flusso o veno-occlusivo, dovuto a falcizzazione delle emazie nei corpi cavernosi, favorito dalla relativa acidità dei **corpicavernosi** durante l'erezione o l'ipoventilazione del sonno notturno, o da modesti traumi con i rapporti sessuali o la masturbazione. Può associarsi a crisi vasocclusive e infezioni. Frequentemente compare intorno alle 4.00 del mattino o al risveglio, a causa di erezioni o ipoventilazione durante il sonno notturno. Il rischio è stato correlato a più alti livelli di HbS [46] e a più bassi livelli di HbF, ma sembra soprattutto legato al grado di emolisi, probabilmente attraverso una deplezione dell'ossido nitrico, il cui ruolo nella funzione

erettile è molto importante. Alcuni polimorfismi genetici sono associati ad una maggiore frequenza di priapismo. In genere nei pazienti più giovani il priapismo è limitato ai corpi cavernosi (priapismo bicorporale), mentre negli adulti sono interessati anche i corpi spongiosi (priapismo tricorporale), con tendenza ad avere episodi più prolungati ed una probabilità superiore al 50% di diventare impotenti. Il priapismo da SCD può essere breve oppure prolungato, o anche ripresentarsi frequentemente, con necessità di trattamenti specifici. rapidi per prevenire danno tissutale permanente e impotenza [47]

- Le **CRISI IPO-APLASTICHE** midollari tendono ad essere una significativa causa di morbidità nella SCD, come in altre anemie emolitiche.

Nei pazienti affetti da SCD il tempo di sopravvivenza degli eritrociti è ridotto anche nelle fasi di benessere e, se interviene una crisi aplastica, può insorgere una depressione temporanea della funzione midollare e questa può evolvere in modo grave [48].

La condizione morbosa è caratterizzata da una rapida discesa dei valori dell'emoglobina (può raggiungere anche i 2-3 g/dl) e da una reticolocitopenia marcata. La reticolocitopenia inizia mediamente 5 giorni dopo l'avvenuto contagio e continua per circa 7-10 giorni e l'esacerbazione dell'anemia interviene subito dopo la reticolocitopenia.

La crisi aplastica può essere causata da vari stimoli di natura prevalentemente infettiva, specie virale e soprattutto in conseguenza di un'infezione da Parvovirus B19 (PV B19). L'immunità conferita dall'infezione è considerata permanente e ciò protegge in maniera piena da crisi aplastiche dovute al PV B19.

Le **manifestazioni cliniche croniche** conseguono al danno tissutale e d'organo cronico da ipoperfusione e/o alterazioni endoteliali conseguenti all'emolisi. In particolare alterazioni osteo-articolari, necrosi avascolare dell'osso (in particolare testa del femore e testa dell'omero), nefropatia, deficit restrittivo polmonare, colelitiasi, retinopatia, cardiomiopatia, ritardo di crescita e di sviluppo puberale, ipertensione polmonare, ulcere trofiche cutanee. I pazienti che effettuano frequenti trasfusioni di sangue possono sviluppare sovraccarico marziale [49]

L'eterogeneità fenotipica è una caratteristica delle SCD. Ad oggi pochi markers "robusti" clinici o laboratoristici/strumentali sono disponibili (FIG.12); in questo senso follow-up attento con indagini preventive per la valutazione di danno d'organo eventuale in fase presintomatica e "personalizzazione" dei percorsi terapeutici sono necessari.

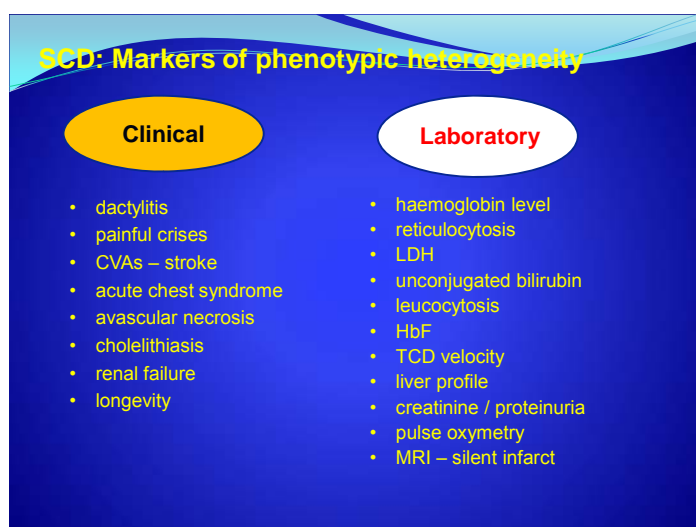


FIG. 12 Markers di eterogeneità fenotipica nella SCD

**Aspetti diagnostici** Le indagini diagnostiche per SCD possono essere richieste per motivi differenti: conferma ad un sospetto clinico di di SCD o per identificazione in fase preclinica nell'ambito di programmi di screening ( nel caso dello screening neonatale/screening prenatale di coppie a rischio).

La diagnosi di SCD consegue al riconoscimento della presenza della variante HbS, ma sempre attraverso un processo presuntivo, cioè l'HPLC, l'isoelettrofocusing, o meno comunemente l'elettroforesi su acetato di cellulosa o agar-citrato.

L'identificazione di HbS deve basarsi su un minimo di due tecniche diverse basate su diversi principi.

L'identificazione definitiva può essere data dalla dimostrazione della perdita di un normale gene della  $\beta$ -globina con l'analisi del DNA, dalla spettrometria di massa o dal sequenziamento delle proteine.[50] *Tecniche di ricerca in biologia molecolare con 'analisi del DNA in genere con la metodica della Polymerase Chain Reaction (PCR) e se necessario sequenziamento del gene globinico, possono essere richieste in caso di sospetta eterozigosi HbS/difetti talassemici per una definizione della mutazione o la delezione presente.ti talassemici [51]*

Nel 1975 l'International Committee for Standardization in Hematology ha espresso raccomandazioni riguardo le indagini diagnostiche per sindromi talasemiche e SCD: test emocromocitometrici, l'elettroforesi a un pH alcalino, il test di solubilità e falcizzazione, la quantificazione di HbA2 e HbF; in seguito per migliorare l'identificazione di varianti,sono state raccomandate l'elettroforesi a pH acido 6.0-6.2, la separazione delle catene globiniche e l'isoelectric focusing (IEF). L'elettroforesi a pH alcalino e acido è una tecnica semplice da eseguire, ma con svantaggi in termini di tempi richiesti, precisione e accuratezza, non possibilità di quantificare correttamente né le rapide varianti HbH e HbBart né le basse concentrazioni di varianti Hb, specialmente se confrontate al migliore risultato delle tecniche HPLC (FIG. 13).

Oggi quindi la cromatografia liquida ad alta prestazione (HPLC) è il metodo di prima linea per quantificare l'HbA2, l'HbF e le altre varianti Hb, sia a scopo diagnostico che nel follow-up delle emoglobinopatie. La misura di HbA2 attraverso l'HPLC a scambio cationico può essere complicata negli individui con HbS, dal momento che HbA2 risulta sovrastimata per la presenza di addotti HbS. In questi casi è più indicata l'elettroforesi capillare tecnica ibrida che combina la sensibilità dell'elettroforesi capillare con l'acquisizione automatica del campionamento e dei dati dell'HPLC e che elimina questa interferenza.[52]

In particolare sono oggi disponibili strumenti per HPLC dedicata per sangue cordonale/screening neonatale.

## Evoluzione delle tecniche di studio delle varianti emoglobiniche

### Elettroforesi a pH alcalino e/o acido:

- su carta
- su gel d'amido
- su gel d'agar
- su acetato di cellulosa

### Isoelettrofocalizzazione (I.E.F.)

- capillare
- Cromatografia:
  - amberlite
  - scambio ionico in colonne aperte (o. c.) monouso
  - HPLC (in genere a scambio cationico)

Nel 1985 inizia l'uso della Polimerase Chain Reaction (PCR)

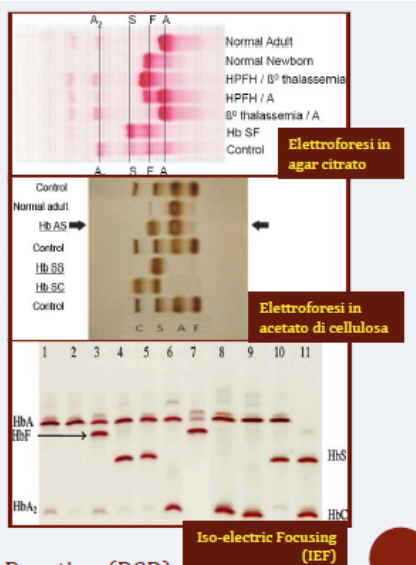


FIG. 13 Evoluzione delle tecniche di studio delle varianti emoglobiniche

La concentrazione di HbF è variabile nella SCD e il suo aumento in qualche modo mitiga il fenotipo della malattia, tanto che viene usato come obiettivo terapeutico. Nel follow-up oltre che l'HbF, vengono monitorizzati i livelli di HbA e HbS.[51]

Le possibilità diagnostiche per HbS alla nascita, su sangue periferico e su sangue del cordone ombelicale in misura analoga, sono del tutto equivalenti a quelle che si hanno per l'individuo adulto, fatto salvo il fatto che alla nascita gli esami di conferma non molecolari (prove di falcizzazione e di solubilità) risentono negativamente, anche se in misura variabile, della presenza di emoglobina F (HbF) elevata. I test molecolari sono test diagnostici senza necessità di conferma, ma NON UTILIZZABILI nell'ambito dello screening, per i tempi lunghi, i costi elevati, e possibilità di informazioni solo sulla mutazione studiata.

Prova di falcizzazione e prova di solubilità sono due semplici esami che permettono il riconoscimento della HbS in un campione di sangue e che dovrebbero essere disponibili in tutti i laboratori per confermarne la presenza quando compare un picco anomalo nell'analisi HPLC o nel tracciato elettroforetico.

Entrambi sono basati sul principio che mentre la HbS ossigenata è totalmente solubile, quando questa passa allo stato deossigenato polimerizza formando piccoli cristalli che deformano le emazie oppure causa una relativa torbidità in soluzione acquosa. *In vitro* la deossigenazione viene ottenuta col trattamento con metabisolfito di sodio (ditionito di sodio), che reagisce molto rapidamente esaurendo velocemente tutto l'ossigeno in soluzione,

permettendo quindi il totale distacco dell'ossigeno dall'emoglobina ossigenata in tempi molto rapidi.

Rare positività sono state ottenute in presenza di alcune rare varianti emoglobiniche (Hb Alexandra, HbC Georgetown, HbC Harlem, HbI, Hb Memphis) o dell'emoglobina di Bart (tetramero  $\gamma_4$ ). Sono note infine almeno 30 rare varianti delle catene  $\beta$  globiniche con la sostituzione di due amminoacidi. Dodici di queste varianti presentano il fenomeno del "sickling" riconducibile alla comune presenza della sostituzione Glu>Val al codone 6. entrambe le prove non sono indicate come metodi di screening della HbS in epoca neonatale, perché le alte concentrazioni di emoglobina fetale presenti alla nascita rendono più difficile la formazione dei polimeri di HbS deossigenata.

La maggior parte degli individui con SCD sono asintomatici alla nascita e manifestano la malattia più tardi nella prima infanzia, quando i livelli di HbF si riducono a vantaggio di un aumento dell'HbS. Laddove non è previsto uno screening neonatale per SCD, il sopraggiungere di tali sintomi è tra le condizioni che può permettere di porre il sospetto di malattia. Le diagnosi effettuate solo in seguito a sintomatologia presentano il rischio del "RITARDO" di diagnosi (FIG. 14).

**TABLE II. Sickle Cell Patients Diagnosed Through Illness: 48% (N = 182)**

Presenting symptom	Frequency	Age at diagnostic presentation (years, range)
Bony vaso-occlusive crisis	68 (37%)	4.0 (0.3–16)
Dactylitis	51 (28%)	1.3 (0.3–11)
Severe anemia	26 (14%)	3.0 (0.2–16)
Jaundice	21 (11.5%)	3.0 (0.2–17)
Abdominal crisis	15 (8.2%)	3.1 (1–6)
Acute chest syndrome	10 (5.5%)	3.3 (1–8)
Acute splenic sequestration	9 (5%)	1.8 (0.7–3.5)
Sepsis	6 (3.3%)	4.3 (0.75–14)
Death	2 (1%)	2.5 (1.5–3.5)
Aplastic crisis	2 (1%)	4.5 (2.5–7)
Stroke	1 (0.55%)	5
Meningitis	1 (0.55%)	2.5
Priapism	1 (0.55%)	2.5

**FIG.14 Motivo di SCD diagnosi per sintomatologia (Liebermann, 2009)**

Sintomi per cui tra le possibili diagnosi differenziali è importante porre anche il sospetto di SCD, intraprendendo precocemente l'iter terapeutico e diagnostico, sono edema doloroso di mani e piedi, dolore osseo persistente e, anemizzazione severa in presenza di indici di

emolisi, ittero, splenomegalia; tale sintomatologia è tanto più suggestiva quando accompagnata da elementi indicativi a livello anamnestico, sempre da esplorare (anamnesi familiare, etnia, l'anamnesi patologica remota).

### - **Diagnosi prenatale**

In letteratura i dati relativi alle scelte in merito di DPN da parte delle coppie a rischio di SCD non sono molti. In generale viene indicata una scelta di DPN in percentuale inferiore rispetto a quanto avviene da parte delle coppie a rischio di talassemia; fattori culturali/religiosi/etici sono probabilmente tra i fattori responsabili di questa diversità. In genere le famiglie che richiedono DPN hanno già un figlio affetto (FIG 15).

Peraltro a diagnosi prenatale si situa come intervento all'intervento di un intervento più "ampio" di tipo preventivo, che include la consulenza di coppie per dare informazione di eventuale rischio di prole affetta e permettere scelte responsabili, oltreché informare sul tipo di problema di salute e identificare portatori sani.

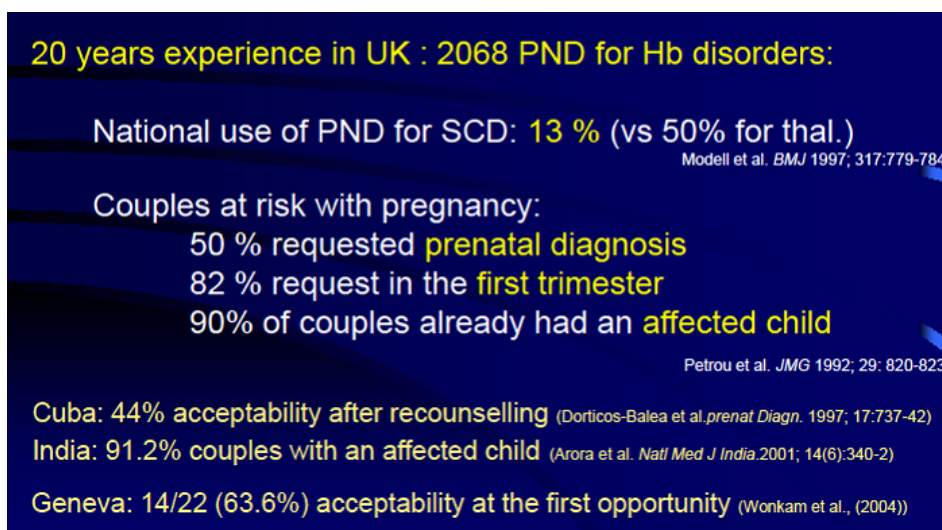


FIG.15 Esperienze in letteratura su DPN and SCD (Ambroise Wonkam-University of Yaoundé 2007)



## - **Aspetti di terapia e presa in cura**

*Come per altre malattie genetiche e croniche, una presa in cura globale che tenga conto della persona malata di SCD nei suoi diversi aspetti, degli aspetti di prevenzione e informazione dei portatori sani e di sensibilizzazione generale a questo problema di salute è fondamentale.*

### - *Presa in cura dei malati di SCD*

La SCD è una malattia complessa con manifestazioni che colpiscono tutti gli organi e richiede un approccio che comprenda la diagnosi precoce, l'instaurazione precoce di misure profilattiche (profilassi con penicillina, vaccinazioni), l'educazione sanitaria specifica e il follow-up delle funzioni d'organo compresa la prevenzione primaria dello stroke.[53]

Questo approccio ha notevolmente ridotto la mortalità e le ospedalizzazioni dei pazienti [54] con riduzione dei costi per il sistema sanitario.[55]

### - **Comunicazione diagnosi**

E' un momento importante, in una malattia genetica a decorso cronico, per iniziare un percorso di presa in cura efficace con il malato, in genere in età pediatrica, e la famiglia.

Da un lato una comunicazione chiara nei diversi aspetti, fin dall'inizio, dall'altro una presentazione adeguata delle strutture e personale predisposto a questa presa in carico e una migliore comprensione della tipologia di malato (FIG. 16), non solo dal punto di vista clinico, ma anche relazionale/psicologico/percorso di vita e della situazione familiare è utile per "personalizzare" e rendere più efficace il percorso di cure e agevolare compliance e per quanto possibile serenità di adesione al percorso.

Un'organizzazione specifica del momento di colloquio diagnosi, a più riprese, è importante.

## II.2. Première consultation de suivi après confirmation du diagnostic

Cette consultation entre les parents du nouveau-né dépisté et le médecin spécialisé dans la prise en charge de la drépanocytose a pour but :

- d'examiner le nouveau-né, l'examen à 2 mois est le plus souvent normal ;
- d'organiser avec les parents les modalités de la prise en charge médicale et sociale de l'enfant ; l'assistante sociale et le/la psychologue du service peuvent être présentés dès cette 1<sup>re</sup> consultation, même si les parents ne font appel à eux qu'ultérieurement ;
- de remettre des documents d'informations sur la drépanocytose et d'informer les parents de l'existence d'associations de parents d'enfants drépanocytaires ;
- d'expliquer aux parents les signes cliniques de l'enfant qui doivent les amener à consulter en urgence (cf. § II.5.1) ;
- de débiter les vaccinations (cf. § III.3) ;
- de débiter l'antibioprophylaxie antipneumococcique (cf. § III.1) ;
- de récupérer les sérologies VIH, VHC et VHB de la mère.

Le bilan recommandé lors de cette première consultation comprend :

- un hémogramme ;
- une numération des réticulocytes ;
- un groupe sanguin avec phénotypage étendu, à répéter entre l'âge de 6 mois et 1 an ou 3 mois après transfusion pour permettre l'établissement de la carte de groupe qui ne sera définitive qu'après l'âge de 1 an et dont un exemplaire sera remis aux parents ;
- un dosage de G6PD ;
- un dosage du fer sérique et de la capacité totale de fixation de la transferrine.

Ce bilan nécessite un prélèvement volumineux (5 ml) dont la nécessité doit être expliquée aux parents. Il est recommandé de prévenir la douleur liée au prélèvement par une application de crème associant lidocaïne-prilocaine sur le site de ponction.

## II.3. Conseil génétique

La possibilité d'un diagnostic prénatal lors des futures grossesses est à évoquer avec les parents, hors de la présence de l'enfant, en tenant compte des références culturelles et/ou religieuses de la famille. Le diagnostic prénatal fait l'objet d'une consultation de génétique spécifique.

Il est recommandé d'expliquer aux parents la distinction entre un enfant porteur du trait S ou porteur sain (hétérozygote AS) et un enfant porteur d'un syndrome drépanocyttaire majeur et de ne pas hésiter à répéter ces explications.

FIG. 16 Raccomandazioni "prima" visita per nuova diagnosi di SCD (Raccomandazione per drépanocytose - Francia)

### - Misure profilattiche

Ad oggi, profilassi antibiotica contro lo pneumococco e vaccinazioni dirette ai principali vatteri capsulati rappresentano i primi e più importanti mezzi a nostra disposizione per ridurre morbilità e mortalità nella SCD. Resta comunque necessario per coloro che gestiscono questi pazienti mantenere elevato il livello di attenzione nei confronti delle infezioni, perché la profilassi penicillinica può non essere sufficiente, a causa di possibile scarsa compliance, e può indurre lo sviluppo di ceppi batterici resistenti agli antibiotici e le vaccinazioni oggi disponibili non immunizzano verso tutti i sierotipi patogeni circolanti. La profilassi penicillinica, da quando è stata introdotta, ha prodotto una netta riduzione

delle infezioni pneumococciche invasive, tanto da incentivare il ricorso a programmi di screening neonatale, che consentano l'inizio della profilassi antibiotica dal secondo mese di vita [56].

La profilassi penicillinica è indicata per tutti i bambini affetti da SCD omozigote SS o eterozigote composta S-β<sup>th</sup> (1-3), dalla diagnosi fino almeno all'età di 5 anni (non omogenee indicazioni circa l'età di sospensione). Nei bambini che abbiamo avuto diagnosi di SCD per screening neonatale, l'inizio della profilassi con penicillina è indicato tra il II e III mese di vita. La profilassi penicillinica viene raccomandata in maniera prudenziale anche ai soggetti con genotipo SC, non essendo stati prodotti studi che indichino la sicurezza del mancato ricorso alla profilassi in queste forme.

Tutti gli studi clinici eseguiti finora hanno utilizzato la penicillina orale secondo il seguente schema (1,2):

- per bambini di peso < Kg 10: 100.000 UI/Kg in due somministrazioni/die
- per bambini di peso > Kg 10: 50.000 UI/Kg in due somministrazioni/die

In Italia ci troviamo di fronte a diversi problemi nella prescrizione della profilassipenicillinica, in quanto non è disponibile la penicillina orale. Come alternativa alla formulazione orale, può essere raccomandata, laddove disponibile, la somministrazione di benzilpenicillina benzatina intramuscolare ogni 21 giorni al dosaggio di 600.000U per bambini < 6 anni o 1.200.000U se età > 6anni. Le iniezioni intramuscolari risultano dolorose e in età pediatrica la via di somministrazione da preferirsi dovrebbe essere, quando possibile, quella orale, soprattutto nelle terapie a lungo termine. Pertanto può essere utilizzata la

somministrazione di amoxicillina secondo i diversi schemi disponibili, tuttavia con pareri ad oggi discordanti sul dosaggio e sul numero di somministrazioni giornaliere di antibiotico [26]. I bambini con SCD devono eseguire tutte le vaccinazioni previste per i bambini sani e praticare ulteriori vaccinazioni dirette ai batteri capsulati (*Streptococcus Pneumoniae*, Meningococco, *Haemophilus Influenzae*) al fine di prevenire le infezioni a cui risultano più esposti.

In merito alla vaccinazione antipneumococcica (vaccino coniugato e polisaccaridico), tutti i bambini con SCD vanno sottoposti a profilassi vaccinale idonea a partire dall'età di due mesi di vita, secondo schemi vaccinali disponibili in letteratura [26],

I pazienti cui viene diagnosticata una SCD in epoca prenatale o neonatale vanno avviati a vaccinazione a partire dai 2 mesi [57].

Nei paesi in cui non è previsto lo screening neonatale, come in Italia, spesso la diagnosi di SCD avviene dopo i 6 mesi di vita, è necessario il recupero delle dosi di vaccino previste per i bambini ad alto rischio che non hanno ancora praticato alcuna dose.

Non omogenee le indicazioni in merito alle dosi di richiamo durante la vita della vaccinazione antipneumoocccica 23-valente, in considerazione della segnalata riduzione del titolo anticorpale nel tempo. (FIG 17)

Gruppi proponenti	Età	Raccomandazione
ACIP CDC 2006 Sickle Cell Disease Care Consortium 2001	< 10 anni	una sola dose di PS23 dopo 3 anni dalla prima dose
National Institutes of Health 2002 , AAP 2002 Sickle Cell Advisory Committee 2002	> 10 anni	una sola dose di PS23 dopo 5 anni dalla prima dose
British Committee for Standards in Haematology 2002 Public Health Agency of Canada 2006 Sickle Cell Society 2006 e 2008		rivaccinazione con PS23 ogni 5 anni

FIG.17 Raccomandazioni per il richiamo del vaccino polisaccaridico P23 nella popolazione SCD [26]

- *Educazione sanitaria specifica*



L'*educazione* dei genitori, dei caregivers, e dei pazienti stessi, ha un ruolo "terapeutico" fondamentale e lo scopo di educare a :

- evitare le condizioni che predispongono a falcizzazione dei globuli rossi e invece a promuovere i comportamenti benefici per l'organismo (idratazione orale!!!)
- consapevolezza dell'importanza delle visite di routine, dell'assunzione dei farmaci di profilassi e di intervento precoce per le complicanze acute e croniche.
- addestramento a riconoscere i segnali d'allarme di una malattia acuta, come febbre, sintomi respiratori, pallore delle mucose, letargia, splenomegalia, e dei cambiamenti neurologici, che comunque devono essere rivalutati periodicamente.

- Organizzazione/indicazioni chiare in maniera da sapere a chi rivolgersi entro 24 ore in caso di necessità una struttura medica idonea per una valutazione urgente e il trattamento delle crisi acute,
- capacità di iniziare ad affrontare crisi di dolore lievi-moderate a domicilio e inizio tempestivo della terapia antibiotica in caso di febbre [58]

Il personale medico deve provvedere all'informazione adeguata del paziente e della famiglia riguardo il significato della malattia, il decorso naturale, il trattamento, la modalità di trasmissione e il rischio genetico presente per gli altri membri della famiglia; altrettanto importante rivalutare il grado di informazione raggiunta.

È importante in questo contesto porre attenzione nel non generare un senso di colpevolezza nei genitori per la trasmissione del difetto genetico, né di emarginazione del paziente, tenendo conto che i pazienti affetti da SCD e le loro famiglie oltre che dover affrontare la difficoltà della scoperta di una malattia genetica, spesso stanno già vivendo difficoltà di integrazione, economiche e socio-culturali per una più o meno recente emigrazione dal proprio paese di origine. [59]

#### - *Follow-up*

È importante che ad ogni paziente sia offerto e garantito un *follow-up per la valutazione della funzionalità d'organo, della raccolta di dati anamnestici utili (eventi acuti, compliance alle terapie, qualità di vita) in modo completo e continuativo con lo scopo di ridurre al minimo la morbilità, la mortalità precoce, e si massimizzi la qualità della vita.* Il medico deve adattare l'intervento terapeutico in base al decorso naturale e al fenotipo della malattia.

Per quanto riguarda il follow-up clinico-strumentale in età pediatrica linee guida e raccomandazioni internazionali (FIG.18) consigliano la valutazione regolare della funzionalità dei vari organi suscettibili a danno cronico per vasocclusione/emolisi/danno endoteliale, in modo da valutare in tempo, considerando l'eterogeneità delle manifestazioni, i soggetti in cui applicare le terapie/prevenzione adeguate.

#### II.4.2. Rythme de surveillance paraclinique

Il est recommandé, une fois par an, un bilan qui peut être fait en hôpital de jour pour dépister et traiter précocement certaines complications spécifiques de la maladie. Son contenu varie selon l'âge de l'enfant et le contexte clinique.

Le bilan annuel peut comprendre :

- un bilan biologique : hémogramme, numération des réticulocytes, dosage de l'hémoglobine fœtale, fer sérique, capacité totale de fixation de la transferrine, calcémie, phosphorémie, ionogramme sanguin, bilan hépatique (transaminases, gamma GT, bilirubine totale et conjuguée), sérologie érythrovirus (parvovirus) B 19 jusqu'à positivation, dosage des anticorps anti-HbS pour vérifier l'efficacité de la vaccination, microalbuminurie ;
- une recherche d'agglutinines irrégulières, des sérologies VIH et VHC pour les enfants ayant un antécédent transfusionnel (le bilan annuel permet une ré-évaluation du dossier transfusionnel) ;
- à partir de 12-18 mois : une échographie-Doppler transcrânienne ;
- à partir de 3 ans : une échographie abdominale, une radiographie de thorax ;
- à partir de 6 ans : une radiographie de bassin, une échographie cardiaque ;
- à partir de 6 ans chez les enfants SC et 10 ans chez les enfants SS : un bilan ophtalmologique avec un ophtalmologiste expert en pathologie rétinienne.

FIG. 18 **Follow-up (esami ematochimici-strumentali) per SCD pazienti in età pediatrica [27]**

Il doppler transcranico (TCD) è tra gli esami strumentali peculiari in età pediatrica per il follow-up della patologia drepanocitica. Si tratta di un metodo non invasivo per la misurazione delle velocità di flusso delle arterie intracerebrali, è ad oggi il più importante singolo predittore di stroke nei bambini con SCD [60].

Già alle prime valutazioni con angiografia cerebrale dei pazienti pediatrici con SCD dopo uno stroke sintomatico era risultato evidente che le grosse arterie nell'emisfero opposto a quello soggetto a infarto presentavano un precoce e talora già esteso, per quanto ancora asintomatico, coinvolgimento (stenosi/occlusione). Questo dato ha suggerito che il processo che porta all'occlusione dei vasi cerebrali si sviluppi progressivamente, rendendo verosimile l'ipotesi **di una finestra temporale in cui identificare i soggetti ad alto rischio prima che l'evento stroke si manifesti**. Contemporaneamente a queste osservazioni comparivano in quegli anni le prime pubblicazioni di Aaslid sull'uso del doppler transcranico (TCD) per la valutazione dell'emorragia sub-aracnoidea correlata a vasospasmo [61]. La possibilità di esplorazione delle maggiori arterie intracraniche mediante l'utilizzo del TCD sembrò uno strumento utile per effettuare uno screening per il rischio di sviluppo di complicanze cerebrovascolari in soggetti non ancora sintomatici, per basso costo, non invasività, non necessità di sedazione. Dal momento che i bambini presentano una finestra acustica trans-temporale più ampia rispetto agli adulti, il TCD è uno strumento di facile utilizzo in età pediatrica.

Si condussero quindi tra il 1985 e il 1992 vari studi per determinare se effettivamente il TCD poteva predire il rischio di stroke e per determinare la velocità media di flusso intracerebrale in controlli sani pediatrici e adulti e in pediatrici con SCD senza anomalie cerebrali.

E' attualmente noto che i bambini con SCD generalmente presentano velocità di flusso al TCD maggiori (130-140 cm/sec) rispetto ai bambini senza SCD (90 cm/sec), in conseguenza dell'anemia in condizioni basali nelle sindromi drepanocitiche [62].

Una velocità media in un ciclo sistolico (in letteratura time-averaged mean of the maximum = TAMM) di flusso cerebrale superiore a 140 cm/sec indica un aumento del flusso (diffuso) o una stenosi (aumento focale della velocità) (FIG. 19). 3 studi indipendenti hanno dimostrato che un aumento delle velocità di flusso intracerebrale è correlata a vasculopatia nella SCD ed è un fattore predittivo del rischio di stroke [63-65].

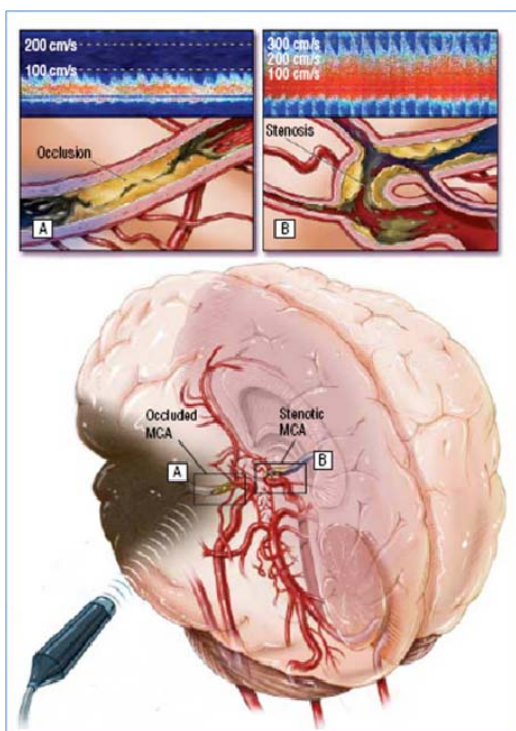


FIG.19 Da Adams 2007 [66]: Schematic based on the brain imaging (computed tomography and cerebral arteriography) and transcranial Doppler ultrasonography (TCD) studies from an 8-year-old boy with sickle cell disease (SCD) treated for left hemisphere infarction (shaded area). Inset A shows the middle cerebral artery (MCA) occlusion and TCD velocities from the more distal MCA at a depth of 42 mm from the temporal service. Note the blunted waveform and low mean velocity of approximately 70 cm/s (normal for this age with SCD would be 130 cm/s). Inset B depicts the arterial stenosis that was present on this side, which at the time of angiography had not developed brain infarction. Note the very high TCD velocity characteristic of the TCD "signature" of intracranial stenosis and high risk in SCD. Mean velocity is approximately 250 cm/s on this side [66].

Adams per primo ha dimostrato l'efficacia del TCD nello screening delle complicanze cerebrovascolari nella SCA. In 190 soggetti asintomatici sottoposti a screening mediante TCD e seguiti in maniera prospettica, è stato dimostrato che il rischio di stroke aumenta con l'aumento delle velocità di flusso intracerebrale; una VM (= velocità TAMM) > 170 cm/sec in uno dei vasi esplorati è stata correlata ad aumentato rischio di stroke; i bambini a maggior rischio di stroke sono quelli con VM > 200 cm/sec; anche velocità molto basse, inferiori a 70 cm/sec o non rilevabili sono state correlate a stroke [63] (FIG. 20).

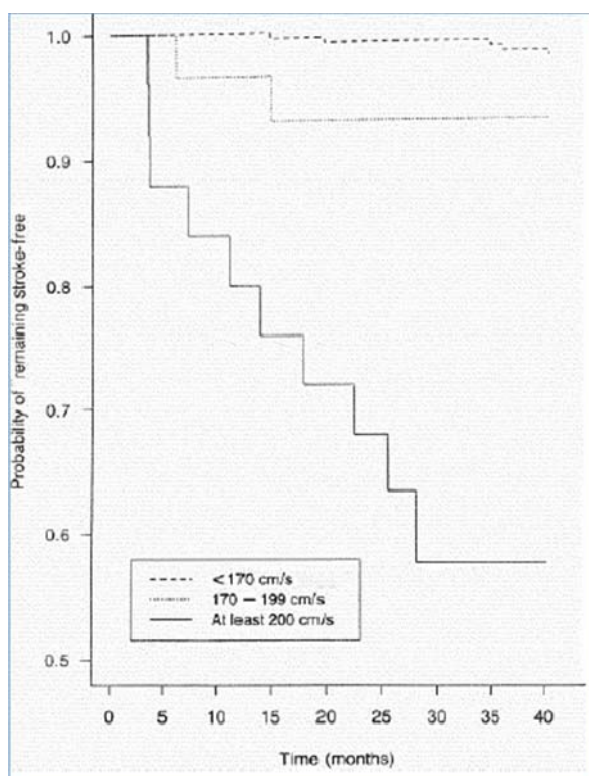


FIG.20 Da Adams 1997: Stroke-free survival among children with SCA classified by TCD velocity. [65]

Il confronto tra TCD ed angioRMN cerebrale in 34 pazienti ha in seguito evidenziato che una stenosi del 50% di un vaso arterioso corrisponde ad una VM (= velocità TAMM) di 200-280 cm/sec (sensibilità=90%, specificità=100%) [67].

Su queste premesse è stato disegnato il primo studio americano (studio STOP I) multicentrico, randomizzato, di valutazione dell'efficacia della prevenzione primaria dello stroke mediante TCD; su 1930 bambini con SCD senza stroke pregresso, sottoposti a TCD, 130 hanno presentato TCD patologico e sono stati randomizzati per ricevere terapia



trasfusionale regolare o proseguire follow-up regolare senza terapia e seguiti in maniera prospettica. Nel braccio del random senza terapia trasfusionale si sono verificati 11 stroke, nel braccio del random in terapia trasfusionale solo 1 stroke, indicando una riduzione del rischio del 90%, dal 10% al 2% [68].

In seguito ai risultati preliminari dello studio STOP I, il National Heart, Lung and Blood Institute (NHLBI) ha anticipatamente sospeso il random e raccomandato lo screening mediante TCD e la terapia trasfusionale cronica per prevenire il primo stroke sintomatico nei bambini con SCA e VM (= velocità TMM) > 200 cm/sec. La probabilità di conversione ad un TCD patologico è risultata maggiore nei bambini più giovani e in quelli con TCD iniziale ai livelli maggiori del range condizionale.

Kral ha in seguito riportato un'associazione tra la velocità rilevata al TCD e le funzioni neurocognitive in 60 pazienti pediatriche con SCA, senza un pregresso stroke sintomatico; i bambini con VM > 200 cm/sec hanno evidenziato un grado più significativo di disfunzione neurocognitiva, in particolare nell'area delle abilità intellettive (soluzione di problemi) e nella modulazione delle emozioni, rispetto ai bambini con TMM condizionale o normale [69].

