

6. Aprile

## Potenziale impatto transgenerazionale delle infezioni virali in gravidanza:

### Parte Seconda

*Il bambino comincia in noi molto prima del suo inizio.  
Ci sono gravidanze che durano anni di speranza, eternità di disperazione.*

Marina Cvetaeva

#### Trasmissione transplacentare di SARS-CoV-2 e infezione fetale diretta

La trasmissione transplacentare di virus in grado di infettare il tessuto neurale può avere conseguenze durature e devastanti sullo sviluppo del cervello fetale. Un fattore chiave nella comprensione del potenziale rischio di infezione fetale è se SARS-CoV-2 acquisito dalla madre può trasmettere attraverso la placenta, la barriera fisiologica e immunologica primaria che impedisce la trasmissione virale dalla circolazione materna a quella fetale

La preponderanza delle prove fino ad oggi suggerisce che gli effetti negativi sullo sviluppo neurologico dell'infezione da SARS-CoV-2, almeno con il ceppo ancestrale e i ceppi che precedono la variante **Delta**, hanno maggiori probabilità di verificarsi tramite l'attivazione immunitaria materna e placentare e l'impatto a valle sul cervello fetale in via di sviluppo, piuttosto che tramite l'infezione fetale diretta con SARS-CoV-2 *in utero* (Shah PS 2020 )

I dati a livello di popolazione suggeriscono che i tassi di positività a SARS-CoV-2 tra i neonati nelle gravidanze esposte a SARS-CoV-2 vanno dall'1% al 3% con l'infezione placentare un evento relativamente raro. Una meta-analisi **della Sections of Reproductive Endocrinology and Infertility, Department of Obstetrics, Gynecology, and Reproductive Sciences di Yale** , ha stimato il tasso di infezione placentare al **7%** (Kotlyar AM 2020) sebbene studi prospettici abbiano identificato tassi ancora più bassi di infezione placentare

I meccanismi protettivi contro l'infezione placentare includono bassi tassi di viremia SARS-CoV-2 materna, difese immunitarie conservate al confine del **sinciziotrofoblasto** e la mancanza di un'espressione coordinata delle molecole richieste per l'attaccamento e l'ingresso di SARS-CoV-2 (ACE2 e TMPRSS2) nel sinciziotrofoblasto. Le prove a supporto dell'infezione fetale.,

**Daniel Schwartz** e **David Levitan** del rispettivamente del *Department of Pathology, Medical College of Georgia*, del *2th Department of Pathology, SUNY Downstate Medical Center di, New York (Levitan)*. ovvero particelle virali documentate nello spazio amniotico sterile o nel tessuto fetale, sono state limitate ai casi clinici (Schwartz DA 2021)

Coerentemente con il basso tasso osservato di infezione placentare e trasmissione verticale, i dati sono ora disponibili da gravidanze completate esposte a SARS-CoV-2 durante tutte le finestre di sviluppo (dal primo al terzo trimestre). Ad oggi, nessuna sindrome congenita caratteristica è emersa dopo l'esposizione prenatale a SARS-CoV-2 che suggerirebbe un'infezione fetale diretta

Allo stesso modo, gli studi di neuroimaging prenatale del **Department of Obstetrics and Gynecology and Reproductive Sciences, Health Science Center di Houston** in coorti in gravidanza non sono riusciti a identificare prove di patologia intracranica fetale grossolanamente visibile associata all'infezione materna da SARS-CoV-2, sebbene il piccolo numero di donne incluse con

malattia grave o critica rispetto a malattia lieve possa limitare la generalizzabilità di questi risultati. ( Soto-Torres 2021)

Tutti questi dati indicano l'attivazione immunitaria materna e placentare e la conseguente attivazione neuroimmune fetale come fattori primari della morbilità dello sviluppo neurologico nella prole esposta a SARS-CoV-2, piuttosto che l'infezione cerebrale placentare e fetale diretta come è stato osservato con il virus Zika o l'infezione da citomegalovirus materno

### **Potenziale vulnerabilità del cervello fetale all'infezione da SARS-CoV-2**

Nonostante i suddetti dati osservazionali contro l'infezione fetale diretta come un importante meccanismo di rischio per lo sviluppo del cervello fetale, modelli animali e cellulari hanno dimostrato il potenziale per SARS-CoV-2 di infettare direttamente il tessuto cerebrale fetale, se la barriera placentare viene violata.

