

**10 marzo 2021**

## **Lo “scudo anti-COVID “ dei bambini : il timo**

### **Premessa**

Gli adulti con COVID-19 di solito, nella fase iniziale della malattia, vanno incontro ad una diminuzione progressiva del numero assoluto di linfociti del sangue periferico .In particolare i *linfociti T* mostrano una diminuzione nei sottogruppi di cellule *T CD4 +* che *CD8 +* , inoltre il rapporto tra *neutrofili e linfociti* è un utile indicatore precoce e affidabile di

una evoluzione dell'infezione verso una forma grave, quasi come se il virus “consumasse” il pool linfocitario .

I casi gravi negli adulti di solito progrediscono in 7-10 giorni dopo l'insorgenza della malattia, probabilmente a causa della rapida replicazione del virus, dell'infiltrazione di cellule infiammatorie e di una maggiore risposta di citochine proinfiammatorie e chemochine, che porta rapidamente alla sindrome da *distress respiratorio acuto (ARDS)*.

Nei bambini, tuttavia, la conta dei globuli bianchi e la conta assoluta dei linfociti resta bassa, e generalmente non si verifica alcuna deplezione linfocitaria, suggerendo una minore disfunzione immunitaria a seguito infezione da SARS-CoV-2. Ricordo che l'influenza può causare più ARDS negli adulti, ma molto meno nei bambini.

**Qing Cao** del *Dipartimento di malattie infettive, dell'Università di Shanghai* sottolinea come pur avendo un alto tasso di mortalità negli adulti, il SARS-CoV e il MERS-CoV e SARS-CoV-2, non hanno causato decessi nei pazienti pediatrici presentandosi in forma lieve (Cao Q 2020)

**Lee PI** del *Il Dipartimento di Pediatria, Ospedale pediatrico della National Taiwan University* nel lavoro **“Are children less susceptible to COVID-19?”** ricorda che storicamente, epidemie come l'influenza spagnola, la poliomielite paralitica e lo stesso Sars-cov-2 hanno dimostrato di avere effetti lievi sui bambini.

Sono state fornite più spiegazioni per capire il motivo per cui bambini e giovani cinesi sono stati protetti nelle tre recenti epidemie di coronavirus. Di volta in volta sono state proposte ipotesi diverse che vanno da una minore attività all'aperto, a un esiguo numero di viaggi internazionali (i bambini non sono certamente dei frequent flyer ), e in particolare, ad una minore espressione del recettore dell'enzima di conversione dell'angiotensina-2 (ACE2) (Lee PI 2020).

Quando un anno fa ho letto questi dati di fronte alla domanda **“perché i bambini no ? “** non essendo un addetto ai lavori, ho sempre dato la risposta più semplice, per me ovvia e scontata essendo un “istologo seriale”: **“Perchè i bambini hanno il timo e gli adulti no!”**

Quando a Giugno **Wilson Savino** del laboratorio di ricerca sul timo del dipartimento di immunologia, *Istituto Oswaldo Cruz, di Rio de Janeiro* ha pubblicato **The thymus is a common target organ in infectious diseases** ho ripreso i miei appunti e dopo circa tre mesi di peregrinazioni in banche dati sto buttando giù questo draft finalizzato a dare una risposta ai quesiti dei miei amici pediatri e anche a me stesso. Adesso, alla luce della maggior aggressività delle varianti nei confronti dei bambini e adolescenti, mi sembra opportuno discutere il ruolo svolto dal timo nell'infezione da Sars-cov-2 (work in progress...)

## 1-Il timo dall'immunità innata a l'immunità adattativa

Nella storia naturale di una infezione virale "standard", il contatto dell'agente patogeno con la mucosa è inizialmente seguito da una risposta *immunitaria innata* (Macrofagi, natural killer) dove l'obiettivo è eliminare drasticamente il patogeno nella fase iniziale. Successivamente subentra *l'immunità adattativa*, responsabile dell'eliminazione delle cellule infette, ma anche dell'attivazione della risposta anticorpale e della produzione di cellule T memory.