La frequenza ottimale dello screening non è stata numericamente definita, ma convenzionalmente l'intervallo per lo screening mediante TCD è annuale in caso di TCD normale, ogni 3-6 mesi se condizionale [65].

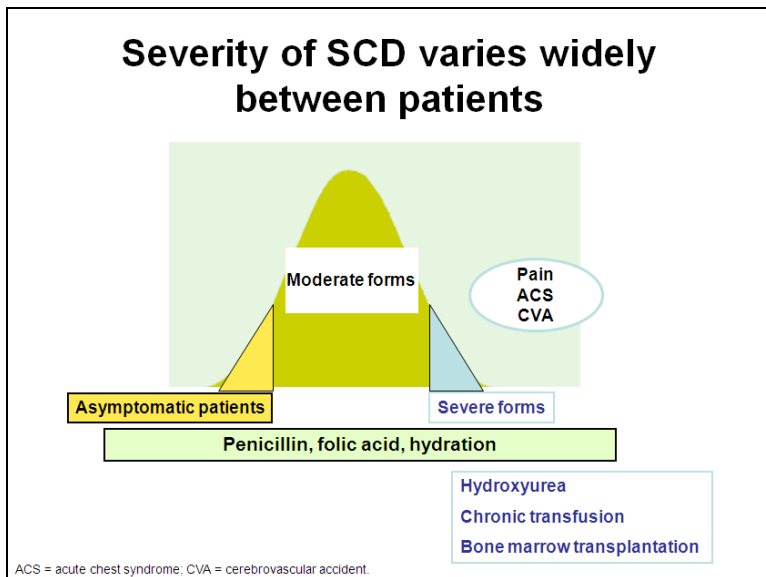
#### - *Terapie*

Si distinguono (FIG. 21):

- Terapie di PROFILASSI (vedi misure profilattiche) e supplementazione con l'acido folico è utile per l'aumento del turnover dei globuli rossi per tutti i pazienti
- Terapie SPECIFICHE-IN ACUTO da applicarsi temporaneamente, per le singole manifestazioni acute (CRISI) di malattia sopradescritte
- Terapie di FONDO-CRONICHE, per pazienti "a rischio", applicate con lo scopo di ridurre il rischio di insorgenza/ricorrenza di complicanze severe di malattia.

La scelta della terapia di fondo dipende quindi dalla necessità di applicare PREVENZIONE PRIMARIA (ridurre rischio di insorgenza) e/o SECONDARIA (ridurre rischio di ricorrenza) di manifestazioni severe di malattia, con possibilità di mortalità e/o morbidità importante e invalidante.

L'eterogeneità tipica della SCD, e la disponibilità di markers/fattori clinici prognostici per la stratificazione del rischio è importante ma ad oggi non ancora esaustiva.



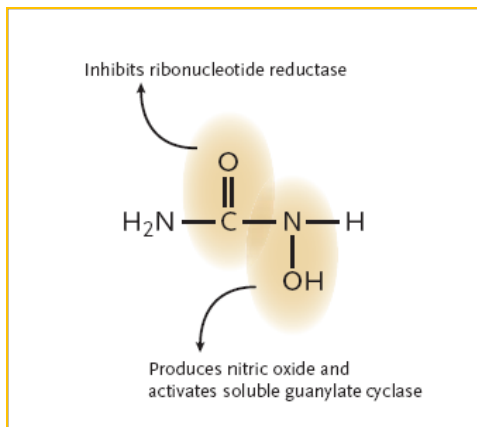
**FIG.21 Diversità di fenotipo e diversità di terapia nella SCD (adattato da Mariane de Montalembert – Congresso TIF Berlino 2010)**

*Terapie principali:*

- IDROSSIUREA

Il livello di Hb F è tra i fattori più importanti in grado di modificare l'espressione clinica della SCD. E' stato da tempo osservato che elevati livelli di Hb F si associano a minore frequenza delle crisi dolorose, minor numero di episodi di ACS ed ad una ridotta mortalità precoce [70]. Queste osservazioni cliniche ed epidemiologiche sono state supportate da studi in vitro da cui è risultato che elevati livelli di Hb F inibiscono la polimerizzazione dell'Hb S mediante la formazione di molecole ibride che si intercalano nei polimeri e ne interrompono l'accrescimento.

L'induzione farmacologica dell'Hb F è stata sperimentata usando farmaci mielosoppressivi, citochine e acidi grassi a catena corta. Tuttavia tra le varie molecole studiate, l'unica che di dimostrata efficace, sicurezza e tollerabilità è l'idrossiurea (HU), inibitore della ribonucleotide reductasi (FIG. 22), largamente usata nel trattamento di neoplasie ematologiche.



**FIG.22 L'HU è una piccola molecola, ad azione citostatica. Contiene un acido idrossammico che lega avidamente una serie di metalli ed inattiva vari enzimi, tra cui la ribonucleotide riduttasi con conseguente arresto delle cellule in replicazione in fase S. Inoltre stimola anche la guanilato ciclastasi e promuove quindi la produzione di ossido nitrico.**

L'HU ha un effetto pleiotropico (FIG.23).

Sostanze come l'idrossiurea cosiddette induttori dell'HbF agiscono diminuendo a valle dei precursori midollari la proliferazione cellulare e quindi conseguentemente switchando i precursori midollari sulla linea della produzione clonale di cellule F.

Oggi sono comunque note altre importanti azioni dell'HU:

- induce importanti variazioni anche a livello cellulare: riduce la disidratazione cellulare, migliora la deformabilità delle cellule contenenti Hb S e riduce l'espressione dei recettori di adesione VLA-4 e CD36 sui reticolociti (4-7); attraverso la sua azione mielosoppressiva, l'HU provoca anche la riduzione di neutrofili, piastrine e reticolo citi e diminuendo la viscosità ematica migliora il flusso ematico e riduce l'adesione endoteliali [71].
- la perossidazione dell'HU determina la formazione di ossido nitrico, un potente vasodilatatore in grado di aumentare l'affinità dell'Hb S per l'ossigeno e quindi di diminuire il fenomeno della polimerizzazione [72]; L'HU inoltre favorisce la formazione di metaemoglobina e riduce la formazione di deossi-Hb S [73].

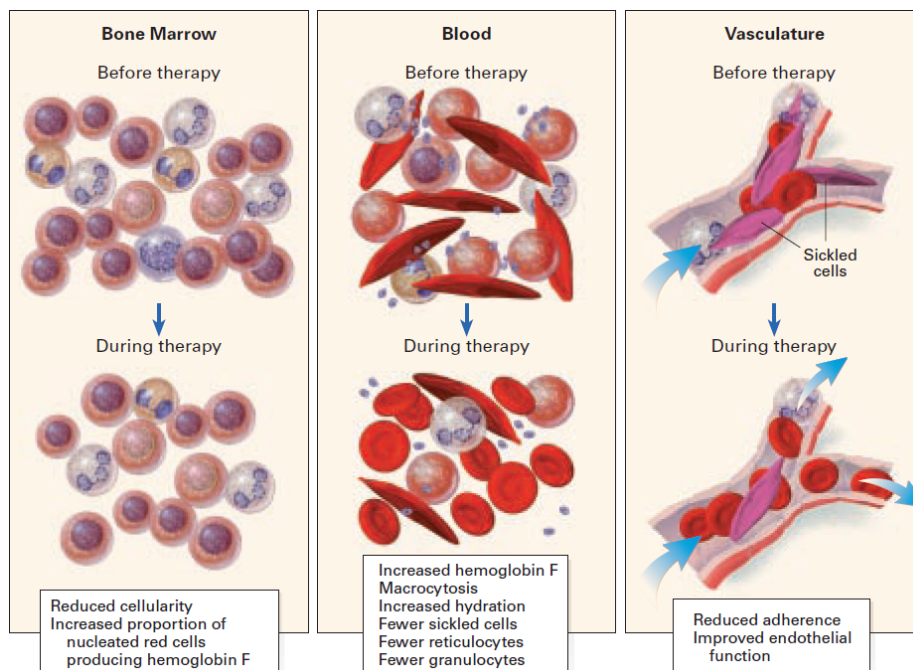


FIG.23 **Meccanismo d'azione idrossiurea nella SCD**

La prima evidenza dell'efficacia dell'idrossiurea nella SCD è stabilita dai risultati di uno storico studio multicentrico pubblicato nel 1995 [74]. Questo studio ha dimostrato l'efficacia dell'idrossiurea nel ridurre in frequenza le crisi vasocclusive di dolore in soggetti adulti con SCD.

Tutti gli studi successivi hanno confermato questi dati pertanto attualmente l'HU rappresenta una valida opzione terapeutica per molti pazienti con SCD.

Poiché l'HU è un farmaco citotossico e citostatico, inizialmente il suo uso in età pediatrica è stato ristretto solo ai bambini affetti da forme gravi di malattia per i quali gli effetti benefici controbilanciavano la possibile tossicità a lungo termine. Successivamente numerose sperimentazioni cliniche tra i quali lo studio multicentrico HUG-KIDS fase I/II hanno dimostrato che l'HU ha un'efficacia clinica ed una tossicità analoga a quella riscontrata negli adulti [75]. Il più frequente effetto collaterale osservato è stata la mielotossicità. Tale tossicità è stata transitoria in quanto dopo la sospensione del trattamento si aveva una rapida ripresa di tutti i valori ematologici. Non è stato osservato nessun ritardo dell'accrescimento.

Altri studi hanno evidenziato altri potenziali benefici dell'HU quali la possibile prevenzione PRIMARIA del danno d'organo, mantenere la funzione splenica e migliorare l'accrescimento. L'HU potrebbe avere anche un effetto sulla prevenzione dello stroke, che costituisce una delle complicazioni più gravi nei bambini con SCD e costituisce una importante causa di morbilità e mortalità. E' dimostrato che l'HU fa diminuire la velocità di flusso al TCD [76]; la

terapia con HU potrebbe quindi essere in grado di far diminuire il rischio di uno stroke, anche se non ci sono evidenze cliniche a supporto della sua efficacia come prevenzione primaria. Ad oggi il trattamento con idrossiurea è indicato per la PREVENZIONE SECONDARIA del danno d'organo in caso di [77]:

- VOC ricorrenti ( $\geq 2-3$ ) o ACS ripetuti ( $\geq 2$ ) o  $\geq 3$  VOC/ACS nell'anno precedente
- anemizzazione cronica severa (Hb  $< 6-7$  g/dl)
- impossibilità alla terapia trasfusionale regolare (alloimmunizzazione/ rischio infettivo/ non compliance alla regolarità del trattamento)

La possibilità di PREVENZIONE PRIMARIA mediante HU è in corso di valutazione.

- La TERAPIA TRASFUSIONALE CRONICA

In genere riservata come terapia cronica ai casi severi (possibilità di utilizzo della terapia trasfusionale in situazioni di acuto, saltuariamente, per tutti i casi):

La terapia trasfusionale cronica, se possibile realizzata tramite scambio eritrocitraio, manuale o meccanico, ha come indicazione la riduzione costante dei livelli di HbS  $< 40\%$  o  $< 30\%$  a seconda delle indicazioni (FIG.24).

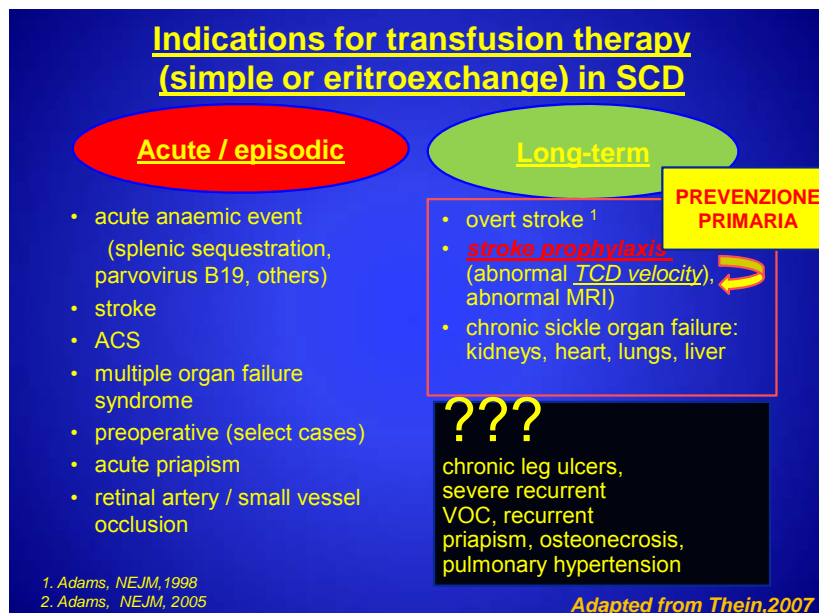


FIG.24 Indicazioni alla terapia trasfusionale regolare in SCD (Thein-2007) [78]

Le complicanze della terapia trasfusionale cronica sono: il sovraccarico di ferro, alloimmunizzazione, e, raramente, infezioni.

Per limitare l'alloimmunizzazione e le reazioni trasfusionali, devono essere eseguiti delle reazioni crociate multiple e accurate tra il sangue del paziente; esistono inoltre indicazioni, seppur non omogenee, all'esecuzione del fenotipo esteso per tutti i pazienti, ai primi eventi trasfusionali.

L'identificazione dei soggetti pediatrici a rischio di stroke mediante TCD e la terapia trasfusionale regolare profilattica hanno ridotto significativamente il rischio di stroke [79]. Allo stato attuale di conoscenza, la terapia trasfusionale regolare con l'obiettivo di mantenere livelli di HbS < 30% è la terapia raccomandata per la prevenzione primaria dello stroke nei soggetti identificati a rischio con il TCD nell'età tra 1-18 anni [68].

La terapia trasfusionale regolare è la terapia d'elezione e unica per scelta anche per la prevenzione secondaria nei soggetti con pregresso stroke sintomatico; in questi soggetti la terapia trasfusionale regolare è inevitabile e da proseguirsi a vita; non esclude però il rischio di recidiva.

La durata della terapia trasfusionale nei soggetti a rischio non è ad oggi stabilita. Casi serie di soggetti con sindrome drepanocitica identificati a rischio di stroke che hanno ridotto nel tempo l'intensità della terapia trasfusionale mantenendo livelli di HbS > 30% o in terapia con idrossiurea indicano che la terapia trasfusionale può essere ridotta o modificata in terapia farmacologica dopo un intervallo (in genere 2-3 anni); si tratta tuttavia di segnalazioni senza ancora un'evidenza stabilita e definitiva.

Lo studio STOP II ha dimostrato che non è sicuro sospendere la terapia trasfusionale neppure nei pazienti che hanno trasfuso per almeno 30 mesi, normalizzato le velocità di flusso al TCD e che non presentano evidenza di stenosi all'angioRMN cerebrale [80].

- **II TRAPIANTO di MIDOLLO OSSEO**

Da un donatore sano o portatore del tratto falciforme può essere curativo negli individui affetti da anemia falciforme. I rischi e la morbilità associati a questa procedura hanno limitato l'utilizzo ad un gruppo selezionato di individui con complicanze gravi, di solito con anamnesi positiva per eventi cerebrovascolari o nel caso in cui ci sia un donatore familiare compatibile di cellule staminali.[81]

Nell'ultimo decennio EFS post-TMO anche nei casi di SCD è migliorata (FIG.25); studi recenti indicano che la sopravvivenza è maggiore del 90%, e circa dell'85% è la

sopravvivenza libera da malattia SCD. Ma si stima che meno del 30% degli individui affetti da anemia falciforme abbiano un donatore familiare compatibile e che meno del 60% possa trovare un donatore compatibile non congiunto, di conseguenza la ricerca dei donatori alternativi è un'area attiva di ricerca. [82]

Attualmente si stanno tentando approcci nuovi nell'ambito del trapianto di cellule staminali (regimi non-mieloablativi, miglioramento della terapia immunosoppressiva, migliore gestione della malattia graft-vs-host e fonti alternative di cellule staminali come il sangue del cordone ombelicale), per rendere il trapianto di cellule staminali un'opzione terapeutica disponibile per un numero crescente di individui affetti da anemia falciforme. Criteri, rischi e benefici del trapianto stanno cambiando; è importante chiarire e discutere con famiglie e malati questo tipo di approccio.

Nel caso di gravidanza successiva alla nascita di un bambino affetto, è indicato promuovere la conservazione del cordone ombelicale presso la banca del sangue del cordone ombelicale.[83]

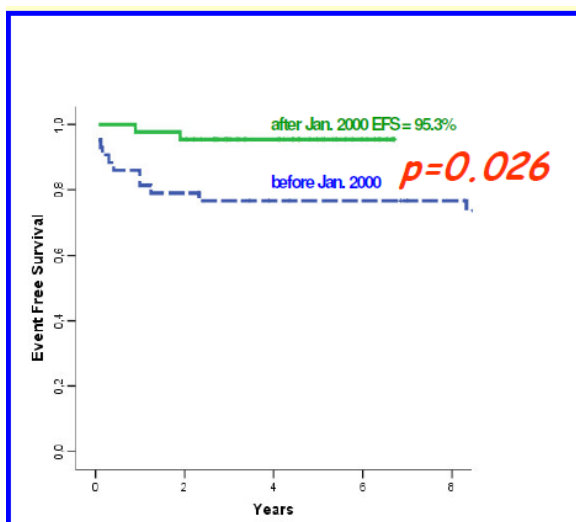


FIG. 25 EFS TMO in SCD – Bernaudin SFGM-TC Blood 10-2007

- TERAPIE in studio

Molti danni d'organo secondari nella SCD sono regolati dall'ossido nitrico (NO) attraverso alterazioni del tono vascolare, dell'attività leucocitaria e piastrinica e dell'adesione endoteliale, in particolar modo evidente nello sviluppo dell'ipertensione polmonare. È stato quindi ipotizzato che alcuni farmaci che agiscono a questo livello possano essere efficaci soprattutto per il trattamento di alcune complicanze (L-Arginina, inibitori della Fosfodiesterasi 5 (PDE5)) [84]. Da segnalare anche farmaci inibitori dei canali Gárdos, limitando così la

perdita della cellula dei liquidi e preservando così l'idratazione degli eritrociti falciformi, da cui dipende il rischio di falcizzazione [85] e farmaci induttori della sintesi di HbF.

La SCD presenta caratteristiche (definita sostituzione di un singolo nucleotide nel gene della  $\beta$ -globina, presente esclusivamente nelle cellule eritroidi derivanti dalla cellula staminale ematopoietica del midollo osseo) che la rendono una candidata ideale ad una possibile terapia genica. La terapia genica prevede un trapianto di cellule staminali, in modo tale che si abbia un aumento della produzione delle catene beta senza il difetto dell'HbS, attraverso la sostituzione del gene mutato con alleli sani. Sono stati tentati interventi in cui si tentava di stimolare l'espressione del gene delta o le forme fetali e embrionarie.[83]



## **SINDROMI DREPANOCITICHE E REGIONE PIEMONTE**

Non è ad oggi disponibile in letteratura alcun dato certo sulle dimensioni del problema SCD nella regione Piemonte.

La SCD, in Piemonte come nella maggior parte delle regioni d'Italia (ad eccezione di esperienze isolate come sopradescritto) non prevede un programma di screening neonatale per emoglobinopatie. Le diagnosi sono per lo più cliniche e spesso tardive, conseguenti ad accertamenti riguardanti complicanze acute della malattia sottostante misconosciuta, che a volte lasciano danni irreversibili, come nel caso dello stroke.

Laddove venga posto il sospetto e formulata una diagnosi in età pediatrica l'indicazione è la comunicazione e l'invio da parte di tutti i servizi di territorio della Regione al Centro Regionale per emoglobinopatie, che dagli anni '70 è il riferimento specialistico per le emoglobinopatie, tradizionalmente per le sindromi talassemiche. L'iter dopo il sospetto diagnostico prevede la conferma della sindrome drepanocitica, la comunicazione diagnosi, le indagini di famiglia e la presa in carico specialistico e territoriale con la disponibilità delle possibilità terapeutiche (idrossiurea, scambio eritrocitario, trapianto di midollo osseo) indicate. Infine, tutte le coppie che vengono individuate a rischio di poter trasmettere gli alleli mutati alla prole, con la possibilità quindi di avere un figlio malato, possono effettuare, qualora lo desiderino la diagnosi prenatale e nei termini prescritti per legge eventualmente considerare l'interruzione di gravidanza (IVG).

## SCREENING ED EMOGLOBINOPATIE

### - Aspetti di screening

Wilson e Jungner nel 1968 fissarono dei criteri guida per l'individuazione delle patologie per cui fosse appropriato un programma di screening.

Questi criteri prevedono che:

1. la condizione patologica deve essere un problema importante di salute;
2. deve esistere una terapia per la condizione;
3. devono esistere strutture per la diagnosi e trattamento;
4. deve esistere uno stadio latente della malattia;
5. deve esistere un test o esame per accertare la patologia;
6. il test deve essere bene accetto dalla popolazione;
7. la storia naturale della malattia, incluso lo sviluppo dalla forma latente alla forma conclamata, dovrebbe essere adeguatamente compresa; deve esistere un accordo sui protocolli terapeutici di terapia e su chi sottoporre a trattamento;
9. il costo totale della scoperta di un caso dovrebbe essere bilanciato economicamente in relazione alla spesa medica nel suo complesso;
10. il *case-finding* dovrebbe essere continuo, non semplicemente un progetto temporaneo.

Presupposto fondamentale per uno screening fu inizialmente l'esigenza che il decorso della malattia possa essere modificato o prevenuto dalla precoce individuazione e dal trattamento o dall'intervento.

Queste indicazioni furono date prima che la diagnosi prenatale e l'analisi dei portatori fosse possibile. Da allora in medicina i progressi tecnologici, in particolare nel campo della genetica, da un lato e dall'altro l'evoluzione del concetto di salute, hanno reso lo screening un tema di crescente importanza e controverso tanto che negli anni i criteri di Wilson e Jungner sono stati rivisitati e riadattati.

Screening genetico venne definito nel 1975 come la ricerca in una popolazione di persone che possiedono determinati genotipi che:

- sono associati con delle malattie o predispongano ad esse;
- possono determinare il disturbo nei loro discendenti;
- possono produrre altre variazioni sconosciute associate con la malattia

Nel 1998 l'Organizzazione Mondiale della Sanità ha reiterato che il principale obiettivo dello screening genetico è di prevenire la malattia o di assicurare una diagnosi precoce e un

trattamento. Ha riaffermato l'uso volontario dello screening e ha proposto le seguenti linee guida:

- lo screening genetico deve essere volontario e non obbligatorio;
- lo screening genetico deve essere preceduto da un'adeguata informazione riguardo allo scopo e al possibile risultato dello screening o del test e alle possibili scelte che devono essere fatte;
- lo screening anonimo per scopi epidemiologici deve essere condotto dopo aver avvisato la popolazione su cui effettuare lo screening;
- i risultati non devono essere rivelati a datori di lavoro, assicurazioni, scuole, o altri senza il consenso dell'individuo in modo da evitare discriminazioni;
- i risultati devono essere seguiti da una consulenza genetica, in particolare quando sfavorevoli;
- se il trattamento o la prevenzione esistono e sono possibili, devono essere offerti il prima possibile;
- lo screening neonatale dovrebbe essere obbligatorio e gratuito se la diagnosi precoce ed il trattamento saranno di beneficio per il nascituro.

Oggi lo screening genetico può essere definito come ogni tipo di test eseguito per la sistematica e precoce identificazione o esclusione di una malattia ereditaria, per conoscere la predisposizione a una qualche malattia o per determinare in un portatore una predisposizione che possa produrre una malattia ereditaria nella discendenza.

Con la migliore conoscenza della genetica di varie malattie e una più larga capacità della tecnologia genetica, lo screening genetico ad uno stadio precoce è possibile per un numero crescente di malattie genetiche.

Le giustificazioni offerte in favore dello screening genetico includono la possibilità di effettuare una diagnosi precoce per la malattia oggetto di screening, la possibilità di iniziare un trattamento e le decisioni riproduttive

Lo screening genetico si riferisce a programmi espliciti e sistematici diretti o a intere popolazioni di individui asintomatici o a sottopopolazioni nelle quali il rischio è maggiore.

I due obiettivi dello screening genetico citati più frequentemente sono quello di ridurre l'incidenza della malattia e quello di informare gli individui e le coppie a rischio riguardo le loro scelte riproduttive.

Anche il Consiglio Europeo ha adottato delle raccomandazioni sullo screening genetico nelle quali questo è definito come un test applicato su un determinato gruppo di persone in modo da identificare in uno stadio precoce, uno stadio preliminare, un fattore di rischio o una combinazione di fattori di rischio di una malattia. Lo scopo dello screening è di guarire o prevenire la malattia o di ritardare la sua progressione o il suo inizio attraverso un intervento precoce. Poichè esistono delle differenze nelle necessità e nei servizi sanitari, così come nei

valori etici e nelle norme legali tra i diversi paesi, le decisioni riguardo ai programmi di screening devono essere prese da ciascuno stato in cooperazione con i medici [86].

Sulla base della popolazione target si possono distinguere diversi tipi di screening genetico:

1. screening genetici prenatale (screening su cellule fetali nel sangue materno, screening sul siero materno, screening con ultrasuoni, screening su cellule fetali ottenute dopo amniocentesi o prelievo dei villi coriali, diagnosi genetica reimpianto). La maggiore motivazione per lo screening genetico prenatale è la possibilità di individuare un disordine genetico precocemente nel corso di una gravidanza, nei feti con maggior rischio di malattia per storia familiare e età materna avanzata [87].
1. screening genetici dopo la nascita (screening neonatale, screening di portatori nell'assistenza clinica preparto, screening di coppia in età preconcezionale, screening a cascata, screening in età scolastica, e screening in età adulta). Gli screening genetici dopo la nascita hanno due scopi: possono confermare se la persona sottoposta al test abbia o non abbia determinate caratteristiche genetiche, con implicazioni per la sua salute futura ed inoltre possono fornire ad un adulto la possibilità di sapere se i suoi figli saranno a rischio.

Una grande importanza è stata attribuita a quale periodo (di vita) sia il più appropriato per attuare lo screening al fine di ottenere il miglior risultato per l'individuo insieme con una (concomitante) sensibilità nei confronti della comunicazione, del consenso.

Lo screening neonatale è una responsabilità essenziale del sistema sanitario \ pubblico ed è un fattore critico per migliorare lo stato di salute del bambino ammalato;

- le politiche di screening neonatale dovrebbero essere prioritariamente guidate dalla valutazione di quale sia il miglior interesse per il bambino ammalato, con considerazione secondaria per gli interessi degli altri soggetti coinvolti (neonati "sani", famiglie, aree professionali, autorità politico-sanitaria);
- le raccomandazioni circa l'appropriatezza di una patologia per una sua inclusione in un programma di screening neonatale dovrebbero essere basate su criteri d'evidenza scientifica e di largo consenso professionale.[88]

Nel 2002, negli USA, l'American College of Medical Genetics" (ACMG) ha condotto un'analisi globale sull'efficacia dei programmi di screening neonatale.

Per ogni condizione o patologia conosciuta e rilevata in età neonatale e pediatrica sono stati definiti alcuni criteri fondamentali, sostitutivi di quelli dell'OMS, raggruppabili in tre principali categorie di classificazione:

1. la disponibilità e le caratteristiche dell'esame di screening;
2. la disponibilità e la complessità dei servizi diagnostici necessari;

3. la disponibilità e l'efficacia dei trattamenti terapeutici relativi alle singole condizioni.

Ogni condizione è stata considerata in funzione di:

- *caratteristiche cliniche* (incidenza della condizione, segni e sintomi clinicamente identificabili nelle prime 48 ore di vita, storia naturale in assenza di trattamento);
- *disponibilità e caratteristiche analitiche dell'esame di screening* (disponibilità di un algoritmo analitico sensibile e specifico, applicabilità dell'esame sui campioni neonatali ("Guthrie card") o in tipologie alternative di campione o attraverso procedure semplici, di facile applicazione nelle "nursery", applicazione dell'esame in una piattaforma analitica che offre alte capacità di volume analitico, costo economico contenuto, analisi multiple per singola condizione, effettuabili nello stesso ciclo analitico, possibilità d'identificare condizioni secondarie multiple o altre condizioni);
- *diagnosi, "follow-up", trattamento e gestione medica complessiva* (disponibilità di trattamento, costo, efficacia potenziale dei trattamenti disponibili, beneficio individuale dell'intervento precoce, benefici familiari e sociali dell'identificazione precoce, prevenzione della mortalità per diagnosi e trattamento precoce, gestione in fase acuta, semplicità dell'intervento terapeutico.)

In base ai risultati di questa prima fase d'analisi, ognuna delle condizioni valutate è stata assegnata ad una delle seguenti categorie:

1. pannello principale di condizioni ("core panel") i cui criteri minimi erano l'identificazione in un periodo di tempo (24–48 ore di vita) nel quale non è comunemente individuabile clinicamente, disponibilità di un esame sensibile e specifico e l'evidenza di benefici, derivanti da una precoce identificazione della condizione, da un tempestivo intervento medico, da un efficace trattamento.
2. condizioni secondarie ("secondary targets"): condizioni che nel processo di screening sono parte della diagnosi differenziale di una condizione del pannello principale;
3. condizioni non appropriate (allo stato attuale delle conoscenze) per un programma di screening neonatale: inesistenza di un esame di screening idoneo ed affidabile, punteggio di valutazione insufficiente per altri criteri di valutazione.

Sono state considerate 84 condizioni congenite (endocrinopatie, emoglobinopatie, malattie infettive, amminoacidopatie, alterazioni del metabolismo dei carboidrati, difetti dell'ossidazione degli acidi grassi, malattie lisosomiali, acidemie organiche, altre condizioni genetiche), candidate potenziali per un programma di screening neonatale e in base a un punteggio di valutazione, sono state selezionate 29 condizioni costitutive il pannello principale (9 acidemie organiche, 5 difetti dell'ossidazione degli acidi grassi, 6 amminoacidopatie, tutte identificabili attraverso le nuove tecnologie basate sull'utilizzazione della "tandem mass", a cui si associano 3 emoglobinopatie e ipotiroidismo congenito, deficit

di biotinidasi, iperplasia surrenalica congenita, galattosemia classica, sordità, fibrosi cistica. Le emoglobinopatie segnalate nel pannello principale sono la drepanocitosi omozigote, la doppia eterozigosi HbSC e la microdrepanocitosi.

Le raccomandazioni conclusive, relative alla costituzione di un pannello di condizioni per lo screening neonatale, da applicarsi in ogni singolo stato americano, sono sintetizzabili nei seguenti quattro punti finali:

- screening obbligatorio per tutte le condizioni elencate nel pannello principale;
- obbligo di selezione per tutte le condizioni del pannello secondario e vincolo di segnalazione per ogni altro risultato anomalo (non negativo) di potenziale rilevanza clinica (inclusa la condizione di “carrier” genetico);
- massimizzazione dell'uso di piattaforme analitiche multiparametriche (quali le tecnologie MSMS per lo screening degli errori congeniti del metabolismo);
- considerazione che l'insieme dei benefici realizzabili attraverso politiche di screening neonatale si estende anche ad azioni o trattamenti che vanno oltre la valutazione della mortalità o morbilità infantile.[89]

### - **Metodiche di screening**

Nel 1963, un ricercatore americano, Robert Guthrie, mise a punto il primo esame di laboratorio (che ancora oggi porta il suo nome: “test di Guthrie”), che consentiva di misurare la concentrazione dell'amminoacido fenilalanina in una goccia di sangue, prelevata mediante puntura del tallone del neonato, fatta assorbire e quindi essicare su una speciale carta da filtro (“Guthrie card”), una sorta di carboncino (definito oggi intenzionalmente “spot test”). Questo esame, a basso costo ed eseguibile facilmente su larga scala, ha consentito di realizzare le prime campagne di screening neonatale per individuare i neonati affetti da fenilchetonuria (PKU), il più comune errore congenito del metabolismo, caratterizzato da un grave ritardo mentale. Poi si ampliò allo screening per l'ipotiroidismo congenito e poi dopo ancora ad altre numerose malattie, principalmente genetiche, quali endocrinopatie, errori congeniti del metabolismo e emoglobinopatie.

Tradizionalmente, i programmi di screening neonatale utilizzano come indicatori biologici di patologia parametri, principalmente ematici, la cui misura quantitativa o valutazione qualitativa permette, con sufficiente efficienza, la selezione dei soggetti a maggior rischio presenti nella popolazione neonatale.

In alcuni programmi, l'analisi di laboratorio è rivolta alla misura di substrati accumulati nei liquidi biologici, con differenti meccanismi:

- a) alterata utilizzazione o trasformazione, da deficit enzimatico, di un substrato in un processo biochimico (PKU: fenilalanina; galattosemia: galattosio; iperplasia surrenalica congenita: 17- $\alpha$  OH progesterone);
- b) ostruzione meccanica (fibrosi cistica: tripsina immunoreattiva);
- c) attivazione fisiologica di un fenomeno di "feedback" (ipotiroidismo: TSH).

In altri, è la carenza/riduzione di un substrato l'indicatore di una situazione di rischio (ipotiroidismo: tiroxina) o, ancora, è la presenza di metaboliti anomali, assenti in condizioni fisiologiche (emoglobinopatie).

Infine, lo screening può essere condotto mediante la misura o valutazione qualitativa di una specifica attività enzimatica (galattosemia: attività dell'enzima galattosio-1-P-uridiltransferasi).

Nei primi giorni di vita esiste una "cronologia" delle concentrazioni dei singoli marcatori, che risentono fortemente delle modificazioni biologiche che avvengono, con il passare delle ore, nel delicato periodo perinatale d'adattamento biochimico alla vita autonoma: il momento della raccolta del campione per screening neonatale deve essere quindi opportunamente scelto in finestre temporali che garantiscano, in presenza della patologia, concentrazioni ottimali per la misura/valutazione del parametro al fine d'ottenere l'efficienza (sensibilità + specificità) massima del sistema.[88]

Vi sono anche altre metodiche di screening sviluppate.

Alcune forme di screening utilizzano test biochimici come nel caso dell'emocromatosi che si basa sulla determinazione dei livelli sierici di ferritina, sulla percentuale di saturazione della transferrina e sul dosaggio dei livelli epatici di ferro, altre utilizzano le tecniche di analisi del DNA, che sono però più indicate in seconda linea per la conferma diagnostica del risultato, mentre usata come prima metodica di indagine di screening è indicata esclusivamente a un numero ristretto di patologie.

Spesso, al fine di aumentare la sensibilità e la specificità, lo screening richiede l'utilizzo di più metodiche (two-tiered) come nel caso dell'ipotiroidismo congenito in cui si effettua la misurazione sia della tiroxina che della tireotropina, o nello screening per la fibrosi cistica in cui si esegue l'analisi immunoenzimatica del tripsinogeno su sangue seguita dall'analisi del DNA. [20]

Sul finire degli anni '80, fu sviluppata per merito dei ricercatori della Duke University e del "Newborn Screening Laboratory" (North Carolina, USA) la *spettrometria di massa (tandem mass spectrometry - MS/MS)* che dal 2000 è disponibile come metodica di screening in Italia.

La spettrometria di massa, per ora, è la tecnica più innovativa e di maggiore impatto, che identifica e quantifica le molecole in base alla loro massa o PM, determinata dalla composizione elementare della molecola, mentre alla struttura atomica della molecola sono legate altre caratteristiche fisiche e chimiche della stessa (polarità, pKa, volatilità).

Applicando questa tecnica al campione speciale utilizzato negli screening neonatali (dried blood spot -DBS- o Guthrie Card), permette da una singola goccia di sangue il riconoscimento di un gran numero di patologie ereditarie del metabolismo intermedio (acidurie organiche, difetti della beta ossidazione degli acidi grassi, aminoacidopatie), diagnosticando oltre 50 malattie metaboliche ereditarie.

É una tecnica a elevata sensibilità, alta velocità analitica, elevata automazione del processo analitico, alta produttività e basso costo per ogni campione analizzato. [88]

Inoltre, esistono sempre più moderne tecniche di analisi del DNA, in particolare recentemente i microarrays, che consentono l'analisi simultanea di numerosi geni nello stesso campione di sangue.

Per quanto riguarda le tecniche di analisi del DNA nel 1987 McCabe dimostrò la possibilità di utilizzare per lo studio del DNA lo spot test mediante la tecnica PCR (polymerase chain reaction).

Successivi studi hanno dimostrato che il DNA può essere direttamente amplificato senza il processo di estrazione dalla carta bibula e che l'analisi della mutazione può essere proposta direttamente come screening neonatale.