Un'analisi completa dei dati di sequenziamento del cervello fetale da set di dati pubblicamente disponibili ha identificato una bassa espressione degli interattori della proteina spike (S) canonica *ACE2* e *TMPRSS2*, ma un'elevata espressione di nuovi interattori della proteina S durante la gestazione, con la massima espressione che si verifica nel secondo e terzo trimestre, indicativo di una maggiore vulnerabilità durante questa finestra di gestazione (Varma P 2021)

Prove limitate da modelli umani e animali adulti suggeriscono che il virus SARS-CoV-2 può bypassare o distruggere la barriera emato-encefalica e ottenere l'accesso al tessuto neurologico I modelli che utilizzano organoidi cerebrali con firme proteomiche simili al tessuto cerebrale fetale hanno fornito prove della capacità di neuroinvasione e neurotropismo SARS-CoV-2 per il plesso coroideo, i neuroni corticali e le cellule gliali Presi insieme, questi dati sollevano la possibilità che il neurosviluppo a livello cellulare possa essere direttamente influenzato dall'infezione prenatale con SARS-CoV-2, se le particelle virali accedono alla circolazione fetale.

### **Varianti di SARS-CoV-2 preoccupanti e potenziale rischio fetale**

Un avvertimento chiave nell'interpretazione dei dati disponibili è che le osservazioni riflettono principalmente gli effetti dei ceppi virali ancestrali, mentre meno si sa sugli effetti placentari e fetali di recenti varianti di interesse, in particolare le varianti **Delta** e **Omicron**.

È plausibile che le mutazioni associate a una maggiore fuga o trasmissibilità immunitaria possano avere un impatto sul rischio di infezione transplacentare. Sfortunatamente, il rilevamento di qualcosa di diverso da un aumento grande o improvviso della trasmissione verticale richiederà l'accumulo di dati nel tempo.

### **Esposizione alla variante prenatale SARS-CoV-2 e impatto placentare**

Prove recenti che mostrano un rischio quasi raddoppiato di natimortalità associato all'infezione materna da SARS-CoV-2, con una maggiore entità dell'associazione durante il periodo predominante del Delta della pandemia di COVID-19 ha sollevato preoccupazioni sul fatto che il SARS-CoV -2 virus stesso potrebbe essere direttamente responsabile di esiti avversi della gravidanza

Di fondamentale importanza è se l'infezione da SARS-CoV-2 della variante Delta possa influenzare in modo differenziale (i) la funzione placentare o (ii) l'integrità della barriera placentare all'infezione e quindi la suscettibilità alla trasmissione verticale e/o effetti più diretti sulla sviluppo del cervello fetale.Come notato in precedenza, l'emergere di nuovi ceppi complica le generalizzazioni sui meccanismi di rischio SARS-CoV-2.

Le infezioni della variante delta sono state collegate da **Amanda Wang** *Division of Maternal-Fetal Medicine, the University of Texas Medical Branch at Galveston, Galveston, Texas*. a cariche virali più elevate e ad un aumentato rischio di ospedalizzazioni in soggetti non gravidi rispetto alle varianti precedenti, nonché a una maggiore gravità della malattia materna in gravidanza (Wang AM, 2021)

La mutazione delta spike P681R può anche influenzare la virulenza e il tropismo tissutale aumentando la scissione della proteina S da parte della furina una proteasi della serina transmembrana ampiamente espressa sia dal sinciziotrofoblasto placentare e tessuto cerebrale fetale

Sebbene una caratteristica firma istopatologica associata all'infezione materna da SARS-CoV-2 non sia stata chiaramente identificata con il ceppo ancestrale placentite SARS-CoV-2 - la triade di intervillosite istiocitica, fibrina perivillosa e villosi necrosi trofoblastica nel contesto dell'infezione da SARS-CoV-2 - è emersa come un'entità istopatologica osservata in associazione con infezioni materne SARS-CoV-2 della variante Alpha e Delta ed è stata collegata a scarsi risultati della gravidanza, incluso il parto morto nel caso rapporti in un mega studio che coinvolto 47 claboratori

Sebbene ad oggi manchino prove definitive che colleghino la placentite SARS-CoV-2 variante Delta all'aumento del rischio di infezione fetale, queste osservazioni suggeriscono la possibilità biologica che la SARS-CoV-2 variante Delta prenatale possa portare a disfunzione placentare globale e violazione di la barriera immunitaria placentare.

