

17Luglio

I problemi neurologici nei bambini con COVID-19 sono differenti da quelli degli adulti

parte prima:
le evidenze cliniche

Molteplici segnalazioni, sia negli adulti che nei bambini, hanno associato il COVID-19 a una varietà di *insulti neurologici* centrali e periferici, che vanno da sintomi lievi come *mal di testa e anosmia*, a manifestazioni gravi come *ictus, convulsioni ed encefalopatia*. Sebbene possano esserci dei punti in comune tra gli effetti della SARS-CoV-2 sulla popolazione pediatrica rispetto a quella adulta, diventa sempre più evidente che questa malattia colpisce adulti e bambini in modo diverso.

Mentre il sistema nervoso dell'adulto è "prevalentemente" focalizzato sul controllo omeostatico delle funzioni, il "*cervello pediatrico*" è in continuo sviluppo e può pertanto esporre nel corso del tempo *potenziali bersagli* all'azione del virus, con probabili aperture di *finestre di suscettibilità* ai vari meccanismi infettivi e post-infettivi del danno neurologico riconducibile al COVID-19.

Pertanto l'azione virale al contrario del *cervello adulto* va monitorata non soltanto nell'immediato ma in un arco temporale molto più esteso che copra tutto il neurosviluppo. I latini non vedevano la maturità come un traguardo, ma come un percorso, lungo una vita. (adulto. dal lat. [adúltus] crescere)

Per definire quanto ampia sia questa suscettibilità pediatrica è pertanto necessario un approccio rapido e pragmatico che consenta di comprendere e definire la *prevalenza*, i *fenotipi*, la *fisiopatologia* e le *implicazioni prognostiche* delle sindromi neurologiche COVID-19 correlate attraverso un approccio multicentrico.

Questo è quanto sta realizzando il **Global Consortium Study of Neurological Dysfunction in COVID-19 (GCS-NeuroCOVID)** coordinato da **Jenifer Frontera** del *Dipartimento di Neurologia, NYU School of Medicine*, attraverso una strategia metodologica che prevede interventi a tre livelli:

Il livello 1 consiste in una raccolta di elementi di dati anamnestici comuni (CDE) mirata, pragmatica, a basso costo e osservativa, che può essere avviata immediatamente in molti centri che consenta una rapida revisione senza richiedere nessun consenso informato.

Il livello 2 si basa su valutazioni prospettiche degli esiti funzionali e cognitivi con una raccolta di *dati clinici*, di *laboratorio* e *radiografici* più dettagliati che richiedono il consenso informato.

Il livello 3 sovrappone i livelli 1 e 2 con studi sperimentali molecolari, elettrofisiologici, patologici e di imaging con valutazione dei risultati longitudinali e andrebbe sviluppato in centri specializzati.

Attualmente è in attività un nucleo pediatrico multicentrico di **livello 3** che sta sviluppando uno studio incentrato su pazienti di età **<18 anni**.

L'obiettivo primario è definire **la prevalenza complessiva di complicanze neurologiche tra i pazienti COVID-19 ospedalizzati**, calcolata da stime aggregate di ciascun risultato neurologico diviso per il censimento medio di pazienti positivi COVID-19 durante il periodo di studio.

Gli esiti secondari includono: in ospedale, **mortalità a 30 e 90 giorni**, punteggio Rankin modificato per la dimissione, sopravvivenza senza ventilazione,

Soltanto nel primo mese di attività il consorzio **GCS-NeuroCOVID** è stato in grado di reclutare **71 siti di studio per adulti**, in rappresentanza di 17 paesi e 5 continenti e **34 siti di studio di pediatria**.

Questa è una delle prime collaborazioni di ricerca globale su larga scala progettata secondo i criteri dell'urgenza per valutare eventi neurologici acuti nel contesto di una pandemia. L'approccio innovativo e pragmatico dello studio a più livelli sta consentendo il rapido reclutamento e coinvolgimento di numerosi siti in tutto il mondo, di fatto rappresenta un approccio ottimale per acquisire dati neurologici critici in tempo reale per definire strategie di trattamento condivise.

