

“Neurotropismo” del COVID-19. Possibili effetti diretti del virus sul SNC e periferico e loro impatto sull'evoluzione della SM - *Learning dal real world*

Roberto Marziolo

Centro Diagnosi e Cura delle Malattie Demyelinizzanti, Azienda Ospedaliera “Cannizzaro”, Catania

Introduzione

Nel dicembre 2019 è comparsa una nuova malattia epidemica nel mercato del pesce all'ingrosso a Wuhan, provincia di Hubei, in Cina. Si è mostrata da subito essere una patologia infettiva, su base virale, caratterizzata da un'infezione del tratto respiratorio superiore a rapida evoluzione che può evolvere in polmonite bilaterale ed infine in insufficienza respiratoria⁽¹⁾. L'agente eziologico è stato identificato in un nuovo coronavirus che è stato denominato SARS-CoV-2 (*Severe Acute Respiratory Syndrome CoronaVirus 2*), mentre la malattia è stata chiamata COVID-19 (*COronaVirus Disease 19*)⁽²⁾. Purtroppo si è rapidamente diffusa dal suo nucleo originario di Hubei e dall'11 marzo 2020 l'OMS l'ha dichiarata pandemica. Dal 23 giugno 2020, il COVID-19 ha colpito 188 Paesi in tutto il mondo, con un bilancio, a fine agosto 2021, di 213 milioni di persone infettate dal virus ed un numero di vittime pari a 4,5 milioni⁽³⁾.

Sin dall'inizio della pandemia, i medici ed i ricercatori si sono resi conto che l'infezione si evolve in almeno

tre fasi: la prima con comparsa di tosse, febbre, respiro sibilante, senso di spossatezza e fatica, mal di testa, diarrea e dispnea, condizioni che ricordano un'infezione del tratto superiore delle vie respiratorie. La seconda con la rapida comparsa di polmonite bilaterale che comporta lo sviluppo di infiltrati polmonari e successiva insorgenza di ipossiemia di grado variabile e, in ultimo, la terza fase, in cui alcuni pazienti sviluppano un'insufficienza respiratoria con conseguenze mortali⁽⁴⁾.

Circa l'80% delle persone con infezione da SARS-CoV-2 manifesta una forma asintomatica o una malattia da lieve a moderata, per lo più limitata ad un interessamento infiammatorio a carico delle vie aeree superiori. Il restante 20% sviluppa un'infezione sintomatica che richiede il ricovero ospedaliero e, di questi, il 5% richiederà un supporto ventilatorio nelle Unità di Terapia Intensiva (UTI). Le fasi cliniche dell'infezione riflettono gli eventi patogeni sin da quando il virus riesce a penetrare nei polmoni.

Le manifestazioni cliniche e gli eventi patogeni di qualsiasi malattia

infettiva, ed in particolare quelle sostenute dal COVID-19, dovrebbero sempre essere viste nell'ottica dell'interazione che si instaura tra l'ospite, che oppone resistenza all'infezione, e la virulenza dell'agente patogeno. In questo complesso rapporto, estremamente instabile, diversi fattori possono ribaltare l'evoluzione verso l'uno o l'altro dei contendenti⁽⁵⁾. Pertanto, a volte l'agente patogeno può essere un semplice promotore, più che un vero e proprio perpetratore di danni e pertanto diventano le forze dell'ospite, svincolate dalla presenza o meno del patogeno, le principali protagoniste che, in definitiva, sono in grado di causare danni ai tessuti e agli organi.

SARS-CoV-2 è un β -coronavirus precedentemente sconosciuto alla Comunità internazionale che mostra l'88% di identità con le sequenze di due coronavirus simili alla SARS derivati dai pipistrelli, il 79,5% di identità con il virus della SARS-CoV e circa il 50% di identità con il virus della sindrome respiratoria del Medio Oriente (MERS, *Middle East Respiratory Syndrome*), MERS-CoV⁽²⁾. Il genoma di SARS-CoV-2 è rappre-

sentato da un singolo filamento di RNA di senso positivo con una dimensione di 29,9 kb, contenente almeno dieci *open reading frame* (ORF)⁽⁶⁾ (Figura 1). Recentemente, sono state identificate almeno 41 modifiche dell'RNA aventi una funzione incognita⁽⁶⁾. Il primo degli ORF rappresenta i due terzi dell'RNA virale. Essi sono tradotti in due grandi poliproteine che, successivamente, vengono trasformate in 16 proteine non strutturali (da 1 a 16) che formano il complesso virale replicasi-trascrittasi⁽⁶⁾. Queste proteine non strutturali riorganizzano il reticolo endoplasmatico in vescicole a doppia membrana, che sono quelle dove avviene la replicazione e la trascrizione virale^(7,8). Il rimanente 1/3 del genoma codifica quattro proteine strutturali principali: *spike* (S), proteine per l'involucro

(E), nucleocapsidica (N) e proteine di membrana (M) e, inoltre, codifica per diverse proteine accessorie le cui funzioni sono attualmente sconosciute ma non correlate alla replicazione virale⁽⁹⁾.

SARS-CoV-2, come SARS-CoV, richiede la presenza di un recettore, ACE2 (*angiotensin converting enzyme 2*), come via di accesso per poter entrare nelle cellule^(10,11). La proteina *spike* del coronavirus determina l'ingresso del virus nelle cellule ospiti, legando il suo involucro al recettore cellulare ACE2^(12,13). Dopo l'ingresso del virus, il genoma dell'RNA virale viene rilasciato nel citoplasma e tradotto in due poliproteine e nelle proteine strutturali⁽¹⁴⁾. La sopravvivenza di SARS-CoV nelle cellule ospiti viene facilitata da strategie per eludere la risposta immunitaria. So-

no numerose, infatti, le proteine non strutturali e strutturali codificate da SARS-CoV e MERS-CoV che antagonizzano la risposta immunitaria antivirale innata. Sia la produzione naturale di interferone, sia quella indotta dalla stimolazione genica, vengono contrastate da tali proteine, sovvertendo pertanto la risposta antivirale. Tale contrasto alle normali risposte immunitarie della cellula ospite favorisce ulteriormente la libera replicazione del virus, con conseguente aumento della patogenicità e dei danni d'organo indotti dallo stesso che, oltre a diminuire la risposta anti-infiammatoria dell'organismo, stimola anche la produzione di recettori per indurre una risposta infiammatoria aberrante. La capacità replicativa di SARS-CoV-2 si è mostrata essere 3 volte maggio-