### **Parto pretermine associato a SARS-CoV-2 e rischio di sviluppo neurologico**

L'esposizione prenatale a SARS-CoV-2 può anche avere un impatto sullo sviluppo neurologico della prole, contribuendo direttamente agli esiti avversi della gravidanza. Infatti, l'infezione da SARS-CoV-2 acquisita durante la gravidanza è associata ad un aumentato rischio di preeclampsia e parto pretermine esiti che sono stati indipendentemente associati al rischio di sviluppo neurologico della prole ( Pierra V 2017)

L'associazione tra SARS-CoV-2 e parto pretermine complica gli studi sul neurosviluppo, perché influisce sulla capacità di comprendere la specificità del rischio associato al virus. Se il meccanismo d'azione di SARS-CoV-2 è semplicemente quello di causare una malattia materna che, nei casi più gravi, contribuisce al parto pretermine, la prole a termine non dovrebbe sperimentare tassi elevati di sequele dello sviluppo neurologico e gli sforzi per indagare sugli effetti virali specifici è improbabile che siano necessari. Al contrario, se questo non è il caso, è di fondamentale importanza comprendere l'effetto additivo o moltiplicativo del virus stesso quando si verifica un parto pretermine nel contesto o in seguito all'infezione materna da SARS-CoV-2.

Ad oggi, solo uno studio. (*Edlow A.G., et al. Neurodevelopmental outcomes at one year in offspring of mothers who test positive for SARS-CoV-2 during pregnancy. medRxiv. 2021 doi: 10.1101/2021.12.15.21267849. Published online December 16, 2021.*) ha affrontato questa domanda e ha scoperto che l'infezione materna era ancora associata a un rischio maggiore di esiti avversi dello sviluppo neurologico a 12 mesi dopo l'aggiustamento per il parto pretermine.

Pewr quanto riguarda l'analisi dei parti a termine, l'entità del rischio era diminuita con un intervallo di confidenza al **95%** che non includeva alcun effetto, ma il rischio in termini numerici rimava "significativo". Sebbene si tratta di dati preliminari, tuttavia ciò evidenzia l'importanza di studi di follow-up ben controllati che valutino l'impatto dell'età gestazionale al momento del parto.

## **Il ruolo dei modelli cellulari nella comprensione dei meccanismi di rischio per il cervello fetale**

Ad oggi, gli sforzi per comprendere la **MIA** si sono in gran parte concentrati su studi epidemiologici umani su larga scala o su materiali biologici umani, che possono indicare rischi ma sono il più delle volte confondenti, e modelli animali di malattia, che consentono un controllo sperimentale più completo ma potrebbero non riprodurre le diverse fasi dello sviluppo cerebrale. I modelli cellulari possono collegare queste due forme investigative, in particolare a modelli che fanno uso di cellule umane primarie che possono conservare gli *effetti epigenomici* dell'ambiente e dell'infezione.

Ad esempio, cellule simili a microglia derivate dal paziente differenziate a partire dai precursori **dei monociti del sangue periferico** hanno dimostrato una fagocitosi anomala dei residui sinaptici, fornendo un potenziale meccanismo di malattia per la schizofrenia o disturbi correlati

Più recentemente, questi protocolli sono stati adattati per generare cellule simili a microglia dal sangue del cordone ombelicale fornendo un sistema sperimentale iù diretto per caratterizzare l'impatto delle esposizioni *in utero*. Un'altra strategia emergente utilizza le **cellule di Hofbauer**, che possono essere isolate dalla placenta dopo il parto e coltivate. Un vantaggio di queste cellule è che, come la microglia, sono derivate dal *sacco vitellino* e quindi possono imitare da vicino le esposizioni e i processi di sviluppo della microglia cerebrale

## **Osservazioni conclusive**

I dati disponibili dimostrano che l'infezione materna da SARS-CoV-2 può guidare l'attivazione immunitaria materna, placentare e fetale e quindi interferire con il neurosviluppo fetale.

Gli studi futuri dovranno valutare se le risposte immunitarie fetoplacentari osservate nell'infezione materna da SARS-CoV-2 sono associate a una morbilità neuropsichiatrica a lungo termine nella prole. Sebbene la maggior parte dei dati disponibili riguardi le infezioni del terzo trimestre o l'infezione attiva al momento del parto, le implicazioni dell'infezione all'inizio della gestazione sugli esiti della prole saranno fondamentali per una comprensione olistica del rischio. Un'osservazione importante è che l'attivazione immunitaria non deve necessariamente avere un impatto solo sulle cellule completamente differenziate, anzi, potrebbe influenzare anche le cellule della linea germinale migrate dal sacco vitellino.