Lo sviluppo più recente delle tecniche di analisi del DNA ha portato alla costruzione di "DNA chips" o "microarrays" costituiti da una serie di oligonucleotidi complementari a numerose sequenze normali e varianti appartenenti a numerosi geni, posti su una lastrina sottile di silice o di vetro, della grandezza di un francobollo. Il gene da analizzare, marcato con sostanze fluorescenti o radiattive, viene posto sul chip, dove forma una molecola ibrida con la sequenza oligonucleotidica complementare, che viene svelata con sistemi elettronici. I "DNA chips" consentono l'analisi simultanea di numerosi geni e del profilo di espressione di cellule specifiche. [90]

### - **Screening neonatale**

Il termine "screening neonatale" definisce i programmi di medicina preventiva secondaria, attivati su larga scala nei primi giorni di vita, aventi per obiettivo la selezione precoce ed il tempestivo trattamento di neonati ad alto rischio per alcune patologie congenite, curabili, caratterizzate principalmente da un'importante mortalità precoce e/o da una morbidità severa dei soggetti affetti.

Le prime campagne di screening neonatali furono realizzate attraverso il "test di Guthrie" per individuare i neonati affetti da fenilchetonuria (PKU), il più comune errore congenito del metabolismo, caratterizzato da un grave ritardo mentale.



Successivamente si aggiunsero, fra le patologie con indicazione assoluta per lo screening neonatale, prima l'ipotiroidismo congenito e poi altre numerose malattie, principalmente genetiche, quali endocrinopatie, errori congeniti del metabolismo ed emoglobinopatie.

Vi è sicuramente un parallelismo fra importanza dello screening neonatale ed evoluzione economica e sociale: lo screening neonatale è tanto più importante quanto più avanzato è il livello economico e sociale della popolazione e come la struttura familiare evolve da un modello di famiglia di grandi dimensioni, con alta morbilità e mortalità infantile (tipico dei paesi meno avanzati), a modelli di più ridotte dimensioni (basso indice riproduttivo) ed a migliorata sopravvivenza infantile [88]

L'intento originale dello screening neonatale è quello di identificare le condizioni genetiche in modo di iniziare un trattamento precoce e di prevenire le complicazioni.

Lo screening genetico neonatale riguarda essenzialmente alcuni errori congeniti del metabolismo (ad esempio la fenilchetonuria) e l'ipotiroidismo congenito. Gli errori congeniti del metabolismo sono un gruppo di malattie genetiche dovute alla deficienza di un enzima specifico che provoca malattia per accumulo di metaboliti a monte della reazione enzimatica coinvolta, o per mancanza del prodotto della reazione. La base razionale per questo screening è costituita dal fatto che numerosi errori del ricambio e l'ipotiroidismo congenito non si manifestano clinicamente nel neonato ma si esprimono fenotipicamente solo nel lattante, nel bambino o addirittura nell'adulto quando si sono verificati danni irreparabili. L'individuazione di queste affezioni nel neonato consente di instaurare un trattamento appropriato e quindi di prevenire o quanto meno attenuare le manifestazioni della malattia.

Tutti elementi che sono comuni anche ad altre patologie il cui screening è una realtà limitata solo ad alcuni paesi, come ad esempio le emoglobinopatie.

Le linee guida per lo screening neonatale variano nei diversi paesi e in Italia variano anche da regione a regione, venendo meno l'omogeneità di intervento nazionale. Attualmente tutti i neonati sono sottoposti per legge a screening per almeno due patologie, fenilchetonuria e ipotiroidismo. Questi due screening, in aggiunta a quello per la fibrosi cistica, sono obbligatori dal 1992 per legge in tutto il territorio nazionale. [91]

Il miglioramento tecnologico e l'identificazione di nuovi difetti genetici alla base dello sviluppo di alcune malattie ha esteso il limite delle patologie che possono essere identificate al momento della nascita, per le quali molto spesso non esiste neanche un trattamento. Questi progressi hanno aperto un dibattito sugli aspetti etici dello screening neonatale ed in particolare sull'uso di campioni di DNA per scopi diversi da quelli originariamente oggetto dello screening.

Per cui si discute, e in alcune regioni è già realtà, se le seguenti patologie devono essere indagate attraverso uno screening:

- deficit di biotinidasi,
- iperplasia congenita surrenale (CAH),
- sordità congenita,

- ipotiroidismo congenito (CH),
- fibrosi cistica (CF),
- galattosemia,
- omocistinuria,
- malattia delle urine a sciroppo d'acero (MSUD),
- deficit di acil-CoA deidrogenasi a catena media (MCAD)
- fenilchetonuria(PKU),
- sindrome drepanocitica (SCD) e altre emoglobinopatie,
- tirosinemia.

Con gli enormi progressi nel campo delle conoscenze scientifiche e la possibilità di utilizzare nuove tecniche analitiche quali la spettrometria di massa e l'analisi del DNA, lo screening neonatale è destinato a subire profonde modificazioni.[20]

#### - **Screening in Italia**

Nel 1973 l' Istituto di Neuropsichiatria Infantile della "Sapienza" diretto da G. Bollea e l'Opera Nazionale Maternità e Infanzia attivarono nel Lazio, Abruzzo, Molise e parte della Campania un programma di screening per la fenilchetonuria che raggiunse in 6 mesi un tetto di circa 100.000 neonati/anno e durò qualche anno.

In Italia tale tecnica è utilizzata in Toscana (legge reg) , Lazio , Liguria e Veneto come studio pilota , in assenza di disposizioni regionali.

In Italia, a differenza rispetto ad altre esperienze in ambito internazionale, nonostante alcune situazioni di avanguardia non è ancora possibile disporre di linee generali e condivise di organizzazione e di sviluppo dello screening nell'ambito del SSN; Inoltre, come in molti altri settori della Sanità si osservano, tra le diverse Regioni, differenze tali da condizionare il funzionamento stesso di una rete nazionale omogenea.

Una possibile causa è la mancanza di una politica unificante e di adeguati finanziamenti; infatti la produzione legislativa nazionale e regionale riguardante i programmi di screening non appare particolarmente omogenea.

In un contesto sanitario come quello italiano, in cui la regionalizzazione dei servizi, la molteplicità dei centri decisionali e le sostanziali differenze esistenti nella sensibilità nei confronti della prevenzione condiziona l'attivazione stessa e l'uniformità dei modelli organizzativi, è ovvia la necessità di linee guida condivise per lo sviluppo di un programma su base nazionale.

La situazione attuale ricorda quella dei primi anni '80 quando il problema dell'allargamento dello screening all'ipotiroidismo congenito fu in grado di mobilitare la comunità scientifica

molto in anticipo rispetto alle tardive regolamentazioni da parte degli Assessorati delle diverse Regioni e del Parlamento.

Per questo la SISN e la SISMMME sono oggi pienamente in condizione di proporre un intervento di regolazione e di uniformazione del servizio attraverso la definizione di opportune linee guida.[91]

In Italia, la legislazione nazionale in vigore (legge 104/1992, DPCM 09.07.1999) rende obbligatorio lo screening neonatale solo per la fenilchetonuria, l'ipotiroidismo congenito e la fibrosi cistica, ma con possibilità per le singole regioni di attivare programmi integrativi per endocrinopatie congenite ed errori congeniti del metabolismo. In base a questa apertura normativa, negli ultimi anni sono state attivate iniziative regionali di screening neonatale esteso, a carattere istituzionale (Toscana) o come programmi pilota ad estensione geografica variabile (Liguria, alcune province venete, Lazio).

I dati raccolti dalla Società Italiana per gli Screening Neonatali evidenziano che dal 2005 al 2007 sono stati selezionati complessivamente mediante programmi estesi oltre 32 casi di errore congenito del metabolismo in oltre 148.000 neonati, con un'incidenza complessiva di acidemie organiche, difetti dell'ossidazione degli acidi grassi ed amminoacidopatie (iperfenilalaninemie PKU escluse) nei nati vivi pari a 1:4.632. Per una prima valutazione d'efficacia dei programmi di screening esteso in Italia, questo dato è confortante se confrontato con i risultati dello studio retrospettivo nazionale condotto negli anni 1985–1997, in cui la selezione clinica per sintomi evidenziava un'incidenza delle stesse patologie pari a 1:6.200.

Anche in termini d'economia sanitaria, l'analisi dei primi risultati ottenuti con i programmi di screening neonatale esteso sembra avere un'indirizzo complessivamente favorevole. Alcuni autori evidenziano, in termini di analisi costo/benefici, che i programmi basati sulla tecnologia MSMS per errori congeniti del metabolismo possono determinare un risparmio economico complessivo, se comparati agli alti costi assistenziali per i soggetti, a lunga sopravvivenza, diagnosticati in assenza di screening e che l'uso della tecnologia MSMS (in confronto a quello di altre tecnologie) ha la capacità di determinare un maggiore livello di risparmio economico. Va segnalato, tuttavia, che altre valutazioni hanno invece evidenziato benefici economici minori e riservati a programmi limitati nel numero di patologie sottoposte a screening.

Nonostante il prevalente favore nei confronti dei programmi di screening neonatale esteso, non deve però essere sottovalutata l'esistenza di problemi ancora aperti, connessi con l'attivazione di tali programmi:

- la possibile selezione di patologie in cui l'intervento terapeutico, anche se precoce ed iniziato in un periodo pre-sintomatico, non modifica l'infausta storia naturale della malattia;

- l'individuazione di varianti biologiche, a basso impatto clinico, o di patologie ad esordio tardivo, in cui non vi sono evidenze della necessità o dell'utilità di un intervento terapeutico;
- l'inevitabile, anche se contenuto, incremento di falsi positivi (soprattutto in particolari categorie, come ad es. i soggetti prematuri), con potenziali ripercussioni negative (psicologiche, sociali, economiche) nell'ambito familiare;
- il rischio che, in situazioni di falsa negatività (che, seppur rare, sono comunque presenti anche in programmi ad alta efficienza), il falso senso di sicurezza determinato dall'esistenza di un programma di screening mirato rallenti ulteriormente la diagnosi clinica della malattia.[88]

### - **Screening in Piemonte**

Il Centro Screening neonatali della Regione Piemonte istituito con DGR n 58-8036 del 30 giugno 1981 garantisce a tutti i neonati della Regione Piemonte e Valle d'Aosta l'esecuzione sia degli screening metabolici obbligatori per legge nazionale sia quelli per scelta regionale.

Il DPCM del 9 luglio 1999 sancisce l'obbligatorietà per l'ipotiroidismo congenito e la fenilchetonuria, demandando lo screening della fibrosi cistica alla decisione regionale.

Il pannello di patologie oggetto di screening neonatale offerto dalla Regione Piemonte per obbligo di legge e per scelta regionale è il seguente:

- 1) ipotiroidismo congenito dal 1982;
- 2) iperfenilalaninemie dal 1982;
- 3) galattosemia dal 1982;
- 4) sindrome adreno-genitale dal 1987;
- 5) deficit di biotinidasi dal 1986;
- 6) fibrosi cistica dal 2000.

Il bacino di utenza piemontese interessa circa 39.000 neonati/anno per complessivi 234.000 test/anno. L'attività di screening ha permesso di definire l'esatta incidenza nella Regione Piemonte di queste patologie e precisamente (situazione al 31/12/2006):

- *Iperfenilalaninemie* con 115 affetti su 854.259 nati e un'incidenza di **1:7.400**
- *Ipotiroidismo congenito* con 273 affetti su 854.259 nati e un'incidenza di **1:3.100**
- *Galattosemia* (deficit Gal-1P-UT) con 16 affetti su 854.259 nati e un'incidenza di **1:53.000**
- *S.A.G.* (deficit 21-OH) con 41 affetti su 665.365 nati e un'incidenza di **1:16.000**
- *Deficit di biotinidasi* con 6 affetti su 697.315 nati e un'incidenza di **1:116.000**
- *Fibrosi cistica* con 91 affetti su 247.058 nati e un'incidenza di **1:2.715**

Questi dati sono in concordanza con le incidenze riscontrate sia a livello nazionale che internazionale sulla popolazione caucasica.

Le metodiche usate per far diagnosi sono:

- Iperfenilalaninemia – dosaggio fluorimetrico quantitativo della fenilalanina
- Ipotiroidismo primario – dosaggio immunometrico quantitativo del TSH
- Fibrosi Cistica - dosaggio immunometrico quantitativo delle sostanze immunoreattive tripsino-simili (IRT) integrato con la ricerca di 35 mutazioni e 7 delezioni del gene CFTR
- Iperplasia Surrenalica Congenita (deficit 21OH) – dosaggio immunometrico quantitativo del 17-OH-Progesterone
- Deficit di Biotinidasi - dosaggio colorimetrico qualitativo dell'attività Biotinidasica
- Galattosemia (deficit di Gal-1P-UT) - dosaggio fluorimetrico quantitativo del Gal e Gal-1P

I campioni costituiti da gocce di sangue assorbite su cartoncini (SS903) pervengono al Centro di screening o per posta normale o via fattorino.

La procedura di screening è regolamentata dal DPCM del 9 luglio 1999 che sancisce: "il prelievo di sangue necessario alla diagnosi precoce dell'ipotiroidismo congenito e della fenilchetonuria deve essere eseguito, dal terzo al quinto giorno dalla nascita il campione di sangue deve essere raccolto su apposito cartoncino, il sanitario o la struttura sono tenuti a provvedere all'invio del campione al Centro di screening entro le 48 ore successive al prelievo stesso. Il cartoncino, firmato dal sanitario in caso di sospetta patologia il risultato è immediatamente comunicato, secondo la procedura individuate dalla regione".

Tutti i marker di patologia utilizzati nel programma di screening piemontese hanno dei percorsi analitici che si concludono entro le otto ore lavorative e sono automatizzati.

Nei casi in cui il valore di un esame richieda un ulteriore controllo, la Neonatologia del Punto Nascita viene contattata telefonicamente appena verificato il dato. Se la proposta del Centro Screening è la semplice ripetizione del prelievo, questa verrà fatta alla caposala o in difetto all'infermiera che la sostituisce. Nel caso di forte sospetto di patologia verrà contattato un medico del reparto. Tutti i cartoncini pervenuti al Centro screening entro le 10 a.m. vengono analizzati in singolo nella giornata di arrivo e ripetuti in doppio nella giornata successiva qualora risultassero positivi.

I campioni pervenuti dopo le 10 a.m. vengono conservati a temperatura controllata (+4°C) fino al momento dell'analisi. In caso di positività confermata, in base alla valutazione del rischio di patologia, si procede alla richiesta o di un controllo su cartina o di un approfondimento diagnostico in strutture adeguate.

Questa procedura diagnostica è comune per tutti gli screening neonatali tranne per la Fibrosi Cistica che richiede un tempo maggiore: il richiamo per approfondimenti diagnostici avviene a partire dal primo mese di vita.

Periodicamente, ogni Punto Nascita dovrebbe ricevere un listato con l'elenco dei neonati pervenuti al Centro di Screening con i rispettivi commenti (negatività di patologia, richiesta di controlli per i positivi) per la tracciabilità di ogni invio.

La tecnologia impiegata nel programma di screening piemontese è all'avanguardia per quanto concerne affidabilità e contenimento dell'errore umano.

### - **Screening neonatale ed emoglobinopatie**

Nell'aprile del 1987 il National Institute of Health indiceva una Consensus Conference che stabiliva che ogni bambino doveva essere sottoposto a screening per emoglobinopatie per prevenire le complicanze della SCD (potenzialmente fatali) durante l'infanzia [92](3).

Nel 1986 è stata per la prima volta dimostrata una riduzione (dell'84% nell'incidenza di infezioni da *Streptococcus pneumoniae* nei bambini con SCD in profilassi orale con penicillina, rispetto a quelli non sottoposti a trattamento. Inoltre nel gruppo in profilassi non si registravano casi di morte, contrariamente al gruppo placebo dove si riportavano tre decessi [93]. Tale lavoro rappresenta il primo e più numeroso studio che documenti, in modo randomizzato e controllato, la reale efficacia della diagnosi precoce per la possibilità di applicazione precoce di misure di profilassi, nel miglioramento della prognosi.

Nel 1988 Vichinsky et al. riportavano curve di sopravvivenza di coorti pediatriche con SCD, una con diagnosi neonatale, l'altra con diagnosi in epoche successive, attribuendo il diverso tasso di mortalità (FIG. 24) alla precocità di attuazione di programmi di profilassi, educazione ed attento follow-up della malattia [94].

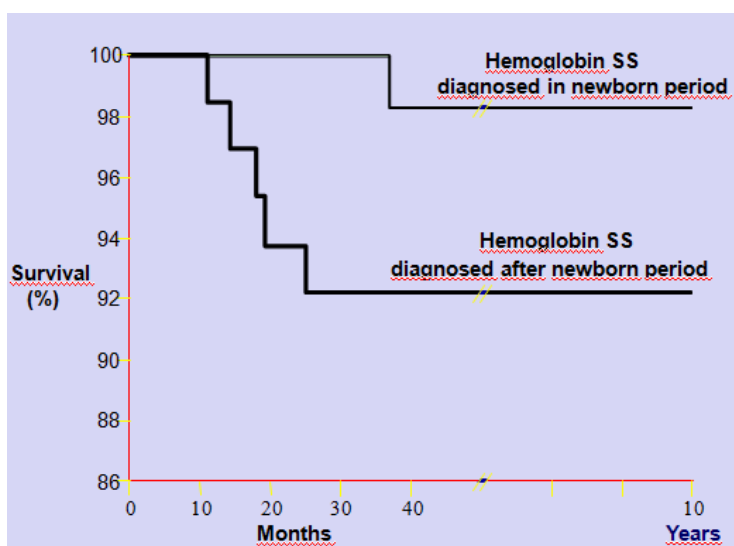


FIG.24 Curve di sopravvivenza in coorti di bambini affetti da SCD in base a periodo diagnosi (screening neonatale o diagnosi successiva).

Lo screening neonatale per SCD permette oltre all'identificazione di emoglobinopatie falciformi anche l'identificazione di emoglobinopatie permette inoltre l'identificazione di neonati con emoglobinopatie non falciformi e può indurre il sospetto di condizione talassemica (FIG. 25). L'identificazione non riguarda i soli soggetti affetti ma anche i portatori sani.

*Condizioni che possono essere individuate da un programma di screening ad esse dedicato:*

- Drepanocitosi omozigote (omozigosi per HbS)
- Malattia emoglobina S/C
- Malattia emoglobina S/beta talassemia
- Malattia emoglobina S /deltabeta talassemia
- Malattia emoglobina S /emoglobina D-Punjab
- Malattia emoglobina S / emoglobina O-Arab
- Malattia emoglobina S / emoglobina Lepore
- Malattia emoglobina S / emoglobina E (cl clinicamente lieve)
- Malattia emoglobina S / persistenza ereditaria emoglobina fetale (cl clinicamente molto lieve, ma necessita di essere distinta dalle altre forme di doppia eterozigosi)

*Condizioni che possono essere presunte da programmi di screening non specificamente dedicati:*

<ul style="list-style-type: none"> <li>• beta Talassemia major e intermedia</li> <li>• Malattia da emoglobina H</li> <li>• Eterozigosi o omozigosi per alfa-talassemia (in alcune circostanze)</li> <li>• Eterozigosi per varianti emoglobiniche</li> </ul>
<i>Condizioni che non possono essere individuate</i>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Eterozigosi per beta talassemia</li> </ul>

FIG. 25 **Condizioni che possono essere rilevate nello screening neonatale (Bain et al 2009)**

La maggior parte dei pazienti malata nasce clinicamente sana e diventa sintomatica nel tempo. Lo screening neonatale dovrebbe essere effettuato nella prima settimana di vita (primi 3-8 giorni) o entro l'anno di vita nei soggetti arrivati da un paese straniero.[53]

La pianificazione dello screening in USA ha permesso un notevole miglioramento nella sopravvivenza dei pazienti affetti da HbS/S rispetto ai pazienti con diagnosi postnatale (FIG. 26), sebbene bisogna ricordare i grossi limiti della sanità statunitense nella gestione delle malattie croniche soprattutto di fasce sociali meno agiate e integrate nel tessuto sociale. [54]

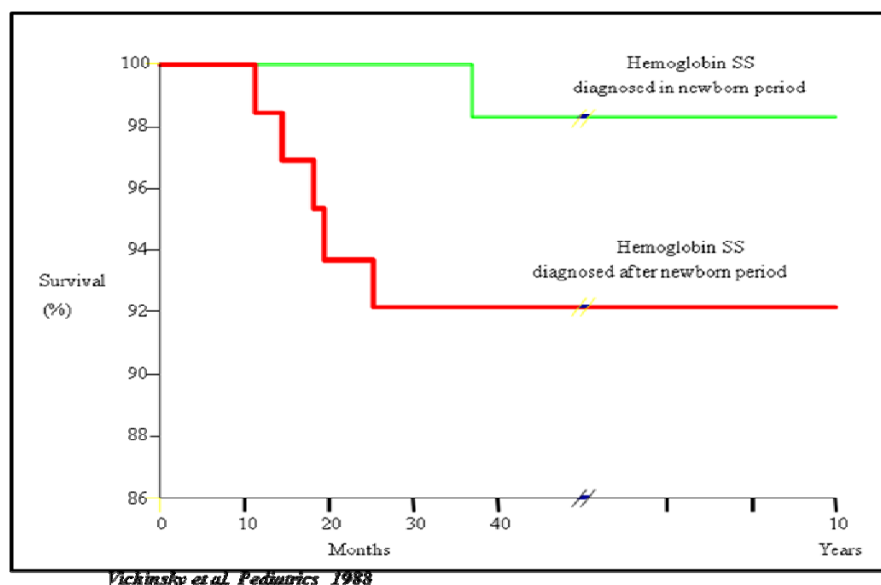


FIG. 26 **Analisi della sopravvivenza per HbS/S a seconda che la diagnosi sia stata effettuata nel periodo neonatale o successivamente in US (Vichinsky et al 1988)**

La maggior parte dei programmi di screening usa l'*isoelectric focusing (IEF)* che separa l'emoglobina dallo spot di sangue essiccato.

Poche campagne di screening usano come indagine iniziale di screening la *cromatografia liquida ad alta prestazione (HPLC)* o l'*elettroforesi diacetato di cellulosa*, le quali invece



vengono usate nella maggior parte dei casi come indagini di conferma complementari e nei casi di risultati dubbi. In definitiva è importante mantenere una buona sensibilità, affidabilità e riproducibilità nel determinare piccole quantità di HbA e di varianti anomale in presenza di grandi quantità di HbF.

La sensibilità e la specificità dell'isoelectric focusing e dell'HPLC sono eccellenti; i risultati e l'interpretazione di questi possono essere alterati da eventuali trasfusioni di sangue precedenti in utero o nel caso di neonati prematuri (possibili falsi negativi).

L'Hb identificate da queste indagini di screening vengono riportate in ordine quantitativo. Dal momento che alla nascita l'HbF è maggiore dell'HbA di un normale adulto avremo FA come risultato.

I neonati, invece, malati avranno sempre una predominanza di HbF, ma il risultato sarà FS o FSC o FSA, e si distanzia dal quadro ematologico del bambino sano illustrato per età nella FIG. 27.

Età (mesi)	HbA%	HbA2%	HbF%
Alla nascita	15-40	0-1	58-84
1-3	38-70	0.5-1.5	29-61
3-5	65-90	1.3-2.1	9-40
5-8	83-96	1.6-2.6	3-15
8-12	89-96	1.8-2.9	1-10
12-24	94-97	1.9-3.0	0.5-3
> 24	95-98	2.0-3.3	0.1-1.2

**FIG. 27 Valori normali dell'assetto emoglobinico nelle diverse età**

Quando lo screening neonatale evidenzia un risultato positivo, l'esito dovrebbe essere confermato 6 settimane dopo con la stessa tecnica diagnostica o, meglio, con un metodo complementare (isoelectric focusing, HPLC, elettroforesi Hb su acetato di cellulosa o agar citrato).

In caso di eterozigosi composta HBS/difetto talassemico o una persistenza ereditaria dell'HbF, si rende poi ancora necessaria la valutazione e l'analisi del DNA; comunque sempre in tutti i casi l'indagine si completa con la valutazione dei genitori un emocromo completo, l'elettroforesi dell'Hb, markers marziali).

## ORGANIZZAZIONE DEI PROGRAMMI DI SCREENING NEONATALE PER LE EMOGLOBINOPATIE

I 7 punti da definire prima di intraprendere un programma di screening possono essere così riassunti:

1. Definire lo scopo dello screening
2. Definire la popolazione da analizzare
3. Decidere la tecnica da usare
4. Decidere quali risultati refertare
5. Decidere quando deve essere eseguito lo screening
6. Definire un programma di trattamento successivo
7. Educare e informare le famiglie e gli operatori sanitari

Lo screening neonatale per le emoglobinopatie è una realtà già presente e avviata in alcuni Stati del mondo (FIG. 28)

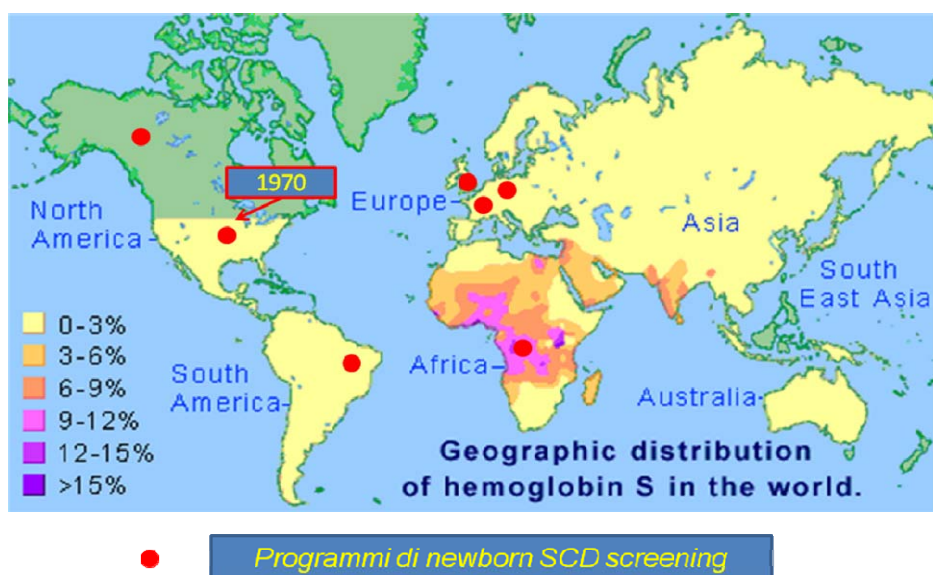


FIG. 28 Programmi di screening neonatale per SCD nel mondo

Si tratta di Paesi con:

- paesi con elevata prevalenza della SCD nella popolazione locale
- paesi con un'ampia popolazione di immigrati da aree in cui la patologia è presente

Alcuni programmi di screening sono stati effettuati in modo isolato, altri invece in associazione con la ricerca di altre malattie (es. disordini metabolici). Nonostante i problemi

di ordine logistico ed economico, lo screening neonatale per la SCD è stato gradualmente introdotto anche in alcuni paesi africani. Riportiamo le esperienze già realizzate in vari paesi.

- JAMAICA

Il primo programma di screening neonatale è stato effettuato da giugno 1973 a dicembre 1981. Sono stati rilevati 315/100.000 neonati affetti da HbS/S, 201/100.000 da HbS/C, 57/100.000 da HbS/ $\beta$ Talassemia. E' seguito uno studio di follow-up in cui sono state elaborate anche curve di sopravvivenza:

la mortalità è diminuita in modo statisticamente significativo ( $p=0.05$ ) nei bambini diagnosticati precocemente [95]

- BELGIO

Dal dicembre 1994 nel territorio di Bruxelles e dal settembre 2002 a Liegi è stato pianificato un programma di screening neonatale universale per la SCD, con raccolta dati fino al 2006. Lo screening è stato effettuato tramite prelievo di sangue cordonale a tutti i neonati, separato dallo screening neonatale obbligatorio. Il campione di sangue cordonale con EDTA (è stato utilizzato sangue cordonale per la valutazione fatta in laboratori di riferimento per le emoglobinopatie e non specializzati nello screening neonatale) è stato mediante elettrofocusing isoelettrico su agar gel, seguito in caso di positività da test di conferma tramite cromatografia liquida ad alta performance.

Su 191.783 neonati analizzati, 123 (lo 0,064%) sono risultati affetti e 2929 portatori sani.

Ogni neonato sottoposto a screening è stato incluso in un database centrale (in modo tale da poter recuperare i neonati non sottoposti a screening). Gli affetti venivano indirizzati a centri specializzati. Nessun neonato risultato negativo alla screening ha ricevuto diagnosi di emoglobinopatie nelle età successive. Dal 2007 è stato istituito un registro per il follow-up di tutti i pazienti affetti da SCD che vivono in Belgio riguardanti eventi avversi e terapia in atto. Vi sono stati 2 morti tra i bambini sottoposti a screening e la causa era legata a episodi infettivi durante periodo di sospensione non programmato della profilassi penicillinica.[96]

La scelta del metodo dipende dal costo-efficacia; è dimostrato che per una prevalenza di almeno 16 portatori/1000 e 0.5 SCD/1000 non sussiste differenza significativa di costi tra screening universale o target [97]

- AFRICA

In Africa la SCD è un problema di salute prioritario riconosciuto dalle maggiori organizzazioni internazionali (UNESCO -12 ottobre 2005, Parigi-, Unione Africana -4,5 luglio 2005 Sirte, Libia- e WHO 26 maggio 2006). Le indicazioni principali sono state quelle di istituire centri specializzati, programmi di screening e programmi educazionali quanto più possibile estesi all'intera popolazione.

In Benin, nella città di Cotonou, tra luglio 1993 e dicembre 1999, è stata effettuata un'importante campagna di screening (prelievo dal tallone a figli di madri portatrici di HbS o HbC), associata ad un programma di informazione intensivo. I pazienti, diagnosticati in epoca neonatale, venivano inseriti in un programma di follow-up e istruzione dei genitori.

Sono stati prelevati 943 campioni, il 9,9% è risultato affetto da SCD. Durante un periodo di osservazione variabile tra 18 e 78 mesi, è stato documentato un miglioramento delle condizioni generali e della crescita [98].

In Burkina Faso nel 2000, 2003 e 2004 nella città di Ouagadougou sono stati ottenuti 2341 campioni di sangue cordonale con incidenza di SCD pari a 1:57 nati (0.02%). In base anche a studi successivi oggi si auspica un programma di screening nazionale.

In Congo e in Nigeria sono in corso studi pilota di screening universale. [99]

#### ▪ FRANCIA

Lo screening neonatale per SCD è iniziato nel 1985 nelle Indie Occidentali e nell'isola di Guadalupa dove la maggioranza della popolazione è di etnia africana. Nel 1986 uno studio è stato intrapreso nel dipartimento della valle della Marna (a sud-est di Parigi) e a Marsiglia. Dal 1990 al 1993 un programma pilota è stato lanciato dalla Associazione Nazionale per lo Screening Neonatale in tre aree metropolitane: Lille, Marsiglia e Parigi. Tutti i neonati venivano studiati, indipendentemente dal substrato

etnico. Dal 1994 al 1995 lo screening neonatale è stato esteso ad altre neonatologie ma limitato ai bambini a rischio di SCD. Nel 1996 lo screening è divenuto parte dei programmi nazionali e dal 2000 è stato esteso all'intera Francia, ma solo ai neonati a rischio.

Definizione di "rischio": almeno 1 genitore originario da aree a rischio o ad alto tasso di immigrazione oppure emoglobinopatia nota nei genitori o in un familiare). Attualmente sono 4 i laboratori di riferimento nazionali (+ 1 in Guadalupa) che ricevono i campioni. Il test di prima linea è eseguito con focusing isoelettrico su gel di agarosio e, se positivo, si ricerca conferma provvisoria con elettroforesi su agar acido e/o cromatografia liquida ad alta performance (HPLC). Tutti i test positivi vengono inviati al centro clinico di riferimento e confermati su prelievo di sangue dal bambino a 1 mese e dai genitori.[100] (FIG.29)

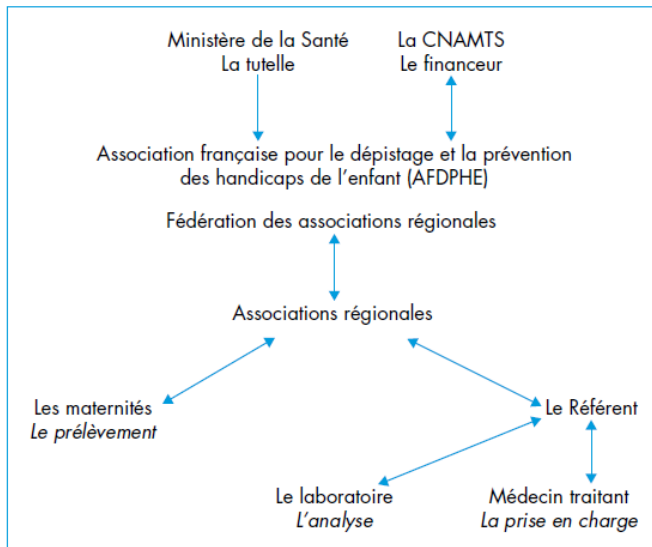


FIG.29 Organizzazione della screening neonatale in Francia

Dépistage drépanocytose 

# VOTRE bébé va bénéficier du dépistage de LA DRÉPANOCYTOSE

*Cette maladie du sang est liée à la présence  
d'une hémoglobine anormale, l'hémoglobine S.*

*L'hémoglobine est présente dans les globules rouges  
du sang. Elle sert au transport de l'oxygène  
indispensable à la vie des cellules dans tous  
les organes du corps.*

**Le test de dépistage consiste  
à étudier l'hémoglobine présente  
dans le sang du nouveau-né.**

*Il permet de détecter la présence*

- soit d'hémoglobine A (normale)
- soit d'hémoglobine S (anormale)
- soit des deux hémoglobines A et S.

 **l'Assurance Maladie**  
sécurité sociale

 **Association Française  
pour le Dépistage  
et la Prévention  
des Hémocytaires de l'État**

FIG. 29BIS Materiale informativo per i genitori

- UK

Il National Health Service Sickle Cell and Thalassaemia Screening Programme ha consentito di testare da aprile 2005 a marzo 2007 1.2 milioni di neonati.

In due anni sono stati identificati circa 17.000 portatori, la maggior parte concentrati a Londra. L'implementazione dello screening neonatale ha portato a identificare un numero crescente di individui con SCD (16).

Uno studio precedente aveva già documentato nella coorte di Londra Est (tra il 1983 e il 2005) come la diagnosi neonatale, seguita dall'introduzione precoce di profilassi e vaccinazioni, avesse drasticamente ridotto il tasso di morbilità e mortalità nei bambini con SCD (17).

Nel periodo tra marzo 2005-marzo 2007 è stato pianificato uno screening a livello nazionale (National Health Service Sickle Cell and Thalassaemia Screening Programme); nelle aree ad alta prevalenza lo screening è stato offerto in maniera universale; mentre in quelle a bassa prevalenza solo in base a emocromo e origini della coppia, con prelievo di sangue dal tallone.

Il prelievo è avvenuto contestualmente allo screening neonatale obbligatorio, poi analizzato in uno dei 10 laboratori con HPLC, e con eventuale test di conferma successivo con focusing isoelettrico. Tutti i test positivi sono stati valutati da un pediatra locale di riferimento. Su circa 1.2 milioni di campioni prelevati, sono stati identificati 17000 portatori sani, la maggior parte concentrati a Londra, e circa 650 casi di malattia. L'implementazione dello screening neonatale ha portato a identificare un numero crescente di individui con SCD

L'utilizzo del test ha consentito di ridurre la mortalità infantile nelle aree urbane e la spesa sanitaria riguardante i ricoveri per le complicanze di malattia dovute al ritardo di diagnosi.[101]

- SPAGNA

Sono stati attuati vari programmi di screening, dal 1981 a Barcellona l'HPLC, nel 1998 in Catalogna limitamente ai neonati di madri africane. Tra il 2003 e il 2006 il Ministero della Salute ha finanziato un progetto di screening in Catalogna nei gruppi a rischio di malattia. Attualmente solo due aree geografiche hanno integrato la ricerca neonatale di SCD: l'Estremadura e l'area di Madrid. E' oggetto di controversie la decisione di effettuare uno screening universale piuttosto che uno mirato: una revisione sistematica in Estremadura ha evidenziato che ogni anno sono attese un minimo di 25.000 nascite e che, con una prevalenza di 1.6% eterozigoti e 0.05% omozigoti, lo screening universale sarebbe preferibile. Nel caso di prevalenze inferiori di SCD, lo screening mirato viene preso in considerazione in quanto meno costoso; rimane, comunque, il rischio di perdere casi. Per tale motivo nelle aree geografiche in cui c'è una elevata natalità annuale e un maggior

rischio di SCD (es. Catalogna e Madrid) è stato raccomandato uno screening universale [102].