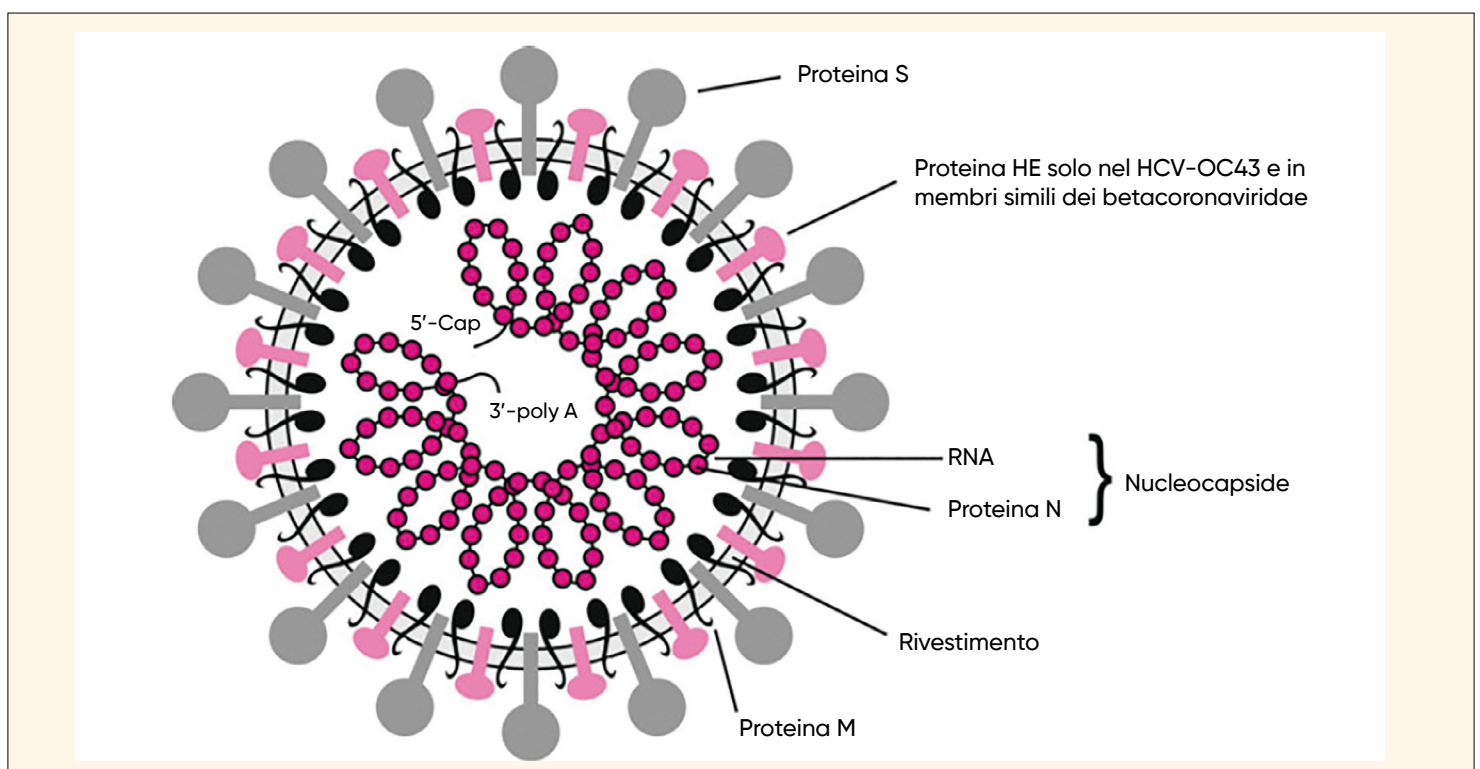


Figura 1. Genoma di SARS-CoV-2.

re di quella di SAR-CoV nel tessuto polmonare umano infetto, senza che questo comporti significativamente un incremento della produzione di interferone di tipo I (α e β), di tipo II (γ) e di tipo III ($\lambda 1$, $\lambda 2$, $\lambda 3$)⁽¹⁵⁾. Dal momento che l'immunità innata rappresenta la prima linea di difesa contro SARS-CoV-2, una risposta lenta, scarsamente coordinata, comporta una replicazione virale più elevata. Questa sequenza di eventi, vale a dire l'infezione a carico delle cellule alveolari, l'inibizione del segnale di produzione di interferone e la replicazione virale molto attiva, rappresentano un tipico esempio di circolo vizioso che si ha nelle infezioni virali. SARS-CoV-2 infetta principalmente le vie aeree e le cellule epiteliali alveolari, in particolare gli pneumociti di tipo II, che sono le cellule che producono la sostanza surfattante e sono i predecessori degli pneumociti di tipo I. Tuttavia, può infettare qualsiasi cellula che esprima il recettore ACE2, come le cellule endoteliali, i periciti, le cellule muscolari lisce dei vasi, i macrofagi, i fibroblasti, le cellule T, le cellule miocardiche, gli enterociti, le cellule epidermiche dello strato basale e le cellule epiteliali tubulari distali⁽¹⁶⁻¹⁸⁾. A causa dell'immunità innata che si mostra deficitaria, SARS-CoV-2, subito dopo l'infezione, si replica ad alti titoli^(19,20) e si assiste alla produzione di aumentati livelli di citochine e chemochine pro-infiammatorie da parte delle cellule polmonari. Pertanto i pazienti COVID-19 hanno elevati livelli sierici di citochine