Pertanto, è fondamentale comprendere non solo gli effetti diretti/immediati sulle cellule, ma anche gli effetti persistenti, come presunti mediatori delle conseguenze dello sviluppo neurologico. Come i tempi dell'infezione, ceppo variante, sesso fetale, altre esposizioni prenatali (p. es., condizioni cardiometaboliche materne, uso di sostanze, stress, esposizioni ambientali o a farmaci, altre infezioni in gravidanza) ed esposizioni perinatali/postnatali (p. es., neonato o bambino successivo infezione da SARS-CoV-2, stato di allattamento al seno) si intersecano per avere un impatto sullo sviluppo neurologico della prole.

## **Considerazioni**

Sebbene l'infezione placentare e la trasmissione verticale dopo l'infezione materna da SARS-CoV-2 siano entità rare fino ad oggi, gli studi preliminari suggeriscono che l'esposizione prenatale all'infezione da SARS-CoV-2 è associata a esiti avversi dello sviluppo neurologico nei bambini da **3** mesi a 1,5 anni di età.

La valutazione degli esiti dello sviluppo neurologico nei bambini esposti all'infezione materna da SARS-CoV-2 in fase prenatale a **2 anni** di età e oltre sarà fondamentale per acquisire una piena comprensione del rischio di sviluppo neurologico della prole.

L'impatto di fattori di rischio materno additivi o sinergici come l'obesità materna, il diabete o l'ipertensione, il disturbo arrecato dall'uso di sostanze materna o altre infezioni batteriche o virali

materne in gravidanza sugli esiti dello sviluppo neurologico della prole costituirà un'area importante per lo studio futuro.

### **Domande che attendono una risposta**

Quali saranno gli esiti dello sviluppo neurologico nei bambini esposti all'infezione prenatale da SARS-CoV-2 all'età di 2 anni e oltre?

Il trimestre di infezione materna ha un impatto sugli esiti dello sviluppo neurologico della prole?

L'infezione prenatale da SARS-CoV-2, che si traduce in un'infezione placentare e/o nella trasmissione verticale, ha un impatto differenziale (p. es., più grave) sugli esiti dello sviluppo neurologico della prole?

In che modo il ceppo variante e la gravità della malattia materna influiscono sul rischio di sviluppo neurologico della prole?

Qual è l'impatto del sesso fetale sul rischio di sviluppo neurologico della prole?

In che modo altre esposizioni prenatali e perinatali e l'ambiente postnatale interagiscono con l'infezione prenatale da SARS-CoV-2 per influire sul rischio di sviluppo neurologico della prole?

Come si possono sfruttare i *modelli cellulari* per comprendere il rischio di sviluppo neurologico a livello individuale e guidare interventi di precisione e/o terapeutici?

### **Riferimenti:**

- Shah PS et al. **Classification system and case definition for SARS-CoV-2 infection in pregnant women, fetuses, and neonates.** Acta Obstet Gynecol Scand. 2020 May;99(5):565-568.
- Kotlyar AM et al. **Vertical transmission of coronavirus disease 2019: a systematic review and meta-analysis.** Am J Obstet Gynecol. 2021 Jan;224(1):35-53.e3.
- Schwartz DA et al. **Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2) Infecting Pregnant Women and the Fetus, Intrauterine Transmission, and Placental Pathology During the Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) Pandemic: It's Complicated.** Arch Pathol Lab Med. 2021 Aug 1;145(8):925-928.
- Soto-Torres E et al. **Ultrasound and Doppler findings in pregnant women with SARS-CoV-2 infection.** Ultrasound Obstet Gynecol. 2021 Jul;58(1):111-120.
- Varma P et al. **Novel Targets of SARS-CoV-2 Spike Protein in Human Fetal Brain Development Suggest Early Pregnancy Vulnerability.** Front Neurosci. 2021 Jan 21;14:614680
- Wang AM et al. **Association of the Delta (B.1.617.2) Variant of Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2) With Pregnancy Outcomes.** Obstet Gynecol. 2021 Dec 1;138(6):838-841.
- Schwartz DA, Avvad-Portari E, Babál P, Baldewijns M, Blomberg M, Bouachba A, Camacho J, Collardeau-Frachon S, Colson A, Dehaene I, Ferreres JC, Fitzgerald B, Garrido-Pontnou M, Gerges H, Hargitai B, Helguera-Repetto AC, Holmström S, Irlés CL, Leijonhfvud Å, Libbrecht S, Marton T, McEntagart N, Molina JT, Morotti R, Nadal A, Navarro A, Nelander M, Oviedo A, Oyamada Otani AR, Papadogiannakis N, Petersen AC, Roberts DJ, Saad AG, Sand A, Schoenmakers S, Sehn JK, Simpson PR, Thomas K, Valdespino-Vázquez MY, van der Meeren LE, Van Dorpe J, Verdijk RM, Watkins JC, Zaigham M. **Placental Tissue Destruction and Insufficiency from COVID-19 Causes Stillbirth and Neonatal Death from Hypoxic-Ischemic Injury: A Study of 68 Cases with SARS-CoV-2 Placentitis from 12 Countries.** Arch Pathol Lab Med. 2022 Feb 10.
- Pierrat V et al **EPIPAGE-2 writing group. Neurodevelopmental outcome at 2 years for preterm children born at 22 to 34 weeks' gestation in France in 2011: EPIPAGE-2 cohort study.** BMJ. 2017 Aug 16;358:j3448.