- GERMANIA

Tra il luglio 2004 e il maggio 2008 in un ospedale di Monaco sono stati sottoposti a screening neonatale tutti i neonati di madri africane sub-sahariane. Viste le caratteristiche della popolazione immigrata in Germania, caratterizzata da un ampio ventaglio di paesi di provenienza e radicata ormai da generazioni, nonostante l'incidenza della malattia non sia altissima, Dickerhoff et al hanno evidenziato i grossi limiti di uno screening neonatale su una popolazione target e la maggiore indicazione a uno screening universale e sono in progetto studi pilota per lo screening neonatale in città con > 20% di popolazione immigrata.[103]

- PAESI BASSI

Dal 1 gennaio 2007 per un anno è stato ampliato il programma di indagini neonatali, includendo anche la SCD in modo universale. Sono stati raccolti 180000 campioni valutati poi con l'HPLC.[104]

- ITALIA

Dal 2003 è attivo a Udine un programma di screening mirato alle categorie a rischio e dal novembre 2009 è stato ampliato a tutta la regione Friuli Venezia Giulia coordinato dal centro Immunotrasfusionale di Pordenone. A gennaio 2012 sono stati presentati i risultati preliminari di uno studio condotto a Modena, (Pediatria e Centro Immunotrasfusionale) su madri e neonati di questa provincia di screening per emoglobinopatie.

NAZIONE	ANNO DI INIZIO	MODALITA'	INCIDENZA
Inghilterra	2005	Universale	1/3363
Francia	1996	Selettivo	1/3830
Belgio	1994	Universale	1/2103
Olanda	2007	Universale	1/3272
Spagna	2007	Universale	

FIG. 30 Programmi di screening neonatale nei principali paesi europei

Lo screening neonatale per la SCD può essere *universale*, cioè disponibile e diretto alla totalità dei bambini nati in uno Stato, oppure *selettivo*, e cioè rivolto ad una selezione di bambini i cui genitori rispondono a determinati requisiti, in particolare originari da regioni a rischio per alta prevalenza della malattia. [105]

Lo screening selettivo ha un buon rapporto costo/efficacia se confrontato a situazioni in cui lo screening non venga effettuato. Per quanto riguarda la scelta se effettuare uno screening neonatale universale o mirato/selettivo per una data popolazione sono stati identificati dei



parametri epidemiologici. Infatti, Panepinto et al e anche Davies et al hanno messo in luce che nel caso in cui si riscontri una presenza di portatori superiore a 16/1000 e almeno 0,5/1000 malati SCD conviene effettuare uno screening universale, mentre per valori al di sotto di tale prevalenza è meno costoso lo screening selettivo.[106]

Per quanto riguarda lo screening neonatale selettivo bisogna tenere in conto alcune problematiche:

1. la discriminazione che si viene a creare in base all'origine dei genitori
2. il rischio di tralasciare alcuni soggetti malati per errori di selezione del campione da sottoporre a screening

Lo screening neonatale, inoltre, può creare uno stato di discriminazione nei soggetti adulti che scoprono di essere portatori, soprattutto nel caso delle donne, e quindi questi soggetti possono tentare di nascondere e celare la loro condizione in caso di pianificazione di una famiglia.

Vista la preponderante presenza di questa patologia ad alcune latitudini del mondo, la scoperta precoce della malattia può diventare anche un elemento sociale che porta la famiglia, se immigrata in un paese occidentale, a scegliere di rimanere per la garanzia delle cure e allontanarsi dal proprio paese d'origine, con tutte le implicazioni socio-economiche che questo tipo di scelta implica.[105]

### **La rete regionale per le malattie rare**

La disciplina in materia di esenzione dalla partecipazione alla spesa per i soggetti affetti da malattia rara è contenuta nel Decreto Ministeriale 18 maggio 2001, n. 279 che, oltre ad individuare le malattie rare che danno diritto all'esenzione, definisce le procedure per il riconoscimento del diritto, prevede l'istituzione di una rete assistenziale dedicata e l'istituzione del Registro nazionale delle malattie rare presso l'Istituto Superiore di Sanità.

La Rete è costituita da presidi accreditati del Sistema Sanitario Nazionale, in possesso di specifici requisiti di esperienza e competenza, appositamente individuati dalle Regioni quali centri abilitati a rilasciare la certificazione ai fini dell'esenzione e ad erogare prestazioni finalizzate alla diagnosi ed al trattamento delle malattie rare. Il regolamento definisce espressamente i criteri per l'individuazione dei presidi della rete sulla base delle esigenze assistenziali peculiari di tali malattie. In particolare, la documentata esperienza di attività diagnostica o terapeutica, specifica per i gruppi di malattie o per le singole malattie rare, e l'idonea dotazione di strutture di supporto e di servizi complementari, ivi inclusi, per le malattie che lo richiedano, servizi per l'emergenza e per la diagnostica biochimica e genetico- molecolare. Al fine di ottenere a livello nazionale un quadro complessivo della diffusione delle malattie rare e della loro distribuzione spaziale e temporale, ottimizzare gli interventi assistenziali volti alla tutela dei soggetti affetti e cooperare alle iniziative di livello internazionale, il Decreto stabilisce anche la creazione di Registri Regionali, i quali sono

titolari di un debito informativo verso il Ministero e verso l'Istituto Superiore di Sanità, sede del Registro Nazionale, i cui contenuti sono stati stabiliti dall'Accordo Stato-Regioni del 10 maggio 2007.

Il sistema informatizzato di monitoraggio delle malattie rare attivo nella Regione Piemonte, unificando i processi di certificazione dei pazienti, rilascio dell'esenzione ed accesso ai benefici previsti dal DM 279/2001, costituisce uno strumento importante per valutare l'impatto in popolazione e nei servizi sanitari che il complesso delle malattie rare comporta. Attraverso il sistema avviene la registrazione dei casi e dei flussi dei pazienti all'interno della rete di assistenza, sono implementate funzioni per la gestione clinico-assistenziale del paziente da parte di tutti i differenti attori che in fasi diverse e con differenti ruoli sono coinvolti nel processo di presa in carico, attraverso il collegamento in rete dei Centri di Riferimento per le malattie rare, le Aziende ULSS, Distretti Socio-Sanitari e Servizi Farmaceutici. Il sistema che lega il monitoraggio delle malattie rare all'erogazione dell'assistenza sanitaria ai pazienti affetti, costituisce nel contempo un utile strumento a supporto della programmazione sanitaria regionale per la gestione e il controllo della spesa farmaceutica nell'ambito delle malattie rare, come la spesa per i medicinali orfani.

Il Registro si pone i seguenti obiettivi:

- generazione di informazioni epidemiologiche essenziali per attività di programmazione e controllo sia a livello regionale sia aziendale;
- annullamento dei tempi di attesa per l'ottenimento di benefici e prescrizioni, annullamento della necessità di recarsi in sportelli amministrativi per ottenere benefici e prescrizioni;
- creazione di protocolli omogenei per tutta l'area monitorata, definizione di linee guida in base alla valutazione aggiornata delle evidenze derivanti dalla letteratura scientifica;
- definizione della storia naturale ed assistenziale del malato attraverso la stratificazione di un'informazione essenziale sempre disponibile in linea per i centri ai quali il malato si rivolge;
- creazione di una banca informativa comune a tutta la rete dei centri accreditati per malattie rare, base essenziale per lo sviluppo di ricerca clinica avanzata nel settore;
- monitoraggio in tempo reale delle attività intraprese, delle prestazioni erogate e dei relativi costi per ciascun paziente, controllo dell'utilizzo delle risorse e della spesa, sia per il governo locale che per quello regionale.

## OBIETTIVI DELLO STUDIO

Obiettivo principale:

analisi descrittiva della malattia drepanocitica in un contesto italiano in evoluzione e studio di fattibilità di prevenzione e rimodellamento della rete assistenziale.

Abbiamo declinato l'obiettivo principale nei seguenti obiettivi secondari:

- definire dal punto di vista epidemiologico l'impatto attuale delle sindromi drepanocitiche in Piemonte, l'evoluzione e l'andamento rispetto al passato e le proiezioni in un prossimo futuro
- analisi delle attuali attività di prevenzione prenatale; valutazione dell'appropriatezza e la fattibilità di un programma di screening neonatale per la malattia drepanocitica in un contesto italiano in evoluzione, al fine di ridurre la morbilità e la mortalità.
- Disegno ed applicazione di un modello di rete assistenziale per la presa in cura delle sindromi drepanocitiche in età pediatrica adattato al territorio in base a evidenze derivate da:
  - ✓ Letteratura
  - ✓ Esperienza in contesti in cui il modello assistenziale per le sindromi drepanocitiche è consolidato da anni (in particolare periodo di formazione il "Service pour drépanocytose" presso l'Ematologia pediatrica dell'ospedale Necker di Parigi
  - ✓ Esperienza in un contesto italiano in cui il modello assistenziale per emoglobinopatie è consolidato da anni per quanto riguarda le sindromi talassemiche (attività presso il Centro di riferimento regionale piemontese per emoglobinopatie)

## MATERIALI E METODI

Il presente studio si è articolato in 3 fasi successive

- prima fase: studio epidemiologico descrittivo dei casi di sindrome drepanocitica nella regione Piemonte
- seconda fase: analisi dell'attività di prevenzione per SCD nella regione Piemonte
- terza fase: disegno e applicazione di una rete di organizzazione assistenziale per la presa in cura delle sindromi drepanocitiche nella regione Piemonte

### **I FASE:**

#### **studio epidemiologico descrittivo dei casi SCD nella regione Piemonte**

Abbiamo condotto uno studio epidemiologico descrittivo nell'ambito del Centro Regionale per emoglobinopatie del Piemonte-Università di Torino, con lo scopo di misurare la prevalenza dei casi con SCD nota nel periodo di tempo 1978-2011 nella regione Piemonte e descrivere tale casistica.

Criteri di inclusione: tutti i pazienti con diagnosi nota di SCD (HbS/HbS o eterozigosi composta: HbS/HbC, HbS/ $\beta$ thalassemia<sup>0</sup>, HbS/ $\beta$ thalassemia<sup>+</sup>, HbS/OArab, HbS/HbE, HbS/HbDPunjab, HbS/HPFH), ed assistenza sanitaria in Piemonte per almeno due mesi consecutivi dal 01/01/1978 al 31/12/2011. Sono stati inclusi anche pazienti con SCD sottoposti a trapianto di midollo osseo o trasferiti nelle regione Piemonte nel periodo di studio.

Per lo studio sono state utilizzate tre fonti regionali di dati:

- database Webthal (A) per la raccolta dei dati clinici e demografici dei pazienti con SCD che hanno effettuato consulenza almeno una volta presso il Centro Regionale per le Emoglobinopatie
- censimento regionale (B) dei pazienti in cura presso le altre strutture ospedaliere presenti sul territorio piemontese con raccolta telefonica/informatica dei dati clinici e demografici
- Registro regionale per le malattie rare della Regione Piemonte

Il censimento regionale (B) dei pazienti in cura presso le altre strutture ospedaliere presenti sul territorio piemontese, è stato eseguito contattando le ematologie, i servizi trasfusionali e le pediatrie del territorio piemontese (21 strutture), per mezzo di questionari e colloqui

telefonici; tali contatti sono iniziati maggio 2008, da parte di personale medico specifico del Centro regionale, on ultimo aggiornamento al 31 dicembre 2011.

La popolazione in studio è stata distinta in una componente di popolazione pediatrica, secondo il criterio dell'età inferiore ai 14 anni, e una di popolazione adulta, con età superiore a i 14 anni.

Per ogni paziente incluso, sono stati raccolti i seguenti dati:

- sesso, data e luogo di nascita, provincia di residenza in Piemonte
- area geografica di origine dei genitori (è stata applicata una diagnosi di origine etnica non italiana nel caso in cui almeno 1 dei genitori sia di origine non italiana)
- data di diagnosi

E' stata definita DATA DIAGNOSI la data di nuova diagnosi accertata mediante indagini di laboratorio.

- motivo di diagnosi; valutazione di eventuale ritardo diagnostico
- fenotipo (stato di malattia SCD) alla diagnosi e/o presenza di complicanze
- genotipo SCD
- valutazione di alcuni fattori prognostici:
  - ✓  Deficit dell'enzima G6PD
  - ✓  Difetti alfa talassemici
  - ✓  Mutazioni del gene HFE
  - ✓  Mutazioni trombofiliche
  - ✓  Polimorfismo nel promotore del gene UGT1A1
- fenotipo (stato di malattia SCD) all'ultimo follow-up e terapia
- data di ultimo follow-up

E' stata definita DATA di ULTIMO FOLLOW-UP:

- ✓  la data dell'evento morte per i pazienti deceduti
- ✓  la data di cambiamento di fenotipo per interventi come il TMO (data di esecuzione del TMO)
- ✓  la data di ultimo follow-up clinico per i pazienti persi al follow-up o trasferiti
- ✓  la data del 31/12/2011 per tutti gli altri pazienti
- Eventuale ritardo di diagnosi

E' stato definito RITARDO DI DIAGNOSI nei casi in cui manifestazioni cliniche SCD-attribuibili pregresse o una familiarità per la malattia già conosciuta, avrebbero dovuto indurre il sospetto clinico e avrebbero permesso una diagnosi più tempestiva rispetto a ciò che poi si è verificato.

- Eventuale ritardo di presa in cura

E' stato definito RITARDO di PRESA in CURA nei casi con diagnosi di SCD nota, ma ritardo nella presa in cura specialistica.

La mortalità e la comparsa di complicanze sono state studiate mediante analisi di Kaplan-Meier (Statistica, StatSoft).

Per alcuni parametri (numerosità ed età media del campione, genotipo SCD, età alla diagnosi, fenotipo alla diagnosi e all'ultimo follow-up, distribuzione geografica dei casi nella regione) abbiamo considerato la situazione attuale e i cambiamenti rispetto ai decenni precedenti, per descrivere l'andamento della malattia nel tempo durante il periodo di tempo 1978-2011.

I dati demografici necessari sono stati raccolti dalle analisi della Banca Dati Demografica Evolutiva della Regione Piemonte (BDDE), dei dati ISTAT del rapporto 2008 dell'Istituto di Ricerche Economico Sociali del Piemonte e del rapporto DEMOS, anche in merito a ai dati riguardanti il tasso di immigrazione e le caratteristiche (paese di provenienza e fasce d'età) del flusso di immigrati negli ultimi anni.

Abbiamo registrato il fenotipo della malattia sia alla diagnosi che poi all'ultimo follow-up, usando le categorie LIEVE, MODERATO e SEVERO, aggiornate secondo i criteri recentemente indicati in letteratura [107]:

- LIEVE indica un ridotto numero di crisi dolorose vasocclusive/anno (<3) e assenza di danno d'organo agli esami strumentali
- SEVERO implica che ci siano stati reperti suggestivi di evoluzione in complicanza/e severa/edel fenotipo (ad es. TCD patologico/stroke). Sono considerate complicanza severa danni ischemici cerebrali – complicanze cardiopolmonari – eventi acuti di sepsi o insufficienza multiorgano
- MODERATO definisce una situazione intermedia, con episodi vasocclusivi dolorosi frequenti (>3/anno), chest syndrome e danni d'organo isolati, non a livello cerebrale né cardiopolmonare.

Mantenendo la divisione in gruppi per fenotipo alla diagnosi (LIEVE, MODERATO, SEVERO), abbiamo valutato le singole possibili complicanze a medio-lungo termine della malattia drepanocitica (complicanze neurologiche, cardiopolmonari, infettive, renali e oftalmologiche) con metodo di Kaplan-Meier e con un'analisi della sopravvivenza: nelle analisi a tre gruppi abbiamo eseguito il Chi square test (significatività statistica se  $p < 0,05$ )

mentre in quelle a due gruppi il Gehan's Wilcoxon test (il cui valore soglia di significatività statistica è portato a  $p < 0,10$ ).

Per quanto riguarda le complicanze abbiamo considerato due periodi:

- il momento della diagnosi o presa in cura (episodi di stroke o riscontro di segni di infarti silenti pregressi, sepsi, pneumopatia, nefropatia, retinopatia, necrosi ossee),
- la chiusura del follow-up con termine ultimo 31/12/2011 (complicanze neurologiche quali stroke sintomatico - TCD patologico – infarti silenti); complicanze cardio-polmonari severe (insufficienza cardiaca e/o deficit restrittivo severo); ; complicanze infettive severe (sepsi); nefropatia; retinopatia.

## **II FASE:**

### **analisi dell'attività di prevenzione per SCD nella regione Piemonte**

#### **II A. Prevenzione prenatale**

Abbiamo raccolto ed analizzato retrospettivamente i dati della casistica dell'Ambulatorio di Prevenzione per emoglobinopatie attivo nel Centro Regionale, secondo modalità di screening laboratoristico e comunicazione diagnosi da anni consolidate nel Centro in particolare per l'attività rivolta a coppie a rischio di sindromi talassemiche

In particolare abbiamo considerato, per la disponibilità di un archivio completo, i dati dal 01/01/2002 al 31/12/2011, relativi a:

- numero di coppie a rischio di SCD/anno rispetto al totale e alle talassemie
- numero di coppie a rischio di SCD che hanno scelto la DPN in corso di gravidanza, rispetto a quelle a rischio di talassemia; scelte della coppia in caso di diagnosi di feto affetto
- Adesione al follow-up dopo la nascita dei bambini da gravidanza sottoposta a DPN (SCD vs talassemia)

- Portatori sani

Per valutare la presenza dei portatori sani in Piemonte, abbiamo fatto una stima, utilizzando la legge di Hardy-Weinberg, la quale descrive il comportamento degli alleli all'interno di una popolazione in equilibrio, in cui né le frequenze alleliche né la distribuzione dei genotipi mutano col succedersi delle diverse generazioni.

Abbiamo preso in considerazione la situazione presente in Piemonte al termine dell'anno 2009, dal momento che a questa data si riferiscono gli ultimi dati della Banca Dati Demografica Evolutiva della Regione Piemonte aggiornati al 31/12/2009 e i relativi dati dei

pazienti affetti da SCD a quella stessa data. Dobbiamo, però, sottolineare come questa analisi abbia delle limitazioni, dal momento che la popolazione del nostro studio non risponde interamente alle condizioni restrittive della legge, e cioè che:

- non debba verificarsi un flusso di geni tra popolazioni, cioè una migrazione netta di alleli verso l'interno della popolazione (immigrazione) o verso l'esterno (emigrazione);
- la popolazione debba essere ampia (teoricamente infinita);
- non debbano verificarsi mutazioni;
- non si debba verificare selezione naturale, vale a dire tutti i genotipi con le stesse capacità adattative e riproduttive.

Infatti, la popolazione presa in esame è piccola ed è caratterizzata da un'importante influenza dei flussi migratori in passato e lo sarà ancor di più in futuro (trend in aumento), quindi il risultato deve essere letto all'interno di queste limitazioni.

Tale equilibrio sarebbe espresso dalla seguente equazione:  $p + q = 1$  da cui  $(p + q) = p + 2pq + q = 1$ , dove la lettera  $p$  indica la frequenza di un allele e la lettera  $q$  indica la frequenza dell'altro;  $p + q$  deve sempre essere uguale a 1 (cioè il 100% degli alleli di quel particolare gene nel pool genico). L'espressione  $p$  indica la frequenza di individui omozigoti per un allele (individui sani),  $q$  la frequenza di individui omozigoti per l'altro allele (individui malati per SCD) e  $2pq$  la frequenza degli eterozigoti (portatori sani di SCD).

#### - **Studio pilota per screening emoglobinopatie su neonati/infants**

In una regione senza screening neonatale regionale e senza l'attuale disponibilità a studi pilota per screening neonatale per emoglobinopatie in singoli centri di neonatologia, abbiamo organizzato uno studio pilota con la collaborazione della Divisione di Malattie infettive dell'Ospedale pediatrico Regina Margherita di Torino.

Dal 2008 è in corso uno studio di follow-up dei nati da madri HIV positive della provincia di Torino (per la maggior parte donne di origine africana). Questi nati vengono sottoposti a controlli periodici alla nascita, a un mese di vita a 6 mesi e 1 anno, per il monitoraggio dell'infezione HIV.

Dal 01/01/2010 al 31/10/2011 i neonati dello studio sono stati sottoposti nel corso dei controlli previsti, anche a elettroforesi dell'emoglobina e dosaggio di G6PD e rapporto G6PD/6PDG. È stata fornita informazione, compresa documentazione scritta, sulle motivazioni di proposta dell'esame e sulla patologia. I dati sono stati centralizzati al Centro Regionale per Emoglobinopatie e i casi con positività del test (positività = esito non normale) sono state convocate.



### **III FASE:**

#### **organizzazione di una rete di presa in cura e prevenzione**

Da evidenza ricavate dalla letterature, esperienze personali in contesti con esperienza pluriennale nella gestione delle sindromi drepanocitiche e in base ai risultati di I e II fase abbiamo disegnato e in parte applicato un programma di rete assistenziale per presa in cura dei malati e prevenzione per sindromi drepanocitiche da adattare al contesto piemontese in evoluzione.

#### **PIANIFICAZIONE DI UN PROGRAMMA DI RETE ASSISTENZIALE PER SCD IN PIEMONTE**

- A) assistenza clinica
  - ✓ Assistenza delle manifestazioni acute
  - ✓ Follow-up
  - ✓ Comunicazione diagnosi
- B) prevenzione
- C) interventi sociali
- D) analisi dei costi

Nel modello proposto, il Centro regionale per Emoglobinopatie è Centro di riferimento per fornire competenze altamente specializzate, sia nella gestione diretta dei casi (follow-up, gestione di eventi acuti, prevenzione), sia nel coordinamento del territorio in modo da agire in un sistema "rete" con omogeneità di informazioni e distribuzione di competenze.

Qui di seguito i metodi scelti nell'organizzazione di una rete di assistenza per ognuno dei punti del capitolo "presa in cura" descritti nell'introduzione.

#### **III A. Assistenza clinica**

##### **- MISURE PROFILATTICHE**

- Da gennaio 2009, sensibilizzazione delle farmacie ospedaliere regionali alla necessità di trattamento con fenossimetilpenicillina orale, non disponibile in Italia, mediante informativa scritta, e laddove necessario ulteriori delucidazioni telefoniche, in modo da

sollecitare l'acquisto del farmaco all'estero e la somministrazione dello stesso ai malati di SCD della Regione Piemonte dotati di piano terapeutico previsto per Malattie Rare.

- Centralizzazione della prescrizione e controllo della compliance della terapia penicillinica a livello del Centro Regionale. Attuazione di strumenti per il controllo di eventuali problemi di compliance per l'assunzione di terapia penicillinica: informazioni chiare (vedi in seguito AMb. Dolore) a genitori e bambino sul beneficio della profilassi e sul rischio della mancata esecuzione della stessa; controllo indiretto mediante registrazione delle richieste di moduli per terapia penicillinica da parte delle farmacie ospedaliere.

- Centralizzazione di prescrizione e controllo della terapia vaccinale a livello del Centro Regionale, con registrazione delle vaccinazioni effettuate su cartella clinica apposita e indicazione al richiamo quando necessario

Avviato (tuttora in corso) studio per valutazione di sicurezza ed efficacia della vaccinazione antipneumococica 13-valente nella popolazione SCD pediatrica di età compresa 6-18 anni

#### - EDUCAZIONE SANITARIA SPECIFICA

Nell'ambito delle attività cliniche di routine, è stato applicato un metodo di educazione sanitaria specifica.

- Da gennaio 2011, a tutti i pazienti pediatrici con SCD nella Regione Piemonte sono stati proposti controlli presso una struttura ambulatoriale specifica, "Ambulatorio del dolore", organizzato presso il Centro Regionale per Emoglobinopatie (disponibilità 2 ore settimanali); gestito da personale infermieristico e medico. L'attività ambulatoriale è rivolta a pazienti pediatrici e genitori di nuova diagnosi, o situazioni in cui si evidenzia una non chiara comprensione/applicazione delle informazioni precedenti o situazioni (esempio adolescenziali) di difficoltà/rifiuto nell'accettazione delle stesse.

L'attività dell'ambulatorio è organizzata con metodologia atta a rispondere ai seguenti obiettivi:

- educazione mediante strumenti didattici specifici (Drépanocytose- ROFSED- Parigi) per la popolazione pediatrica per la conoscenza del più adeguato stile di vita (alimentazione-sport-compliance a controlli clinici e terapie) e significato della patologia
- riconoscimento tempestivo, soprattutto da parte dei genitori almeno nei primi anni di vita, di segni/sintomi di allarme (educazione a esplorazione colorito

mucose-palpazione milza); riconoscimento tempestivo e valutazione (termometro) dell'evento "febbre" e inizio tempestivo di terapia antibiotica

- rivalutazione del grado di informazione raggiunta
- informazioni sulle strutture adeguate a cui rivolgersi in caso di urgenza

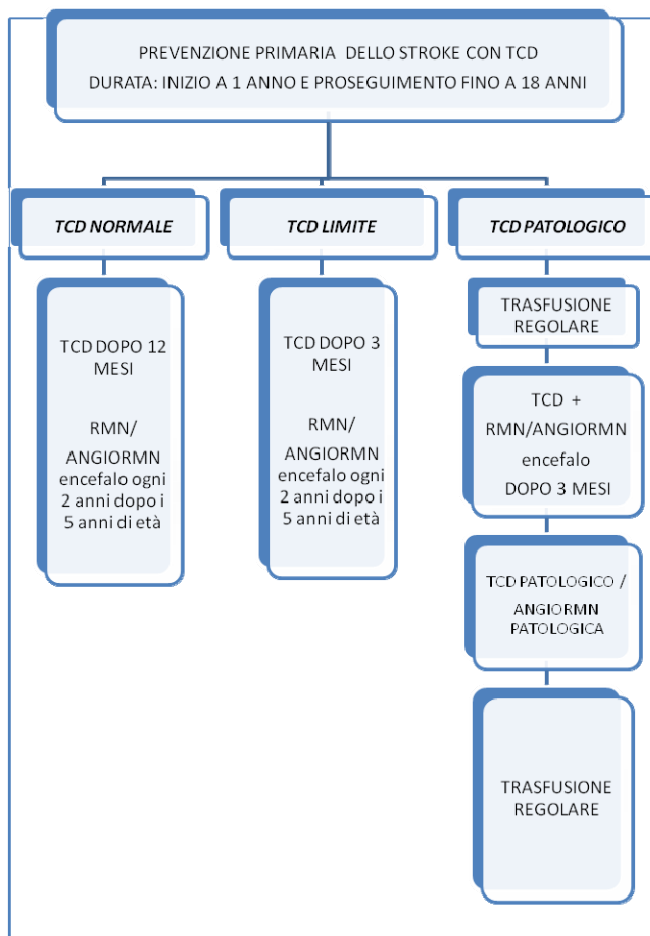
#### - FOLLOW-UP

➤ Da gennaio 2011 è stato applicato un modello di follow-up (visite cliniche - esami ematochimici e strumentali) messo a disposizione delle pediatrie territoriali (ALLEGATO 1).

Per quanto riguarda le visite cliniche sono state proposte con periodicità ogni 3 mesi; nei casi non a diretta presa in cura presso il Centro Regionale, è stato proposto un follow-up clinico nelle pediatrie ospedaliere di riferimento territoriale, con 1 visita annuale presso il Centro Regionale. Per quanto riguarda gli esami strumentali, è stato previsto di centralizzare alcuni esami che richiedono, per una accurata esecuzione e interpretazione, una conoscenza ed esperienza della sindrome drepanocitica (in particolare RMN cerebrale, ecocardiogramma, visita oculistica).

- In particolare è stato disegnato e applicato un modello per l'organizzazione di prevenzione primaria dello stroke mediante DOPPLER TRANSCRANICO

La prevenzione primaria delle complicanze cerebrovascolari mediante doppler transcranico (TCD) è stata resa disponibile per tutti i pazienti SCD pediatrici (età > 1 anno < 18 anni) della Regione Piemonte dal febbraio 2008, secondo lo schema qui di seguito riportato (FIG. 31).



**FIG. 31 Follow-up di prevenzione primaria delle complicanze cerebrali mediante TCD**

L'esame TCD è stato condotto presso la Neurologia dell'Ospedale Gradenigo di Torino da personale con esperienza pluriennale nell'esecuzione e valutazione di questa metodica nell'ambito di altre patologie. Insieme abbiamo iniziato una collaborazione nell'ambito della clinica e della ricerca e partecipato ad un corso di addestramento (dottoressa Suzanne Verlhac - Parigi) per l'esecuzione e valutazione del doppler transcranico nelle sindromi drepanocitiche in età pediatrica.

L'esame è prenotato da un medico di riferimento del Centro Regionale per Emoglobinopatie, con la disponibilità di due posti dedicati/settimana; i risultati vengono inviati via email al referente medico del Centro; la comunicazione è tempestiva (telefonica) se al momento dell'esame gli operatori evidenziano un DOPPLER PATOLOGICO. In questo caso il paziente viene convocato per la terapia trasfusionale nel più breve tempo possibile (entro 24 ore).

Abbiamo scelto di valutare la velocità media di flusso intracerebrale (VM) mediante doppler transcranico (TCD) piuttosto che con l'ecocolordoppler per le seguenti motivazioni:

- nello STOP trial I e II [108] è stato utilizzato il TCD e non l'ecocolordoppler
- non ancora stabilita la sensibilità/specificità dell'ecocolordoppler rispetto al TCD nella valutazione delle VM per la prevenzione primaria dello stroke nella SCD: varie segnalazioni indicano che l'ecocolordoppler sottostima la VM di circa il 10% rispetto al TCD; altri studi indicano che non c'è differenza tra TCD ed ecocolordoppler

È stato utilizzato un apparecchio per TCD con sonda Doppler a emissione pulsata a bassa frequenza (2 Mhz) multi-range gate a otto differenti profondità di campionamento, selezionabili secondo le necessità, in grado di campionare un volume di flusso a profondità diversa (2-3/15 cm).

Per ottenere una migliore qualità dell'immagine:

1. l'aumento della potenza acustica è stato applicato a livello sufficiente (100%)
2. la scala delle velocità è stata adattata alle velocità elevate incontrate nella drepanocitosi
3. come in ogni valutazione TCD, l'angolo ottenuto tra asse del segnale doppler e asse del vaso è risultato prossimo allo zero senza necessità di correzione d'angolo

Il calcolo della Velocità media di flusso intracerebrale (VM, corrispettivo termine italiano scelto per indicare la Time Average Mean Velocity – TAMV - con cui in letteratura si indica il parametro designato dallo STOP trial I e II come riferimento per la prevenzione primaria dello stroke nelle SCD) è stato effettuato con il metodo stabilito dallo STOP trial I, di seguito esposto:

4. La VM corrisponde alla velocità media di flusso (cm/sec) in un vaso intracerebrale nel corso di un ciclo sistolico. Il valore di VM si ottiene disegnando la retta che l'area di un ciclo sistolico in due aree di uguale superficie: tale retta interseca la scala di velocità nel punto corrispondente alla VM (FIG 32)
5. Rispetto a quanto accade per la velocità sistolica e diastolica, le variazioni generali del flusso emodinamico (frequenza cardiaca, resistenze periferiche) esercitano sulla VM un'influenza minore.

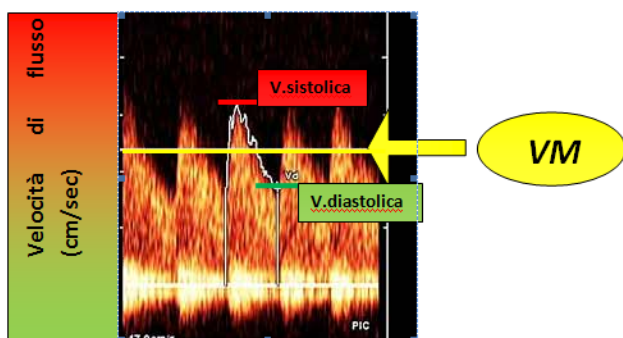


FIG.32 Calcolo della velocità media cerebrale mediante TCD

Il calcolo della VM può essere automatico e manuale. L'apparecchio utilizzato per la nostra valutazione TCD permette il calcolo automatico della VM; per ogni determinazione su un vaso sanguigno, il vaso viene seguito lungo tutto il suo decorso; VM definitiva per ogni singola arteria è la maggiore delle VM di almeno tre rilevazioni di ciclo sistolico nei punti a maggiore flusso lungo il decorso del singolo vaso.

L'esame TCD ha permesso di valutare:

6. VM per ciascuna delle 9 arterie cerebrali esplorate (ACM dx-sx; ACA dx-sx; ACP dx-sx; CI dx-sx; TB)
7. Velocità media di flusso intracerebrale massima (VM MAX): è la maggiore delle VM per singolo paziente nel singolo esame TCD
8. Simmetria del circolo cerebrale: è stata stimata normale una differenza tra le VM del sistema sinistro e destro  $\leq 30\%$

L'esame TCD è stato classificato come NORMALE, LIMITE, PATOLOGICO in base alla VM MAX secondo i limiti di riferimento stabiliti dallo STOP trial I e II letteratura (FIG. 33).

	DEFINIZIONE
TCD NORMALE	VM MAX < 170 cm/sec
TCD LIMITE	VM MAX $\geq 170 < 200$ cm/sec
TCD PATOLOGICO	VM MAX $\geq 200$ cm/sec
TCD INCOMPLETO	1 o entrambe le finestre temporali inaccessibili

FIG. 33

Valori di VM < 50 cm/sec nel circolo cerebrale anteriore (ACM.ACA-CI) sono stati considerati "a rischio"; velocità di flusso intracerebrale molto ridotte sono infatti potenzialmente indicative di danno cerebrale grave esitato in sviluppo di moyamoya disease; sono quindi indispensabili in questi casi RMN/ANGIORMN cerebrale.

Sul referto sono state quindi segnalate anche le condizioni in cui è stato eseguito l'esame (lo stato di veglia è una condizione imprescindibile), in particolare segnalando eventuali fattori in grado di alterarne l'attendibilità (febbre, crisi vasocclusive nei 7 gg precedenti l'esame, pianto inconsolabile durante l'esame, non sufficiente stato di veglia).

- Terapia

**Trattamento delle MANIFESTAZIONI ACUTE:** sono state proposte ed attuate procedure omogenee, sia a livello del Centro Regionale, suggerite anche alle pediatrie ospedaliere territoriali (linee guida AIEOP e flow-chart specifiche).

Il Centro Regionale dà la sua disponibilità in caso di necessità con medico di riferimento disponibile, in particolare in situazioni complicate o in caso di necessità di trattamenti specifici (es. scambio eritrocitario) in acuto, con disponibilità di protocolli locali specifici (ALLEGATO 2 per protocollo EEX).

**Trattamento di FONDO** (Idrossiurea – Terapia trasfusionale cronica):

Centralizzazione a livello del Centro Regionale dell'indicazione nei singoli casi delle terapie di fondo; follow-up condiviso tra pediatrie ospedaliere di riferimento e Centro Regionale.

## **II B. Prevenzione**

- Applicazione di un programma di prevenzione prenatale: prosecuzione dell'attività dell'Ambulatorio per Prevenzione del Centro regionale per Emoglobinopatie con la valutazione dell'opportunità di eventuali adattamenti organizzativi in base all'analisi della fase II
- Valutazione di fattibilità di una strategia di prevenzione con screening neonatale nel contesto piemontese in evoluzione, in base a evidenze di letteratura, risultati di fase I e fase II.

## **III B. Interventi sociali**

- Applicazione di attività di sensibilizzazione/promozione salute per cittadini stranieri e rischio di trasmissione di emoglobinopatie o di ritardo nella presa in cura se malati
- Applicazione di attività di unpowerment per soggetti malati da SCD e famiglie

#### **IV B. Analisi dei costi**

Abbiamo ricercato in letteratura studi di analisi del rapporto costo/beneficio dello screening neonatale per emoglobinopatie secondo le diverse esperienze oggi note e valutato costi attuali della gestione della patologia drepanocitica nella regione Piemonte.

### ***RISULTATI***

#### **Prevalenza dei casi di SCD e descrizione della casistica**

Abbiamo descritto **165** casi di SCD nota nel periodo di tempo dal 01/01/1978 al 31/12/2011.