I primi risultati sembrano confermare l'idea che il **COVID-19 infantile grave** a differenza della popolazione adulta, in cui predomina la malattia polmonare, **sembra più caratterizzato da una risposta infiammatoria immuno-mediata**, con o senza MIS-C associata

Il team di **JE Lin** della **Columbia University** in una revisione dei registri della **Columbia University Irving Medical Center Institutional Review Board** riporta che

82 bambini (di età compresa tra 5 giorni e 18 anni) ricoverati tra l'11 marzo e il 10 giugno 2020 con prove confermate di laboratorio di COVID-19, **35** (43 %) hanno sviluppato sintomi neurologici.

I sintomi più comuni includevano

- mal di testa** (n = 12, 34 %)
- ffaticamento o malessere** (n = 9, 25 %)
- stato mentale alterato** (n = 8, 23 %)
- debolezza** (n = 5, 14 %),
- sequestro** (n = 4, 11 %).

3 pazienti hanno presentato con paralisi del VI nervo cranico. Due di questi pazienti avevano anche ipertensione endocranica.

Solo **2** pazienti hanno riportato disgeusia o ageusia

Solo **1** paziente ha avuto un ictus.

Va notato che l'età media dei pazienti era di **9 anni** (IQR 4-15), che possono influenzare i tipi di sintomi che questi pazienti e i loro genitori possono descrivere.

Tra i pazienti con sintomi neurologici

12 (34%) avevano evidenza PCR di infezione attiva da SARS-CoV-2

19 (54%) avevano un test anticorpale positivo

4 (11%) erano contemporaneamente positivi alla PCR e agli anticorpi.

Tra i pazienti privi di sintomi neurologici

32 (68%) hanno riscontrato l'infezione esclusivamente tramite PCR SARS-CoV-2

6 (13%) hanno avuto un test degli anticorpi positivo

9 (19%) hanno avuto entrambi i test contemporaneamente positivi.

Nessun bambino (0/10)

aveva CSF positivo per RNA virale tramite test PCR.

32 (68%) hanno rilevato l'infezione esclusivamente tramite PCR SARS-CoV-2,

6 (13%) hanno avuto un test anticorpale positivo

9 (19%) hanno avuto entrambi i test contemporaneamente positivi.

Le malattie sottostanti del SNC o del SNP potrebbero essere esacerbate attraverso percorsi fisiopatologici che coinvolgono infiammazione, attivazione della microglia, o infezioni virali o batteriche concomitanti.

Conclusioni

L'impatto a lungo termine sul neurosviluppo dopo il COVID-19 merita ulteriori indagini. La tempistica per la risoluzione del danno neurologico e l'emergenza della disfunzione a lungo termine, se presente, è ancora in gran parte poco chiara, poiché questa malattia è nota al mondo da meno di un anno. Col passare del tempo e ampliando la nostra comprensione di questa malattia proteiforme, si potranno proporre un trattamento efficace per i loro sintomi che informazioni sulla loro prognosi.

Domani: parte seconda: fisiopatologia

Riferimenti:

- Frontera J et al. GCS-NeuroCOVID Study. Global Consortium Study of Neurological Dysfunction in COVID-19 (GCS-NeuroCOVID): Study Design and Rationale. *Neurocrit Care*. 2020 Aug;33(1):25-34.
- Lin JE et al. Neurological issues in children with COVID-19. *Neurosci Lett*. 2021 Jan 19;743:135567.

parte seconda:
fisiopatologia

Molti indizi ma nessuna dimostrazione diretta

Due proteine della membrana cellulare sono i principali bersagli necessari per l'invasione di SARS-CoV-2: il recettore dell'enzima di conversione dell'angiotensina 2 (ACE2) e la serina proteasi transmembrana 2 (TMPRSS2), Numerosi modelli animali hanno dimostrato che entrambe possono essere espresse all'interno del SNC in neuroni e cellule gliali sebbene il loro grado di espressione non sia chiaro.