## **Un anno fa... Baedeker/Replay del 6 aprile 2021**

*La definizione di un titolo protettivo anticorpale per un vaccino anti Sars-cov2*

Il modo differente con cui rispondiamo allo stesso immunogeno dipende da complesse variabili genetiche scarsamente comprese e in gran parte ignote. Una domanda chiave, ancora senza risposta, è se l'infezione da SARS-CoV-2 dia un'immunità protettiva contro la riesposizione, un punto cruciale quando si programma di vaccinare un considerevole numero di abitanti di una nazione ad esempio (bambini, anziani, operatori sanitari). Un vaccino è definibile "utile" se la maggior parte dei riceventi sviluppa una risposta anticorpale che supera la soglia di protezione per un periodo stimato in anni e non in alcune settimane. Sappiamo che i titoli anticorpali possono variare di oltre 100 volte tra le persone a cui sono stati somministrati vaccini con proteine dell'HIV-1 (Gilbert PB 2005) o del virus influenzale (Samson SI 2009).

Le risposte anticorpali, neutralizzanti o meno, nei confronti di vaccini a base di proteina S SARSCoV-1 e -2 e MERS-CoV variano in maniera analoga nelle varie specie testate come Macacus Rhesus (Yu J 2020) Ratto (Du L 2006) Topo (Gong Q 2020) e ovviamente nell'uomo (Folegatti PM 2020) (Koch T 2020) (Modjarrad K, 2020) Il team "americano coreano" coordinato da Kayvon Modjarrad del Walter Reed Army Institute for Research, Silver Spring, ha verificato come le risposte anticorpali possono variare notevolmente in una coorte umana. In particolare i titoli anticorpali anti-proteina S indotti in un gruppo di volontari da un vaccino a DNA MERS-CoV potevano variare da 3 a 300.000 (Modjarred K 2020). Pertanto è indispensabile definire il "drop point", ovvero il punto di caduta nell'ambito di una ampia gamma di risposte come quelle indotte dai diversi vaccini attualmente somministrati.

Al momento non sappiamo tra i valori ottenuti quale entità di una risposta anticorpale indotta dal vaccino possa proteggere gli esseri umani dall'infezione da SARS-CoV-2. I test di rechallenge SARS-CoV-2 eseguiti su primati non umani ( macacus Rhesus) eseguiti presso il Center for Virology and Vaccine Research, Beth Israel Deaconess Medical Center, Harvard Medical School sebbene siano stati misurati gli anticorpi anti-S, questi dati mostrano che l'infezione da SARS-CoV-2 induce un'immunità protettiva contro la riesposizione tuttavia non è possibile definire nessun correlato di protezione (valore soglia) né in questo studio né in studi analoghi con un disegno sperimentale simile (Chandrashekar A, 2020)

I test di rechallenge sono condotti su primati con elevate cariche virali nel tratto respiratorio superiore e inferiore, e che presentano risposte immunitarie umorali e cellulari tipiche di una polmonite virale. Dopo una clearance virale iniziale, gli animali vengono nuovamente sottoposti a trattamento con SARS-CoV-2 e hanno mostrato riduzioni della carica virale rilevata nel lavaggio broncoalveolare e nella mucosa nasale rispetto a quanto rilevato nella infezione primaria. Informazioni su titoli NAB potenzialmente protettivi possono venire dagli studi di immunoterapia passiva da campioni di plasma recuperati pazienti COVID-19 infusi in quelli con infezione in fase attiva....

**(per continuare vai al testo integrale)**