Questa popolazione di casi SCD presenta le caratteristiche descrittive elencate nella TAB.1.-

<b>N° totale casi</b>	<b>165 (F/M = 84/81)</b>	
<b>Età media casi all'ultimo follow-up (range)</b>	<b>20.6 anni</b> (1 mese - 68,8 anni)	
<b>Sindrome drepanocitica</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>• SS</li><li>• S<math>\beta</math>Thal</li><li>• SC</li><li>• SOarab</li><li>• SHPHF</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>• <b>53.9%</b></li><li>• <b>33.3%</b></li><li>• <b>10.9%</b></li><li>• <b>0.6%</b></li><li>• <b>0.6%</b></li></ul>
<b>Origini etniche</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>• Italia</li><li>• Non Italia</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>• <b>29.7%</b></li><li>• <b>70.3%</b></li></ul>
<b>Luogo di nascita</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>• Italia</li><li>• Non Italia</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>• <b>70.3%</b></li><li>• <b>29.7%</b></li></ul>
<b>Età media alla diagnosi (range)</b>	<b>8.1 anni</b> (0 gg- 48.8 anni)	

TAB.1 Caratteristiche descrittive della popolazione con SCD nota in regione Piemonte nel periodo 01/01/1978-31/12/2011.

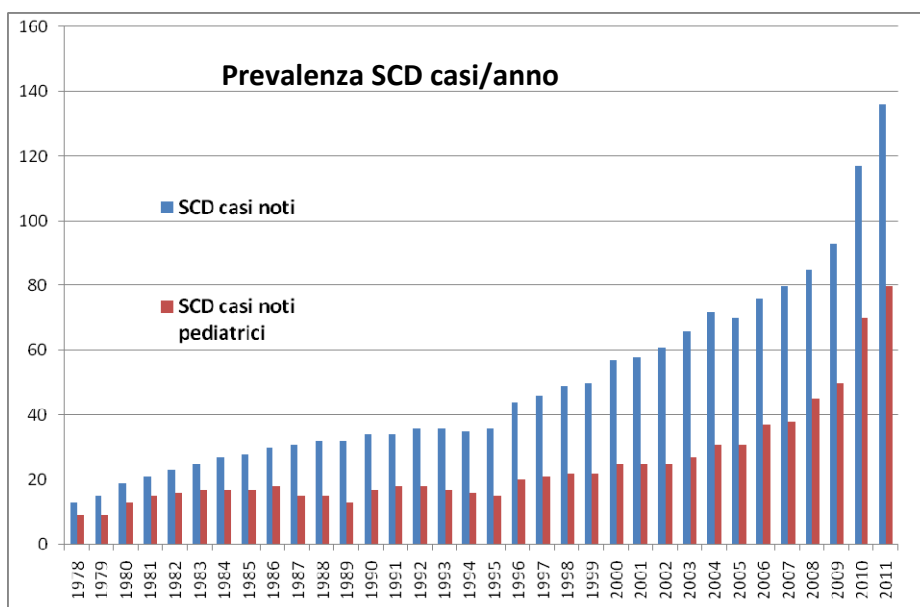


La caratteristica descrittiva "età alla diagnosi" è stata calcolata come età al momento della prima diagnosi accertata mediante indagini di laboratorio.

Durante il periodo di tempo esaminato, le caratteristiche descrittive della popolazione non si sono mantenute uniformi, ma si sono in parte modificate.

▪ **Numero di casi**

In generale, la popolazione ha subito un progressivo incremento in numero di casi anche per quanto riguarda la popolazione di casi in età pediatrica (GRAF.1).



GRAF.1 **Prevalenza SCD casi noti in Piemonte/anno dal 01/01/1978 al 31/12/2011 (popolazione totale e popolazione in età pediatrica).**

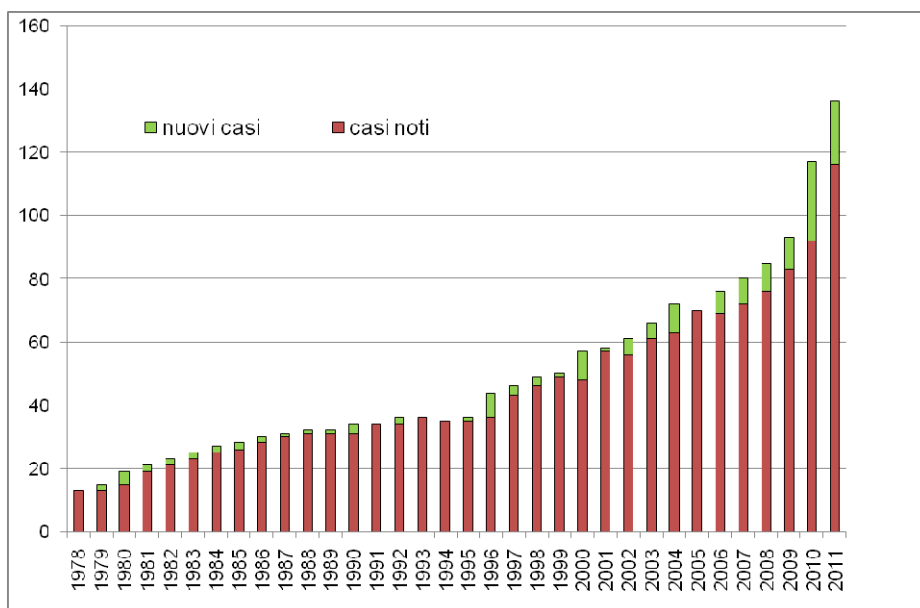
Il numero complessivo dei casi/anno è costituito da casi già diagnosticati che proseguono il follow-up e da nuovi casi (nuove prime diagnosi e pazienti trasferiti in regione Piemonte).

Per quanto riguarda il contributo dei nuovi casi nell'aumento progressivo del numero di SCD casi in regione Piemonte, abbiamo osservato che il numero di nuove diagnosi ha subito un notevole incremento nel tempo (GRAF.2):

- periodo 1981-90: 30 nuovi casi
- periodo 1991-2000: **20 nuovi casi (in media 2 nuovi casi/anno)**

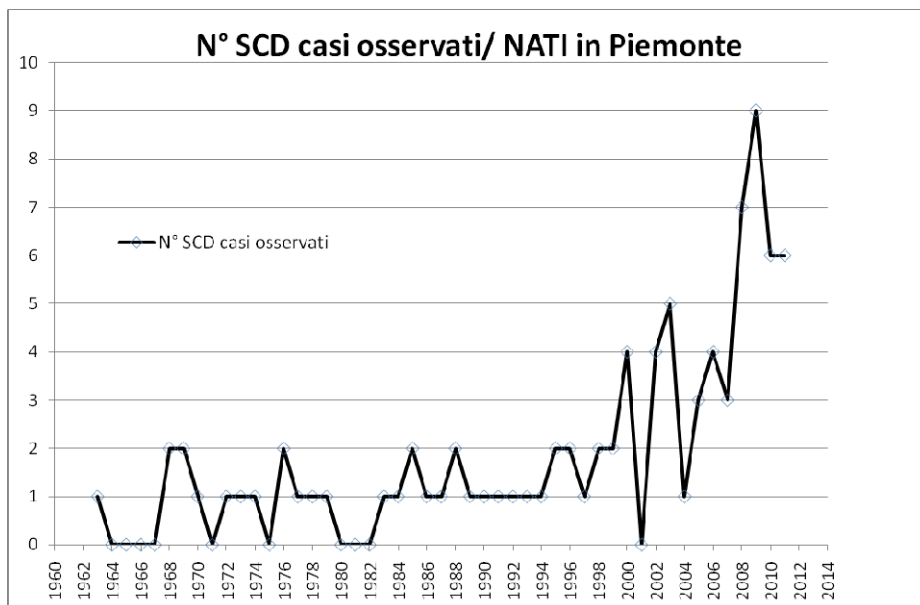
- periodo 2001-2011: **62 nuovi casi (in media 7.5 nuovi casi/anno);** di questi 21 (34%) sono nuove diagnosi per **trasferimento** nella regione Piemonte o da stati o non italiani)

con un aumento nell'ultimo decennio 2001-2011, rispetto al precedente 1990-2000, del 210% di nuovi casi seguiti nella regione Piemonte.



GRAF.2 **Variazione della distribuzione dei casi SCD, per casi noti e nuove diagnosi.**

La variazione della distribuzione dei nuovi casi per NATI in Piemonte è indicata nel GRAF 3.



GRAF 3. **Variazione della distribuzione di casi SCD osservati NATI in Piemonte**

Nel periodo 1978-2011 alle variazioni di numero della popolazione SCD, hanno inoltre contribuito:

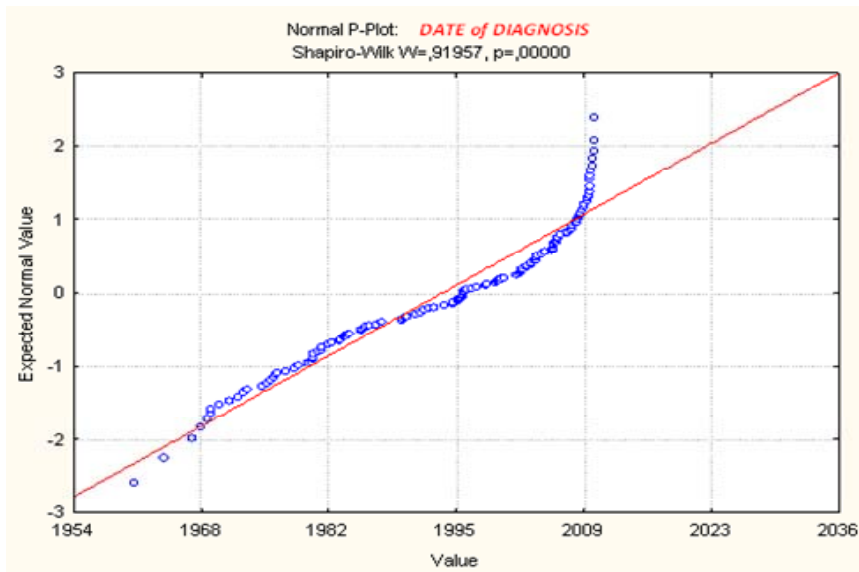
- decessi: 7 casi (4%)
- trasferimenti ad altra regione/estero 13 casi (8%)
- persi al follow-up: 1 caso (0,6%)

Considerando il numero totale di abitanti nella regione Piemonte (dati ISTAT), abbiamo stimato:

- PREVALENZA di SCD nel 1991: 0,008/1000 abitanti
- PREVALENZA di SCD nel 2009: 0,022/1000 abitanti Regione Piemonte

Quindi si registra un aumento della prevalenza dei soggetti malati in Piemonte del 300% dal 1991 al 2009.

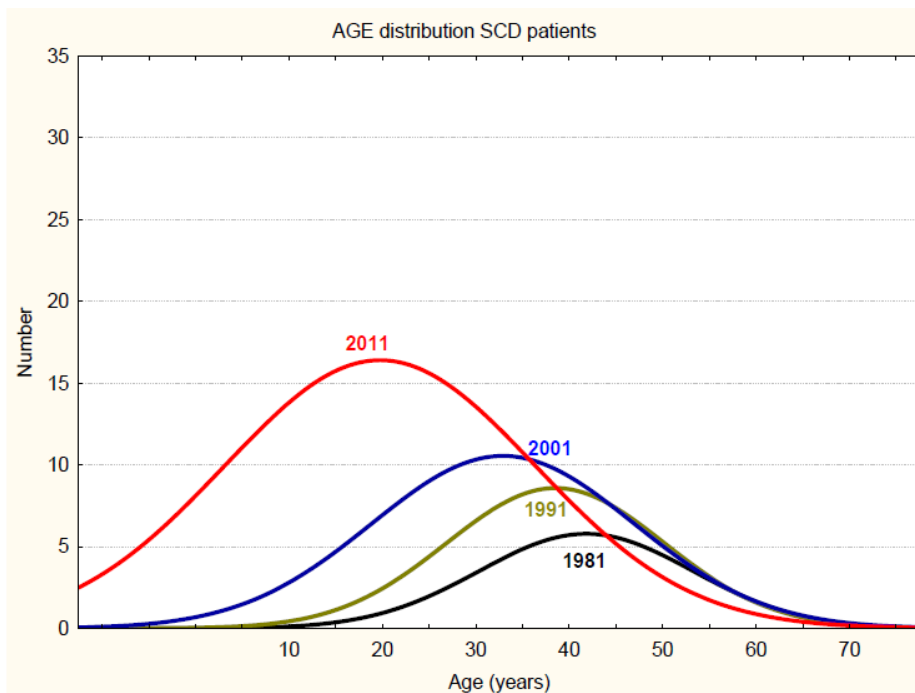
Per avere un quadro dello scenario futuro della malattia abbiamo osservato l'andamento del numero di nuove diagnosi nel tempo per disegnare un'ipotesi di andamento di diagnosi SCD nel tempo nella regione Piemonte. Osservando l'andamento, abbiamo riscontrato un netto incremento dal 2009 che ha portato la curva al di sopra della normale, lasciando presupporre che il numero delle nuove diagnosi possa proseguire al di sopra dell'andamento delineato negli anni precedenti (GRAF. 4).



GRAF.4 Andamento nuove diagnosi SCD nel tempo rispetto alla normale

- **Età media :**

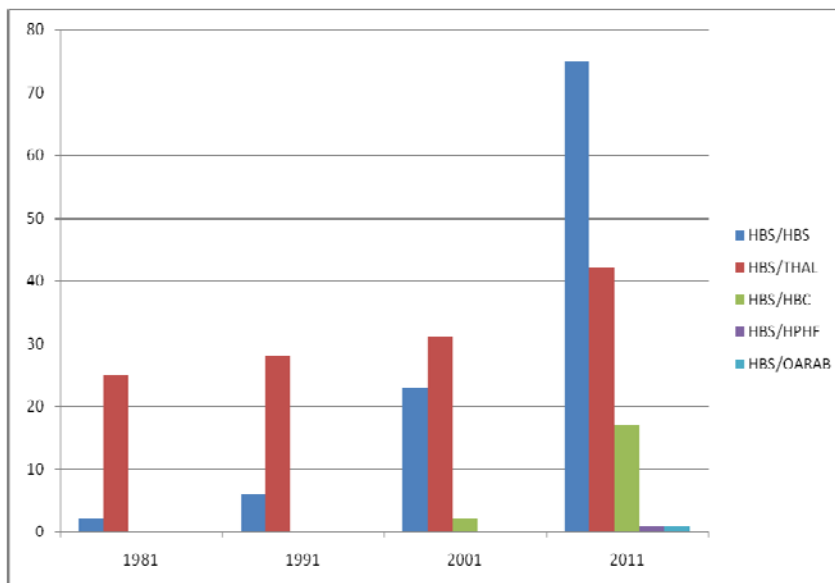
Il GRAF.5 illustra la distribuzione dell'età media della popolazione SCD negli anni 1981-1991-2001-2011. Rispetto alle curve di distribuzione degli anni 1981-1991-2001, la curva di distribuzione del 2011 è una curva ampia per l'età dei casi rappresentata (range 0-48.8 anni), ma con un centro curva spostato a sinistra, verso età medie inferiori (rispetto agli precedenti, numero maggiore di casi in età pediatrica per nuove diagnosi).



GRAF. 5 *Distribuzione per età della popolazione SCD nella regione Piemonte negli anni 1981-1991-2001-2011*

▪ **Genotipo SCD:**

Il genotipo microdrepanocitico (HbS/THAL) era l'unico genotipo rappresentato fino all'anno 1980. In seguito si sono aggiunti casi affetti da HbS/HbS, HbS/HbC, HbS/Orab, HbS/HPHF (GRAF.6).



GRAF. 6 Distribuzione per genotipo SCD negli anni 1981-1991-2001-2011

I difetti beta talassemici rappresentati nei casi di microdrepanocitosi sono stati, in ordine di frequenza, CD39 / IVSI:110 / IVSI:6 / -29 / IVSI:1 / IVSI:5.

Per 106/165 casi della popolazione abbiamo inoltre eseguito altre indagini genetiche/screening di fattori di potenziale utilità prognostica:

- Deficit dell'enzima G6PD in 3 casi (6% dei soggetti di sesso M analizzati)
- Difetti alfa talassemici nel 28% dei casi
- Mutazioni del gene HFE: 9,8% dei casi
- Mutazioni trombofiliche: 32% dei casi (nel 98% dei casi polimorfismo MTHFR C677T, nel 2% mutazioni del fattore II protrombina)
- Polimorfismo nel promotore del gene UGT1A1: 50% dei casi, 13% polimorfismo 7;7; complessivamente nel 50% dei casi polimorfismi diversi dal 6;6

▪ **Origine etnica:**

Nel 1978 i soggetti di origine italiana rappresentavano il 100% dei soggetti con SCD in Piemonte.

Come descritto nei metodi “origine non italiana” è stata assegnata a figli di almeno un genitore di origini non italiana.

La TAB.2 indica l’origine (italiana o no) nei decenni successivi.

Anno	Origine italiana	Origine non italiana
1981	100%	0%
1991	86%	14%
2001	54%	46%
2011	28%	72%

**TAB.2 Origine etnica dei SCD casi negli anni 1981-1991-2001-2011**

Per quanto riguarda la distribuzione per origine etnica specifica dei SCD casi “non italiani” nel 2011 (99):

- Africa Subsahariana 86%
- Europa dell’Est 7%
- Maghreb 4%
- America Centrale 3%

▪ **Luogo di nascita**

Nel 1978 tutti i casi di SCD presentavano luogo di nascita “Italia”.

La TAB.3 indica il luogo di nascita nei decenni successivi.

Anno	Luogo di nascita “Italia”	Luogo di nascita “non Italia”
1981	100%	0%
1991	86%	14%
2001	70%	30%
2011	72%	28%

**TAB. 3 Luogo di nascita dei SCD casi noti negli anni 1981-1991-2001-2011**

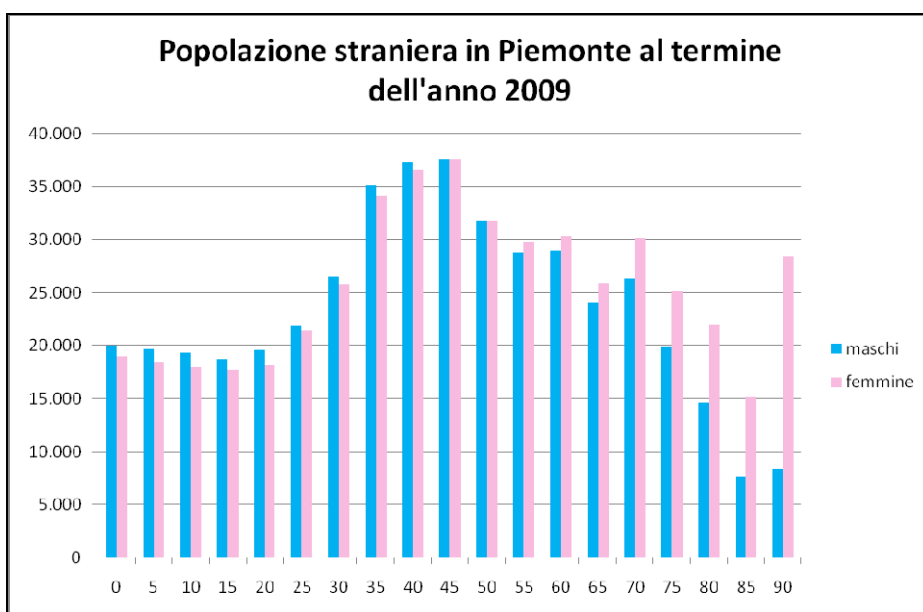
Il parametro luogo di nascita è un indice indiretto dei pazienti trasferiti nella nostra regione, in età successiva a quella neonatale.

La TAB.4 indica la distribuzione per aree specifiche di origine dei genitori e luogo di nascita dei casi SCD noti nell'anno 2011.

	Origine dei genitori	Luogo di nascita
Africa Subsahariana	63%	19%
Maghreb	4%	1%
Europa Est	3%	5%
America Centrale/USA	2%	3%
Italia	28%	72%

TAB.4 Origine dei genitori e luogo di nascita dei casi SCD noti nel 2011

Secondo i dati aggiornati al maggio 2010 della Regione Piemonte, le persone di origine extracomunitaria residenti erano 351.112, di cui 185.073 nella provincia di Torino (52,7%) e la popolazione pediatrica circa del 12,7% (GRAF.7).



GRAF.7 Popolazione straniera distribuita per età in Piemonte (anno 2009)

**Secondo i dati aggiornati al 1 gennaio 2009 della Regione Piemonte, la popolazione residente straniera rappresentava il 7,9% della popolazione complessiva, i residenti di origine extracomunitaria provenivano per il 4,9% dalle regioni dell'Africa Subsahariana (TAB. 4 BIS), 12,9% tra 0 e 5 anni.**



Stranieri residenti in Piemonte per nazionalità e genere (prime 15 nazionalità) anno 2007							
Nazione	V.a.	% sul totale degli stranieri	Maschi (v.a.)	Maschi (%)	Femmine (v.a.)	Femmine (%)	Totale (%)
Romania	102.569	33,0%	48.545	47,3%	54.024	52,7%	100%
Marocco	53.461	17,2%	30.528	57,1%	22.933	42,9%	100%
Albania	38.547	12,4%	20.761	53,9%	17.786	46,1%	100%
Cina	10.470	3,4%	5.467	52,2%	5.003	47,8%	100%
Perù	9.164	3,0%	3.480	38,0%	5.684	62,0%	100%
Macedoni	6.360	2,0%	3.541	55,7%	2.819	44,3%	100%
Ucraina	5.756	1,9%	1.083	18,8%	4.673	81,2%	100%
Moldova	5.613	1,8%	2.099	37,4%	3.514	62,6%	100%
Tunisia	4.961	1,6%	3.111	62,7%	1.850	37,3%	100%
Senegal	4.706	1,5%	3.750	79,7%	956	20,3%	100%
Ecuador	4.054	1,3%	1.567	38,7%	2.487	61,3%	100%
Egitto	3.997	1,3%	2.539	63,5%	1.458	36,5%	100%
Nigeria	3.952	1,3%	1.297	32,8%	2.655	67,2%	100%
Filippine	3.901	1,3%	1.585	40,6%	2.316	59,4%	100%
Brasile	3.900	1,3%	1.387	35,6%	2.513	64,4%	100%
Francia	3.541	1,1%	1.426	40,3%	2.115	59,7%	100%
Altre nazic	45.591	14,7%	20.184	44,3%	25.407	55,7%	100%
<b>Totale</b>	<b>310.543</b>	<b>100,0%</b>	<b>152.350</b>	<b>49,1%</b>	<b>158.193</b>	<b>50,9%</b>	<b>100%</b>

TAB. 4 BIS *Stranieri residenti in Piemonte per nazionalità e genere (ISTAT 2009)*

Da questi dati sono esclusi gli immigrati irregolari presenti sul territorio.

Si segnala inoltre il dato di diverso tasso di natalità tra la popolazione di origine extracomunitaria presente sul territorio e popolazione di origine italiana (TAB.5R).

PROVINCE	DONNE STRANIERE		DONNE ITALIANE		TOTALE DONNE RESIDENTI	
	Tft	ETÀ MEDIA AL PARTO	Tft	ETÀ MEDIA AL PARTO	Tft	ETÀ MEDIA AL PARTO
Torino	2,53	27,2	1,17	31,7	1,3	31
Vercelli	3,04	26,7	1,07	31,4	1,2	30,6
Biella	2,78	26,7	1	31,5	1,1	30,7
Verbano-Cusio-Ossola	2,39	27,4	1,12	31,4	1,2	31
Novara	2,75	28,3	1,12	31,4	1,3	30,8
Cuneo	3,16	26,9	1,2	31,3	1,4	30,4
Asti	2,62	26,7	1,14	31,5	1,3	30,6
Alessandria	2,77	26,8	1,02	31,5	1,2	30,6
<i>Piemonte</i>	<i>2,7</i>	<i>27,1</i>	<i>1,14</i>	<i>31,6</i>	<i>1,27</i>	<i>30,8</i>
ITALIA	2,61	27,4	1,26	31,1	1,33	30,8
Italia Nord-Ovest	2,74	27,2	1,18	31,7	1,31	31
Italia Nord-orientale	2,84	27,5	1,19	31,8	1,35	31
Italia Centrale	2,39	27,6	1,19	31,9	1,29	31,3
Italia Meridionale	2,16	27,3	1,35	30,4	1,36	30,4
Italia Insulare	2,22	28	1,31	30,3	1,33	30,2

Sono stati considerati per il calcolo dei tassi di fecondità gli iscritti in anagrafe per nascita nati nell'anno di iscrizione e nel precedente.

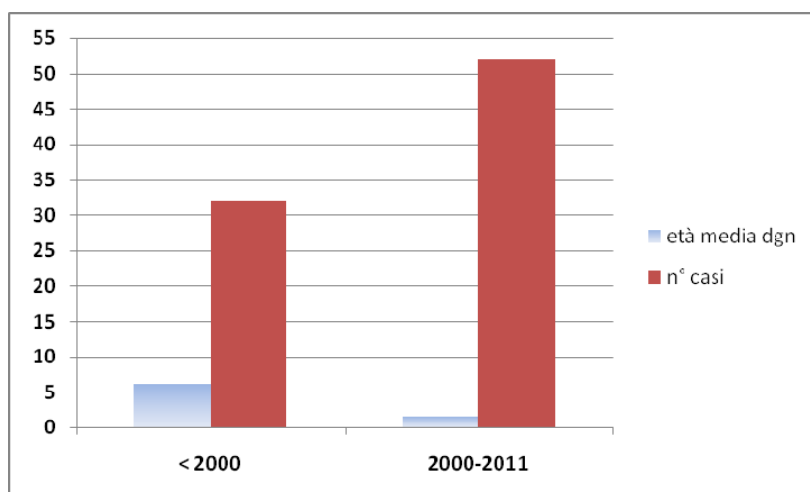
Fonte: ISTAT, Demografia in cifre, sito internet <http://demo.istat.it>

**TAB. 5 Numero medio di figli per donna ed età media al parto delle donne residenti di cittadinanza straniera, italiana e totale per provincia del Piemonte e area del territorio italiano (2004-2007).**

▪ **ETA' ALLA DIAGNOSI**

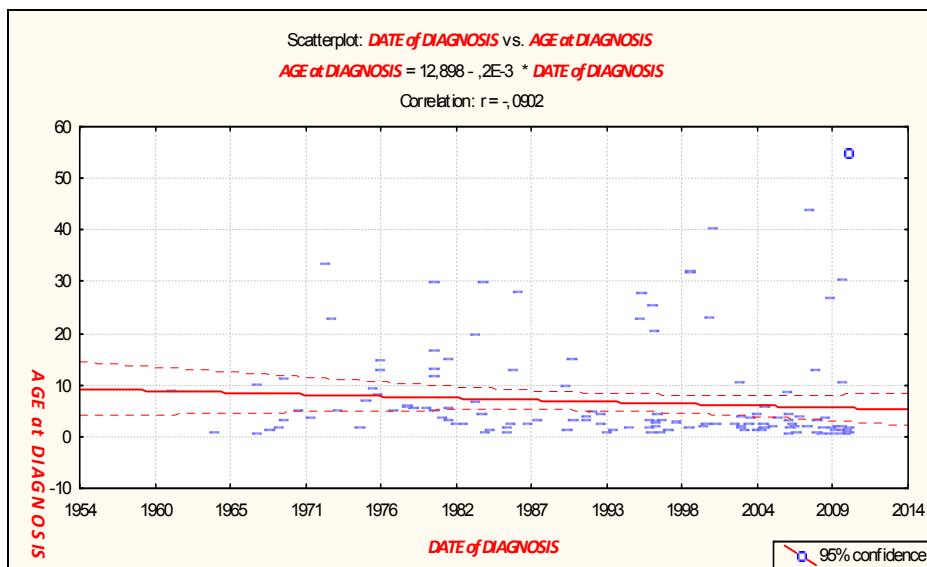
L'età alla diagnosi dei PAZIENTI CON DIAGNOSI effettuata nella REGIONE PIEMONTE nel periodo 1978-2011 (131 casi), escludendo il sottogruppo dei casi trasferiti nella regione Piemonte, è risultata **7.85** anni (range 0 - 48.8 anni).

L'età alla diagnosi dei PAZIENTI con DIAGNOSI effettuata nella Regione Piemonte e NATI in regione Piemonte (85 casi) è risultata **3.29** anni (range 0 - 48.8 anni). Il GRAF.8R indica numero dei casi ed età media di diagnosi dei pazienti di questo gruppo nati prima e dopo il 01/01/2000; si osserva una riduzione dell'età media di diagnosi nel gruppo nato dopo il 01/01/2000 (6.2 vs 1.6 anni), con una differenza statisticamente significativa ( $p < 0.05$ ).



**GRAF.8 Età media Casi SCD NATI in regione Piemonte prima del 2000 e nel periodo 2000-2011.**

Il GRAF. 9R indica che la distribuzione dei casi è molto più raccolta intorno ai valori inferiori di età alla diagnosi nell'ultimo periodo di tempo osservato, mentre nei decenni precedenti c'era molta più dispersione del campione.



GRAF.9 Distribuzione dei casi per età alla diagnosi

### ***Distribuzione geografica dei casi nella regione Piemonte***

Analizzando la situazione attuale in Piemonte, rileviamo che, al 31 dicembre 2011 i pazienti affetti da SCD residenti in Piemonte sono risultati 136:

- 60 (44%) adulti e 76 (56%) in età pediatrica

- distribuzione per RESIDENZA diffusa, ma non omogenea per provincia di residenza (in ordine per numerosità casi SCD – FIG. 35):

- 74 in provincia di Torino (46 pediatrici - 28 adulti)
- 23 in provincia di Cuneo (18 pediatrici e 5 adulti)
- 19 in provincia di Novara (7 pediatrici e 12 adulti)
- 7 in provincia di Asti (1 pediatrico e 6 adulti)
- 4 in provincia di Alessandria (1 pediatrico - 3 adulti)
- 4 in provincia di Vercelli (1 pediatrico - 3 adulti)
- 3 in provincia di Verbania (2 pediatrici - 1 adulto)
- 2 in provincia di Biella (2 adulto).

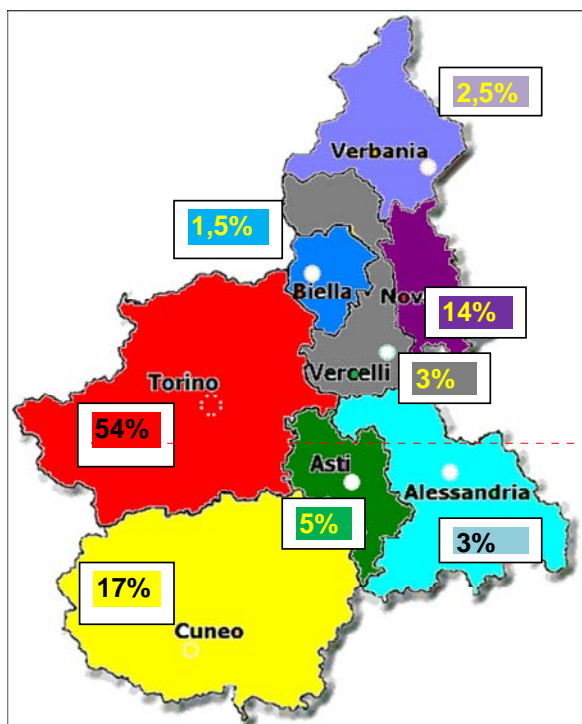


FIG. 35 Distribuzione dei casi SCD per RESIDENZA in Piemonte al 31/12/2011

Considerando la popolazione residente nelle singole province NELL'ANNO 2009 (dati ISTAT) abbiamo stimato:

- Torino:0,028/1000
- Cuneo: 0,022/1000
- Novara:0,019/1000
- Asti:0,031/1000
- Alessandria:0,009/1000
- Vercelli:0,017/1000
- Verbania:0,006/1000
- Biella:0,005/1000

Quindi Torino-Cuneo-Novara sono le province con più elevato numero di casi SCD per RESIDENZA; Asti-Torino-Cuneo le province a maggiore prevalenza.

- Distribuzione per provincia di NASCITA per i NATI in Piemonte nel periodo 1978-2011 (numero casi: 85): è descritta nella TAB.6.

Formattato: Tipo di carattere:  
(Predefinito) Arial, 12 pt, Grassetto

	<b>Provincia di residenza (31/12/2011)</b>	<b>Provincia di nascita (1978-2011)</b>
<b>Torino</b>	74 casi -> 54%	51 casi -> 60%
<b>Cuneo</b>	23 casi -> 17%	15 casi -> 18%
<b>Novara</b>	19 casi -> 14%	12 casi -> 14%
<b>Asti</b>	7 casi -> 5%	4 casi -> 5%
<b>Verbania</b>	4 casi -> 3%	3 casi -> 3%
<b>Alessandria</b>	4 casi -> 3%	1 caso -> 1%
<b>Vercelli</b>	3 casi -> 2,5%	1 caso -> 1%
<b>Biella</b>	2 casi -> 1,5%	0

**TAB.6 Distribuzione casi SCD per provincia di RESIDENZA e provincia di NASCITA in Piemonte.**

▪ **Presenza in cura**

A tutti i casi SCD noti è stata offerta la presa in cura specialistica da parte del Centro regionale. Nel 98% dei casi (163/165) i soggetti hanno aderito alla presa in cura specialistica proposta; i 2 casi che non hanno aderito sono geograficamente distanti dal Centro regionale e con difficoltà di spostamento.

In data 31/12/2011, i casi SCD presi in cura sono 136.

102/136 casi effettuano il regolare follow-up presso il Centro regionale (per distribuzione geografica nel territorio o per scelta dei pazienti), 32 pazienti effettuano il follow-up regolare presso pediatrie/ematologie di territorio con visita specialistica annuale presso il Centro di riferimento, 2 casi (sopradescritti) effettuano follow-up regolare a livello territoriale e per essi è stato impostato una presa in carico "a distanza" da parte del Centro di riferimento tramite discussioni dei casi con i colleghi del territorio.

Per quanto riguarda il trattamento dei pazienti attualmente in follow-up dal nostro Centro: il 12% ha indicazione ed effettua regolarmente EEX, il 35% idrossiurea; l'4% dei casi è stato sottoposto a trapianto di cellule staminali. Il 48% presenta fenotipo lieve/moderato ed è trattato con terapia profilattica e follow-up, senza terapia di fondo.

## Motivo di diagnosi

Per quanto riguarda il motivo di diagnosi dell'intera popolazione SCD dal 1978 al 2011:

- Nella maggior parte (93 casi -> 57%) dei pazienti la diagnosi di SCD è stata effettuata in fase SINTOMATICA
- Nel 24% dei casi (39 casi) in fase PRECLINICA, in soggetti non ancora sintomatici e quindi non esposti al rischio di sequele.
- Nel 20% dei casi (33 casi) per conferma della diagnosi di SCD in soggetti trasferiti nella Regione Piemonte, con già precedente giù nota diagnosi di SCD

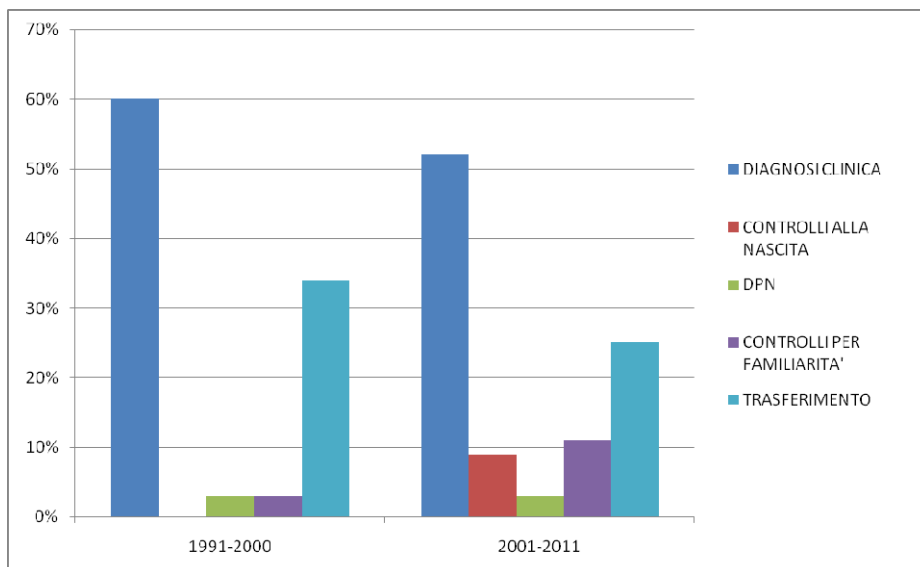
Diagnosi in fase **SINTOMATICA**, per accertamenti in seguito ad eventi clinici suggestivi:

- nel 60,8%:in occasione di una CRISI DOLOROSA per evento vasocclusivo
- nel 39% per ANEMIZZAZIONE sintomatica o riscontrata per accertamenti per altra causa (fatto infettivo o durante gravidanza)
- nel 0,6% in seguito ad accertamenti per stroke
- nel 0,6% per SPLENOMEGALIA

Diagnosi in fase **PRECLINICA**, per accertamenti preventivi prima della comparsa dei sintomi, in casi in cui era verosimile un sospetto anamnestico:

- 46%: in seguito ad indagini di screening dei familiari di un soggetto affetto
- 48%: in seguito a follow-up in figli nati da coppie identificate a rischio con screening prenatale (per la maggior parte coppie già con precedenti figli malati) come descritto in seguito.
- 6%: controllo dell'elettroforesi dell'emoglobina alla nascita in figli di genitori di etnia a rischio, in neonatologie che hanno adottato autonomamente questo protocollo (primi casi nel 2010)

Nel corso del tempo, nel periodo 1978-2011, i motivi di diagnosi sono cambiati, con un progressivo aumento dei casi diagnosticati in fase preclinica (GRAF.9R BIS ). Nonostante un aumento nel tempo dei casi diagnosticati in fase preclinica, le diagnosi precliniche di SCD in regione Piemonte anche nel decennio 2001-2011 sono risultate inferiori al 30% sul totale dei casi, escludendo le diagnosi per trasferimento.