Il lavoro trascrittomico di **Chen R** ha definito e paragonato la distribuzione spaziale del recettore SARS-CoV-2 ACE2 nell'uomo e cervello di topo. (*bioRxiv*. 2020 .030650.) una espressione bassa ma uniforme in varie regioni del *cervello umano*.

ACE2 è stato dimostrato nei *periciti vascolari* e nel *bulbo olfattivo* da **David Brann** del *Dipartimento di Neurobiologia della Harvard Medical School* (Brann DH 2020) così come nel *neuroepitelio olfattivo* da **Aakiti Gupta** *Dipartimento di Medicina Columbia University* (Gupta A 2020). In generale, ad oggi, mancano dati conclusivi dell'espressione di ACE2 nell'uomo .

L'estrapolazione da questi studi sugli animali e dalla scienza di base ha portato alla proposta di possibili meccanismi mediante i quali COVID-19 potrebbe manifestare sintomi neurologici, tra cui l'infezione diretta del sistema nervoso ed il ruolo della vascolarizzazione e le risposte infiammatorie secondarie all'infezione locale e/o sistemica . Non è noto quale di questi meccanismi possa essere predominante nei bambini.

Danno virale diretto alle cellule neurali

È stato ipotizzato che il virus invada direttamente i *nervi olfattivi* e raggiunga il sistema nervoso centrale attraverso la *lamina cribrosa* . Questo è stato dimostrato sperimentalmente per altri coronavirus, come il *Coronavirus umano OC43 (HCoV-OC43)*, che si diffonde rapidamente nel sistema nervoso centrale del topo dopo l'inoculazione intranasale, causando *encefalite* e *paralisi flaccida transitoria*. Allo stesso modo SARS-CoV-1 che ha un'omologia del **79%** con SARS-CoV-2 e

una struttura del dominio di legame al recettore molto simile, diffonde rapidamente nel cervello dei topi transgenici dopo l'inoculazione intranasale .

SARS-CoV-1 è stato identificato dai patologi del Dipartimento di Patologia, Università di Pechino in campioni di autopsie cerebrali di pazienti deceduti durante l'epidemia di SARS del 2003 (Gu J 2005).

Le ipotesi basate su meccanismi di danno al SNC da parte di altri virus ipotizzano tutti una veicolazione del virus mediante *trasporto retrogrado e anterogrado* attraverso il *trigemino* e il *vago*, la disseminazione dai leucociti infetti dopo aver attraversato la barriera emato-encefalica (BBB) e il dispiegamento dalle cellule epiteliali o endoteliali di la vascolarizzazione del SNC e la BBB dopo l'infezione

Barriera Emato Encefalica (BBB)

Lo sviluppo e il mantenimento della BBB sono supportati e regolati da *astrociti, periciti, microglia* e matrice extracellulare. La BBB e le sue unità neurovascolari costituenti cambiano sia morfologicamente che a livello molecolare con l'età . Questi cambiamenti basati sull'età rappresentano un altro potenziale meccanismo per le differenze negli effetti neurologici tra bambini e adulti.

L'effetto dell'infezione diretta da SARS-CoV-2 sulla BBB rappresenta un'interessante area di studio.

In particolare, lo sviluppo della microglia nel corso della vita può fornire informazioni sul meccanismo della neuroplasticità e del danno nell'infanzia, dato che la microglia assume un fenotipo coerente con una risposta proinfiammatoria in relazione all'età .

Vedi le considerazioni precedenti

Mentre il sistema nervoso dell'adulto è "prevalentemente" focalizzato sul controllo omeostatico delle funzioni, il "cervello pediatrico" è in continuo sviluppo e può pertanto esporre nel corso del tempo *potenziali bersagli* all'azione del virus, con probabili aperture di *finestre di suscettibilità* ai vari meccanismi infettivi e post-infettivi del danno neurologico riconducibile al COVID-19. Pertanto l'azione virale al contrario del *cervello adulto* va monitorata non soltanto nell'immediato ma in un arco temporale molto più esteso che copra tutto il neurosviluppo .