infiammatorie, tra cui interleuchina (IL)-2, IL-6, IL-7, IL-10, il fattore stimolante le colonie di granulociti (G-CSF), le proteine indotte dall'interferone gamma (IP)-10, la proteina chemiotattica dei monociti (MCP)-1, le proteine infiammatorie dei macrofagi, l'interferone ed il *Tumor Necrosis Factor- α* (TNF- α). I livelli di queste citochine/chemochine, di conseguenza, si correlano alla gravità della malattia^(21,22). I pazienti COVID-19 con una grave malattia hanno livelli più alti di IL-6 di quelli con malattia lieve o moderata⁽²³⁾. Inoltre, le cellule endoteliali vengono infettate molto presto nel corso dell'infezione. Gli elevati livelli di sostanze infiammatorie rilasciate nel sito dell'infezione provocano apoptosi, sia delle cellule endoteliali sia di quelle alveolari, con conseguente compromissione del letto microvascolare polmonare, sviluppo di edema alveolare e conseguente variabile grado di ipossia⁽²⁴⁾. Un'altra caratteristica sorprendente dell'infezione conclamata da COVID è una severa linfopenia. Le cellule T specifiche per CoV sono decisive, sia per cercare di eradicare il virus che per limitare ulteriori danni ai tessuti ospiti, dal momento che contribuiscono a limitare l'eccessiva risposta immunitaria innata^(25,26). Tuttavia all'infezione consegue un'esagerata produzione di IL-6 e di TNF- α che contribuisce a dare un'ulteriore linfopenia. Nei pazienti COVID-19 gravi che sono stati sottoposti agli esami ematologici per la ricerca delle sottopopolazioni linfocitarie, c'è un'intensa linfo-

penia CD4 e in particolare CD8⁽²³⁾, inversamente proporzionale ai livelli sierici di TNF- α e IL-6⁽²³⁾. Le cellule CD4 promuovono la produzione di anticorpi contro il virus attivando le cellule B (T-dipendenti), mentre le cellule CD8 sono citotossiche e possono eliminare le cellule infettate dal virus. Poiché le cellule CD8 rappresentano circa l'80% dell'infiltrato infiammatorio interstiziale polmonare totale, tali linfociti possono mediare il danno tissutale immuno-mediato⁽²⁷⁾. È stato pertanto suggerito il termine di piroptosi per riferirsi alla linfopenia da COVID nei pazienti che hanno un aumento dei livelli sierici di IL-1 β , che è un indicatore indiretto di piroptosi cellulare⁽²⁸⁾. La piroptosi, a sua volta, può rilasciare grandi quantità di fattori pro-infiammatori⁽²⁹⁾. Per controllare la fase persistente dell'infezione da SARS-CoV-2, quindi, è essenziale la comparsa di immunità umorale e lo sviluppo, nell'organismo, degli anticorpi neutralizzanti. In definitiva, la replicazione virale incontrollata, a causa di un ritardo della risposta immunitaria innata, sarà promotrice di un danno cellulare che porta, a sua volta, ad un'alterazione immunitaria che si mostra eccessiva ma, soprattutto, disregolata. Quest'anomala iperreaione aprirà la strada al definitivo sviluppo del danno immuno-mediato a carico di organi e tessuti. Storicamente, le grandi epidemie virali che hanno provocato malattie neurologiche, come quelle date dall'encefalite giapponese e dal vi-

Sclerosi Multipla e COVID-19: a che punto siamo?

rus della poliomielite, hanno infettato direttamente il sistema nervoso centrale (SNC). Con lo sviluppo della pandemia da COVID-19 e la segnalazione di malattie neurologiche in un numero crescente di pazienti, la domanda era come si sarebbe comportato SARS-CoV-2: in modo simile rispetto alle più note epidemie virali neurologiche del passato oppure in forma diversa? Le prime segnalazioni che hanno mostrato evidenze cliniche di infiammazione cerebrale hanno suggerito che può verificarsi un'encefalite⁽³⁰⁾, sebbene la rarità con quale il virus è stato trovato nel liquor (CSF, *cerebrospinal fluid*) implicasse che, sicuramente, era il danno immuno-mediato ad essere responsabile delle manifestazioni cliniche rispetto ad una reale repli-

cazione virale all'intero dei neuroni. Man mano che sono cresciute le evidenze ed i lavori scientifici, è diventato chiaro che le sindromi neurologiche associate a COVID-19 erano numerosissime, sia collegate direttamente all'infezione che indirettamente (Figura 2). L'anosmia e la disgeusia sono comuni nell'infezione da SARS-CoV-2 e spesso si verificano in assenza di altri sintomi.

Per esempio, il virus dell'*Herpes simplex 1* infetta il bulbo olfattivo e successivamente l'encefalo, potendo condurre il paziente ad encefalite; modelli animali hanno mostrato che lo stesso vale per alcuni coronavirus, compreso SARS-CoV. Di conseguenza, sono state sollevate preoccupazioni che l'infezione olfattiva con SARS-CoV-2 potrebbe por-

tare a malattie del SNC. Tuttavia, un elegante studio pubblicato a luglio 2020 ha indicato che SARS-CoV-2 infetta le cellule di supporto dell'epitelio olfattivo piuttosto che i neuroni sensoriali⁽³¹⁾. In questo studio, l'analisi dell'espressione genica del sequenziamento unicellulare dell'RNA della biopsia nasale umana tra campioni dei pazienti ricoverati ha mostrato che le cellule di supporto, in particolare le cellule basali orizzontali e sustentacolari, esprimono i recettori per l'enzima di conversione dell'angiotensina 2 (ACE2) e quelli transmembranari serin proteasi 2 (TMPRSS2) della superficie cellulare, entrambi importanti per l'ingresso virale. Successivi dati immunostochimici lo hanno confermato. In primo luogo, le cellule di

| Sintomi neurologici registrati in pazienti COVID-19 | Disturbi neurologici che si verificano in concomitanza al COVID-19 | Pazienti neurologici a rischio nel contesto del COVID-19 |
|---|---|--|
| <ul style="list-style-type: none"> • Vertigini • Cefalea • Sonnolenza patologica • Ipogeusia • Ageusia • Anosmia • Mialgia | <ul style="list-style-type: none"> • Ictus (ischemico, emorragico, secondario ad una coagulopatia) • Trombosi venosa cerebrale • Emorragia cerebrale • Encefalopatia • Stato mentale alterato • Meningite • Encefalite • Crisi epilettiche in corso di febbre • Encefalopatia acuta emorragica necrotizzante • Encefalite acuta disseminata (ADEM) • Mielite • <i>Miastenia gravis</i> • Sindrome di Miller-Fischer • Sindrome di Guillain-Barré • Polinevrite dei nervi cranici | <ul style="list-style-type: none"> • Malattia di Alzheimer • Malattia di Parkinson • SLA • Malattie neurologiche con ridotta mobilità o immobilità • Malattie neuromuscolari con ridotta mobilità e compromissione della funzione respiratoria • Malattie autoimmuni <ul style="list-style-type: none"> - Sclerosi multipla - Neuromielite ottica - <i>Miastenia gravis</i> - Sindrome di Guillain-Barré - Neuropatie croniche disimmuni |