GRAF. 9BIS **Motivo di diagnosi per i casi di nuova diagnosi nel periodo 1991-2000 e 2001-2011**

### Fenotipo SCD alla diagnosi

Alla diagnosi, la popolazione SCD presa in cura nel periodo 1978-2011 presentava già nel 7,9% dei casi una complicanza importante di malattia (stroke, nefropatia, pneumopatia, retinopatia e necrosi ossea).

In generale alla diagnosi il 3,7% dei pazienti ha presentato un fenotipo SEVERO, il 50% MODERATO e il 46,3% LIEVE.

I casi a fenotipo SEVERO sono numericamente maggiori nel periodo antecedente il 1991, con una progressiva riduzione nel tempo.

Nel periodo 2001-2011 il 30% di nuovi pazienti presentava un fenotipo SEVERO all'esordio.

In particolare per quanto riguarda le COMPLICANZE NEUROLOGICHE, nella nostra casistica, 1 esordio di malattia è stato con comparsa di stroke.

La prevenzione primaria mediante TCD applicato ai soggetti in età pediatrica di questa popolazione dal 2008, nei casi di nuova diagnosi (35) è risultato PATOLOGICO in 2 casi (5,7%) e LIMITE in 1, con conseguente applicazione di terapia e follow-up adeguato per ridurre il rischio di stroke.

### Fenotipo SCD all'ultimo follow-up e sopravvivenza

All'ultimo follow-up:

- 8,2% casi con fenotipo SEVERO

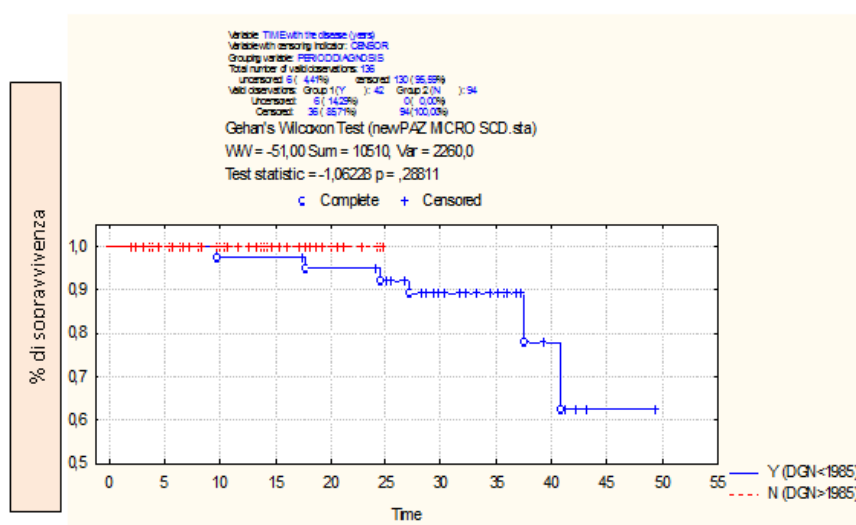
- 58,8% casi con fenotipo MODERATO
- 33% casi con fenotipo LIEVE

**Sopravvivenza:** Nell'intervallo di tempo considerato nello studio, la mortalità per SCD all'interno del nostro campione è stata del 3,7%, con un'età media all'evento decesso di 34,8 anni (SD 12,5) e un tasso di mortalità annuale dello 0,1% .

Le cause di morte sono state: trombosi cerebrale - setticemia - scompenso in insufficienza epatica - insufficienza cardiaca acuta in ipertensione polmonare - necrosi midollare acuta. L'ultimo decesso in questa casistica risale al ottobre 2011.

Al di fuori di questi dati, va segnalato che 2 pazienti sono deceduti per cause indipendenti dalla malattia.

I casi di decesso registrati risalgono omogeneamente a casi che hanno ricevuto la diagnosi prima del 1985 (GRAF.10R).

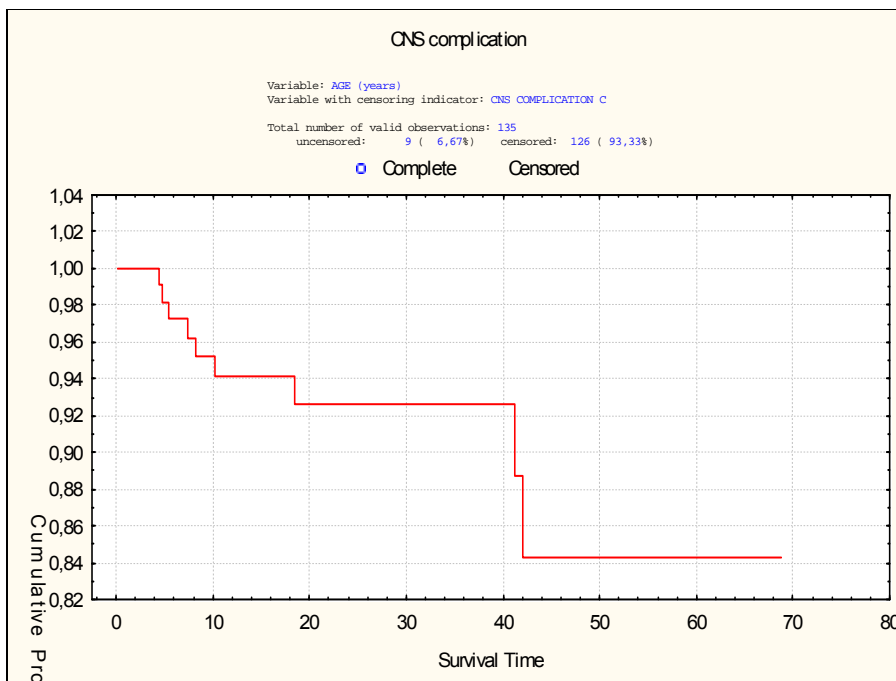


**GRAF.10** Curve di sopravvivenza della popolazione in studio del gruppo che ha ricevuto la diagnosi nell'intervallo di tempo prima dell'anno 1985, rispetto al gruppo che ha ricevuto la diagnosi nel periodo 1985-2011.

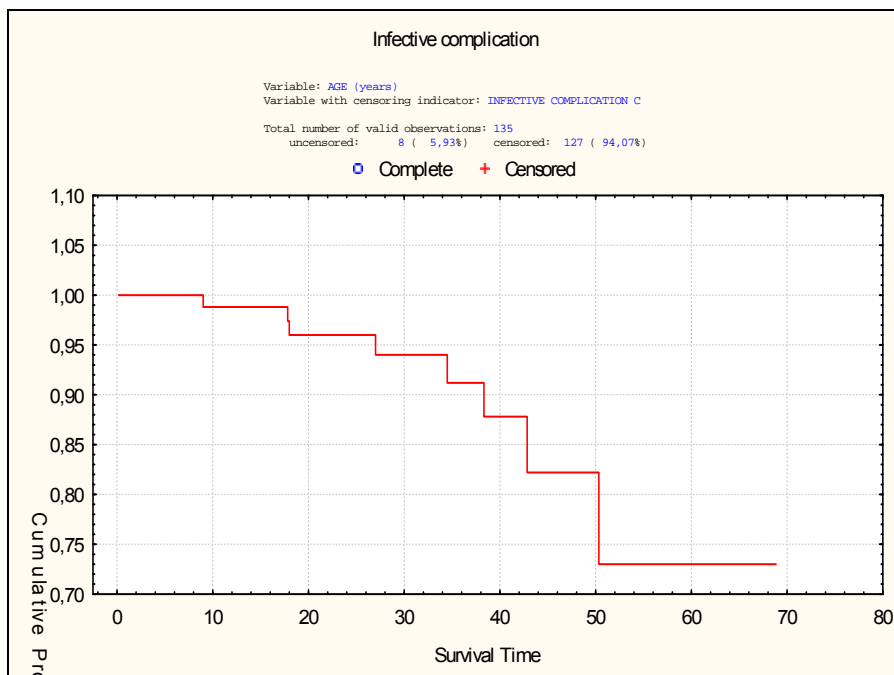
Per quanto riguarda le complicanze, nella popolazione analizzata, in presa in cura regolare (il dato complicanza è stato valutato all'ultimo follow-up) abbiamo osservato:



- Non complicanze: 72%
- Complicanze cardiopolmonari: 11,8% dei casi con un'età media all'insorgenza di 29,9 anni
- Complicanze neurologiche (stroke conclamato-infarti silenti-TCD patologico): 5,1% dei casi, con un'età media all'insorgenza di 10,3 anni (GRAF.11R)
- Complicanze infettive/sepsi: 5,9% dei casi, con un'età media all'insorgenza di 23,5 anni (GRAF.12R)
- Complicanze renali: 2,9% dei casi, con un'età media all'insorgenza di 31 anni
- Complicanze retiniche: 2,2% dei casi, con un'età media all'insorgenza di 27,3 anni



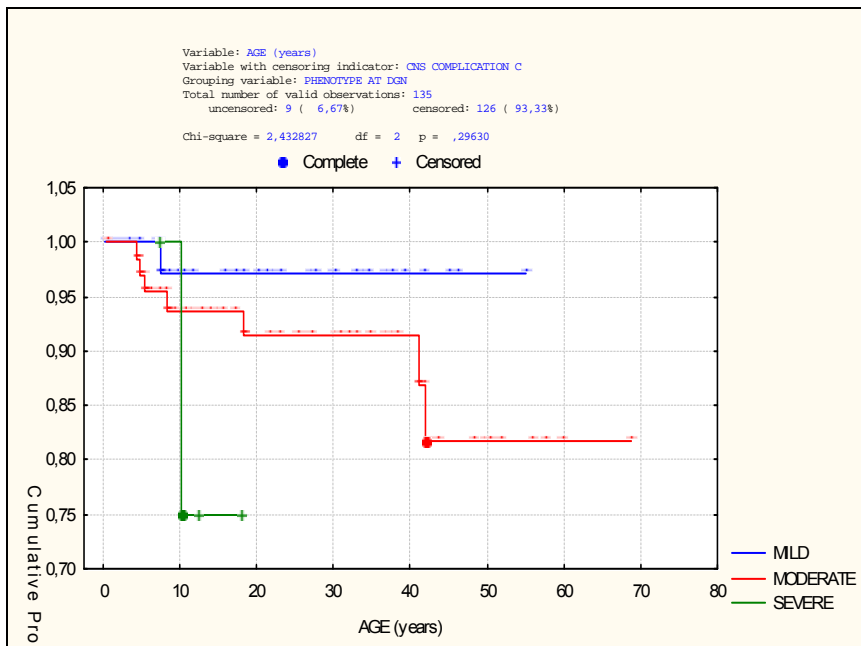
**GRAF.11 % Sopravvivenza libera da complicanze neurologiche nella popolazione SCD (1978-2011)**



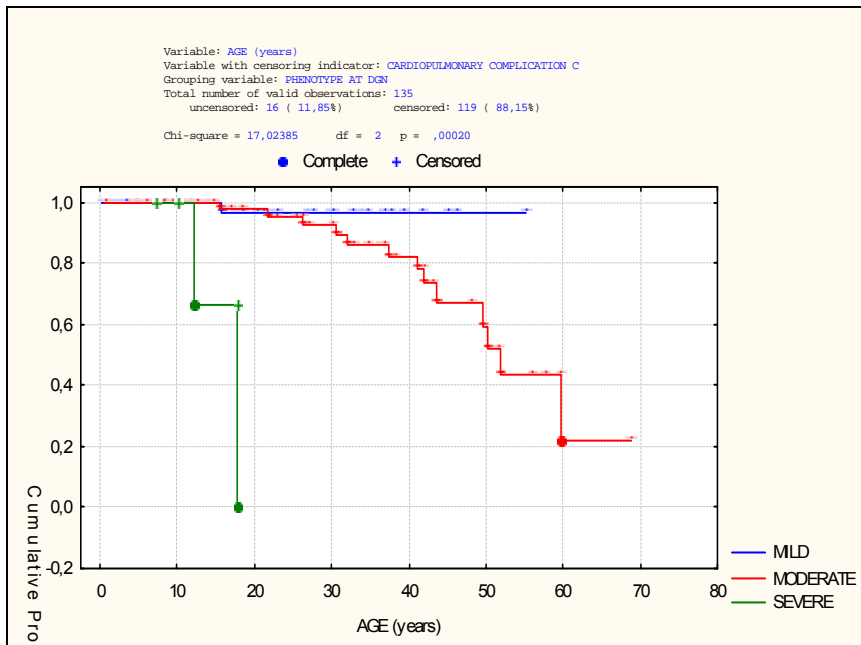
GRAF.12 % Sopravvivenza libera da complicanze settiche nella popolazione SCD (1978-2011)

L'insorgenza di complicanze si è verificata con maggiore frequenza nei casi a fenotipo moderato/severo all'esordio.

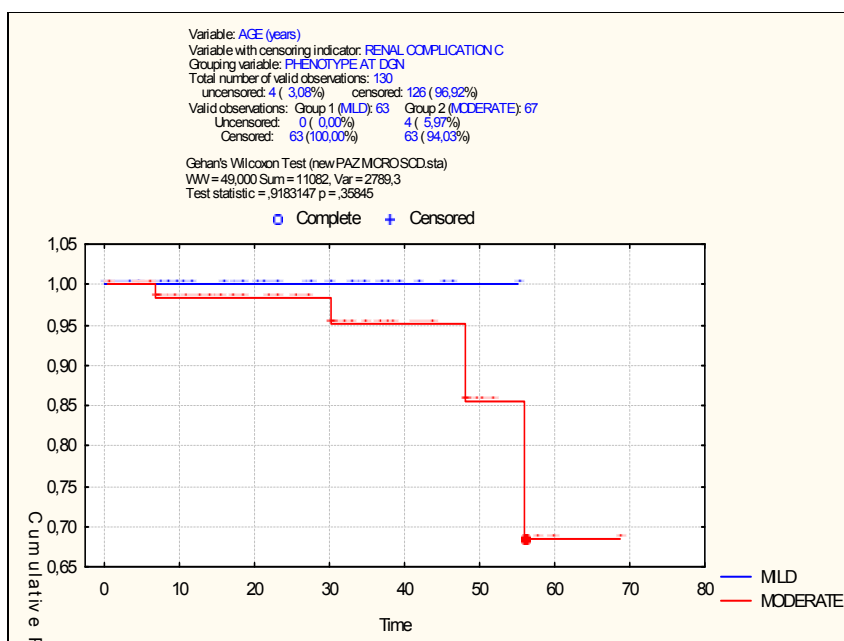
**Complicanze neurologiche:** la comparsa di complicanze neurologiche (TCD patologico-stroke conclamato-infarti silenti) nel corso della vita in pazienti affetti da SCD è stata più frequente in soggetti con fenotipo severo e moderato rispetto a quello lieve alla diagnosi, ma non è statisticamente significativo (Chi-square test con  $p > 0,05$ ) (GRAF.13R).



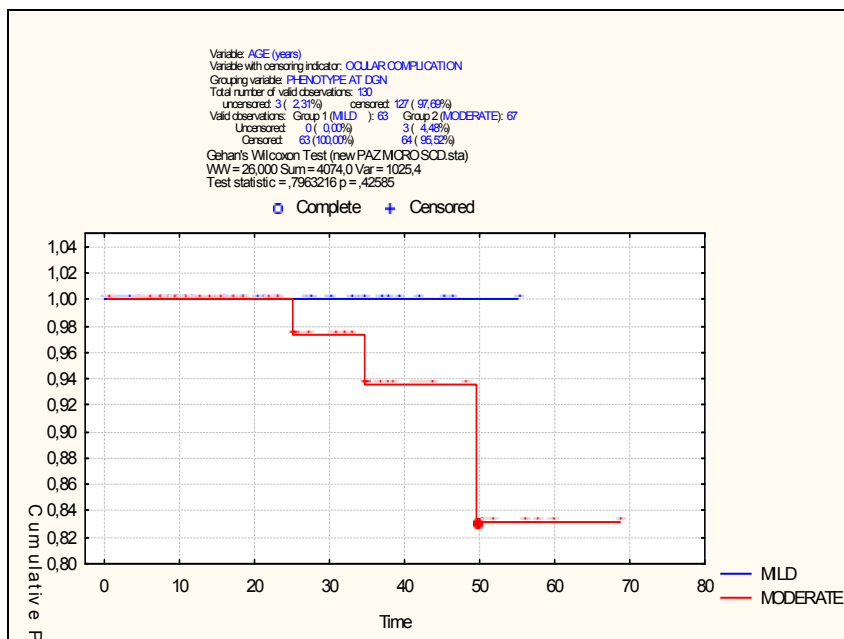
**GRAF.13** Analisi Kaplan Meier di comparsa di complicanze neurologiche all'ultimo follow-up in pazienti affetti da SCD distinti in 3 gruppi secondo il fenotipo alla diagnosi (LIEVE, MODERATO, SEVERO)



**GRAF. 14 Analisi Kaplan Meier di comparsa di complicanze cardio-polmonari all'ultimo follow-up in pazienti affetti da SCD distinti in 3 gruppi secondo il fenotipo alla diagnosi (LIEVE, MODERATO, SEVERO)**



**GRAF.15 Analisi Kaplan Meier di comparsa di complicanze nefrologiche all'ultimo follow-up in pazienti affetti da SCD distinti in 2 gruppi secondo il fenotipo alla diagnosi (LIEVE, MODERATO)**



GRAF.16 **Analisi Kaplan Meier di comparsa di complicanze oftalmologiche all'ultimo follow-up in pazienti affetti da SCD distinti in 2 gruppi secondo il fenotipo alla diagnosi (LIEVE, MODERATO)**

### ***Ritardo di diagnosi / ritardo di presa in cura***

Ritardo di diagnosi, secondo la definizione utilizzata per questo studio, è stato registrato in 60 (36,4%) dei casi complessivi della nostra casistica (165).

In questi casi è stato quindi ritardato l'accesso a strutture ospedaliere qualificate e presa in cura adeguata..

Nel tempo si è registrata una lieve riduzione dei casi con ritardo di diagnosi, senza tuttavia una differenza significativa; in particolare nonostante una maggiore attenzione per diagnosi più tempestive in età pediatrica, persiste ritardo diagnosi in soggetti adulti a fenotipo lieve, con sintomi suggestivi di SCD tuttavia non considerata nella diagnosi differenziale; dal 2008 ad oggi 60% di ritardo diagnosi per soggetti adulti di origine italiana-albanese-africana).

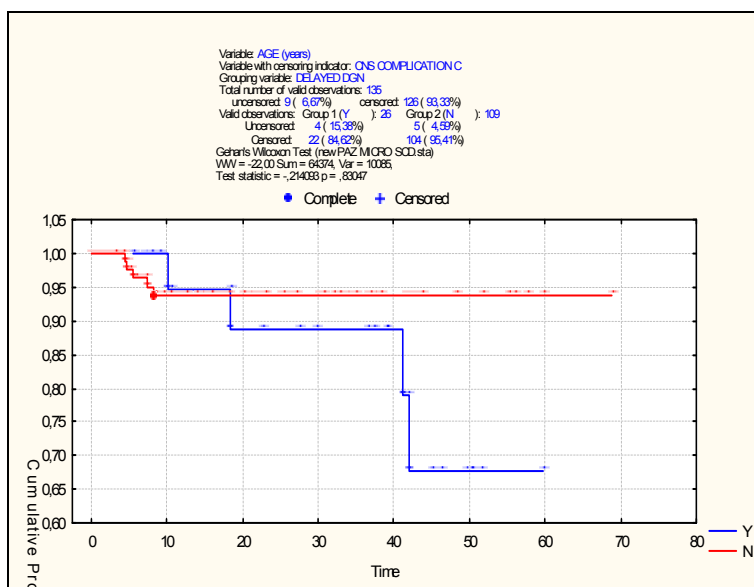
Ritardo di presa in cura si è registrato in 15 casi (9%) sull'intera popolazione;

- tutti soggetti adulti, a fenotipo lieve
- nel 96% dei casi si tratta di casi con diagnosi nota, trasferiti in regione Piemonte e senza adeguata informazione sulla possibilità di presa in cura specialistica per la patologia

SCD (tutti soggetti di origine africana, che non hanno dichiarato la loro malattia alle strutture mediche di base, per l'abitudine a non avere cure per questo problema di salute nelle aree di origine).

In questi casi la diagnosi è avvenuta, tardivamente, per sospetto da parte di specialisti (oculisti-nefrologi-ortopedici) che avevano in cura per complicanze secondarie della SCD (non nota) il soggetto; in una minoranza dei casi la possibilità di cura e la presenza di un Centro specialistico è avvenuta per "tam-tam" comunicativo tra soggetti della stessa comunità di appartenenza.

Per quanto riguarda l'insorgenza di complicanze, abbiamo osservato che i casi con ritardo di diagnosi hanno presentato una maggiore comparsa di complicanze a medio-lungo termine all'ultimo follow-up; abbiamo evidenziato una maggiore insorgenza di complicanze neurologiche per i soggetti con ritardo di diagnosi, rispetto al gruppo che ha ricevuto una diagnosi più tempestiva (GRAF.17R).



GRAF.17 Analisi della comparsa di complicanze neurologiche nei campioni di popolazione che hanno presentato un ritardo di diagnosi rispetto a quelli che non lo hanno presentato.

## II FASE:

### PREVENZIONE

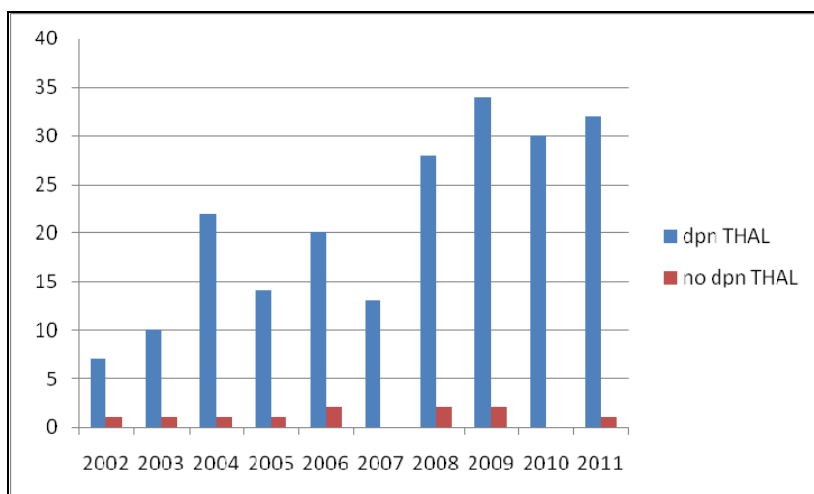
#### - Analisi attività di prevenzione su coppie a rischio

I dati risultanti dall'archivio dell'Ambulatorio di Prevenzione per emoglobinopatie del Centro Regionale, evidenziano che:

- annualmente tra le coppie che giungono in consulenza in media il 37% (SD 4.3) è a rischio di prole con emoglobinopatia; tra le coppie a rischio il 20% (SD 5.7) è a rischio di prole affetta da SCD

Gravidanze a rischio di  $\beta$ -talassemia:

- dal 2002 al 2011, numero medio di gravidanze a rischio/anno = 19.3 (range 15-38)
- l'adesione alla DPN è avvenuta complessivamente nel 94% (SD 4,1) delle gravidanze viste a rischio (GRAF.18R).

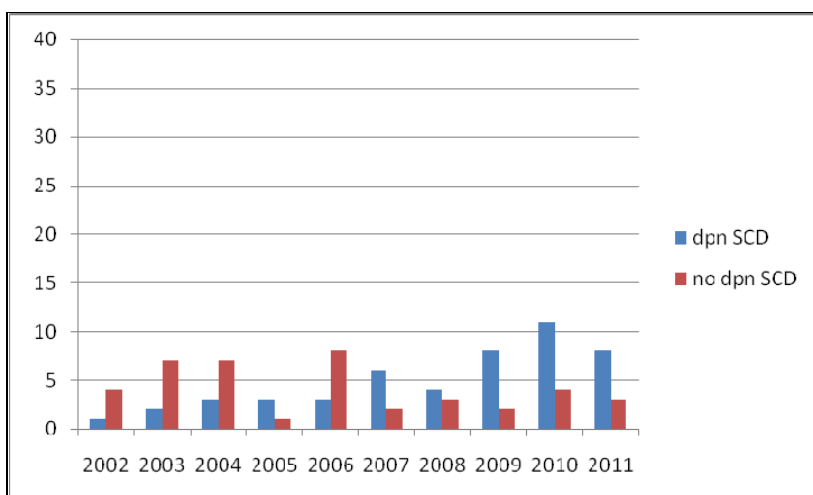


GRAF.18 La scelta di DPN nelle coppie a rischio di talassemia

Gravidanze a rischio di SCD:

- dal 2002 al 2011, numero medio di gravidanze a rischio/anno = 6.3 (range 5-12). Il numero di coppie a rischio osservate ha presentato un aumento esponenziale nel tempo

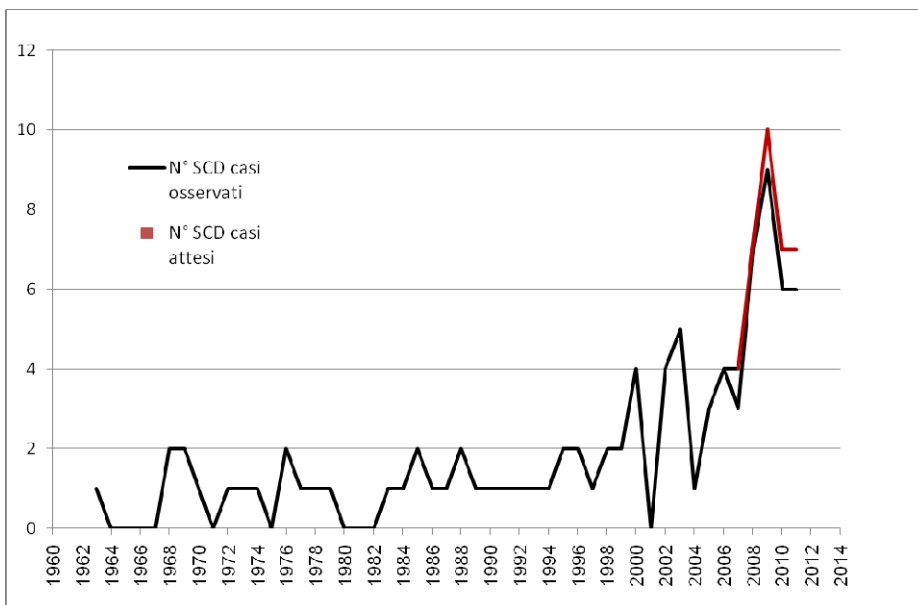
- l'adesione alla DPN è avvenuta complessivamente nel 54.5% (SD 17.2) delle gravidanze a rischio (GRAF.19R). In tutti i casi il rischio riguardava un genotipo SCD SEVERO (HbS/HbS – HbS/β<sup>0</sup>)
- Non abbiamo riscontrato una differenza significativa in merito alle origini etniche tra coppie a rischio di SCD che hanno accettato o rifiutato la DPN (in media Camerun 9%, Albania 10%, Centro-America 12%, Costa d'Avorio 12%, Italia 13%, Nigeria 44%)



GRAF. 19 La scelta di DPN nelle coppie a rischio di SCD.

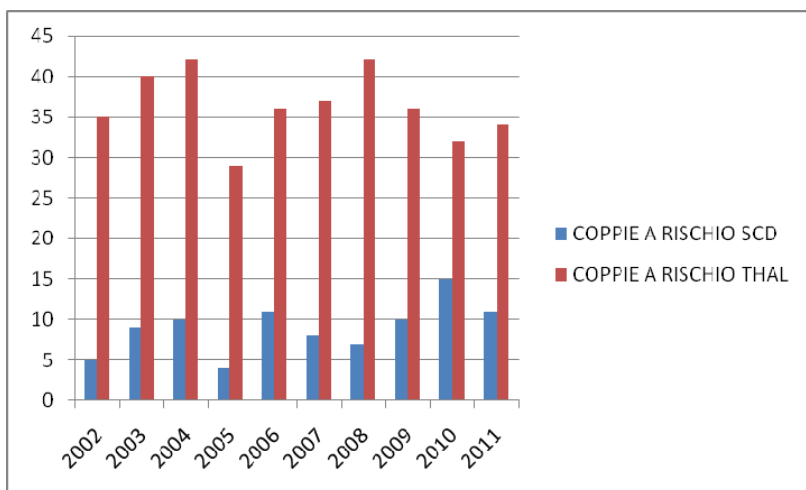
Dall'attività dell'ambulatorio Prevenzione, in base alle scelte delle coppie a rischio di DPN ed eventuale interruzione di gravidanza, abbiamo costruito una curva di casi SCD osservati e attesi tra i NATI in Piemonte (GRAF. 20R).





GRAF.20 Casi SCD osservati e attesi tra i nati in Piemonte.

Sul totale delle coppie a rischio di emoglobinopatia diagnosticate nell'Ambulatorio Prevenzione, il 81% sono risultate essere coppie a rischio di talassemia (GRAF.21R ).



GRAF.

GRAF.21 Coppie a rischio di SCD vs coppie a rischio di talassemia note per indagini c/o Centro Regionale per emoglobinopatie

Per quanto riguarda i casi SCD osservati nel periodo 1978-2011 e NATI in Piemonte (125 pazienti):

- 111 (89%) casi sono figli di coppie che non erano a conoscenza del loro stato di portatori sani
- 1 (0.8%) caso è figlio di coppia che ha effettuato la DPN e scelto di proseguire la gravidanza (origine africana)
- 13 (10%) sono figli di coppie che erano a conoscenza del loro stato di portatori e del rischio di avere una gravidanza di un feto malato, ma hanno scelto di non effettuare la DPN. (7 origine africana, 6 origine italiana)

Nella popolazione SCD da noi studiata, nel periodo 1978-2011, si contano 22 casi con SCD e diagnosi successiva al 1978, i cui genitori hanno in seguito intrapreso una gravidanza in Piemonte (18 casi con genitori di origine africana nati successivamente al 1985, 4 casi con genitori di origine italiana nati prima del 1985). La DPN è stata richiesta in 6 sui 22 casi (27% dei casi); in tutti i casi le coppie erano di origine africana; in nessuno di questi 6 casi l'esito è stato feto affetto.

L'ambulatorio Prevenzione è attivo da anni con esperienza consolidata nella diagnosi comunicazione a coppie a rischio di emoglobinopatie, in particolare a rischio di talassemia. Nella proposta di prevenzione a coppie, in particolare extracomunitarie, si sono individuate le seguenti difficoltà:

- non omogeneo possibilità di accesso alla struttura (il normale "iter" per le coppie italiane, inviate da ginecologi/medici di famiglia secondo protocolli consolidati, non è sempre attuabile, per il ritardo con cui le coppie si presentano, ormai a gravidanza avanzata, e per la non uniforme abitudine all'accesso alle strutture sanitarie)
- difficoltà di comunicazione, per motivi linguistici
- implicazione di esperienze culturali/religiose/etiche nell'interpretazione dell'informazione sugli aspetti di prevenzione

E' in corso uno studio, in collaborazione con la psicologia clinica, con l'obiettivo di raccogliere dai genitori di figli affetti in cura presso il Centro regionale, dati relativi alle motivazioni sulle loro scelte in termini di DPN ed eventuali cambiamenti di orientamento nel tempo in base alle esperienze vissute; in parallelo è offerto un supporto psicologico là dove necessario e/o richiesto.

#### - **Portatori sani**

Per valutare la stima dei portatori di SCD presenti in Piemonte abbiamo raccolto i dati relativi al 31/12/2008 e i pazienti affetti da SCD presenti sul territorio piemontese erano 90, di cui 57 di origine extracomunitaria e 33 di origine italiana. Effettuando l'equazione di Hardy-Weinberg ci è risultato nell'anno 2008 che  $2pq = 0,009$  e invece sulla sola popolazione

straniera residente in Piemonte la prevalenza dei soggetti portatori stranieri sale a  $2pq=0,025$ , mentre per quanto riguarda i pazienti malati italiani rispetto alla popolazione italiana residente in Piemonte la prevalenza dei portatori è  $2pq=0,005$ .

Se, invece, valutassimo l'incidenza, abbiamo che nell'anno 2008 sono state fatte 6 diagnosi tutte in soggetti di origine straniera e dall'equazione di Hardy Weinberg risulta che rispetto alle nuove nascite in Piemonte si ha  $2pq=0,024$ , mentre rispetto alle sole nascite di coppie straniere, abbiamo  $2pq=0,057$ .

E' importante non considerare questi dati come reali stime della situazione in Piemonte nel 2008, viste le forti limitazioni dell'applicazione di tale legge, però possono essere utili per avere un approssimativo inquadramento del peso che i portatori di tale patologia hanno rispetto ad uno scenario futuro.

Ci è sembrato peraltro, visto la difficoltà di dati esaustivi in questo senso, di considerare osservazioni proposte da Modell [109] nella valutazione in un contesto in evoluzione europeo (FIG. 36).

Table II. Definitions of risk levels.

Risk level	Approximate affected birth prevalence	Corresponding range of carrier prevalence
1. Baseline	0.00042/1,000	Approx. 0.13 %
2. Low	Up to 0.29/1,000	0.5 % to 3.4 % (approx.)
3. Intermediate	0.3 to 0.99/1,000	3.5 % to 6.9 % (approx.)
4. High	1 to 4.99/1,000	7.0 % to 13.9 % (approx.)
5. Very high	5/1,000 or more	14 % or over

The definition of risk level is based on predicted birth prevalence for a population group rather than on carrier prevalence, as the prevalence of consanguineous marriage must also be taken into account in defining risk.

FIG. 36 – Stime di prevalenza nati affetti SCD in contesti in evoluzione

- **Studio pilota per screening emoglobinopatie su neonati/infants**

Nel periodo 01/01/2010 – 31/10/2011 sono stati sottoposti a elettroforesi dell'emoglobina e dosaggio G6PD e rapporto G6PD/6PDG 84 bambini (età media 0,6 anni) figli di madri HIV + con origini etniche come rappresentato in TAB.7.,

Origine madri dei casi	N° casi
Italia	25 casi -> 30,1%
Africa	51 casi -> 60,3%
Sud-America	4 casi -> 4,8%
Europa dell'Est	3 casi -> 3,6%

<b>Asia</b>	1 casi -> 1,2%
-------------	----------------

TAB. 7 **Origini etniche delle madri HIV+ della popolazione in studio.**

E' stata data informazione scritta del significato della procedura e del tipo di patologia ricercata. L'informazione è stata data da personale non specializzato nel campo delle emoglobinopatie, Sono state segnalate difficoltà da parte della madri dei bambini, peraltro già affette da altra patologia. nella comprensione completa del problema; l'adesione all'esecuzione dell'esame è avvenuta in 46/84 casi.

Su 46 casi analizzati, sono stati riscontrati:

- Anomalie dell'emoglobina in 9 casi (19,6%):
  - ✓ 7 casi di portatori sani di HbS (15%)
  - ✓ 1 caso di portatore sano di HbC (2%)
  - ✓ 1 caso affetto da HbS/HbS (2%)
- 3 casi con deficit di G6PD (19% della popolazione di sesso maschile)

Nei casi in cui la presenza di HbS è stata riscontrata, non era nota un'anamnesi familiare positiva per emoglobina S; dallo studio dei familiari del caso affetto da HbS/HbS è stato riscontrato un altro caso affetto (la madre della bambina, HbS/HbC, peraltro in follow-up clinico da anni per HIV positività).