Inoltre un dato ultrastrutturale da non sottovalutare è che, i capillari degli *organi circumventricolari* sono di tipo "fenestrato" e questo potrebbe facilitare una infezione virale diretta che coinvolgerebbe i neuroni e le cellule gliali delle aree correlate.(Marshall M 2020)

Tuttavia, questo meccanismo in particolare, dovrebbe consigliare una cautela nell'interpretazione delle segnalazioni di antigeni virali all'interno dei campioni del SNC. La migrazione delle cellule immunitarie che hanno incorporato qualsiasi particella SARS-CoV-2 prima di entrare nel SNC potrebbe comportare il rilevamento di materiale virale all'interno del sistema nervoso. Pertanto, la presenza di RNA SARS-CoV-2 o frammenti proteici nel SNC non implica necessariamente proprietà neuroinvasive o neurotropiche, né causalità dei sintomi neurologici.

Liquido cerebrospinale

Al momento non esistono dati che testimoniano, al di là di ogni ragionevole dubbio, la presenza di SARS-2 rilevabile da campioni di liquido cerebrospinale. E' opportuno ricordare che i saggi quantitativi di PCR della trascrittasi inversa (qRT-PCR) per SARS-CoV-2 sono ampiamente utilizzati e hanno curve standard che indicano i limiti di rilevamento (sensibilità del 100% con 100,5 copie di RNA virale per μ L), tuttavia va notato che *questi test sono validati per l'uso in campioni respiratori e non nel liquido cerebrospinale*. Se SARS-CoV-2 è presente nel liquido cerebrospinale in pazienti

con manifestazioni neurologiche, resta da determinare se sono presenti *copie virali sufficienti per il rilevamento* ed inoltre se la puntura lombare viene eseguita in un momento ottimale per il rilevamento di queste copie virali.

Lesione endoteliale vascolare

Il COVID-19 è stato anche associato a fenomeni cerebrovascolari. Come descritto sopra, SARS-CoV-2 interagisce con i recettori ACE2 espressi sulle cellule endoteliali vascolari, che sono espressi a vari livelli nel SNC. Queste interazioni tra il virus e i recettori ACE possono innescare stati sia *pro-infiammatori* che condizioni di *pro-coagulabilità* che può favorire l'insorgenza di una vasculite con interruzione dell'integrità vascolare, favorendo l'esposizione della membrana basale struttura se esposta fortemente trombogena con conseguente attivazione della "cascata della coagulazione". Inoltre, poiché i recettori ACE-2 nel SNC regolano i sistemi simpatico-surrene, **Juan Saavedra** del National Institute of Mental Health (NIH Bethesda) ha ipotizzato che l'interferenza virale con la funzione di ACE2 nel sistema vascolare del SNC potrebbe interferire/interrompere l'autoregolazione della pressione sanguigna intracranica e sistemica (**Saavedra JM 2005**)

Mentre abbondano le segnalazioni di eventi trombotici in COVID-19, con particolare allarme sollevato per i pazienti più giovani non è chiaro se i tassi di *ictus ischemico* anche negli anziani siano notevolmente elevati dopo l'aggiustamento per altri fattori di rischio cardiovascolare convenzionali come ipertensione e diabete

Indipendentemente da ciò, questi fenomeni vascolari sono stati documentati anche in bambini e giovani adulti senza storia medica passata incluso un bambino con un ictus pontino rubricato nei registri della *Columbia University Irving Medical Center Institutional Review Board* (dati non pubblicati)..

Lesioni infiammatorie e autoimmuni

La gravità di COVID-19 e le sue conseguenze sono correlate a un'infiammazione aberrante ed eccessiva mediata dall'attivazione immunitaria innata e adattativa. Queste risposte infiammatorie para e post-infettive potrebbero potenzialmente manifestarsi come sintomi neurologici.

