

28/29 Marzo

L'incerto confine tra "lieve" e "grave": i markers di laboratorio negli adulti e nei bambini.

Parte Prima: gli adulti

*Di confini non ne ho mai visto uno.
Ma ho sentito che esistono nella mente di alcune persone.*
Thor Heyerdahl, esploratore

I latini dicevano *ex abrupto*, noi diciamo all'improvviso di *cosa che giunge imprevista, inaspettata, senza alcun preannuncio*. La cosa che mi incute più angoscia nella tragedia della pandemia è proprio temere che una *forma lieve* di infezione da covid possa appunto all'improvviso diventare *grave* e trascinare il paziente in un precipizio senza fine che può arrestarsi solo con la morte. In questa sezione ed in quella di domani cercherò di fare il punto su le indagini di laboratorio che potrebbero avvisarci che il nostro paziente bambino, adulto o anziano sta per varcare quel confine che separa la vita dalla morte

Citochine proinfiammatorie

Dati gli alti livelli di citochine indotti da SARS-CoV-2, il trattamento per ridurre il danno polmonare correlato all'infiammazione è un momento cruciale. I pazienti COVID-19 ricoverati in terapia intensiva presentano concentrazioni più elevate di *citochine proinfiammatorie* e, cosa importante, anche una maggiore secrezione di *citochine T-helper-2 (Th2)* capaci di sopprimere l'infiammazione (Huang C 2020). Tra i vari livelli di citochine infiammatorie e chemochine valutati in diversi studi, il *fattore di necrosi tumorale alfa (TNF-α)*, la *proteina 10* indotta dall'interferone γ (IP-10), la *proteina 1 chemoattrattante dei monociti (MCP-1)*, le *chemochine* (motivo CC), *ligando 3 (CCL-3)* e *interleuchine distinte (IL)* (IL-2, IL-6, IL-7, IL-10) risultano significativamente associati alla gravità della malattia e particolarmente ricorrenti tra i casi ammessi in terapia intensiva. IL-1 e IL-8 non risultano associati alla gravità. Se analizzati attentamente, i livelli sierici di alcune interleuchine possono essere utili per discriminare tra malattia lieve e grave e possono essere usati come utili marcatori prognostici.

Parametri ematologici

Tra i parametri ematologici, la *linfopenia* è chiaramente associata alla gravità della malattia; i pazienti deceduti a causa di COVID-19 presentano una conta dei linfociti significativamente inferiore rispetto ai sopravvissuti. **Brandon Henry** del *Unità di terapia intensiva cardiaca, The Heart Institute, Cincinnati Children's Hospital Medical Center, Cincinnati* ritiene che la replezione dei linfociti può essere considerato come un fattore importante ai fini di un "recupero" (Henry 2020). Tra i leucociti i globuli bianchi, *neutrofili, eosinofili, piastrine e conta delle cellule CD8*, sono da considerare dei *predittori parziali* nella discriminazione di COVID-19 da lieve a grave infatti il loro significato resta ancora ambiguo. È stato più volte segnalato che il *fattore stimolante le colonie di granulociti (G-CSF)* risulta elevato nei pazienti in terapia intensiva ed è significativamente associato alla gravità della malattia

Considerazioni epatologiche

I pazienti con COVID-19 grave sembrano avere segni più frequenti di *disfunzione epatica* rispetto a quelli con malattia più lieve. Tra molti pazienti in terapia intensiva è stato osservato un aumento dei livelli di *alanina aminotransferasi (ALT)*, *aspartato aminotransferasi (AST)* e *bilirubina totale* (Zhang C 2020). Una concomitante infezione delle cellule epatiche con SARS-CoV-2 non può

essere esclusa poiché il **2-10%** dei pazienti con COVID-19 presenta diarrea ed è stato rilevato RNA virale sia nelle feci che nei campioni di sangue, il *Dipartimento di Chirurgia Generale, Ospedale Tan Tock Seng di Wuhan* ha ipotizzato la possibilità della presenza di un virus epatico (Yeo 2020). Tuttavia è anche probabile che qualsiasi infiammazione immuno-mediata, in particolare la *tempesta di citochine*, ma anche *l'ipossia associata alla polmonite*, possa portare a danni al fegato nei pazienti COVID-19 in condizioni critiche. (Zhang C 2020)