I *linfociti T* sono l'elemento decisivo primario nella capacità di *immunità adattativa*. Per questo motivo, la risposta *immunitaria adattativa mediata dal timo* è "il processo" che regola la risposta immunitaria responsabile della prevenzione del danno invasivo da virus. Pertanto, il timo diventa di fatto l'organo più influente nella trasmissione della malattia virale ( Savino W 2006)

## 2- La produzione di linfociti T

Il timo è un organo *linfoide primario*, in grado di produrre *cellule T mature* destinate a colonizzare gli organi *linfoidi secondari*, ed è quindi essenziale per il rinnovamento delle cellule T periferiche.

*Il timo è la ghiandola in cui avviene la maturazione dei linfociti T. È composto da due lobi di dimensioni differenti connessi tra loro da tessuto connettivo e rivestito da una sottile capsula fibrosa. La corteccia della ghiandola è densa di timociti, ovvero le cellule che rappresentano i diversi stadi di maturazione dei linfociti T compresi tra le cellule linfoidi "neonate" provenienti dal midollo osseo e i linfociti T giunti a maturazione completa. La parte interna di questa ghiandola, costituita da due regioni midollari che si continuano l'una nell'altra, contiene invece linfociti maturi e cellule epiteliali secernenti ormoni (timostimolina, timopoietina, timopentina, timosina, ecc).*

La produzione dei *linfociti T* da parte del timo inizia nella vita embrionale, intorno all'ottava settimana di gestazione. L'attività di questa ghiandola, fondamentale per garantire le difese immunitarie all'organismo, si riduce con il tempo.

E'a partire dalla pubertà che inizia a regredire fino a ridursi, in età adulta, alla produzione di una piccola quantità di *linfociti T* il cui rinnovamento continua a essere effettuato negli organi linfatici periferici.

La funzione principale del timo è quella di garantire la *maturazione* delle cellule T. Una volta acquisita la competenza immunitaria mediante la completa maturazione, queste cellule migrano attraverso il circolo sanguigno nei centri linfatici periferici (milza e linfonodi). Dai centri periferici si muovono poi verso i siti di presenza degli antigeni (ovvero di quelle sostanze capaci di indurre reazioni del sistema immunitario) liberando fattori citotossici (cioè tossici per le cellule) e attivatori dei macrofagi (cellule dalle attività fagocitarie).

Il normale sviluppo e la migrazione dei timociti possono essere alterati nel corso di una malattia infettiva. Una caratteristica comune è la *grave atrofia dell'organo* infetto, principalmente a causa dell'esaurimento correlato all'apoptosi dei timociti CD4 + CD8 + immaturi.

Inoltre, la proliferazione dei timociti è spesso ridotta. Anche il microambiente timico è interessato, in particolare nelle malattie infettive acute, con una parziale involuzione della rete epiteliale e contemporaneo incremento della matrice extracellulare connettivale.

Una varietà di agenti infettivi - inclusi virus, protozoi e funghi - possono invadere e colonizzare il timo, ipotizzando l'idea di una *tolleranza immunologica centrale* per almeno alcuni degli antigeni

derivati da agenti infettivi. Il timo è coinvolto in una varietà di infezioni e che questo targeting può avere conseguenze sul comportamento dei linfociti T periferici. ( Savino W 2006)

### 3-Il timo dell'adulto e dell'anziano

Il timo, molto attivo già nel periodo intrauterino e neonatale; inizia a ridurre la sua attività dopo la nascita, progressivamente fino all'adolescenza. Il timo diminuisce sia in funzione che in attività con l'avanzare dell'età (Gruver AI 2007)

L' *aging timico* è un processo complesso che influisce negativamente sullo sviluppo delle reazioni immunitarie. I meccanismi alla base di questi difetti legati all'età sono ampi e vanno da anomalie maturative nel midollo osseo ematopoietico a difetti nella migrazione e della maturazione e funzione dei *linfociti periferici*.