Figura 2. Malattie neurologiche e COVID-19.

supporto nell'epitelio olfattivo regolano l'equilibrio idro-elettrolitico locale ed il loro danneggiamento può influenzare l'impulso olfattorio. In secondo luogo, l'infezione di queste cellule e dei periciti nel bulbo olfattivo potrebbe perturbare l'impulso neuronale attraverso l'infiammazione locale data dal rilascio di citochine. In terzo luogo, un danno vascolare, legato all'ipoperfusione ed all'ipossia può contribuire a dare tali cambiamenti. Ognuna di queste anomalie potrebbe indirettamente promuovere la morte neuronale delle cellule olfattive.

Studi di *imaging* in pazienti con COVID-19 e anosmia hanno rivelato iperintensità e gonfiore del bulbo olfattivo, coerente con l'infiammazione, che successivamente si è risolta, così come i sintomi nella maggior parte dei pazienti. In quelli più gravi, ricoverati presso le Unità di Terapia Intensiva, si assiste spesso ad alterazione delle funzioni corticali superiori. In uno studio, 118 pazienti su 140 ricoverati in UTI con COVID-19 ha sviluppato un *delirium* associato ad una varia combinazione di disturbi acuti dell'attenzione, *insight* e cognizione; inoltre, 88 di loro avevano segni di alterazione del tratto cortico-spinale⁽³²⁾.

Analisi del liquor, campioni autoptici e dati di *imaging* stanno iniziando a chiarire i meccanismi che potrebbero essere alla base dei disturbi cognitivi. Non si osserva pleiocitosi liquorale, ma può essere presente un'elevazione del contenuto proteico e la presenza di bande oligoclonali

con *pattern* di tipo infiammatorio. Si ritiene, infatti, che la risposta pro-infiammatoria sistemica e cerebrale possa ripercuotersi su un aumento dei livelli plasmatici e liquorali di citochine, così come l'aumento dei neurofilamenti leggeri e della proteina acida fibrillare riscontrata nel liquor. A conferma di tali meccanismi infiammatori, ulteriore evidenza viene dai risultati di *imaging*, che hanno mostrato, agli esami di risonanza magnetica, presa di contrasto delle meningi, anomalie della sostanza bianca e micro-emorragie⁽³²⁾. Oltre alle alterazioni infiammatorie, la coagulopatia e le disfunzioni endoteliali possono comportare sia gravi eventi vascolari sia micro-emorragie e piccole occlusioni vasali che possono contribuire all'insorgenza di lievi *deficit* neurologici o a vere e proprie presentazioni cliniche di tipo neuropsichiatrico. Tuttavia, i dati più importanti su tali meccanismi provengono da serie di autopsie. Uno studio ha incluso 43 individui, la maggior parte dei quali è morto in Terapia Intensiva, in Reparti di medicina generale per polmoniti o sepsi associate a COVID-19⁽³³⁾. Sei di questi pazienti avevano lesioni cerebrali ischemiche acute. C'era una diffusa attivazione di astrociti in tutto il cervello, mentre l'attivazione della microglia era confinata al tronco encefalico ed al cervelletto. Le cellule T citotossiche sono state osservate sia nel tronco encefalico che nelle meningi di molti pazienti. Dati immunoistochimici evidenziano che SARS-CoV-2 era ampia-

mente distribuito in tutto il cervello, in particolare nel tronco encefalico. Tuttavia, non è stata osservata alcuna correlazione tra la localizzazione del virus e l'infiammazione, o addirittura tra il rilevamento della PCR e la colorazione immunoistochimica del virus. L'infiammazione locale attiva astrociti e microglia, alla stregua di quello che accade per gli effetti pro-infiammatori delle citochine circolanti nelle malattie sistemiche gravi. I micro-infarti e le emorragie fanno invece parte della coagulopatia sistemica e vasculopatia da COVID-19.

Per valutare la reale presenza del virus nel sistema nervoso centrale ci sono venuti in aiuto gli studi di trascrittomici. La trascrittomici è una biotecnologia che mira all'analisi del trascrittoma, ovvero dell'intero profilo degli RNA messaggeri (mRNA) trascritti di un organismo o di un particolare organo, tessuto o cellula a un dato stadio dello sviluppo dell'organismo o a seguito di particolari condizioni ambientali. Dal DNA, trascritto in RNA messaggero (mRNA), giungiamo alle proteine attraverso il processo di traduzione. Se ci fermiamo al primo *step*, quello della trascrizione, possiamo valutare il *pool* degli RNA intracellulari. Possiamo concentrare la nostra attenzione soltanto sugli mRNA, che contengono in sé l'informazione genetica codificante le proteine, o anche a tutte le altre forme di RNA intracellulari che svolgono, per lo più, funzioni regolatorie (dagli RNA di trasporto o tRNA, a quelli ribosomiali o rRNA,

fino ai forse meno noti micro-RNA o ai long *non-coding* RNA). Possiamo dire, quindi, che il trascrittoma costituisce una peculiarità della singola cellula in un determinato momento o condizione. L'espressione dei trascritti, infatti, si modifica a seconda delle condizioni dell'ambiente extra- e intracellulare. L'oggetto di studio della trascrittomica è proprio questo: il trascrittoma cellulare o tissutale, insieme con le variazioni che esso subisce tra cellula e cellula o tessuto e tessuto, in seguito a mutamenti delle condizioni in cui la cellula si trova. Quantificare il trascrittoma permette di comprendere quali geni siano attivati nelle diverse fasi del ciclo cellulare, dello sviluppo o in risposta a determinati segnali provenienti da altre cellule e dall'ambiente extracellulare.