Proteina C-reattiva

I livelli di *proteina C reattiva* (CRP) sono aumentati nei pazienti con COVID-19 ed è stato dimostrato che i “sopravvissuti” monitorati dal *Institute of Pathology di Wuhan* avevano valori mediani di PCR di circa **40 mg / L**, mentre i deceduti avevano valori mediani di **125 mg / L**, confermando così l'esistenza di una correlazione tra gravità e prognosi della malattia (Ruan Q 2020). Altri *predittori di esito sfavorevole* includono i livelli sierici di *ferritina e lattato deidrogenasi (LDH)*. In pazienti con COVID-19 grave sono stati anche segnalati livelli elevati di *ferritina* dovuti a *linfoistocitosi emofagocitica secondaria* (sHLH) e sindrome da tempesta di citochine. Sulla base della temperatura corporea, dell'organomegalia, della citopenia delle cellule del sangue, dei *trigliceridi*, del *fibrinogeno*, dell'AST e dei livelli di *ferritina*, è stato proposto dal *Center for Inflammation and Tissue Repair, UCL Respiratory, Division of Medicine, University College London* un punteggio predittivo nell'ottica di monitorare una *linfoistocitosi emofagocitica secondaria* (Mehta P 2020)

Emostasi

Sono state osservate correlazioni di parametri di coagulazione anormali con prognosi infausta. Il laboratorio del *Dipartimento Ospedale Tongji di Wuhan* ha segnalato come i pazienti deceduti presentavano livelli significativamente più alti di *D-dimeri plasmatici e prodotti di degradazione della fibrina*, tempi di *protrombina aumentati* e tempi di *tromboplastina parziale attivata* rispetto ai sopravvissuti (Tang N, 2020). La *coagulopatia* e la *coagulazione intravascolare disseminata* sembrano essere associate ad alti tassi di mortalità. Tra i parametri della coagulazione, l'elevazione del **D-dimero > 1 ug / L** è stato il più forte predittore indipendente di mortalità. Il team di **Giuseppe Lippi** della *Sezione di Biochimica Clinica, Dipartimento di Neuroscienze, Università di Verona* ha dimostrato come i livelli elevati di *troponina cardiaca* indicanti un danno cardiaco siano anche predittivi di mortalità nei pazienti in condizioni critiche (Lippi 2020).

I parametri ematologici e di coagulazione qui riassunti e l'aumento delle reazioni infiammatorie causate da varie citochine ed enzimi epatici sono un fenomeno ricorrente nei pazienti COVID-19. Tuttavia lo stato clinico (in particolare SpO₂livelli) e le concomitanti comorbidità dei pazienti COVID-19 determinano la necessità di un ricovero in terapia intensiva, i diversi parametri di laboratorio descritti possono facilitare la valutazione della gravità della malattia. È assai probabile che il decorso della malattia sia sfavorevole se *alcuni o tutti* questi parametri vengono alterati. In particolare andrebbe attentamente valutata una **bassa conta linfocitaria, i livelli sierici di PCR, D-dimeri, ferritina, troponina cardiaca e IL-6**, che possono essere utilizzati nella stratificazione del rischio per decidere cosa fare nei pazienti ospedalizzati. Per ottimizzare ulteriormente il *processo decisionale clinico*, sono ora urgentemente necessari grandi set di dati e solide meta-analisi.

L'incerto confine tra "lieve" e "grave": i markers di laboratorio negli adulti e nei bambini.