Il timo in qualità di *organo linfoide centrale* è responsabile della produzione di *linfociti T naïve*, che svolgono un ruolo centrale nel mediare l'immunità sia cellulare che umorale. Si ritiene che *l'involuzione timica programmata* sia uno dei principali fattori che contribuiscono alla perdita della funzione immunitaria con l'aumentare dell'età e che *l'atrofia timica* sia la conseguenza del passaggio da un microambiente stimolatorio a uno soppressivo con conseguenze evidenti in particolare nella produzione delle citochine

L' *immunosenescenza* si accompagna ad una aumentata suscettibilità a malattie autoimmuni, infezioni e cancro I linfociti T regolatori (T-reg) con perdita della funzione e difficoltà nel controllo della risposta immunitaria, aumento dell'infiammazione (Corder B 2015)

L'esame clinico e patologico dei casi di malattia da coronavirus (COVID-19) ha mostrato una *tempesta citochimica* associata a una risposta immunitaria disregolata, responsabile di provocare un esteso danno ai tessuti causato da una risposta immunitaria fuori controllo indotta dal virus (Qin C 2020)

Il quadro clinico nei pazienti di età pari o superiore a 50 anni può essere dovuta a una risposta antivirale carente, irregolare e incontrollabile a seguito dell'involuzione del timo e della concomitante immuno senescenza. Fattori importanti per ottenere una risposta immunitaria adeguata sono un aumento dell'attività del timo e dell'azione dei linfociti T insieme alla coordinazione del sistema immunitario.

I casi gravi di COVID-19 consistono in linfopenia, in particolare perdita di cellule T (Shi H 2020). Il meccanismo principale responsabile della linfopenia è in particolare il gruppo di cellule T linfociti (CD 26) che vengono prese di mira dal coronavirus, con conseguente apoptosi di queste cellule e compromissione del sistema immunitario (Chu H, 2014, Zhou J 2014)

Il timo dei bambini è in grado di sostituire le cellule T distrutte all'apoptosi; tuttavia, questa funzione si perde nei pazienti più anziani. Una maggiore attività del timo e la funzione dei linfociti T nei bambini li proteggono dalle malattie autoimmuni, dalle infezioni virali e dal cancro. La ricerca ha mostrato un aumento del tasso di mortalità in bambini con ridotte dimensioni del timo (Garly ML 2008)

Quando si esaminano i casi critici COVID-19 in letteratura, il *genere maschile* sembra essere più esposto. E' stato ipotizzato che ciò sia dovuto al maggiore uso di tabacco e all'espressione del recettore dell'enzima di conversione dell'angiotensina-2 (ACE2) (Zhou F 2020). La letteratura

riporta anche come l'involuzione timica sia più evidente nei maschi rispetto alle femmine (Drabkin 2018)

Questa differenza nell'involuzione timica indica che nei maschi l'immunosenescenza sia più marcata e questo spiegherebbe il peggioramento clinico nei maschi. Il motivo per cui le femmine sperimentano un tasso relativamente più basso di involuzione timica sembra sia dovuto ai loro livelli più elevati di *leptina*. Alcuni studi hanno dimostrato che la leptina protegge il timo dall'atrofia (Zang Y 2017)

Si deduce che stimolare e prevenire l'inibizione del timo possa essere una valida strategia contro le infezioni da COVID-19.

**In questo contesto potrebbe giovare l'impiego di potenziali citochine stimolanti il timo**

*l'interleuchina-7 umana IL-7*

*il fattore di crescita dei cheratinociti,*

*la linfopoietina stromale timica,*

*il fattore di crescita dei cheratinociti,*

*la leptina*

**molecole con attività antiossidante**

*vitamina C ad alto dosaggio,*

*integratori di zinco per via orale*

*antagonista del recettore dell'ormone di rilascio dell'ormone luteinizzante,*

*grelina*

**somministrazione sistemica di un prodotto di fusione del fattore stimolante le colonie dei granulociti macrofagi (GM-CSF)**

**Inoltre, possono essere utilizzati anche agenti che inibiscono le citochine che sopprimono il**

*il fattore di crescita trasformante  $\beta$  (TGF),*

*l'oncostatina M (OSM)*

*il fattore inibitorio della leucemia*

## Considerazioni e conclusioni

La risposta *immunitaria adattativa* mediata dal timo è un processo che regola la risposta immunitaria responsabile della prevenzione del danno invasivo da virus. I *linfociti T regolatori (T-reg)* sono attivi durante i primi periodi di vita e hanno ruoli precisi nell'immunomodulazione.