La trascrittomica quantitativa si occupa di effettuare un'analisi differenziale dell'espressione genica ottenuta confrontando i profili trascrizionali di due o più tessuti o del medesimo tipo cellulare in condizioni o momenti diversi (ad esempio, diversi per fase di sviluppo, fase del ciclo cellulare, salute o malattia). L'analisi dei trascrittomi viene effettuata attraverso l'utilizzo di due differenti tecnologie: la prima, basata sull'ibridazione (*microarray*), la seconda, basata su tecnologie NGS (*Next-Generation Sequencing*). Nel 1995 vennero sviluppati i primi *microarray* basati su *spotting* di molecole di cDNA; nel 2002 si passò a utilizzare i cosiddetti *high density oligo microarrays*; dal 2008 abbiamo a disposi-

zione anche la tecnica di RNA-Seq che permette il sequenziamento degli mRNA attraverso tecniche di tipo NGS. Il trascrittoma deve quindi essere considerato come una struttura molto complessa e dinamica, sensibile all'ambiente in cui si trovano le cellule e i tessuti in cui viene espresso, sensibile al tempo, alla fase del ciclo cellulare o dello sviluppo del tipo cellulare in esame, sensibile agli effetti di fattori esterni che possono influenzare i processi trascrizionali e post-trascrizionali (ad esempio, condizioni patologiche). Ecco allora che possiamo comprendere che quanto accade fisiologicamente e che abbiamo fino ad ora descritto, accade anche nelle situazioni patologiche: il trascrittoma di una cellula "malata" è differente da quello di una cellula sana; dunque, a partire da informazioni sui trascritti di soggetti sani o malati, è possibile rilevare quali geni sono espressi in maniera differente tra i due gruppi e, quindi, di evidenziare le conseguenze molecolari della condizione patologica, aiutando così a comprendere l'eziopatogenesi della malattia in esame. L'analisi dei trascrittomi, in clinica, può avvenire a partire da differenti campioni biologici (dal siero, alle urine, fino a liquor, saliva e tessuti). La neuropatologia di un'infezione virale può derivare o dalla diretta invasione del virus o, indirettamente, da un'infezione periferica e dalla relativa risposta immunitaria.

Pertanto, è stata prestata molta attenzione quanto e se SARS-CoV-2 potesse essere rilevato nel cervello,

con risultati però incoerenti⁽³⁴⁻³⁸⁾. Criticamente, mancava finora una valutazione completa di quali specifiche cellule cerebrali fossero interessate da un'infezione da COVID-19 di grado severo. Questo era in parte dovuto alle difficoltà di procurare tessuto cerebrale umano di alta qualità appena congelato proveniente dai pazienti COVID-19 deceduti necessario per gli studi trascrittomici su singola cellula⁽³⁵⁾. Utilizzando il sequenziamento dell'RNA unicellulare, i ricercatori hanno esaminato il profilo dei trascrittomi di 65.309 nuclei isolati dalla corteccia frontale e dai campioni del plesso corioideo di 8 pazienti deceduti per COVID-19, paragonandolo a quello di 14 controlli deceduti per altre cause. Successivamente, hanno eseguito un sequenziamento dell'RNA a singolo nucleo (snRNA-seq) sui campioni della corteccia frontale mediale ed effettuato rilievi di immunohistochimica (IHC) sui tessuti cerebrali di entrambi i gruppi. In individui con COVID-19, sono stati espressi 786 geni in sei tipi di cellule della corteccia, diversamente dai controlli. L'effetto più forte era evidente negli astrociti e in altre cellule gliali, in cui i cambiamenti della trascrittomica associati al COVID-19 indicavano una marcata attivazione delle vie infiammatorie ed una disregolazione delle normali regole omeostatiche cellulari. Gli stessi risultati sono stati ottenuti mappando le cellule dei plessi corioidei. Inoltre, utilizzando quattro differenti anticorpi contro SARS-CoV-2, soltanto un anticorpo

ha reagito positivamente diretto verso i vasi corticali, meningei e quelli dei plessi corioidei. Gli altri tre anticorpi non hanno dato alcun esito e pertanto non è stato possibile rilevare le proteine virali nei campioni esaminati. Questo studio, molto importante per la metodica utilizzata e molto rigoroso, è quindi servito a dimostrare che l'infiammazione dei plessi corioidei trasmette, a sua volta, segnali pro-infiammatori nel cervello, attivando tutti i tipi di cellule gliali (alcune popolazioni gliali più di altre) e, a seguito della tempesta citochinica che si sviluppa, attuare una compromissione delle funzioni cognitive. Resta da chiarire se tale condizione riguarda tutti i pazienti COVID oppure soltanto quelli deceduti con una forma grave di malattia. È risaputo che i pazienti con SM presentano un rischio maggiore di infezioni rispetto alla popolazione generale. Nel contesto della patologia, è stato dimostrato che le infezioni portano ad una significativa morbilità e contribuiscono all'esacerbazione delle manifestazioni della malattia, sia sotto forma di ricadute che di peggioramento dei sintomi neurologici preesistenti⁽³⁶⁾. L'infezione da coronavirus era stata precedentemente segnalata in pazienti con SM⁽³⁷⁾ e potrebbe avere un ruolo nell'innescare la malattia, così come avviene con la maggior parte dei fattori ambientali in individui geneticamente predisposti⁽³⁸⁾. Questo effetto scatenante può essere collegato alla capacità del virus di avviare le risposte del sistema immunitario innato

e adattativo, come manifestato dalle alterazioni nelle popolazioni di cellule immunitarie dal SARS-CoV-2 e nei rispettivi sottoinsiemi di cellule T, cellule B e cellule NK. Fortunatamente, numerosi dati forniscono la prova che la maggior parte dei pazienti infettati da SARS-CoV-2, anche in corso di trattamento con farmaci modificanti il decorso della malattia (DMDs, *Disease-Modifying Drugs*), mostra sintomi lievi che non richiedono l'ospedalizzazione⁽³⁹⁾. Invece, nel contesto di una grave infezione da COVID-19 e delle tempeste citochiniche associate, le risposte del sistema immunitario iperattivo possono influenzare il comportamento del SNC, specialmente in presenza di un'alterazione della barriera emato-encefalica, una condizione che spesso coincide fedelmente con l'andamento della SM recidivante-remittente e che predispone i pazienti alla neuro-infiammazione.