Parte seconda: i bambini

Ad oggi non sono disponibili dati sui risultati di laboratorio nei bambini con COVID-19, che consentano un confronto con quelli degli adulti per quanto concerne i parametri delle forme "lievi" e "gravi"

Questo è dovuto non solo all'esiguo numero di osservazioni disponibili ma anche alla loro eterogeneità dovuta alle differenze tra gli studi per quanto riguarda la *misura* dei risultati, le *modalità di raccolta* dei campioni e le *metodiche utilizzate*, non sempre chiaramente riportate.

Inoltre, gli *intervalli di riferimento* e i *cut-off* utilizzati nella popolazione pediatrica, per i valori di laboratorio, sono tradizionalmente eterogenei e possono differire da istituzione a istituzione e questo può parzialmente spiegare l'eterogeneità riscontrabili per alcune misurazioni.

Poiché molti marcatori (es. indici leucocitari) sembrano essere inaffidabili per quanto riguarda la stadiazione della gravità della malattia, si evince a maggior ragione, la necessità di definire *biomarcatori affidabili* in grado di monitorare il passaggio da una forma "lieve" ad una "grave". (Henry BM 2019)

I dati riportati sono contenuti in 24 studi selezionati in quanto affidabili ammissibili, che riassumono un totale di 624 casi pediatrici con COVID-19 confermato in laboratorio, che riportano relativi a 27 diversi biomarcatori.

I dati sono stati analizzati da

Unità di terapia intensiva cardiaca,
Divisione di Nefrologia e Ipertensione,
Dipartimento di Pediatria,
Pediatric COVID-19 Open Data Analysis Group
Dipartimento di Medicina d'Emergenza,
tutti del Cincinnati Children's Hospital

in collaborazione con

Dipartimento di Statistica, Università Federale di Paraná, Curitiba, Brasile.

Sezione sul metabolismo delle lipoproteine, Sezione di medicina vascolare traslazionale, National Heart, Lung and Blood Institute (NHLBI), National Institutes of Health, Bethesda, MD, USA.

Dipartimento di Medicina di Laboratorio, Ospedale Universitario di Padova, Padova, Italia.

Sezione di Biochimica Clinica, Dipartimento di Neuroscienze, Biomedicina e Movimento, Università di Verona, Italia.

La revisione sistematica e meta-analisi sono state riportate in conformità con le linee guida PRISMA (Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analysis)

È interessante notare come il decorso della malattia nei bambini sia generalmente "lieve" rispetto a quello osservato negli adulti, per ragioni che devono ancora essere comprese. Tuttavia, sono stati segnalati casi gravi e fatali nei bambini e si prevede che purtroppo continueranno ad aumentare con la crescente diffusione nelle comunità data l'attuale prevalenza della malattia, e il quotidiano emergere di sempre nuove varianti.

La maggior parte dei dati di laboratorio sui pazienti pediatrici COVID-19 deriva da *case report* e da *studi osservazionali* di piccole dimensioni.

Un rapporto del *Shanghai Children's Medical Center, Shanghai Jiao Tong University School of Medicine, Shanghai*, ha segnalato un tasso particolarmente preoccupante di malattie gravi nei

bambini piccoli, questo stratificato per diverse sottocategorie di età riporta che le proporzioni di casi gravi e critici per fascia di età erano del **10,6%** per <1 anno, **7,3%** per 1-5 anni, **4,2%** per 6-10 anni, **4,1%** per 11-15 anni e **3,0%** per ≥16 anni (Dong Y 2020)

Bambini con sintomatologia “lieve”

Nel complesso, i bambini con malattia lieve presentano pochi cambiamenti nei principali parametri di laboratorio, in particolare:

Leucociti

La conta dei leucociti è elevata con un PPE di solo il **13%**, con un modello generale incoerente di squilibrio negli indici dei globuli bianchi (WBC) in questa categoria, rispetto agli adulti con malattia in forma “lieve”

Il raffronto tra SARS e COVID-19 lieve nei bambini, nonostante l'elevata somiglianza genetica e molecolare tra i due virus sottostanti non mostra differenze significative (Henry BM 2020)

Nell'influenza, la leucopenia è comune in ~ 1/3 dei bambini ospedalizzati. Tuttavia, se confrontato con COVID-19, si osserva un tasso simile di leucocitosi (3–10%) e neutropenia (14–26%)

CRP

La CRP non è risultata essere così frequentemente elevata nei casi lievi di COVID-19 come ci si aspetterebbe, producendo un DPI di solo il **18%**.