Il timo, molto attivo nel periodo intrauterino e neonatale, inizia a ridursi dopo la nascita e questa involuzione continua la sua attività fino all'adolescenza. La perdita della *funzione T-reg* correlata con l'età comporta difficoltà nel controllo della risposta immunitaria, aumento dell'infiammazione come mostrato nella malattia da coronavirus (COVID-19) attraverso la "tempesta infiammatoria".

Inoltre, il timo è in grado di sostituire le cellule T distrutte dall'apoptosi causata dal virus, funzione fondamentale nel bambino che diminuisce progressivamente nell'anziano. Si può affermare che il timo e le cellule T sono fattori cruciali nella patogenesi di SARS-CoV-2 nei bambini.

L'attività del timo e la funzione dei linfociti T nei bambini rappresentano un vero e proprio "scudo protettivo" che li protegge dall'attacco del Sars-cov-2.

Stimolare e mantenere le funzioni basali timiche può costituire una inesplorata strategia anti covid insieme al controllo della involuzione timica, possono essere possibili componenti del trattamento contro COVID-19.

L'efficace attività del timo e la funzione dei linfociti T nei bambini ,molto probabilmente sono uno dei fattori di protezione dall'infezione invasiva SARS-CoV-2. Stimolare e mantenere le funzioni base timiche può costituire una inesplorata strategia anti covid

## Riferimenti

- Güneş H et al. What chances do children have against COVID-19? Is the answer hidden within the thymus? *Eur J Pediatr.* 2020 Oct 13:1–4.
- Cao Q et al.SARS-CoV-2 infection in children: Transmission dynamics and clinical characteristics. *J Formos Med Assoc.* 2020 Mar;119(3):670-673.
- Lee PI et al.Are children less susceptible to COVID-19? *J Microbiol Immunol Infect.* 2020 Jun;53(3):371-372.
- Gruver AL et al,Immunosenescence of ageing. *J Pathol.* 2007 Jan;211(2):144-56.
- Coder B et al.Thymic involution beyond T-cell insufficiency. *Oncotarget.* 2015 Sep 8;6(26):21777-8.
- Qin C et al Dysregulation of Immune Response in Patients With Coronavirus 2019 (COVID-19) in Wuhan, China. *Clin Infect Dis.* 2020 Jul 28;71(15):762-768.
- Shi H et al.Radiological findings from 81 patients with COVID-19 pneumonia in Wuhan, China: a descriptive study. *Lancet Infect Dis.* 2020 Apr;20(4):425-434.
- Chu H et al. Productive replication of Middle East respiratory syndrome coronavirus in monocyte-derived dendritic cells modulates innate immune response. *Virology.* 2014 Apr;454-455:197-205.
- Zhou J et al. Active replication of Middle East respiratory syndrome coronavirus and aberrant induction of inflammatory cytokines and chemokines in human macrophages: implications for pathogenesis. *J Infect Dis.* 2014 May 1;209(9):1331-42.
- Garly ML et al. Thymus size at 6 months of age and subsequent child mortality. *J Pediatr.* 2008 Nov;153(5):683-8, 688.e1-3.
- Zhou F et al Clinical course and risk factors for mortality of adult inpatients with COVID-19 in Wuhan, China: a retrospective cohort study. *Lancet.* 2020 Mar 28;395(10229):1054-1062.
- Drabkin MJ et al. Age-stratified Patterns of Thymic Involution on Multidetector CT. *J Thorac Imaging.* 2018 Nov;33(6):409-416.
- Zhang Y et al. Leptin Function and Regulation. *Compr Physiol.* 2017 Dec 12;8(1):351-369.
- Savino W. The thymus is a common target organ in infectious diseases. *PLoS Pathog.* 2006 Jun;2(6):e62.

## Appendice: A proposito del TIMO

Le cellule epiteliali timiche (TEC) si organizzano a formare un reticolo tridimensionale che viene poi riempito dai linfociti. Per via di questa infiltrazione linfatica le cellule epiteliali vengono allontanate e prendono una forma ramificata o stellata e rimangono adese le une alle altre tramite desmosomi alle estremità delle ramificazioni.Vanno a costituire un reticolo nella corticale esterna dell'organo, poi, man mano che si scende verso la corticale interna si fanno sempre più voluminose e con prolungamenti più corti e spessi.