### **III FASE:**

#### **organizzazione di una rete di presa in cura**

PIANIFICAZIONE DI UN PROGRAMMA DI RETE ASSISTENZIALE PER SCD IN PIEMONTE

- A. assistenza clinica
  - ✓ Assistenza delle manifestazioni acute
  - ✓ Follow-up
  - ✓ Comunicazione diagnosi
- B. prevenzione
- C. interventi sociali
- D. analisi dei costi

**III A.** Per l'assistenza clinica, sono stati applicati i metodi proposti.

- In data 31/12/2011 è garantito un follow-up omogeneo, come descritto nei metodi di studio, ai pazienti con SCD della regione Piemonte e sono in corso studi di valutazione del protocollo applicato in termini di sopravvivenza libera da eventi e compliance.

Al 31/12/2011 sono risultati 72 esami TCD, tutti i pazienti in età pediatrica sono stati sottoposti all'esecuzione dell'esame secondo metodi. La compliance all'esame, nonostante la non facile accessibilità del luogo di esecuzione, è stata del 100%, tutti i pazienti in età pediatrica di tutta la regione Piemonte sono stati sottoposti all'esame secondo i metodi previsti e con tempistica adeguata (eventuali rinvii in base a condizioni cliniche). Dall'intera casistica è risultato il dato di due bambini con TCD patologico, che hanno iniziato terapia trasfusionale regolare il giorno successivo all'esecuzione del TCD con conferma del dato dalle esecuzioni TCD successive e 4 pazienti con TCD LIMITE. Nessun paziente sottoposto a prevenzione primaria mediante TCD ha sviluppato eventi cerebrali acuti.

- Omogeneità è attenuata anche per l'applicazione degli strumenti di profilassi: tutti i pazienti pediatrici ai quali è stata prescritta fenossimetilpenicillina, hanno a disposizione questo farmaco.

Follow-up, profilassi, educazione dei pazienti sono oggi indicati e svolti da personale del Centro regionale.

- Non omogeneità è invece ancora raggiunta per la gestione delle complicanze acute, soprattutto laddove il paziente raggiunga in urgenza un ospedale territoriale non adeguatamente informato e in "rete" o non esibisca la documentazione in suo possesso. E' frequente lo smarrimento o non adeguata comprensione del significato della documentazione clinica.

- Per quanto riguarda la **COMUNICAZIONE DIAGNOSI** e presa in cura alla diagnosi:

Dall'analisi delle esperienze descritte in letteratura e in considerazione delle osservazioni specifiche del territorio piemontese in merito al numero di nuovi casi, tipologia delle famiglie, scarsa informazione al momento dell'arrivo presso il Centro, necessità di coordinamento con il territorio per la gestione omogenea dei nuovi casi, abbiamo disegnato il seguente percorso da applicare per le nuove diagnosi presso il Centro Regionale del Piemonte. In particolare è stato istituito un Ambulatorio Diagnosi specifico, per luogo e orario, con personale medico e

infermieristico specifico, in modo da dedicare ai primi incontri spazio e tempo e personale necessario.

Medico ed infermiere sono quelli di riferimento per la patologia drepanocitica nel Centro di riferimento.

E' stata anche predisposta la figura dello psicologo, dove necessario, in seguito al I incontro.

**1 VISITA (AMB DIAGNOSI):**

(A 30-40 gg in caso di diagnosi neonatale; nei restanti casi (nuove diagnosi per sintomatologia o trasferimento da altro Centro) entro 1 settimana dalla segnalazione del caso)

- ESAMI DIAGNOSI DI CONFERMA \*
- ESAMI AI FAMILIARI
- PRIMA COMUNICAZIONE DIAGNOSI
- INSERIMENTO nel database WEBTHAL di DATI ANAGRAFICI PAZIENTE e ALBERO GENEALOGICO

- EMOCROMO
- RETICOLOCITI
- ELETTROFORESI HB (HPLC)
- SIDEREMIA
- TRANSFERRINA
- FERRITINA
- GDF15 e SIERATO
- ESTRAZIONE DNA X RICERCA IN BIOLOGIA MOLECOLARE DI:
  - ✓ ALFA TALASSEMIA
  - ✓ SINDROME GILBERT
  - ✓ MUTAZIONI GENE HFE
  - ✓ SCREENING TROMBOFILICO
    - GRUPPO SANGUIGNO con tipizzazione "estesa" ( ABO - CcEe - K – Duffy – Kidd –Lewis- MNS – Lutheran – Kpa - CW)



15 gg

### **II VISITA** (AMB DIAGNOSI):

- RIVALUTAZIONE COMUNICAZIONE DIAGNOSI (EVENTUALE PRESENZA PSICOLOGA)
- PRESCRIZIONE INIZIO TERAPIA CON FENOSSIMETILPENICILLINA E ACIDO FOLICO
- PRESCRIZIONE VACCINAZIONI
- CONSEGNA RELAZIONE
- CONSEGNA RIFERIMENTI TELEFONICI
- CONSENSI (WEBTHAL-TRASFUSIONE-MALATTIE RARE-DNA)
- CONTATTO CON PEDIATRIA OSPEDALIERA DEL TERRITORIO E PEDIATRA DI FAMIGLIA PER PRESENTAZIONE CASO



30 gg

### **III VISITA:**

- ESAMI DIAGNOSI \*\*
- ECOGRAFIA DELL'ADDOME
- RIVALUTAZIONE COMUNICAZIONE DIAGNOSI
- CONSIGLI ABITUDINI DI VITA – CONSEGNA BROCHURES DISEGNATE
- EVENTUALE CONTATTO CON ASS SOCIALE OSPEDALIERA
- GRAFICA CRESCITA
- PROPOSTA INIZIO FOLLOW-UP REGOLARE (app successivo AMB. DOLORE)

\*\*

- G6PD
- SIEROLOGIA PARVOVIRUS
- PT-PTT-AT III-FIBRINOGENO-DDIMERO
- SIEROLOGIA HCV-HBV-HAV-HIV
- URINE
- RAPPORTO PROT/CREAT SU SPOT
- AST-ALT-LDH-GGT-BILI TOT+FRAZ
- CREATININA
- GLICEMIA
- TSH REFLEX
- ERITROPOIETINA
- FOLATI
- VITAMINA B12
- VITAMINA A-E-C
- ZINCHEMIA
- TEST MANTOUX

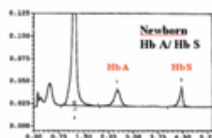
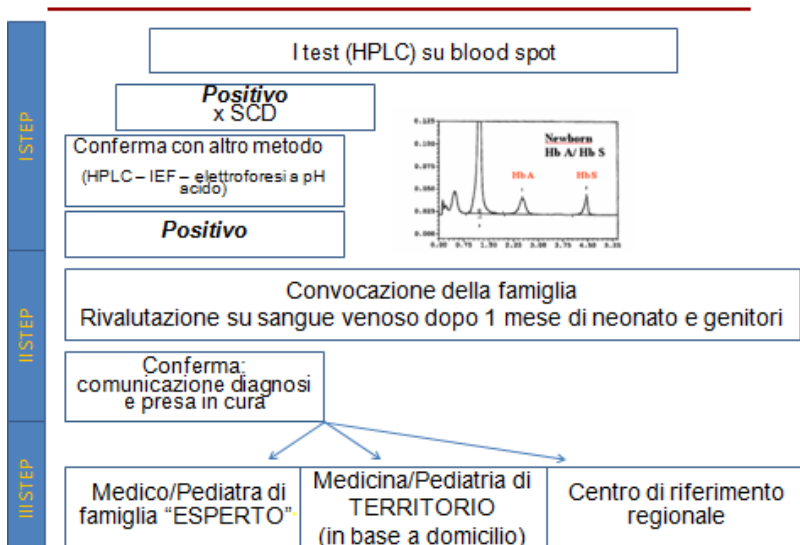
### **III B. PREVENZIONE**

Dai risultati della I fase di studio, abbiamo tracciato un modello organizzativo di screening neonatale applicabile nella regione Piemonte.

Formattato: Rientro: Sinistro: 1,27 cm, Nessun elenco puntato o

Formattato: Rientro: Sinistro: 1,25 cm, Nessun elenco puntato o

Formattato: Tipo di carattere: (Predefinito) Arial, 10 pt



#### I STEP

Tecnica di screening: per accuratezza ed affidabilità esperienza del personale di laboratorio proponiamo HPLC (IEF meno costosa e comunque affidabile, ma con necessità di personale con esperienza non disponibile sul territorio).

In FIG.37 stime dei costi di questo esame, con strumento HPLC (non dedicato o dedicato) per screening.

<b>BioRad D10</b>	<b>Costo totale (IVA inclusa)</b>	<b>Test per unità</b>	<b>Costo per test</b>	<b>x 2.500 tests</b>
1 kit (1000 test)	€ 544,00	200	€ 2,72	€ 2,72
Noleggio + assistenza (1 anno)	€ 4.356,00			€ 1,74
EQAS Haemoglobin (1 anno)	€ 242,00			€ 0,10
Lyphocheck control	€ 121,00		€ 0,20	€ 0,24
<b>Totale</b>				<b>€ 4,80</b>

<b>Variant Sicde Cell Short Program</b>	<b>Costo totale (IVA inclusa)</b>	<b>Test per unità</b>	<b>Costo per test</b>	<b>x 2.500 tests</b>
1 kit (1000 test)	€ 4.800,00	1.000	€ 4,80	€ 4,80
Noleggio + assistenza (1 anno)	€ 2.400,00			€ 0,96
Talloncini prelievo			€ 0,40	€ 0,40
VEQ UK NEQAS (1 anno)	€ 1.840,80			€ 0,74
Coppette plastica	Gratuite		€ 0,00	€ 0,00
<b>Totale</b>				<b>€ 6,90</b>



### FIG.37 **Stime dei costi esami HPLC in screening neonatale**

Proponiamo la centralizzazione del campione presso lo stesso laboratorio centrale (Ospedale Regina Margherita-Torino) di riferimento per gli altri screening neonatali in regione Piemonte; la centralizzazione è scelta per motivi organizzativi e di costo.

Il test di conferma potrebbe essere un test elettroforetico o test di falcizzazione.

Ogni neonato sottoposto a screening dovrebbe essere incluso in un database centrale (in modo tale da poter recuperare i neonati non sottoposti a screening; dovrebbe essere istituito un registro per il follow-up di tutti i pazienti affetti da SCD diagnosticati mediante screening neonatale.

#### II STEP

In base ai risultati delle prime fasi di questo studio (non diffusa conoscenza del problema di salute, non omogeneità nell'offerta delle informazioni mediche per contenuto e disponibilità di personale esperto, sia in merito alla comunicazione di diagnosi di malattia drepanocitica sia in merito alla comunicazione di diagnosi di tratto drepanocitico o altre anomalie non drepanocitiche), riteniamo che il II STEP (comunicazione diagnosi) sia affidato al Centro regionale mediante:

- invio al Centro Regionale per emoglobinopatie di tutti i casi POSITIVI agli esami di I step (POSITIVO all'elettroforesi = qualunque anomalia)
- adeguata comunicazione diagnosi fin dal I incontro (vedi comunicazione diagnosi descritta in precedenza)
- conferma diagnostica mediante indagini su sangue venoso (emocromo-reticolociti-elettroforesi Hb-sideremia-transferrina-ferritina) al neonato e ai familiari (genitori, fratelli) di I grado con proposta di estensione ad altri membri della famiglia dove opportuno

#### III STEP: presa in cura

Come indicato in letteratura, anche nella nostra regione è opportuno disegnare una rete di assistenza a vari livelli.

In particolare avvalorano questa affermazione:

- distribuzione dei casi disomogenea e diffusa sull'intero territorio regionale
- possibilità di distanza geografica importante per alcuni casi dal Centro di riferimento regionale; in particolare in caso di acuzie è importante un ospedale territoriale di riferimento limitrofo.

Le proposte, in parte attuate, in parte in fase di attuazione, ai diversi livelli sono:

- Contatto alla diagnosi da parte del Centro di riferimento di pediatri e medici di famiglia curanti con proposta di collaborazione nella presa in cura del paziente

- Organizzazione di percorsi formativi per pediatri/medici di famiglia; in “cantiere” nella nostra regione incontri in collaborazione con la Società Italiana di Pediatria.
- Organizzazione di percorsi formativi per specialisti ospedalieri; già proposti ad oggi 3 incontri sul tema nell’ambito della Rete regionale ematologica pediatrica del Piemonte e Valle d’Aosta che ha lo scopo di formazione/incontro di colleghi ospedalieri pediatrici della regione con aggiornamento di protocolli comuni e discussione di casi clinici di ambito ematologico ,
- Organizzazione di una rete ospedaliera territoriale di riferimento (almeno 1 struttura di degenza pediatrica e 1 struttura di degenza ematologica per provincia) di riferimento per i pazienti in caso di acuzie e/o controlli routinari, in stretta collaborazione con il Centro regionale

### **III C. PROMOZIONE DI SENSIBILIZZAZIONE SOCIALE e ATTIVITA' di UMPOWERMENT dei soggetti con SCD**

Attività di sensibilizzazione e informazione su possibilità di cura e prevenzione nelle comunità locali di stranieri più coinvolti da questo problema di salute nella regione Piemonte (in particolare Africa Subsahariana-Maghreb), utilizzando canali già attivi per la sensibilizzazione e la promozione all’accesso ai servizi sanitari (attività locali promosse da medicina delle migrazioni-sanità pubblica-Onlus locali)

Organizzazione di una riunione per tutti i soggetti affetti da SCD nella regione, indetta da Centro regionale, per permettere la conoscenza del problema di salute e la possibilità/significato dell’attività di associazionismo. Da questa riunione è emersa da parte dei pazienti coinvolti e delle famiglie la richiesta di incontri successivi, anche con altre associazioni di pazienti già presenti sul territorio; ad aprile 2010 è stata fondata la prima associazione per drepanocitici in Piemonte.

### **III D. ANALISI DEI COSTI**

Per quanto riguarda i costi dei gestione della malattia, nel Centro di Riferimento Regionale abbiamo riscontrato i costi relativi a:

- visite di controllo ematologiche periodiche (intensificate a seconda del fenotipo e dell’andamento della malattia)
- accessi in regime di urgenza e ricoveri per comparsa di complicanze acute della malattia

- terapia di fondo, qualora indicata (idrossiurea, terapia trasfusionale, trapianto di midollo)
- profilassi con fenossimetilpenicillina in età pediatrica e schema vaccinale adeguato
- esami strumentali periodici per prevenzione delle complicanze (TCD, ecografia addome, ecocardiografia, ECG, prove spirometriche, RMN cerebrale)
- consulenze specialistiche per prevenzione secondaria (cardiologica, nefrologica, oculistica, gastroenterologica)
- costi non direttamente dovuti alla malattia e non quantificabili in maniera precisa (giorni persi di scuola o di lavoro, mezzi di trasporto, sofferenza e dolore del paziente e della famiglia)

A tali costi vanno poi aggiunti quelli non propriamente sanitari, ma comunque associati alla malattia, di servizi di educazione e informazione della malattia, dei trasporti, della perdita di produttività dovuta al tempo investito per la malattia.

La frequenza di tali prestazioni si intensifica in presenza di complicanze già manifestate e può esserci la necessità di controlli, esami, indagini e terapie aggiuntive, aumentando quindi i costi di spesa sanitaria e quelli di una possibile invalidità, inabilità al lavoro/scuola e assistenza.

Gli interventi che permettono di ridurre le complicanze, come ad esempio le crisi dolorose possono avere un rapporto costo/efficacia vantaggioso, se non persino produrre un risparmio, con la riduzione delle ospedalizzazioni.

L'analisi economica redatta da Kauf et al in Florida nel periodo 2001-2005 ha rilevato che il costo totale di un paziente SCD/mese era di \$2.853 ( $\pm 4.352$ ) se nel gruppo d'età 30-39 anni e di \$892 ( $\pm 2.058$ ) nel gruppo d'età dalla nascita ai 9 anni, mentre il costo totale annuale verteva tra i \$34.266 ( $\pm 52.224$ ) per il gruppo adulto (30-39 anni) e \$10.704 ( $\pm 24.696$ ) per il gruppo pediatrico (0-9 anni).

La maggior parte della spesa è risultata dovuta (80,5%) alle spese per i ricoveri ospedalieri e massima in età adulta (FIG. 38). [110]

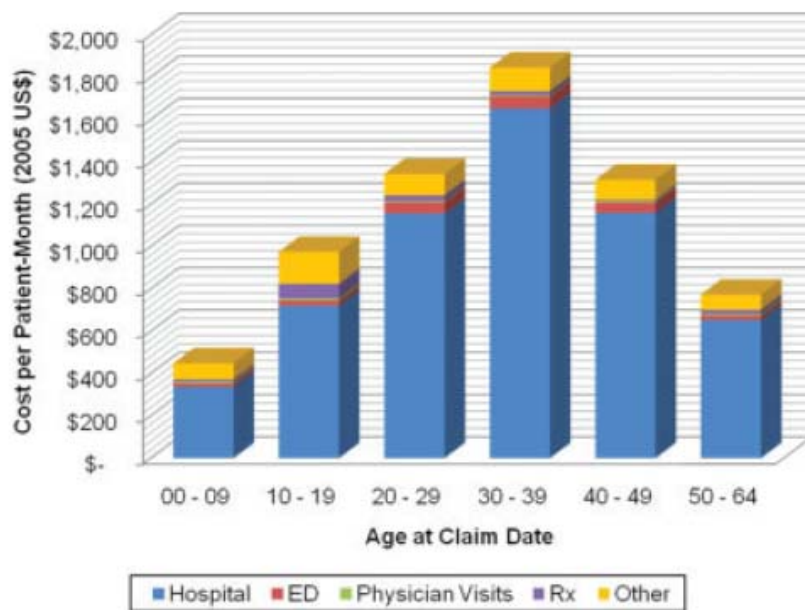


FIG. 38 Costi relativi alla SCD distinto per tipo di prestazione nei pazienti classificati per età (Kauf et al 2009) - ED=Emergency Department; Rx=prescription drugs

In USA è stata stimata una spesa media nei pazienti pediatrici affetti da SCD di \$9369 se pazienti coperti dalla Medicaid statunitense o \$13.469 per le assicurazioni private.[111]

La media pesata di costi per bambino equivale a \$10.706. [112]

Nell'analisi di Karnon di confronto tra i costi della SCD a diagnosi tardiva rispetto a SCD a diagnosi precoce (come ad esempio attraverso uno screening neonatale), si è stimato un risparmio di £15.588 (\$24.421) per paziente per tutta la vita [113].

I costi per il programma di uno screening neonatale di 47.948 bambini in Inghilterra nella revisione di Davies del 2000 ammontavano a £132.439 (\$207.487) con IEF e a £132.395 (\$207.418) con HPLC.

A bassi valori di prevalenza (<0,5:1000 di distribuzione della malattia drepanocitica) e a valori di natalità sopra i 25.000 nuovi nati/anno, i costi erano nettamente più alti qualora si pianificasse uno screening universale, mentre per valori di prevalenza maggiori i costi tra screening universale e selettivo si equivalgono (TAB. 8). [97] Alcuni studi più recenti hanno superato anche questo concetto di rapporto costo/beneficio della scelta tra universale e selettivo per lo screening neonatale per emoglobinopatie in base alla percentuale di prevalenza di affetti, sottolineando anzi i limiti di uno screening mirato sia di tipo etico che nel rischio di esclusione di potenziali affetti, anche considerando i continui cambiamenti di popolazione nei singoli territori.

Disease rate /1000 births	Population				
	5000	10,000	25,000	50,000	100,000
0.01	1,078,160	540,599	218,062	110,550	56,793
0.02	540,599	271,818	110,550	56,793	29,915
0.04	271,818	137,428	56,793	29,915	16,476
0.08	137,428	70,232	29,915	16,476	9757
0.16	70,232	36,635	16,476	9757	6397
0.31	37,274	20,475	10,396	7036	5357
0.63	19,676	11,277	6237	4557	3717
1.25	10,477	6278	3758	2918	2498
2.50	5678	3578	2318	1898	1688

TAB. 8 *Effetti della prevalenza e del numero delle nascite sul costo di identificazione di SCD, usando IEF (Davies et al 2000)*

## DISCUSSIONE

Già nel 2001, descrivendo in un rapporto della World Health Organization, i dati relativi alla nuova emergenza del problema emoglobinopatie nel mondo (non nuovo il problema, ma nuova l'attenzione ad una malattia genetica cronica per la possibilità di migliore gestione di altre cause di morbilità e mortalità quali fame e malattie infettive da un lato in molte aree del mondo e dall'altro un cambiamento di epidemiologia diffuso per il dinamismo delle popolazioni), Weatherall auspicava lo sviluppo di studi descrittivi delle singole realtà locali in termini epidemiologici, in modo da disegnare ed adattare ai singoli contesti programmi adeguati di presa in cura [1].

Per presa in cura delle emoglobinopatie, si intendono programmi di presa in cura dei malati, di prevenzione per i portatori sani e in generale di informazione e sensibilizzazione.

Obiettivo principale di questo studio è stato descrivere dal punto di vista epidemiologico la malattia drepanocitica nell'intervallo di tempo dal 1978 ad oggi nella regione Piemonte e valutare la fattibilità di programmi di prevenzione, tra cui anche lo screening neonatale, in questo contesto italiano in evoluzione e l'organizzazione di una rete assistenziale per un problema di salute in anni passati poco rappresentato sul territorio.

I risultati dello studio ci hanno permesso di raggiungere una risposta abbastanza robusta e solida per gli obiettivi prefissati.

Una valutazione riassuntiva dei dati della I fase dello studio indica che la popolazione drepanocitica nella regione Piemonte è in progressivo aumento, giovane, prevalentemente, ma non esclusivamente di origine non italiana.

L'aumento della prevalenza della malattia drepanocitica nella regione Piemonte è stato significativo nel periodo di tempo analizzato e questo cambiamento è una prevedibile conseguenza dei cambiamenti nella composizione della popolazione piemontese per i flussi migratori di questo ultimo decennio da aree ad alta prevalenza di SCD (nell'anno 2008, secondo dati ISTAT, il 18% dei nati in Piemonte era di origine non italiana e questo dato si aggiunge alla documentata diminuzione del 3% dei nati di origine italiana nell'ultimo decennio).

La maggior parte (ma non la totalità) della popolazione SCD in Piemonte ha origine non italiana se consideriamo l'origine di almeno uno dei genitori (il 70% della popolazione, prevalentemente originaria dell'Africa Sub-Sahariana). Solo il 25% dell'intera popolazione SCD in studio, tuttavia, è nato nel paese d'origine con successiva migrazione in Piemonte, la maggior parte dei casi hanno luogo di nascita nella nostra regione e diagnosi in età

pediatrica. I soggetti giovani adulti migranti da terre con limitate possibilità di cura sono meno frequentemente affetti, ma più probabilmente portatori sani, con il rischio di prole affetta.

La popolazione attuale di affetti sta presentando un importante trend in aumento per la nascita dei figli delle popolazioni immigrate in questo ultimo decennio e quindi si può presupporre che sia un trend che continuerà ad aumentare o al massimo a stabilizzarsi; è invece inverosimile una diminuzione, visto l'andamento in crescita di afflusso di stranieri provenienti da aree ad alta prevalenza di emoglobinopatie nella nostra nazione e in particolare il Piemonte.

La "storia" della malattia drepanocitica e in generale delle emoglobinopatie in Piemonte ha da sempre subito la forte influenza dei flussi migratori, negli anni '70 si registravano prevalentemente casi affetti da microdrepanocitosi, originari del Sud-Italia, in particolare Sicilia e Calabria; in seguito con i cambiamenti di popolazione dalla fine degli anni '80 (quando in altre nazioni europee il "problema" SCD era già importante, richiedendo l'organizzazione e applicazione di nuovi strumenti di prevenzione e cura) si sono iniziati ad osservare i primi casi di drepanocitosi omozigote, con incremento netto dopo il 2000.

Si è passati da una media di 1 nuova diagnosi/anno (anni '70) a 7,5 nuove diagnosi/anno (2005-2011); analoghi cambiamenti importanti, come sopra descritto, hanno riguardato prevalenza e natalità di pazienti affetti da SCD (aumento del 65% di NATI con SCD nel decennio 2001-10 rispetto al decennio precedente).

La distribuzione geografica dei casi SCD nella regione Piemonte, valutata nell'ambito di un disegno di organizzazione in questo contesto di programmi di prevenzione, diffusa ma non omogenea nelle singole province; la SCD sta diventando un problema sanitario emergente in aumento soprattutto per alcune province (Torino, Cuneo, Novara e Asti) che presentano i maggiori valori di prevalenza e di nuovi nati affetti. La regione Piemonte gode peraltro almeno da un trentennio della disponibilità di un Centro regionale di riferimento per emoglobinopatie, istituito negli anni '70 per affrontare il problema allora emergente delle sindromi talassemiche, oggi con tradizione ed esperienza consolidata nella presa in cura globale (presa in cura dei malati – prevenzione dei portatori sani – sensibilizzazione al problema di salute) per le emoglobinopatie.

Anche "questa" storia regionale è stata presa in considerazione, nel valutare strategie di prevenzione e di rete assistenziale con percorsi nuovi e più specifici, tuttavia partendo dalle strutture/strumenti già presenti ed esperte.

I dati indicano un buon controllo, nonostante molte diagnosi tardive, di mortalità per SCD e/o morbidità grave sull'intera popolazione analizzata, specie in confronto con i dati di

sopravvivenza e percentuale di eventi descritti in varie casistiche presenti in letteratura; si può desumere che la buona gestione clinica secondo il modello di assistenza e follow-up proposto, già da tempo sperimentato in termini di struttura organizzativa ed approccio a malattie genetiche croniche, per le sindromi talassemiche, abbia permesso il buon controllo delle complicanze. In questo studio non sono state affrontati aspetti di risultati in termini di compliance alle terapie e follow-up proposti, elementi da un lato importanti per la migliore efficacia dell'applicazione di strumenti di assistenza e cura e spesso segno di una rete assistenziale "esperta".

Abbiamo proposto ed iniziato l'applicazione dell'estensione del modello di assistenza, prima prevalentemente centralizzato, a pediatrie ed ematologie del territorio piemontese, in particolare per la gestione delle complicanze acute; valuteremo a breve risultati e criticità del programma di condivisione di protocolli e discussione di casi clinici in "rete" in atto con pediatrie e ematologie locali.

Il buon livello di assistenza clinica raggiunto potrebbe presentare migliori risultati nel controllo della malattia se fosse possibile beneficiare sul territorio di più efficaci strategie di prevenzione. Infatti nel nostro studio non abbiamo registrato solo l'aumento di casi SCD in termini quantitativi, ma anche una situazione attuale di persistenza, specie in età pediatrica, di diagnosi ritardata (in media nel 20% dei casi) o comunque prevalentemente in fase sintomatica (72% dei casi) e conseguente possibilità/rischio di sviluppo di danno d'organo grave e permanente prima di una effettiva presa in cura, abbiamo anche osservato che per i soggetti nei quali è stato riscontrato un ritardo di diagnosi è più frequente un fenotipo moderato all'ultimo follow-up. Queste osservazioni impongono di migliorare l'offerta di prevenzione sul territorio.

Se consideriamo i 7 punti esposti a cui dare una risposta per iniziare uno screening neonatale per SCD:

1. Definire lo scopo dello screening
2. Definire la popolazione da analizzare
3. Decidere la tecnica da usare
4. Decidere quali risultati refertare
5. Decidere quando deve essere eseguito lo screening
6. Definire un programma di trattamento successivo
7. Educare e informare le famiglie e gli operatori sanitari

I risultati hanno dato risposte complessivamente esaustive; resta in discussione la definizione della popolazione da analizzare.

Per una patologia cronica con eterogeneità di fenotipo, con ad oggi pochi robusti markers prognostici, al di là dei trattamenti necessari nei singoli casi, la strategia di cura è un attento



follow-up per monitorare la classe fenotipica e permettere la prevenzione primaria delle complicanze della malattia è stata dimostrata efficace quanto più precoce [54]. Strumenti efficaci per un adeguato controllo della malattia in termini di diagnosi precoce, educazione alla prevenzione dei fattori di rischio delle crisi di vasocclusione ed emolisi, profilassi antibiotica, terapia personalizzata e follow-up sono oggi disponibili anche in regione Piemonte ed offerti in maniera estesa; resta appunto il limite della possibilità di applicazione precoce.

Un altro elemento a favore dello sviluppo di uno screening neonatale per emoglobinopatie nel territorio piemontese è inoltre la possibilità di diagnosi presuntiva di altre emoglobinopatie presenti sul territorio, come difetti talassemici di tipo  $\alpha$  e  $\beta$  talassemico e la presenza di altre varianti emoglobiniche, in particolare emoglobinopatie con ampia variabilità di presentazione. Il progetto pilota su casistica limitata ha permesso anche l'identificazione di soggetti con HBC.

La diagnosi prenatale è uno strumento di prevenzione da offrire in maniera complementare alla forma di prevenzione secondaria neonatale.

Per la SCD non si è raggiunta la stessa "risposta" alla proposta di indagini di coppia e DPN in caso di rischio di prole affetta, rispetto a quanto accaduto per la beta talassemia [114].

Le coppie a rischio di SCD presentano dall'analisi dei risultati dell'attività dell'Ambulatorio di Prevenzione, un comportamento e scelte diverse rispetto alle coppie, a prevalenza di origine italiana, a rischio di beta talassemia.

Il minor numero di coppie a rischio di SCD che accedono al servizio di consulenza ci può far ipotizzare che non tutte (in particolare coppie straniere) vengano messe a conoscenza dell'esistenza della diagnosi prenatale, della possibilità eventualmente di interrompere la gravidanza, qualora il feto sia affetto, e che molti soggetti non arrivino neanche a conoscere il proprio stato di portatore.

Possiamo ipotizzare che questa condizione sia dovuta soprattutto allo stato socio-economico in cui versano spesso gli immigrati, della mancanza di conoscenza dei servizi che gli enti garantiscono al cittadino e della possibilità e diritto di prevenzione e cura.

Parallelamente, le coppie che sono a conoscenza del servizio di diagnosi prenatale lo utilizzano non pienamente: anche quando vengono a conoscenza del loro stato di portatori e del rischio per il feto, non aderiscono spesso alla DPN. L'adesione è maggiore in caso di gravidanze successive a precedenti figli affetti.

Esiste sicuramente un diverso approccio culturale/religioso al concetto di malattia, in un'ottica ben diversa da quella occidentale di concepire la vita e la morte, che rende meno efficace la diagnosi prenatale come mezzo diagnostico di prevenzione, ma non per questo inutile la proposta e l'informazione. Nel nostro studio abbiamo anche osservato difficoltà

comunicative non solo in termini linguistici ma di “trasmissione” di contenuti che possono influenzare questo risultato.

Se confrontiamo i dati relativi all'anno 2006, raccolti in previsione del “Tavolo A.Re.S.S sugli screening metabolici neonatali”, delle patologie già oggetto di screening neonatale in Piemonte (che quindi presentano un inquadramento epidemiologico molto più completo e affidabile, essendo stata sottoposta a screening tutta la popolazione in epoca neonatale) con i nostri dati relativi alle SCD note per i pazienti nati nello stesso anno 2006, osserviamo che:

- *Iperfenilalaninemie*: 115 affetti su 854.259 nati e incidenza di **1:7.400**
- *Ipotiroidismo congenito*: 273 affetti su 854.259 nati e incidenza di **1:3.100**
- *Galattosemia* (deficit Gal-1P-UT): 16 affetti su 854.259 nati e incidenza di **1:53.000**
- *S.A.G.* (deficit 21-OH): 41 affetti su 665.365 nati e incidenza di **1:16.000**
- *Deficit di biotinidasi*: 6 affetti su 697.315 nati e incidenza di **1:116.000**
- *Fibrosi cistica*: 91 affetti su 247.058 nati e incidenza di **1:2.715**
- Le SCD presentavano nell'anno 2006, con 6 affetti su 39.500 nati, un'incidenza di **1:7.900** in seguito, nell'anno 2009, è stata registrata un'incidenza di 1:5.589).

Lo screening neonatale per le emoglobinopatie è già ampiamente utilizzato negli USA e in alcune nazioni europee come descritto. L'esperienza vissuta negli stati europei che hanno promosso e che continuano a mantenere attiva la campagna di screening neonatale per le emoglobinopatie ha dimostrato non solo i vantaggi per i soggetti malati che hanno potuto beneficiare di una diagnosi precoce, della prevenzione primaria e dell'attenzione e cure di genitori educati alla malattia (riduzione di mortalità e morbilità), ma anche i vantaggi del poter individuare i portatori sani, che conoscendo il loro stato potevano evitare terapie inadeguate di ferro o di possibili complicanze durante l'anestesia perioperatoria e affrontare in modo consapevole la scelta di una gravidanza. [104]

Anche la possibilità di conoscere lo stato di portatore di un soggetto sin dalla nascita può permettere una migliore conoscenza della malattia e una maggior consapevolezza del rischio per un futuro figlio di essere malato; si può presupporre in questo modo anche un maggior utilizzo della diagnosi prenatale, anche se difficilmente si potranno raggiungere i risultati ottenuti per la talassemia per il diverso contesto culturale.

L'analisi delle effettive ricadute in termini di riduzione in morbilità e mortalità, miglioramento della qualità di vita per il paziente e in termini di costi per la rete di pubblica assistenza, ha stabilito l'adeguatezza e necessità di questo strumento di prevenzione.

Le analisi economiche e revisioni sulla valutazione effettuate anche in USA (l'organizzazione sanitaria di tipo assicurativo subisce il forte peso delle patologie croniche e la SCD è stata paragonata ad altre importanti patologie croniche come l'AIDS, l'asma e l'epilessia, che comportano una notevole spesa pubblica), indicano che interventi come lo screening

neonatale per le emoglobinopatie possono portare a un vantaggioso rapporto costo/efficacia in termini di risparmio della spesa sanitaria. Come già accadde per l'utilizzo dell'idrossiurea, che ha permesso una minor ospedalizzazione soprattutto per gli episodi di crisi dolorose [115], anche la corretta pratica del sistema di screening neonatale è associato ad una riduzione della morbilità e quindi dei costi relativi alla comparsa di complicanze.

Dall'osservazione delle scelte di politica sanitaria in Europa, si ricava che lo screening neonatale per le emoglobinopatie sia un mezzo diagnostico e di prevenzione secondaria poco costoso, facilmente eseguibile, che si può integrare agli screening neonatali già presenti e attuati anche sul territorio piemontese in considerazione della situazione attuale descritta.

Caratteristiche specifiche locali indicano che in generale sono applicati due tipi possibili di screening neonatale: l'universale e il selettivo o mirato. Il primo implica la valutazione di tutta la popolazione di neonati nati sul territorio, il secondo, invece, è rivolto a neonati di genitori originari da aree con alta prevalenza di emoglobinopatia.

La scelta tra screening universale e selettivo dipende dal rapporto costo/beneficio, e si presenta a favore dello screening universale nelle aree in cui la percentuale di persone provenienti da regioni a rischio è > 15%, limite definito per indicare vantaggio/svantaggio dell'utilizzo dello screening universale, essendo al di sopra di questi valori i costi di uno screening selettivo equiparabili a quelli di uno screening universale; I criteri per definire la popolazione a rischio vanno concordati relativamente alle caratteristiche che tipizzano la popolazione affetta del territorio e solo i neonati appartenenti a questa categoria saranno sottoposti a screening.

La scelta screening selettivo e universale è importante soprattutto a livello economico; tuttavia è noto che lo screening selettivo presenta come svantaggi il rischio di discriminazione nella scelta del gruppo a rischio e la possibile esclusione di alcune diagnosi, che rischiano di rimanere misconosciute, elementi oggi indicati nella maggior parte degli studi come motivi più robusti, rispetto alla prevalenza di persone provenienti da aree a rischio, nella scelta del tipo di screening a favore di quello universale. [97]

Seguendo le analisi economiche si profilerebbe per il Piemonte l'indicazione ad uno screening selettivo in base alle percentuali di persone provenienti da aree a rischio.