Si ritiene che MIS-C possa essere la conseguenza delle risposte iperinfiammatorie dopo l'infezione da SARS-2 in individui geneticamente suscettibili. Le indagini sulla MIS-C hanno riportato sintomi neurologici nel **12-58%** dei bambini affetti ma raramente hanno *approfondito i tipi di sintomi o se sono sproporzionati rispetto alla gravità della malattia*.

Sembra evidente che le risposte metaboliche e anticorpali presenti nei bambini con SARS-CoV-2 e MIS-C differiscono, con il gruppo MIS-C che mostra diversi profili infiammatori, sottotipi anticorpali e una minore attività anticorpale neutralizzante.

Il team del **Dipartimento di Patologia e Biologia Cellulare della Columbia University** ha dimostrato come i bambini con risposte ritardate all'interferone di tipo I e III (IFN) dopo l'infezione da coronavirus possono avere un rischio maggiore di sviluppare tempesta di citochine e MIS-C (**Weisberg SP 2021**)

Alti livelli di interleuchina-1 β (IL-1 β), IL-6, IL-8, IL-10, IL-17, IFN- γ e linfopenia differenziale dei sottogruppi di cellule T e B distinti dalla malattia di Kawasaki sono stati osservati nei bambini durante il fase acuta di MIS-C. Nonostante le somiglianze nella presentazione tra MIS-C e la malattia di Kawasaki, questa differenza negli immunofenotipi può spiegare le discrepanze osservate nelle suscettibilità etniche ed età tra le due malattie.

L'iperattività del sistema immunitario

che sembra caratterizzare MIS-C è associata ad alti livelli di marcatori infiammatori, come *proteina C-reattiva (CRP)*, *velocità di eritrosedimentazione*, *fibrinogeno*, *D-dimero*, *ferritina*, *IL-6* e *procalcitonina*. Alti livelli di marcatori infiammatori innati acuti sono stati associati a gravi insulti neurologici negli adulti COVID-19

Le citochine pro-infiammatorie, tra cui *IL-1β*, *IL-6*, *TNFα* e *IL-17*, possono interrompere la BBB attivare le cellule gliali e "istigare" ulteriormente la *neuroinfiammazione* portando a *ipereccitazione neuronale e convulsioni*, *disturbi funzionali*, *affaticamento*, *encefalopatia*, *perdita di sinapsi* e *persino morte neuronale* (Schwartz M 2016)

Sono emersi dati recenti che collegano il COVID-19 grave negli adulti con *autoanticorpi* contro i membri della famiglia degli *IFN di tipo I*, che hanno neutralizzato e impedito a queste citochine di legarsi ai loro recettori bersaglio. In alcuni casi, questi *autoanticorpi* erano presenti prima dell'infezione, il che implica che alcuni pazienti potrebbero avere una particolare predisposizione genetica o immunitaria al COVID-19 grave. Resta da determinare se questo meccanismo si estende ad altri fenomeni mediati da anticorpi, come il danno neurologico. Il mimetismo molecolare può svolgere un ruolo nell'autoimmunità, alcuni lavori hanno indicato che la proteina spike cross-reagisce con la proteina basica della mielina e S100B. (Rana A 2018)

La linfopenia può essere il risultato della soppressione del midollo osseo o della migrazione nei tessuti bersaglio. L'ipossia, dovuta a malattia polmonare o sistemica, può anche innescare una risposta infiammatoria del SNC senza infezione virale diretta. Possono verificarsi sequele croniche, come è stato osservato dopo precedenti pandemie virali.