Nella zona corticale più esterna, presentano invaginazioni citoplasmatiche in grado di ospitare diversi linfociti. In questo contesto, vengono chiamate cellule nutrici (o nurse cells riuscendo a occuparsi di 40-20 linfociti T e producendo Il-7 una citochina indispensabile indispensabile per la

proliferazione dei linfociti stessi. Sono cellule grandi, con nuclei voluminosi e poco colorabili e un citoplasma acidofilo (per questo e per i numerosi linfociti nei preparati di microscopia ottica non sono facilmente visibili). Le cellule epiteliali midollari timiche (TMEC) invece, sono una sottopopolazione specializzata nel presentare antigeni self ai linfociti T in maturazione, determinante per i fenomeni di selezione. hanno la particolarità di esprimere AIRE, una proteina nucleare che permette l'espressione di numerosi geni tessutipecifici (cioè geni che sono normalmente espressi in altre parti dell'organismo e non sarebbero ritrovabili nel timo). Questa caratteristica permette alle cellule epiteliali di esprimere antigeni ai linfociti T e di applicare la selezione positiva. Le cellule possiedono nuclei di grandi dimensioni poco colorabili e un citoplasma basofilo

**I linfociti presenti nel timo**, chiamati anche timociti provengono dal midollo osseo e subiscono notevoli cambiamenti all'interno dell'organo. Il ruolo del timo è quello di permettere la maturazione dei linfociti T attraverso eventi di selezione. La maturazione ha inizio nella corticale e si sposta progressivamente nella midollare. I linfociti T alloggiati nel reticolo delle nurse cells sono tondeggianti, con un nucleo tondo e intensamente basofilo e costituiscono circa il 90% delle cellule presenti nel timo. Si possono distinguere anche diversi linfociti T apoptotici, derivanti dal processo di selezione operato dalle nurse cells, che, come nei linfonodi, ne eliminano il 95-98%. Inferiormente allo strato sottocapsulare di cellule epiteliali, sono presenti numerosi linfoblasti, progenitori dei linfociti T che si addentrano nella corticale per essere "allevati" dalle nurse cells. Spostandosi verso la corticale interna del timo si trovano linfociti T sempre più differenziati, che hanno superato il processo di selezione positiva operato dalle nurse cells e hanno quindi riconosciuto MHC I o MHC II, divenendo o linfociti CD4 helper o CD8 citotossici, i linfoblasti risultavano infatti cellule doppiamente positive (esprimono sia CD4 sia CD8). Tutte le cellule doppiamente negative, che non esprimono quindi nessuno dei due, vengono distrutte. I timociti corticali sono altamente sensibili alle radiazioni e ai glucocorticoidi

Un'elevata esposizione in vivo di glucocorticoidi causa l'apoptosi di un gran numero di timociti. I vasi che entrano nel timo seguono i setti per arrivare nella midollare dove si ramificano. La corticale, invece, è irrorata da arteriole che decorrono nella giunzione fra midollare e corticale. Dai capillari che si formano e dalle venule corticali nascono le vene della giunzione che sfociano poi nelle vene della midollare. Nel timo sono presenti, come caratteristica comune agli organi linfoidi, le venule a endotelio alto, HEV

I capillari e i vasi sono avvolti da strati di cellule epiteliali permettendo la formazione di una barriera ematotimica che sembra servire a proteggere i timociti all'esposizione inappropriata di antigeni. Tale barriera, più spessa e impervia nella corticale, risulta essere incompleta nella giunzione corticomidollare.

Tutte le cellule timiche non linfoidi, infine, sono produttrici di citochine o chemochine indispensabili per lo sviluppo dei timociti. Le cellule epiteliali corticali producono IL-7. Le cellule corticali, in generale, producono la chemochina CCL25 che, legando il recettore CCR9 presente sui progenitori dei timociti li richiama alla corteccia timica. Le chemochine CCL21 e CCL19, invece, sono prodotte a livello midollare e servono a indirizzare i timociti in maturazione che abbiano cominciato a esprimere il recettore CCR7 e, quindi, a poter migrare più internamente nell'organo