Nei bambini ricoverati in ospedale con l'influenza, il tasso di CRP elevata varia dal 37 al 67%)

PCT

Al contrario si riscontra un aumento del livello di PCT del **26%** di DPI, suggerendo la possibilità di un'infezione batterica secondaria nei bambini ospedalizzati con polmonite COVID-19.

Questo è più alto di quello osservato nei bambini ricoverati in ospedale con l'influenza, in cui sono stati osservati aumenti della PCT nel 6% -12%

Poiché negli adulti una PCT elevata è risultata associata a un rischio quasi 5 volte maggiore di malattia grave potrebbe essere utile monitorare in maniera sistematica i livelli di PCT nei bambini ospedalizzati con COVID-19, come potenziale biomarcatore di superinfezione batterica (polmonare o sistemica) e conseguente deterioramento clinico.

CK-MB

I livelli di CK-MB sono mediamente aumentati oltre le soglie locali in un terzo dei casi pediatrici lievi di COVID-19. Questo dato tende ad assomigliare al caso degli adulti con COVID-19, in cui il danno cardiaco acuto, dimostrato come biomarcatori cardiaci elevati, è stato segnalato come una scoperta comune associata a risultati peggiori. L'elevato livello di CK-MB può suggerire o un'*infiltrazione virale* del tessuto cardiaco, che è tra gli organi noti per esprimere il recettore virale (cioè, l'enzima di conversione dell'angiotensina 2; ACE2), o un'*ischemia cardiaca* dovuta alla frequente ed enigmatica *coagulopatia intravascolare*.

Mentre i dati sulla CK-MB presentano potenziali prove di danno cardiaco nei bambini affetti da COVID-19, biomarcatori cardiaci più sensibili e specifici, come le *troponine cardiache* (sia cTnI che T), andrebbero costantemente valutate

Recentemente, un nuovo fenomeno di *shock iperinflammatorio*, denominato **MIS-C** è stato segnalato nei bambini ed è probabilmente associato a COVID-19. In questi pazienti sono state osservate disfunzioni cardiache significative e alti livelli di troponine. La *Pediatric Intensive Care*

Unit del South Thames Retrieval Service for Children, Evelina London Children's Hospital suggerisce un monitoraggio costante delle troponine cardiache nei bambini ospedalizzati con COVID-19, come probabile indicatore di danno cardiaco in corso o imminente (Riphagen S 2020)

LDH-Enzimi epatici

Dall'analisi per sottogruppi di bambini con COVID-19 lieve per età, nei neonati (cioè <1 anno) "lievi" si rileva un aumento della *conta leucocitaria*, dei livelli di *LDH* e degli *enzimi epatici*. Ciò potrebbe riflettere un carico virale più elevato in questa fascia di età, dato che è stato segnalato che i bambini presentano un rischio maggiore di sviluppare malattie gravi. È importante sottolineare che è stata segnalata una bassa eterogeneità confrontando i valori di laboratorio tra diversi gruppi di età, suggerendo così che l'età può spiegare alcune delle differenze osservate tra le varie variabili di laboratorio.

Sesso

Poiché è stato segnalato che i maschi mostrano una maggiore gravità e mortalità con COVID-19 rispetto alle femmine in tutti i gruppi di età, sono state fatte diverse ipotesi per spiegare questa discrepanza specifica del sesso come differenze nell'espressione di ACE2, risposte immunitarie eterogenee, presenza di co-morbidità e variabilità degli ormoni sessuali; è disponibile anche un'analisi dei sottogruppi per sesso allo scopo di verificare tali discrepanze nella popolazione pediatrica (Vikse G 2020). Paradossalmente, le analisi aggregate hanno mostrato che le bambine hanno effettivamente una conta leucocitaria e dei neutrofili più elevata, nonché livelli di LDH, rispetto ai maschi. Tutti gli altri parametri presentano differenze basse o non significative tra i sessi.