Globalmente la neuroinfiammazione può far precipitare *lo stato depressivo e il disturbo da stress post-traumatico (PTSD)* sovraregolando la degradazione del triptofano, con conseguente diminuzione sequenziale del livello di 5-idrossitriptamina e serotonina, nonché disregolazione delle attività del recettore N- metil- D- aspartato (Hori H 2019)

Diafonia tra astrociti ed endotelio

La BBB è stata precedentemente menzionata nella discussione sul danno virale diretto, ma potrebbe anche essere coinvolta in modelli infiammatori delle manifestazioni neurologiche di COVID-19. ACE2 è coinvolto nella diafonia tra astrociti ed endotelio per il mantenimento della BBB attraverso la modifica post-traduzionale dell'occludina (un componente della giunzione stretta) e il suo accumulo subcellulare nelle zattere lipidiche. La microglia associata ai vasi mantiene l'integrità della BBB direttamente tramite proteine a giunzione stretta e indirettamente tramite l'interazione con i suoi componenti cellulari e non cellulari. È noto che la microglia attivata dall'infiammazione sistemica svolge un ruolo importante nell'interruzione della barriera ematoencefalica. In particolare, la BBB è coinvolta in molteplici processi fisiopatologici nelle malattie neurodegenerative e nel neurosviluppo il che implica effetti differenziali in base all'età del paziente (Sweeney MD 2019)

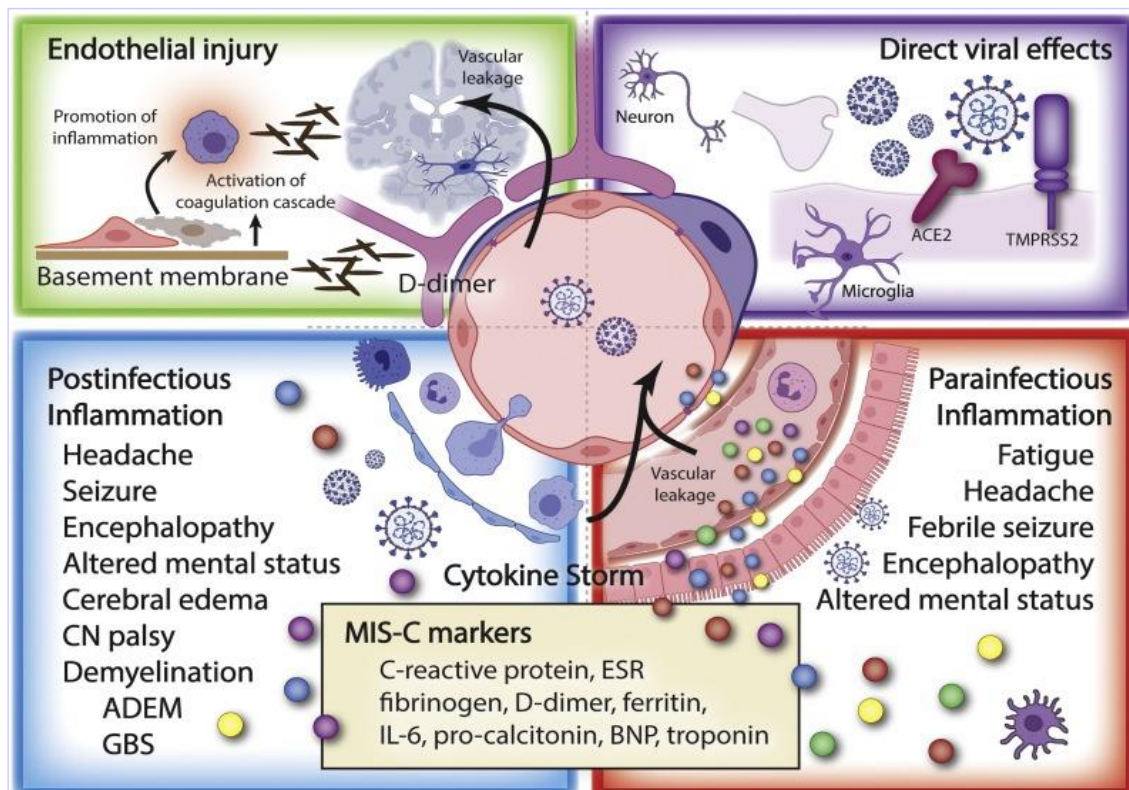
Infine come abbiamo visto pochi giorni fa (siamo sempre in attesa dei dati della J&J) va ricordata la sindrome di Guillain-Barré (GBS), una malattia demielinizzante del sistema nervoso periferico (PNS) mediata da risposte autoimmuni post-infettive, è stata associata a SARS-2 e risponde al tipico trattamento con immunoglobuline per via endovenosa.