Il possibile effetto dell'infezione da coronavirus sull'attività clinica e/o radiologica della malattia resta quindi da valutare mediante osservazioni su larga scala. Il potenziale di SARS-CoV-2 per l'invasione diretta del SNC rappresenta una sfida speciale per la SM. Era stato precedentemente dimostrato che i coronavirus possono invadere il SNC⁽⁴⁰⁾ e indurre perdita diretta di neuroni in topi transgenici⁽⁴¹⁾. Resta da chiarire un potenziale simile per SARS-CoV-2 nell'uomo. Tuttavia, se ciò fosse dimostrato, potrebbe suggerire che COVID-19, nel contesto della SM, potrebbe predisporre ulterior-

mente la popolazione dei pazienti SM verso una maggiore neurodegenerazione, una componente patologica riconosciuta talora anche precocemente nel corso della malattia. Questa ipotesi è di particolare importanza nel caso dei pazienti di mezza età. Questi individui si presentano più spesso con forme progressive di SM, rispetto ai pazienti più giovani; ciò è indicativo di come il processo neurodegenerativo sia una delle principali fonti di disabilità correlata alla SM per questa fascia di età⁽⁴²⁾. Poiché gli individui di mezza età sono più suscettibili a sviluppare gravi forme di COVID-19 e il picco di prevalenza della SM sembra avere un'età compresa tra 50 e 55 anni in diverse popolazioni etniche⁽⁴³⁾, è probabile che il COVID-19 possa porre implicazioni significative per la neurodegenerazione, specialmente in relazione alle forme molto attive e/o progressive della malattia. Inoltre, i pazienti di mezza età mostrano altre significative comorbidità, come malattie cardiovascolari e cerebrovascolari, ipertensione arteriosa, diabete e altre malattie autoimmuni, note per essere in grado di influenzare sia la prognosi del COVID-19, sia della SM⁽⁴⁴⁾. Dal momento che, in un modello sperimentale di topo, i coronavirus umani mostrano di avere una latenza molto lunga all'interno del SNC, anche dopo un anno dal recupero da un'encefalite acuta⁽⁴⁵⁾, nel caso in cui la tempesta citochinica tardi a rientrare, è probabile che questo possa negativamente condizionare l'esacerbazione delle varie

fasi di malattia anche nei pazienti SM guariti dal COVID-19. Secondo tale prospettiva, l'implicazione clinica dell'infezione da SARS-CoV-2 nella popolazione SM deve essere attentamente valutata in studi prospettici a lungo termine che valutino non solo le misurazioni della disabilità fisica, ma anche gli aspetti cognitivi, la qualità di vita dei pazienti, le conseguenze da loro riportate, con l'obiettivo di definire gli effetti del COVID-19 a lungo termine sullo stato neurologico correlato alla SM. Una *review* sistematica ha esaminato 87 studi per un totale di 4.310 pazienti affetti da sclerosi multipla che hanno sofferto di COVID. In questo studio, la patologia infettiva aveva colpito più le donne, con un rapporto 2,53:1; la loro età media era di 44,9 anni, con una durata media di malattia di 12,46 anni e EDSS (*Expanded Disability Status Scale*) medio di 2,54. Le forme a ricadute e remissioni (SM-RR) rappresentavano il 4,75:1 e il 32,9% dei pazienti soffriva almeno di una comorbidità. I sintomi più comuni con cui l'infezione da COVID si manifestava erano stati febbre (68,8%), tosse (63,9%), fatica/astenia (51,2%), brevità del respiro (39,5%), cefalea (34,4%), disturbi gastrointestinali (16,4%), anosmia (16,2%), ageusia (10,2%). In totale 837 dei 4.310 pazienti (20,7%) hanno avuto la necessità di essere ospedalizzati e 130 di loro (3,0%) sono morti. Tra i pazienti ricoverati, la più alta percentuale era data da pazienti che non assumevano alcun DMD (42,9% ~ 8,4%) e, tra quelli

che erano già in terapia, la maggiore percentuale (29,2% ~ 2,5%) riguardava gli agenti depletanti le cellule B. Questo studio, pertanto, concludeva che non c'è un significativo aumento di mortalità nei pazienti SM affetti da COVID-19⁽⁴⁶⁾.

Il rischio di gravi esiti dell'infezione nei pazienti con sclerosi multipla sembra pertanto allinearsi a quello osservato nella popolazione generale, come suggeriscono nuovi dati statunitensi.

Questi dati sembrano coerenti con gli studi di diversi altri Paesi, in quanto gli esiti peggiori aumentano con età e livelli di disabilità più elevati. I dati mostrano anche un chiaro effetto delle varie etnie nella SM, con tassi più elevati di esiti avversi nei pazienti afro-americani, ancora una volta in linea con quanto osservato nella popolazione generale.

Per tale motivo, è stato istituito un Registro nordamericano (COViMS - *COVID-19 Infections in MS & Related Diseases*), per consentire agli operatori sanitari di segnalare le persone con SM infettate da COVID-19. Sino ad ora, il Registro ha annoverato 858 pazienti con SM che hanno avuto l'infezione (80% verificato da un *test* positivo), come riportato da 150 diversi operatori sanitari negli Stati Uniti e in Canada. L'età media dei pazienti è di 48 anni, con una durata media di malattia di 13,6 anni. Il decorso clinico della SM è stato riportato come recidivante-remittente nel 78% dei casi, secondario progressivo nel 15% e primario progressivo nel 5% dei casi.

La maggior parte dei pazienti (72%) era completamente deambulante, il 16% poteva camminare con l'assistenza e il 12% non era deambulante. Gli esiti gravi di COVID-19 sono stati classificati come mortalità (che si è verificata nel 5,7% della coorte), mortalità/ricovero in Terapia Intensiva (13,6%) e mortalità/ricovero in Terapia Intensiva/ricovero in Ospedale (30,2%). I risultati sono stati aggiustati per diverse covariate, tra cui sesso, età, fumo, decorso clinico della SM (recidivante, progressiva), durata della malattia, deambulazione, comorbidità individuali (malattie cardiovascolari, cerebrovascolari, renali croniche, polmonari croniche, diabete, ipertensione, obesità patologica) e l'uso di DMDs.