Bambini con sintomatologia "grave"

Nonostante i dati limitati su questa categoria di pazienti, è tuttavia possibile segnalare alcune tendenze significative. In primo luogo, a differenza del caso degli adulti con COVID-19 grave che mostrano linfopenia significativa, nei bambini con COVID-19 grave è stata osservata una frequenza quasi uguale di *conte linfocitarie* aumentate e diminuite, con la maggior parte con conte normali. In un'analisi limitata dei sottogruppi di linfociti T, il **44%** dei pazienti ha mostrato un aumento della conta delle *cellule CD4 +*. Poiché la linfopenia e la disregolazione immunitaria possono influire sulla gravità della malattia, le differenze tra bambini e adulti richiedono ulteriori indagini. Il team di **Brandon Henry** ha ipotizzato che l'iperinfiammazione e squilibrio del sistema renina-angiotensina-aldosterone in COVID-19 siano alla base di una *iper percoagulopatia* clinicamente sospetta e di una *immunotrombosi microvascolare* (Henry BM 202°) soprattutto perché SARS-CoV-2 è stato trovato in grado di infettare direttamente i linfociti T, e questo potrebbe essere il meccanismo alla base di questa linfopenia (Henry BM 2020)

È stato dimostrato che la *linfopenia* negli adulti è correlata all'aumento del rischio di mortalità ospedaliera, mentre questa associazione deve ancora essere testata nei pazienti pediatrici. Tuttavia, può essere possibile che la relativa immaturità del sistema immunitario nei bambini piccoli, spieghi le differenze nella suscettibilità virale o nella risposta all'infezione. Una analisi complessiva conclude che gli indici leucocitari non sembrano essere indicatori affidabili della gravità della malattia nei bambini.

I bambini con COVID-19 grave hanno mostrato tendenze piuttosto coerenti di livelli elevati di *LDH*, *CRP* e *PCT*, simili a quanto è stato riportato nei pazienti adulti con COVID-19.

Inoltre, sono state osservate tendenze di D-dimero e PT elevati nei bambini con COVID-19 grave, sebbene queste variabili non siano state misurate in modo coerente nei vari studi. Tuttavia, questi

si sovrappongono anche ai risultati riportati in pazienti adulti, che sono stati indicati come marker dello stato di ipercoagulabilità recentemente evidenziato nei pazienti con malattia grave.

Vale la pena ricordare che ulteriori informazioni su altri biomarcatori che possono aiutare nella prognosi di COVID-19, come *l'IL-6 e i livelli di ferritina sierica*, che sembrano rimanere limitati nei bambini.

Solo due studi hanno riportato dati su IL-6 in COVID-19, nessuno ha riportato dati sulla ferritina sierica. Da notare, *l'IL-6* era aumentata solo nel **37,5%** dei casi pediatrici gravi. Ulteriori studi dovrebbero quindi incorporare misurazioni di **IL-6**, dato che questo biomarcatore è comunemente elevato nelle infezioni virali del tratto respiratorio e forse gioca un ruolo importante nella tempesta di citochine osservata con la malattia, che può coinvolgerlo nella stratificazione del rischio.

Nei bambini di età <5 anni con polmonite grave che richiedono ventilazione meccanica, un aumento dell' *IL-6* è infatti associato ad un aumento della mortalità.

È interessante notare che i livelli di *IL-10* erano elevati *nel 75% dei casi gravi riportati* in due studi inclusi.

IL-10 è una *citochina antinfiammatoria* che ad alti livelli può contribuire o riflettere uno stato di immunoparalisi nei bambini in condizioni critiche, aumentando il rischio di infezioni nosocomiali secondarie (Allen ML 2020) .