Seguendo il modello francese, la classificazione dipenderebbe dalle origini etniche dei genitori del neonato. Oppure si potrebbe seguire il modello spagnolo in cui si ha uno screening universale nelle regioni con un alta incidenza della malattia tra i nuovi nati, e selettivo nelle regioni a bassa incidenza.[102]

D'altro canto però è da tener anche conto delle considerazioni fatte in stati come il Belgio, in cui si è ritenuto più conveniente attuare uno screening neonatale universale evitando così possibili non identificazioni di diagnosi e la pianificazione di apposito personale e materiale dedicato esclusivamente a questo screening, che viene risparmiato con l'integrazione di tale

screening con gli altri screening neonatali già eseguiti sull'intera popolazione[116]. Inoltre, non bisogna dimenticare una caratteristica "locale" importante: la componente di popolazione italiana affetta da malattia drepanocitica (per lo più microdrepanocitosi), che non ha subito cambiamenti nel tempo e che stabilmente è presente sul nostro territorio e la presenza estesa di altre varianti emoglobiniche/emoglobinopatie detestabili con screening.

L'unico esempio di screening neonatale oggi proposto sul territorio piemontese è stato su una popolazione esigua (vedi progetto pilota su figli di madri HIV+), con risultati interessanti dell'indagine, in termini di esiti positivi riscontrati, peraltro evidenziando l'importanza di stabilire corretti percorsi di informazione per la proposta di esame e di comunicazione della diagnosi per rendere più efficace lo screening stesso. L'importanza di inserire un'indagine di screening in un contesto preciso di comunicazione diagnostica indica invece l'opportunità di scoraggiare isolate "prove" di screening neonatale, in singole neonatologie, non supportate in un programma comune e ben coordinato a livello specialistico.

Nella regione Piemonte abbiamo osservato una tendenza naturale nell'ultimo periodo di osservazione dello studio (dal 2009 ai giorni nostri) ad un'aumentata sensibilità alla malattia, per cui ad esempio è aumentata la percentuale di diagnosi preclinica nell'ultimo decennio fino a raggiungere il 30,3%, di cui l'8,9% consiste di controlli alla nascita per sospetto dall'origine etnica e per eventuali esami per altro motivo. Ma è una percentuale ancora bassa, che non può garantire una copertura dell'incidenza della malattia. Un 70% dei casi riceve ancora la diagnosi di malattia in occasione di una manifestazione clinica della SCD con le possibili sequele che possono derivarne. Per cui non esclude l'importanza di uno screening neonatale che, invece, permetterebbe la diagnosi almeno in tutti i neonati considerati a rischio.

In conclusione, riteniamo che un programma di screening neonatale per le emoglobinopatie in Piemonte possa essere considerato un aiuto considerevole in una migliore gestione e controllo della malattia. Per una miglior definizione di prevalenza di malattia e tratto drepanocitico nei nuovi nati, e quindi definizione di programmi di prevenzione, è con i dati oggi disponibile proponibile un programma di screening neonatale universale in alcune neonatologie del territorio piemontese, nelle regioni a più alta incidenza.

Questo tipo di prevenzione è uno strumento da collocarsi all'interno di una offerta di presa in cura globale.

## BIBLIOGRAFIA

1. Weatherall, D.J., *Thalassemia as a global health problem: recent progress toward its control in the developing countries*. Ann N Y Acad Sci. **1202**: p. 17-23.
2. Roberts I, D.M.M., *Sickle cell disease as a paradigm of immigration hematology: new challenge for hematologists in Europe*. Haematologica, 2007. **92**(7): p. 865-71.
3. Modell, B. and M. Darlison, *Global epidemiology of haemoglobin disorders and derived service indicators*. Bull World Health Organ, 2008. **86**(6): p. 480-7.
4. Bain, B., *Neonatal/newborn haemoglobinopathy screening in Europe and Africa*. J. Clin Pathology, 2009. **62**: p. 53-58.
5. Leikin SL, G.D., Kinney TR, Sloane D, Klug P, RidaW. , *Mortality in children and adolescents with sickle cell disease. Cooperative Study of Sickle Cell Disease*. . Pediatrics, 1989. **84**: p. 500-508.
6. Colombatti, R., et al., *Hospitalization of children with sickle cell disease in a region with increasing immigration rates*. Haematologica, 2008. **93**(3): p. 463-4.
7. Savitt TL, G.M., *Herrick's 1910 case report of sickle cell anemia. The rest of the story*. JAMA, 1989 Jan 13. **261**(2): p. 266-71.
8. Silvestroni E, B.L., *Genetic aspects of sickle cell anemia and microdrepanocytic disease*. Blood, 1952 Apr. **7**(4): p. 429-35.
9. Neel, J., *Perspectives in the genetics of sickle cell disease*. . Blood, 1952 Apr. **7**(4): p. 467-71.
10. Pauling L, I.H., et al., *Sickle cell anemia, a molecular disease*. . Science, 1949 Nov 25. **110**((2865)): p. 543-8.
11. Ingram, V., *Gene mutations in human haemoglobin: the chemical difference between normal and sickle cell haemoglobin*. Nature, 1957 Aug 17. **180**(4581): p. 326-8.
12. Steinberg, M., *Predicting clinical severity in sickle cell anaemia*. Br J Haematol., 2005 May. **129**(4): p. 465-81.
13. Serjeant GR, H.D., Hambleton IR., *Geography and the clinical picture of sickle cell disease. An overview*. Ann N Y Acad Sci., 1989. **565**: p. 109-19.
14. Powars, D., *Beta s-gene-cluster haplotypes in sickle cell anemia. Clinical and hematologic features*. . Hematol Oncol Clin North Am, 1991. **5**: p. 475-93.
15. Austin H, K.N., Benson JM, Lally C, Dowling NF, Whitsett C, Hooper WC. , *Sickle cell trait and the risk of venous thromboembolism among blacks*. Blood 2007. **110**: p. 908-12.
16. Weatherall DJ, C.J., *Inherited haemoglobin disorders: an increasing global health problem*. Bull World Health Organ., 2001 Oct 24. **79**(8): p. 704-12.
17. Aidoo M, T.D., Kolczak MS, McElroy PD, ter Kuile FO, Karluiki S, Nahlen BL, Udhayakumar V, *Protective effects of the sickle cell gene against malaria morbidity and mortality*. Lancet, 2002. **359**: p. 1311-12.
18. Hill, C.M., et al., *Increased cerebral blood flow velocity in children with mild sleep-disordered breathing: a possible association with abnormal neuropsychological function*. Pediatrics, 2006. **118**(4): p. e1100-8.
19. Aliyu ZY, K.G., Taylor J6th, Babadoko A, Mamman AI, Gordeuk VR, Gladwin MT, *Sickle cell disease and pulmonary hypertension in Africa: a global perspective and review of epidemiology, pathophysiology, and management*. Am J Hematol, 2008 Jan. **83**(1): p. 63-70.
20. Kaye CI, C.o.G., *Newborn Screening Fact Sheets*. Pediatrics, 2006. **118**: p. 934-963.

21. Platt OS, B.D., Rosse WF, Milner PF, Castro O, Steinberg MH, Klug PP. , *Mortality in sickle cell disease. Life expectancy and risk factors for early death.* N Engl J Med. , 1994. **330**: p. 1639-44.
22. Serjeant GR, H.D., Hambleton IR. , *Elderly survivors with homozygous sickle cell disease.* . N Engl J Med. , 2007. **356**: p. 642-3.
23. Bakanay SM, D.E., Clair B, Adekile A, Daitch L, Wells L, Holley L, Smith D, Kutlar A, *Mortality in sickle cell patients on hydroxyurea therapy.* Blood, 2005 Jan 15. **105**(2): p. 545-7.
24. Steinberg MH, B.F., Castro O, Pegelow CH, Ballas SK, Kutlar A, Orringer E, Bellevue R, Olivieri N, Eckman J, Varma M, Ramirez G, Adler B, Smith W, Carlos T, Ataga K, DeCastro L, Bigelow C, Sauntharajah Y, Telfer M, Vichinsky E, Claster S, Shurin S, Bridges K, Waclawiw M, Bonds D, Terrin M., *Effect of hydroxyurea on mortality and morbidity in adult sickle cell anemia: risks and benefits up to 9 years of treatment.* JAMA, 2003 Apr 2. **289**(13): p. 1645-51.
25. Russo-Mancuso G, L.S.M., Schilirò G, *The changing profile of sickle cell disease in Italy.* European Journal of Epidemiology, 2003. **18**: p. 923-4.
26. Pediatrica, A.I.E.O., *Raccomandazioni per la gestione della malattia drepanocitica in età pediatrica in Italia.* 2010.
27. France, H.A.d.S.d., *Recommandations pour la pratique clinique. Prise en charge de la drépanocytose chez l'enfant et l'adolescent.* 2005.
28. Miller ST, S.L., Pegelow CH, Enos LE, Wang WC, Weiner SJ, Wethers DL, Smith J, Kinney TR, *Prediction of adverse outcomes in children with sickle cell disease.* . N Engl J Med., 2000 Jan 13. **342**(2): p. 83-9.
29. Powars, D.R., Wilson,B., Imbus,C., Pegelow,C., *The natural history of stroke in sickle cell disease.* American Journal of Medicine, 1978. **65**: p. 461-471.
30. Ohene-Frempong, K., S. Weiner, and L. Sleeper, *Cerebrovascular accidents in sickle cell disease : rates and risk factors.* Blood, 1998. **91**: p. 288-94.
31. Sarnaik, S.A. and J.M. Lusher, *Neurological complications of sickle cell anemia.* American Journal of Pediatric Hematology/Oncology, 1982. **4**: p. 386-394.
32. Earley, M.D., S.J. Kittner, and B.R. Feeser, *Stroke in children and sickle-cell disease: Baltimore-Washington cooperative young stroke study.* Neurology, 1988. **51**: p. 169–76.
33. Stockman, J., et al., *Occlusion of large cerebral vessels in sickle-cell anemia.* N Engl J Med 1972. **287**(17): p. 846-849.
34. Dobson, S.R., et al., *Moyamoya syndrome in childhood sickle cell disease: a predictive factor for recurrent cerebrovascular events* Blood, 2002. **99**: p. 3144-3150.
35. Hariman, L.M.F., et al., *Functional outcomes of children with sickle-cell disease affected by stroke.* Arch Phys Med Rehab 1991. **72**: p. 498–502.
36. Armstrong, F.D., et al., *Cognitive functioning and brain magnetic resonance imaging in children with sickle Cell disease.* Neuropsychology Committee of the Cooperative Study of Sickle Cell Disease. Pediatrics, 1996. **97**(6 Pt 1): p. 864-70.
37. Lee, A., et al., *Improved survival in homozygous sickle cell disease: lesson from a cohort study.* BMJ, 1995. **311**: p. 1600-1602.
38. Hongeng, S., et al., *Recurrent streptococcus pneumoniae sepsis in children with sickle cell disease.* . J Pediatr. , 1997. **130**: p. 814-6.
39. Adamkiewicz TV, S.S., Buchanan GR, Iyer RV, Miller ST, Pegelow CH, Rogers ZR, Vichinsky E, Elliott J, Facklam RR, O'Brien KL, Schwartz B, Van Beneden CA, Cannon MJ, Eckman JR, Keyserling H, Sullivan K, Wong WY, Wang WC., *Invasive pneumococcal infections in children with sickle cell disease in the era of penicillin*

- prophylaxis, antibiotic resistance, and 23-valent pneumococcal polysaccharide vaccination.* J Pediatr., 2003. **143**: p. 438-44.
40. Laurie, G., *Acute chest syndrome in sickle cell disease.* Intern Med J. , 2010 May. **40**(5): p. 372-6.
  41. Morris C, V.E., Styles L, *Clinician Assessment for Acute Chest Syndrome in Febrile Patients With Sickle Cell Disease: Is It Accurate Enough?* Annals of Emergency Medicine 1999 July. **34**(1): p. 64-9.
  42. Vichinsky EP, N.L., Earles AN, Williams R, Lennette ET, Dean D, Nickerson B, Orringer E, McKie V, Bellevue R, Daeschner C, Mancini EA., *Causes and outcomes of the acute chest syndrome in sickle cell disease. National Acute Chest Syndrome Study Group.* N Engl J Med., 2000 Jun 22. **342**(25): p. 1855-65.
  43. Mancini, E., et al., *Causes of death in sickle cell disease: an autopsy study.* . Br J Haematol 2003. **123**: p. 359-365.
  44. Rezende, P., et al., *Acute splenic sequestration in a cohort of children with sickle cell anemia.* . J Pediatr (Rio J) 2009. **85**: p. 163-169.
  45. Emond, A., et al., *Acute splenic sequestration in homozygous sickle cell disease: natural history and management.* . J Pediatr. , 1985. **107**: p. 201-6.
  46. Rogers, Z., *Priapism in Sickle Cell Disease.* . Hematology/Oncology Clinics of North America 2005 **19**: p. 917-28.
  47. Rogers, Z., *Priapism in sickle cell disease.* Hematology/Oncology Clinics of North America. **19**(5): p. 917-28.
  48. Pattison, J., et al., *Parvovirus infections and ipoplastic crisis in sickle cell anemia.* . Lancet 1981 **1**: p. 664-665.
  49. Kushner JP, P.J., Olivieri NF., *Secondary iron overload.* . Hematology Am Soc Hematol Educ Program, 2001: p. 47-61.
  50. K Ryan, B.B., D Worthington, J James, D Plews, A Mason, D Roper, DC. Rees, B de la Salle and A Streetly, *Significant haemoglobinopathies: guidelines for screening and diagnosis.* British Journal of Haematology, 2010. **149**: p. 35-49.
  51. Clarke GM, H.T., *Laboratory investigation of hemoglobinopathies and thalassemias: review and update.* Clin Chem, 2000 Aug. **46**(8): p. 1284-90.
  52. Cotton F, L.C., Fontaine B, Gulbis B, Janssens J, Vertongen F., *Evaluation of a capillary electrophoresis method for routine determination of hemoglobins A2.* Clin Chem, 1999 Feb. **45**(2): p. 237-43.
  53. *Antenatal and newborn screening programme. Sickle Cell and Thalassaemia*, ed. NHS. 2006 Sep.
  54. Vichinsky, E., et al., *Newborn screening for sickle cell disease: effect on mortality.* Pediatrics, 1988. **81**(6): p. 749-55.
  55. Yang YM, S.A., Watson M; Mankad VN, *Comparison of costs to the health sector of comprehensive and episodic health care for sickle cell disease patients.* Public Health Rep, 1995. **110**(1): p. 80-6.
  56. Gaston, M., et al., *Prophylaxis with oral penicillin in children with sickle cell anemia.* . N Engl J Med., 1986. **314**: p. 1593-9.
  57. Pediatrics, A.A.o., *Committee on Infectious Diseases. Policy statement: recommendations for the prevention of pneumococcal infections, including the use of pneumococcal conjugate vaccine (Prevnar™), pneumococcal polysaccharide vaccine, and antibiotic prophylaxis.* Pediatrics. , 2000. **106**(2Pt1) p. 362-6.
  58. NHLBI, *The management of sickle cell disease 4 ed. Division of Blood Diseases and Resources, NHLBI, NIH, Bethesda, MD.* 2002.
  59. M. de Montalembert<sup>1</sup>, A. Niakaté<sup>1</sup>, *Approche transculturelle du diagnostic néonatal de la drépanocytose.* Archives de Pédiatrie, 2009. **16**: p. 513-4.



60. Adams, R., et al., *The use of transcranial ultrasonography to predict stroke in sickle cell disease*. N Engl J Med, 1992. **326**(9): p. 605-10.
61. Aaslid, R., T. Markwalder, and H. Nornes, *Noninvasive transcranial Doppler ultrasound recording of flow velocity in basal cerebral arteries* J Neurosurg, 1982. **57**((6)): p. 769-774.
62. Nichols, F.T., A.M. Jones, and R.J. Adams, *Stroke prevention in sickle cell disease (STOP) study guidelines for transcranial Doppler testing*. J Neuroimaging, 2001. **11**(4): p. 354-62.
63. Adams, R.J., et al., *Transcranial Doppler correlation with cerebral angiography in sickle cell disease*. Stroke, 1992. **23**(8): p. 1073-7.
64. Seibert, J.J., et al., *Transcranial Doppler, MRA, and MRI as a screening examination for cerebrovascular disease in patients with sickle cell anemia: an 8-year study*. Pediatr Radiol, 1998. **28**(3): p. 138-42.
65. Adams, R.J., et al., *Long-term stroke risk in children with sickle cell disease screened with transcranial Doppler*. Ann Neurol, 1997. **42**(5): p. 699-704.
66. Adams, R.J., *Big strokes in small persons*. Arch Neurol, 2007. **64**(11): p. 1567-74.
67. Adams, R.J., *Lessons from the Stroke Prevention Trial in Sickle Cell Anemia (STOP) study*. J Child Neurol, 2000. **15**(5): p. 344-9.
68. Adams, R.J., et al., *Prevention of a first stroke by transfusions in children with sickle cell anemia and abnormal results on transcranial Doppler ultrasonography*. N Engl J Med, 1998. **339**(1): p. 5-11.
69. Kral, M.C. and R.T. Brown, *Transcranial Doppler ultrasonography and executive dysfunction in children with sickle cell disease*. J Pediatr Psychol, 2004. **29**(3): p. 185-95.
70. Charache, S., *Fetal hemoglobin, sickling, and sickle cell disease*. . Adv Pediatr. , 1990(37): p. 1-31.
71. Charache, S., et al., *Hydroxyurea and sickle cell anemia. Clinical utility of a myelosuppressive "switching" agent. The Multicenter Study of Hydroxyurea in Sickle Cell Anemia*. . Medicine 1996. **75**: p. 300-26 (EA-V).
72. Nahavandi, M., et al., *Nitric oxide metabolites in sickle cell anemia patients after oral administration of hydroxyurea*. . Hematology, 2000. **5**: p. 335-339.
73. Huang, Z., et al., *In vitro exposure to hydroxyurea reduces sickle red blood cell deformability*. Am J Hematol. , 2001. **67**: p. 151-6.
74. Charache, S., et al., *Effects of hydroxyurea on the frequency of painful crises in sickle cell anemia*. . N Engl J Med 1995. **332**: p. 1317-22.
75. Ferster, A., et al., *Five years of experience with hydroxyurea in children and young adults with sickle cell disease*. Blood 2001. **97**: p. 3628-32.
76. Zimmerman, S., et al., *Hydroxyurea therapy lowers transcranial Doppler flow velocities in children with sickle cell anemia*. . Blood 2007. **110**: p. 1043-7.
77. de Montalembert, M., et al., *Long-term hydroxyurea treatment in children with sickle cell disease: tolerance and clinical outcomes*. . Haematologica, 2006. **91**: p. 125-8.
78. R, W., *Principles and indications of chronic transfusion therapy for children with sickle cell disease*. Clin Adv Hematol Oncol., 2007 Sep. **5**(9): p. 686-8.
79. Fullerton, H.J., et al., *Declining stroke rates in Californian children with sickle cell disease*. Blood 2004. **104** p. 336–339.
80. Adams, R.J. and D. Brambilla, *Discontinuing prophylactic transfusions used to prevent stroke in sickle cell disease*. N Engl J Med, 2005. **353**(26): p. 2769-78.



81. Walters MC, S.R., Patience M, Leisenring W, Taylor T, Sanders JE, Buchanan GE, Rogers ZR, Dinndorf P, Davies SC, Roberts IA, Dickerhoff R, Yeager AM, Hsu L, Kurtzberg J, Ohene-Frempong K, Bunin N, Bernaudin F, Wong WY, Scott JP, Margolis D, Vichinsky E, Wall DA, Wayne AS, Pegelow C, Redding-Lallinger R, Wiley J, Klemperer M, Mentzer WC, Smith FO, Sullivan KM., *Impact of bone marrow transplantation for symptomatic sickle cell disease: an interim report. Multicenter investigation of bone marrow transplantation for sickle cell disease.* Blood, 2000. **95**(6): p. 1918-24.
82. Panepinto JA, W.M., Carreras J, Marsh J, Bredeson CN, Gale RP, Hale GA, Horan J, Hows JM, Klein JP, Pasquini R, Roberts I, Sullivan K, Eapen M, Ferster A, *Matched-related donor transplantation for sickle cell disease: report from the Center for International Blood and Transplant Research.* Br J Haematol., 2007. **137**(5): p. 479-85.
83. Bender MA , H.W., *Sickle Cell Disease.* Pagon RA , Bird TC , Dolan CR , Stephens K , editors. GeneReviews [Internet]. Seattle (WA): University of Washington, Seattle, 2003.
84. Akinsheye I, K.E., *Sickle Cell Anemia and Vascular dysfunction: the Nitric Oxide connection* J Cell Physiol, 2010. **224**: p. 620-5.
85. Ataga KI, S.W., De Castro LM, Swerdlow P, Saunthararajah Y, Castro O, Vichinsky E, Kutlar A, Orringer EP, Rigdon GC, Stocker JW; ICA-17043-05 Investigators., *Efficacy and safety of the Gardos channel blocker, senicapoc (ICA-17043), in patients with sickle cell anemia.* Blood, 2008 Apr 15. **111**(8): p. 3991-7.
86. Godard B, et al., *Population genetic screening programmes: principles, techniques, practices, and policies.* Eur J Hum Genet 2003 **11**: p. S49-S87.
87. Anderson P, Aro AR, and D. T, *Prenatal screening and genetics* Eur J Public Health 2001 **11**: p. 231-233
88. C, C., *Le nuove frontiere dello screening neonatale: l'era della "tandem mass".* Biochimica clinica, 2009. **33**(3): p. 205-12.
89. Michael S. Watson, M.Y.M., Michele A. Lloyd-Puryear, Piero Rinaldo, R.Rodney Howell and American College of Medical Genetics Newborn Screening Expert Group, *Newborn screening: toward a uniform screening panel and system. Executive Summary.* Pediatrics 2006. **117**: p. 296-307.
90. ER, M., *DNA techniques for screening of inborn errors of metabolism.* Eur J Pediatr, 1994. **153**(7): p. 84-5.
91. (SISN), C.d.S.I.S.M.M.E.S.e.d.S.I.S.N., *Linee Guida per lo Screening Esteso e la Conferma diagnostica - maggio 2008.* Maggio 2008.
92. conference., N.a.I.C., *Newborn screening for sickle cell disease and other hemoglobinopathies.* , in JAMA 1987. p. 1205-1209.
93. Gaston, M., et al., *Prophylaxis with oral penicillin in children with sickle cell anemia: A randomized trial.* New Engl J Med 1986. **314**: p. 1594-1599.
94. Vichinsky, E., et al., *Newborn screening for sickle cell disease: effect on mortality.* . Pediatrics. , 1988. **81**: p. 749-755.
95. Lee A, T.P., Cupidore L, Serjeant B, Serjeant G, *Improved survival in omozigous sickle cell disease: lesson from a cohort study.* BMJ, 1995. **311**: p. 1600-2.
96. Gulbis B, C.F., Katelslegers O, Dresse MF, Rongè-Collard E, Minon JM, Lè PQ, Vertongen F, *Neonatal Haemoglobinopathy screening in Belgium.* J Clin Pathol., 2009. **62**: p. 49-52.
97. Davies SC, C.E., Gill M et al, *Screening for sickle cell disease and thalassaemia: a systematic review with supplementary research.* Health Tecology Assess, 2000. **4**(1): p. 99.

98. Tshilolo, L., et al., *Neonatal screening and clinical care programmes for sickle cell disorders in sub-Saharan Africa: lessons from pilot studies*. Public Health, 2008. **122**(9): p. 933-41.
99. Mutesa L, B.F., Ngendahayo L, Rulisa S, Rusingiza EK, Cwinya-Ay N, Mazina D, Kariyo PC, Bours V, Schoos R, *Neonatal screening for sickle cell disease in Central Africa: a study of 1825 newborns with a new enzyme-linked immunosorbent assay test*. J Med Screen, 2007. **14**: p. 113-6.
100. Bardakdjian-Michau, J., M. Bahuau, and C. Godart, *Neonatal screening for sickle cell disease in France*. J Clin Pathol, 2009. **62** p. 31-33.
101. Streetly, A., et al., *Implementation of the newborn screening programme for sickle cell disease in England: results for 2003-2005*. J Med Screen, 2008. **15**(1): p. 9-13.
102. Manu Pereira M, V.C.J., *Neonatal haemoglobinopathy screening in Spain*. J Clin Pathol., 2009. **62**: p. 22-5.
103. Dickerhoff R, G.-B.O., Kohne E, *Haemoglobinopathies and newborn haemoglobinopathy screening in Germany*. J Clin Pathol., 2009. **62**: p. 34.
104. Giordano, P.C., *Starting neonatal screening for haemoglobinopathies in The Netherlands*. J Clin Pathol., 2009. **62**: p. 18-21.
105. de Montalembert, M., et al., *Ethical aspects of neonatal screening for sickle cell disease in Western European countries*. Acta Paediatr, 2005. **94**(5): p. 528-30.
106. Julie A. Panepinto, M., MSPH, David Magid, MD, MPH, Marian J. Rewers, MD, PhD, and Peter A. Lane, MD, *Universal versus targeted screening of infants for sickle cell disease: A cost-effectiveness analysis*. The Journal of Pediatrics, 2000 Feb. **136**(2): p. 201-8.
107. Xandra W. van den Tweel, J.H.v.d.L., Harrie't Heijboer, Marjolein Peters, and Karin Fijnvandraat, *Development and validation of a pediatric severity index for sickle cell patients*. American Journal of Hematology, 2010: p. 1-6.
108. Adams, R.J., et al., *Stroke prevention trial in sickle cell anemia*. Control Clin Trials, 1998. **19**(1): p. 110-29.
109. Modell and e. al, *Epidemiology of haemoglobin disorders in Europe: an overview*. Scand J Clin Lab Invest 2007 **67** p. 39-70.
110. Kauf TL, C.T., Huazhi L, Mody-Patel N, and Hartzema AG, *The cost of health care for children and adults with sickle cell disease*. American Journal of Hematology, 2009. **84**: p. 323-7.
111. Amendah DD, M.M., Kavanagh PL, Sprinz PG, Grosse SD, *Sickle Cell Disease-Related Pediatric Medical Expenditures in The US*. Am J Prev Med, 2010. **38**(4): p. 550-6.
112. Boulet SL, Y.E., Creary MS, Olney RS, *Health Status and Healthcare Use in a National Sample of Children with Sickle Cell Disease*. Am J Prev Med 2010. **38**(4S): p. S528-S535.
113. Karnon J, Z.D., Ades AE, Efimba W, Brown J, Yardumian A, *The effects of neonatal screening of sickle cell disorders on lifetime treatment costs and early deaths avoided: a modelling approach*. Journal of Public Health Medicine, 2000. **22**(4): p. 500-11.
114. Cao A, R.M., Leoni GB, Tuveri T, Scalas MT, Monni G, Olla G, Galanello R., *Antenatal diagnosis of beta-thalassemia in Sardinia*. Ann N Y Acad Sci. 1990;612:215-25., 1990. **612**: p. 215-25.
115. Moore RD, C.S., Terrin ML et al *Cost-effectiveness of hydroxyurea in sickle cell anemia. Investigators of the Multicenter Study of Hydroxyurea in Sickle Cell Anemia*. Am J Hematol, 2000. **64**: p. 26-31.
116. Boemer, F., et al., *Screening for sickle cell disease on dried blood: a new approach evaluated on 27,000 Belgian newborns*. J Med Screen, 2006. **13**(3): p. 132-6.



## ALLEGATO 1

### A. FOLLOW-UP ESAMI EMATOCHIMICI

ETA' PZ	EMOCROMO/R ETICOLOCITI	FUNZ EPATICA	FUNZ RENALE COMPLETA	FUNZ RENALE COMPLETA	VITAMINE	sierologia parvovirus	ELETTROFORESI HB	COAGULAZIONE	MARKERS MARZIALI	ASSETTO LIPIDICO	OR
0-1 ANNO	ogni 6 mesi	ogni 6 mesi	ogni 6 mesi		ogni 6 mesi	ANNUALE	ANNUALE	ogni 6 mesi	ogni 6 mesi	ANNUALE	AN
1-3 ANNI	ogni 4 mesi	ogni 4 mesi	ogni 4 mesi		ogni 6 mesi	ANNUALE	ANNUALE	ogni 6 mesi	ogni 6 mesi	ANNUALE	AN
> 4 ANNI	ogni 3 mesi	ogni 3 mesi	ogni 3 mesi	ANNUALE	ogni 6 mesi	ANNUALE		ogni 6 mesi	ogni 6 mesi	ANNUALE	AN

### A. FOLLOW-UP ESAMI STRUMENTALI

ETA' PZ	ECO ADDOME	ECOCARDIO CON MISURAZIONE PAPS+ECG	TCD	RMN ENCEFALO	PROVE PNEUMO	VIS AUXO	RX BACINO	VISITA OCULSITICA	AUDIOMETRICO	FIBROSCAN	RMN C solo h
0-1 ANNO	ANNUALE	ANNUALE									
1-2 ANNI	ANNUALE	ANNUALE	ANNUALE								
3-4 ANNI	ANNUALE	ANNUALE	ANNUALE					ANNUALE			
5-9 ANNI	ANNUALE	ANNUALE	ANNUALE	OGNI 2 ANNI		ANNUALE		ANNUALE	ANNUALE	ANNUALE	
10-16 ANNI	ANNUALE	ANNUALE	ANNUALE	OGNI 2 ANNI	ANNUALE	ANNUALE	OGNI 2 ANNI	ANNUALE	ANNUALE	ANNUALE	OGNI 2
> 17 ANNI	ANNUALE	ANNUALE		OGNI 2 ANNI	ANNUALE		OGNI 2 ANNI	ANNUALE	ANNUALE	ANNUALE	OGNI 2

## ALLEGATO 2

### SCAMBIO ERITROCITARIO

#### A. SCAMBIO ERITROCITARIO MANUALE

##### Definizione:

La procedura di scambio eritrocitario manuale consiste in uno scambio di sangue del paziente con sangue di un donatore sano mediante salasso seguito da trasfusione di emazie.

La procedura qui descritta è da applicarsi a bambini di peso inferiore ai 30 Kg.

##### Obiettivi:

- mantenere cronicamente un livello di HbS adeguato agli obiettivi terapeutici individuali
- mantenere livelli post-trasfusionali di Hb e Htc adeguati ad evitare l'aumento della viscosità ematica (livelli indicativi Hb 11 g/dl; Htc < 36%)
- mantenere il miglior livello di isovolemia durante la procedura

Schema (variabile in base al livello di Hb):

- Salasso di 5-10 cc/Kg in base all'Hb
- Infusione di soluzione fisiologica di volume uguale al salasso
- Trasfusione di emazie filtrate (red cell volume = 1-1.25 volte la quantità di sangue rimosso con il salasso)

Procedure:

1) prima dell'inizio della procedura:

- emocromo al mattino (in urgenza/ controllo in AVIS) ed assetto Hb; eventuali altri esami ematochimici in base alla necessità clinica
- controllo clinico (con misurazione di **temperatura corporea, pressione arteriosa e frequenza cardiaca, peso** e loro inserimento in Webthal; se possibile monitoraggio automatico continuo durante l'intera procedura)
- preparazione della strumentazione necessaria:
  - ago multifly "giallo" 20G (per i pazienti di età inferiore ai 36 mesi valutare opportunità di ago butterfly "azzurro" 21 GA)
  - siringhe da 20 ml; siringhe da 10 ml
  - soluzione fisiologica 250 cc
  - rubinetto a 2 vie da tenere a disposizione per adattare al raccordo se necessario nel corso della procedura

2) inizio procedura solo in presenza del medico e dell'infermiera professionale responsabili dello scambio eritrocitario e solo dopo essersi assicurati di avere a disposizione le sacche di emazie da trasfondere.

In base al livello di Hb il medico di turno deciderà ed annoterà sul diario clinico lo schema da applicare:

- **Hb < 8 g/dl :**
  - non eseguire salasso iniziale
  - trasfusione semplice di globuli rossi; per sacche del CT OIRM con Htc medio 75-80% infondere 12 cc/Kg – con ematocrito 65% infondere 15 cc/Kg
- **Hb > 8 < 9 g/dl:**
  - salasso di 5 cc/Kg con siringhe da 20 ml, ripetendo l'operazione fino al salasso della quantità di sangue prescritta.

*In caso di difficoltà ad eseguire il salasso, provare ad aspirare con siringhe da 10 ml; se persistono le difficoltà, lavare il sistema con 2-3 ml di soluzione fisiologica e ripetere il tentativo di aspirazione*

  - soluzione fisiologica 5 cc/kg ev (da infondere nel tempo di 1 ora; modulare la velocità in base alla quantità)
  - trasfusione semplice di globuli rossi; per sacche del CT OIRM con Htc medio 75-80% infondere 12 cc/Kg
- **Hb > 9 g/dl:**
  - I salasso 5 cc/kg con siringhe da 20 ml, ripetendo l'operazione fino al salasso della quantità di sangue prescritta

*In caso di difficoltà ad eseguire il salasso, provare ad aspirare con siringhe da 10 ml; se persistono le difficoltà, lavare il sistema con 2-3 ml di soluzione fisiologica e ripetere il tentativo di aspirazione*

  - soluzione fisiologica 10 cc/kg ev (da infondere nel tempo di 1 ora; modulare la velocità in base alla quantità)
  - Il salasso 5 cc/kg con siringhe da 20 ml, ripetendo l'operazione fino al salasso della quantità di sangue prescritta

*In caso di difficoltà ad eseguire il salasso, provare ad aspirare con siringhe da 10 ml; se persistono le difficoltà, lavare il sistema con 2-3 ml di soluzione fisiologica e ripetere il tentativo di aspirazione*

  - trasfusione semplice di globuli rossi; per sacche del CT OIRM con Htc medio 75-80% infondere 12 cc/Kg

3) al termine della procedura (dopo 30 minuti):

- emocromo ed assetto Hb post
- controllo clinico (con misurazione di temperatura corporea, pressione arteriosa e frequenza cardiaca)

La procedura del salasso è affidata alla infermiera professionale di turno.

Durante la procedura del salasso va garantita la presenza di un medico in reparto.

Per la procedura di infusione dei globuli rossi, vedi procedure di reparto "gestione della terapia trasfusionale".

- successivo controllo per le prove crociate a distanza di 3-4 settimane dalla trasfusione; in occasione delle crociate necessario eseguire anche l'assetto Hb
- appuntamento per lo scambio eritrocitario a 4 settimane dallo scambio precedente (salvo variazioni cliniche o inatteso esito dell'assetto Hb)

\* Shedow « Red cell exchange in sickle cell disease », Hematology 2006

\*\* The management of sickle cell disease, NIH Publication N° 02-2117, 4th edition, 2002

\*\*\* HAS / Service des recommandations professionnelles / Septembre 2005 - 91 - Prise en charge de la drépanocytose chez l'enfant et l'adolescent

## **B. SCAMBIO ERITROCITARIO MECCANICO**

### Definizione:

La procedura di scambio eritrocitario meccanico consiste in uno scambio di sangue del paziente con sangue di un donatore sano mediante eritrocitoferesi meccanica (presso Servizio trasfusionale).

La procedura può essere applicata in soggetti adulti di peso superiore ai 40 Kg e senza difficoltà di reperimento di accessi venosi.

### Obiettivi:

- mantenere cronicamente/ottenere in acuto un livello di HbS adeguato agli obiettivi terapeutici individuali
- mantenere livelli post-trasfusionali di Hb e Htc adeguati ad evitare l'aumento della viscosità ematica (livelli indicativi Hb 11 g/dl; Htc < 36%)
- mantenere il miglior livello di isovolumetria durante la procedura

- evitare/ridurre il sovraccarico marziale

Procedure:

- 1) esecuzione di PROVE CROCIATE-EMOCROMO-ASSETTO HB c/o Microcitemie 3 gg prima della data prevista per l'EEX (tempo necessario per ottenere risultato elettroforesi Hb e reperimento sacche); in occasione del prelievo crociate misurazione di temperatura corporea, pressione arteriosa, frequenza cardiaca, peso del paziente e inserimento in Webthal; richiesta unità di emazie LAVATE + richiesta per eritrocitoaferesi
- 2) il giorno precedente l'EEX si fornirà al centro trasfusionale esito di EMOCROMO e ASSETTO HB
- 3) nel giorno previsto per l'EEX:
  - il paziente arriverà in Microcitemie alle ore 8.30; sarà accompagnato in Centro trasfusionale con la cartella; effettuerà prelievo con mantenimento dell'accesso venoso mediante infusione di soluzione fisiologica 100 cc/h
  - verranno ripetute le prove crociate ed entro 1 ora inizierà la procedura di EEX
  - dopo 30' dal termine della procedura il pz ripeterà EMOCROMO ed ELETTROFORESI dell'Hb c/o Microcitemie