Nelle analisi di regressione logistica multivariata, l'età avanzata, l'avere una malattia renale cronica e l'essere non deambulanti erano costantemente associati a maggiori probabilità di esiti peggiori. La malattia renale cronica ha avuto la più forte associazione con la mortalità (*odds ratio* [OR] 28,6; $P < .001$). Altri fattori associati alla mortalità includevano le malattie cardiovascolari (OR, 4,35; $P = 0,009$); età (OR per 10 anni, 1,91; $P = .012$) e il sesso maschile (OR, 2,60; $P = .041$). I pazienti che non erano deambulanti avevano un rischio più elevato di mortalità/ricovero in Terapia Intensiva/ricovero ospedaliero (OR, 3,32; $P = 0,003$). Tutti questi fattori, però, non sono specifici della SM. È noto che l'età avanzata è un fattore di rischio primario per esiti peggiori di CO-

COVID-19 nella popolazione generale e l'aumento della disabilità comporta, di per sé, una salute generale peggiore. I pazienti di colore hanno un rischio più elevato. Degli 858 pazienti del Registro COViMS, il 65,7% era di razza bianca e il 26,1% era di razza nera. Gli individui neri avevano maggiori probabilità di essere più giovani, mai fumatori, avere una durata più breve della SM, un decorso della SM recidivante e avere comorbidità rispetto ai pazienti bianchi. Una percentuale maggiore di pazienti di razza nera presentava iper-

tensione (40,2% vs 19,5%) e obesità patologica (17% vs 9,5%). I risultati hanno mostrato che i tassi di mortalità non erano statisticamente differenti tra i pazienti bianchi e neri, ma la razza nera era associata ad un aumento del rischio di mortalità e/o di ricovero in Terapia Intensiva rispetto ai pazienti bianchi (16,9% vs 12,8%) e l'analisi di regressione logistica multivariata mostrava che la razza nera era indipendentemente associata alla mortalità/ricovero in Terapia Intensiva dopo aggiustamenti per le covariate (OR, 3,7; P =

0,002). La razza nera è stata anche associata ad un aumento del rischio di mortalità/ricovero in Terapia Intensiva/ricovero ospedaliero (35,8% vs 30,2%) e, dopo aggiustamento per le covariate, questo è risultato essere un predittore indipendente (OR, 1,7; P = 0,04).

Tuttavia, questo rischio maggiore di COVID-19 negli individui di colore si riscontra anche nella popolazione generale. Pertanto, questi risultati non sono così sorprendenti e non sembrano essere un effetto specifico per i pazienti con SM.

Bibliografia

1. WHO. COVID-19 - China. January 12, 2020. Available at: <https://www.who.int/emergencies/disease-outbreak-news/item/2020-DON233>.
2. Lu R, Zhao X, Li J, et al. Genomic characterisation and epidemiology of 2019 novel coronavirus: implications for virus origins and receptor binding. *Lancet*. 2020; 395(10224):565-74.
3. Johns Hopkins University & Medicine. Coronavirus Resource Center. Available at: <https://coronavirus.jhu.edu/map.html>.
4. Wu Z, McGoogan JM. Characteristics of and important lessons from the coronavirus disease 2019 (COVID-19) outbreak in China: summary of a report of 72314 cases from the Chinese Center for Disease Control and Prevention. *JAMA*. 2020 ;323(13):1239-42.
5. Pirofski LA, Casadevall A. The damage-response framework as a tool for the physician-scientist to understand the pathogenesis of infectious diseases. *J Infect Dis*. 2018;218(suppl_1):S7-S11.
6. Kim D, Lee JY, Yang JS, et al. The architecture of SARS-CoV-2 transcriptome. *Cell*. 2020;181(4):914-921.e10.
7. Masters PS. The molecular biology of coronaviruses. *Adv Virus Res*. 2006;66:193-292.
8. Knoops K, Kikkert M, Worm SH, et al. SARS-coronavirus replication is supported by a reticulovesicular network of modified endoplasmic reticulum. *PLoS Biol*. 2008;6(9):e226.
9. Li X, Geng M, Peng Y, et al. Molecular immune pathogenesis and diagnosis of COVID-19. *J Pharm Anal*. 2020;10(2):102-8.
10. Zhou P, Yang XL, Wang XG, et al. A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin. *Nature*. 2020;579(7798):270-3.
11. Li W, Moore MJ, Vasilieva N, et al. Angiotensin-converting enzyme 2 is a functional receptor for the SARS coronavirus. *Nature*. 2003;426(6965):450-4.
12. de Wit E, van Doremalen N, Falzarano D, et al. SARS and MERS: recent insights into emerging coronaviruses. *Nat Rev Microbiol*. 2016;14(8):523-34.
13. Wu F, Zhao S, Yu B, et al. A new coronavirus associated with human respiratory disease in China. 2020;580(7803):E7.
14. Perlman S, Netland J. Coronaviruses post-SARS: update on replication and pathogenesis. *Nat Rev Microbiol*. 2009;7(6):439-50.
15. Chu H, Chan JF, Wang Y, et al. Comparative replication and immune activation profiles of SARS-CoV-2 and SARS-CoV in human lungs: an ex vivo study with implications for the pathogenesis of COVID-19. *Clin Infect Dis*. 2020;71(6):1400-9.
16. Hamming I, Timens W, Bulthuis ML, et al. Tissue distribution of ACE2 protein, the functional receptor for SARS coronavirus. A first step in understanding SARS pathogenesis. *J Pathol*. 2004;203(2):631-7.
17. Chen L, Li X, Chen M, et al. The ACE2 expression in human heart indicates new potential mechanism of heart injury among patients infected with SARS-CoV-2. *Cardiovasc Res*. 2020;116(6):1097-100.
18. Ziegler CGK, Allon SJ, Nyquist SK, et al; HCA Lung Biological Network. Electronic address: lung-network@humancellatlas.org; HCA Lung Biological Network. SARS-CoV-2 receptor ACE2 is an interferon-stimulated gene in human airway epithelial cells and is detected in specific cell subsets across tissues. *Cell*. 2020;181(5):1016-1035.e19.
19. Wölfel R, Corman VM, Guggemos W, et al. Virological assessment of hospitalized patients with COVID-2019. *Nature*. 2020;588(7839):E35.
20. Channappanavar R, Fehr AR, Vijay R, et al. Dysregulated type I interferon and inflammatory monocyte-macrophage re-

sclerosi Multipla e COVID-19: a che punto siamo?