Ciò supporta ulteriormente l'importanza del monitoraggio in serie dei livelli di PCT nei bambini ospedalizzati con malattia grave. Anche l'uso di *IL-10* come misura della gravità della malattia pediatrica dovrebbe essere ulteriormente approfondito.

Conclusioni

Nonostante il numero crescente di casi pediatrici di COVID-19, si sa poco sui profili di laboratorio di questi pazienti. Sulla base dei dati disponibili fino ad oggi in letteratura, le alterazioni degli indici leucocitari sembrano essere per lo più incoerenti nei bambini, a differenza del caso degli adulti con COVID-19. Pertanto, [gli indici leucocitari nei bambini non sembrano essere indicatori affidabili della gravità](#) della malattia.

È fondamentale la valutazione dei livelli [di CRP, PCT e LDH](#), per monitorare il decorso della malattia nei bambini ospedalizzati con COVID-19.

Infine, livelli elevati di [CK-MB](#) nei bambini con COVID-19 lieve suggeriscono la possibilità di [danno cardiaco](#), evidenziando l'importanza del monitoraggio dei biomarcatori cardiaci nei pazienti ospedalizzati e la necessità di ulteriori indagini in studi futuri.

Riferimenti

Henry BM et al. **Laboratory abnormalities in children with mild and severe coronavirus disease 2019 (COVID-19): A pooled analysis and review.**

Clin Biochem. 2020 Jul;81:1-8.

Dong Y et al. **Epidemiology of COVID-19 Among Children in China.** Pediatrics. 2020 Jun;145(6)

Riphagen S et al. **Hyperinflammatory shock in children during COVID-19 pandemic.**

Lancet. 2020 May 23;395(10237):1607-1608.

Vikse G et al **I fattori immunobiologici sesso-specifici e le differenze nell'espressione di ACE2 spiegano l'aumento della gravità e della mortalità di COVID-19 nei maschi ?**, Diagnosis. (2020)

Henry BM et al **Hyperinflammation and derangement of renin-angiotensin-aldosterone system in COVID-19: A novel hypothesis for clinically suspected hypercoagulopathy and microvascular immunothrombosis.** Clin Chim Acta. 2020 Aug;507:167-173.

Allen ML et al **Interleukin-10 and its role in clinical immunoparalysis following pediatric cardiac surgery.** Crit Care Med. 2006 Oct;34(10):2658-65.

Velavan TP et al. **Mild versus severe COVID-19: Laboratory markers.** Int J Infect Dis. 2020 Jun;95:304-307.

Huang C et al. **Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan,** Lancet. 2020 Feb 15;395(10223):497-506.

Henry BM. **COVID-19, ECMO, and lymphopenia: a word of caution.** Lancet Respir Med. 2020 Apr;8(4):e24.

Zhang C et al. **Liver injury in COVID-19: management and challenges.** Lancet Gastroenterol Hepatol. 2020 May;5(5):428-430.

Yeo C et al **Enteric involvement of coronaviruses: is faecal-oral transmission of SARS-CoV-2 possible?** Lancet Gastroenterol Hepatol. 2020 Apr;5(4):335-337.

Ruan Q et al. **Clinical predictors of mortality due to COVID-19 based on an analysis of data of 150 patients from Wuhan, China.** Intensive Care Med. 2020 May;46(5):846-848.

Mehta P et al **COVID-19: consider cytokine storm syndromes and immunosuppression.** Lancet. 2020 Mar 28;395(10229):1033-1034.

Tang N et al. **Abnormal coagulation parameters are associated with poor prognosis in patients with novel coronavirus pneumonia.** J Thromb Haemost. 2020 Apr;18(4):844-847.

Lippi G et al. **Cardiac troponin I in patients with coronavirus disease 2019 (COVID-19): Evidence from a meta-analysis.** Prog Cardiovasc Dis. 2020 May-Jun;63(3):390-391.