È interessante notare che la proteina spike SARS-CoV-2 si lega alle glicoproteine e ai gangliosidi contenenti acido sialico sulle superfici cellulari. Il mimetismo molecolare tra SARS-CoV-2 e gangliosidi sui nervi periferici può portare all'autoimmunità. Anche le cellule T che reagiscono in modo incrociato con il coronavirus e la proteina basica della mielina possono contribuire alla demielinizzazione (Cataldi 2020)

Riferimenti

- Brann DH et al. Non-neuronal expression of SARS-CoV-2 entry genes in the olfactory system suggests mechanisms underlying COVID-19-associated anosmia. *Sci Adv.* 2020 Jul 31;6(31):eabc5801.
- Gupta A et al. Extrapulmonary manifestations of COVID-19. *Nat Med.* 2020 Jul;26(7):1017-1032.
- Gu J et al. Multiple organ infection and the pathogenesis of SARS. *J Exp Med.* 2005 Aug 1;202(3):415-24
- Marshall M. How COVID-19 can damage the brain. *Nature.* 2020 Sep;585(7825):342-343.
- Saavedra JM. Brain angiotensin II: new developments, unanswered questions and therapeutic opportunities. *Cell Mol Neurobiol.* 2005 Jun;25(3-4):485-512.
- Weisberg SP et al. Distinct antibody responses to SARS-CoV-2 in children and adults across the COVID-19 clinical spectrum. *Nat Immunol.* 2021 Jan;22(1):25-31.
- Schwartz M et al. Neurological Disease as a Failure of Brain-Immune Crosstalk: The Multiple Faces of Neuroinflammation. *Trends Immunol.* 2016 Oct;37(10):668-679.
- Rana A et al. The role of inflammation in the development of epilepsy. *J Neuroinflammation.* 2018 May 15;15(1):144.
- Sweeney MD ET AL. Blood-Brain Barrier: From Physiology to Disease and Back. *Physiol Rev.* 2019 Jan 1;99(1):21-78
- Cataldi M et al. Neurobiology of coronaviruses: Potential relevance for COVID-19. *Neurobiol Dis.* 2020 Sep;143:105007.
- Hori H, Kim Y. Inflammation and post-traumatic stress disorder. *Psychiatry Clin Neurosci.* 2019 Apr;73(4):143-153. doi: 10.1111/pcn.12820. Epub 2019 Feb 21. PMID: 30653780.

Il danno endoteliale, Gli effetti virali diretti sul sistema nervoso e gli effetti a valle dell'inflammazione Para e Post-infettiva



Sono le potenziali eziologie delle manifestazioni neurologiche della malattia di Coronavirus 2019 (COVID-19).

La sindrome respiratoria acuta grave coronavirus 2 (SARS-CoV-2) può attraversare il sistema nervoso centrale (SNC) attraverso una varietà di meccanismi. Il danno endoteliale può scatenare

eventi trombotici, nonché il rilascio di virus e mediatori dell'infiammazione. Il rilascio di citochine dovuto a infezione polmonare o sistemica può provocare sequele neurologiche. E l'infiammazione post-infettiva indotta da SARS-CoV-2 può innescare fenomeni autoimmuni, come la malattia demielinizzante e l'encefalopatia. La sindrome infiammatoria multisistemica nei bambini associata a SARS-CoV-2 può rappresentare uno spettro di complicanze para- e post-infettive, separate ma simili ad altre condizioni infiammatorie nei bambini note per presentare talvolta sequele neurologiche. VES (velocità di eritrosedimentazione); BNP (peptide natriuretico di tipo B); IL-6 (interleuchina 6).