- sponses cause lethal pneumonia in SARS-CoV-infected mice. *Cell Host Microbe*. 2016;19(2):181-93.
21. Huang C, Wang Y, Li X, et al. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *Lancet*. 2020;395(10223):497-506.
 22. Diao B, Wang C, Tan Y, et al. Reduction and functional exhaustion of T cells in patients with coronavirus disease 2019 (COVID-19). *Front Immunol*. 2020;11:827.
 23. Wan S, Yi Q, Fan S, et al. Relationships among lymphocyte subsets, cytokines, and the pulmonary inflammation index in coronavirus (COVID-19) infected patients. *Br J Haematol*. 2020;189(3):428-37.
 24. Channappanavar R, Perlman S. Pathogenic human coronavirus infections: causes and consequences of cytokine storm and immunopathology. *Semin Immunopathol*. 2017;39(5):529-39.
 25. Zhao J, Zhao J, Perlman S. T cell responses are required for protection from clinical disease and for virus clearance in severe acute respiratory syndrome coronavirus-infected mice. *J Virol*. 2010;84(18):9318-25.
 26. Kim KD, Zhao J, Auh S, et al. Adaptive immune cells temper initial innate responses. *Nat Med*. 2007;13(10):1248-52.
 27. Ackermann M, Verleden SE, Kuehnel M, et al. Pulmonary vascular endothelialitis, thrombosis, and angiogenesis in Covid-19. *N Engl J Med*. 2020;383(2):120-8.
 28. Yang M. Cell pyroptosis, a potential pathogenic mechanism of 2019-nCoV Infection (2020). Available at SSRN: <http://dx.doi.org/10.2139/ssrn.3527420>.
 29. Liu L, Wei Q, Lin Q, et al. Anti-spike IgG causes severe acute lung injury by skewing macrophage responses during acute SARS-CoV infection. *JCI Insight*. 2019; 4(4): e123158.
 30. Ellul MA, Benjamin L, Singh B, et al. Neurological associations of COVID-19. *Lancet Neurol*. 2020;19(9):767-83.
 31. Brann DH, Tsukahara T, Weinreb C, 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; 6(31):eabc5801.
 32. Helms J, Kremer S, Merdji H, et al. Delirium and encephalopathy in severe COVID-19: a cohort analysis of ICU patients. *Crit Care*. 2020;24(1):491.
 33. Matschke J, Lütgehetmann M, Hagel C, et al. Neuropathology of patients with COVID-19 in Germany: a post-mortem case series. *Lancet Neurol*. 2020;19(11):919-29.
 34. Cantuti-Castelvetri L, Ojha R, Pedro LD, et al. Neuropilin-1 facilitates SARS-CoV-2 cell entry and infectivity. *Science*. 2020;370(6518):856-60.
 35. Meinhardt J, Radke J, Dittmayer C, et al. Olfactory transmucosal SARS-CoV-2 invasion as a port of central nervous system entry in individuals with COVID-19. *Nat Neurosci*. 2021;24(2):168-75.
 36. Song E, Zhang C, Israelow B, et al. Neuroinvasion of SARS-CoV-2 in human and mouse brain. *J Exp Med*. 2021;218(3):e20202135.
 37. Jacob F, Pather SR, Huang WK, et al. Human pluripotent stem cell-derived neural cells and brain organoids reveal SARS-CoV-2 neurotropism predominates in choroid plexus epithelium. *Cell Stem Cell*. 2020;27(6):937-950.e9.
 38. Pellegrini L, Albecka A, Mallery DL, et al. SARS-CoV-2 infects the brain choroid plexus and disrupts the blood-CSF barrier in human brain organoids *Cell Stem Cell*. 2020;27(6):951-961.e5.
 39. Sormani MP; Italian Study Group on COVID-19 infection in multiple sclerosis. An Italian programme for COVID-19 infection in multiple sclerosis. *Lancet Neurol*. 2020; 19(6):481-2.
 40. Mentis AA, Dardiotis E, Grigoriadis N, et al. Viruses and endogenous retroviruses in multiple sclerosis: from correlation to causation. *Acta Neurol Scand*. 2017;136(6): 606-16.
 41. Netland J, Meyerholz DK, Moore S, et al. Severe acute respiratory syndrome coronavirus infection causes neuronal death in the absence of encephalitis in mice transgenic for human ACE2. *J Virol*. 2008; 82(15): 7264-75.
 42. Confavreux C, Vukusic S. Age at disability milestones in multiple sclerosis. *Brain*. 2006;129(Pt 3):595-605.
 43. Brønnum-Hansen H, Koch-Henriksen N, Stenager E. Trends in survival and cause of death in Danish patients with multiple sclerosis. *Brain*. 2004;127(Pt 4):844-50.
 44. Marrie RA, Elliott L, Marriott J, et al. Comorbidity increases the risk of hospitalizations in multiple sclerosis. *Neurology*. 2015;84(4):350-8.
 45. Jacomy H, Fragoso G, Almazan G, et al. Human coronavirus OC43 infection induces chronic encephalitis leading to disabilities in BALB/C mice. *Virology*. 2006; 349(2): 335-46.
 46. Barzegar M, Mirmosayyeb O, Gajarzadeh M, et al. COVID-19 among patients with multiple sclerosis: a systematic review. *Neurol Neuroimmunol Neuroinflamm*. 2021;8(4):e1001.

Segreteria Organizzativa



MediMay Communication Srl
Via G. Antonelli, 47
00197 Roma
e-mail: info@medimay.it

Provider



MAPY Consulenza & Servizi Sas
Viale G. Matteotti, 1 – 50121 Firenze
e-mail: info@mapyformazione.it
Tel. 055 2342566, Fax 055 4641420

Con il supporto non condizionante di

