

UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI GENOVA
SCUOLA DI SCIENZE MEDICHE E FARMACEUTICHE



CORSO DI LAUREA MAGISTRALE A CICLO UNICO IN
MEDICINA E CHIRURGIA

ANNO ACCADEMICO 2019-2020

TESI DI LAUREA

*“Effetto della PEEP sull’aerazione polmonare in pazienti
COVID-19 ventilati meccanicamente”*

RELATORE

C.mo Prof. Lorenzo Ball

CANDIDATO

Simone Pizzasegale

Sommario

1. Introduzione e generalità.....	8
1.1 “Storia” dell’epidemia.....	8
1.2 Agente patogeno.....	13
1.3 Manifestazioni cliniche.....	16
1.4 Aspetti radiologici.....	18
1.5 Fattori di rischio e fattori prognostici.....	20
1.6 Indagini microbiologiche e diagnostica eziologica.....	22
1.7 Opzioni preventive e terapeutiche.....	24
2. Definizione e aspetti caratterizzanti la ARDS.....	31
3. Ruolo della TC quantitativa polmonare nello studio dell’ARDS.....	39
3.1 Tecniche di campionamento nella letteratura corrente...40	40
3.2 Tecniche emergenti alternative alla qCT.....	40
4. Aspetti della ventilazione meccanica in pazienti ARDS...42	42
4.1 VILI e ventilazione protettiva.....	42
4.2 Meccanismi di danno da ventilazione meccanica.....	42
4.3 Concetto di stress e strain.....	43
4.4 Metodi clinici per misurare lo stress.....	44
4.5 Trasduzione meccanica del danno.....	46
4.6 Evidenza clinica.....	47
4.7 Ventilazione protettiva in corso di ARDS.....	47
4.8 Tecniche di imaging per la personalizzazione della ventilazione protettiva.....	50
5. Introduzione allo studio.....	52

5.1 Scopo dello studio.....	53
5.2 Concetti generali.....	54
5.3 Effetto della ricostruzione sull'analisi quantitativa.....	54
5.4 Campionamento.....	54
5.5 Dosimetria.....	55
6. Materiali e metodi.....	56
6.1 Popolazione.....	56
6.2 Scansioni TC e ricostruzione delle immagini.....	57
6.3 Segmentazione e analisi quantitativa.....	58
6.4 Valutazione della correzione.....	62
6.5 Campionamento.....	62
6.6 Estensione di opacità.....	63
6.7 Dosimetria.....	64
6.8 SmartmA-3-D dose modulation e dosimetria retrospettiva.....	67
7. Risultati.....	70
8. Discussione e conclusioni.....	77
Bibliografia.....	79
Ringraziamenti.....	83

Indice delle figure

Figura 1- Radiogramma di un caso di ARDS severa.....	19
Figura 2- Tomografo ad impedenza elettrica (<i>Drager pulmovista 500</i>).....	41
Figura 3- Il concetto di “baby lung”, in azzurro le aree normalmente aerate in un paziente con ARDS.....	49
Figure 4 e 5- Paziente con p-ARDS, scansioni eseguite a 5 e 45 cmH ₂ O.....	50
Figura 6- Istogramma con attenuazione dei voxel.....	59
Figura 7- Il software <i>Downsampler</i>	63
Figura 8- Fantoccio in PMMA (B, C) camera a ionizzazione (A) e modalità di misurazione (D).....	64
Figura 9- Il CTDI _{100, p} è calcolato come la media delle misurazioni in B, C, D, E.....	65
Figura 10- Modulazione di mAs in una scansione <i>total-body</i>	68
Figura 11- Grafico che mostra variazioni di PaO ₂ a due diversi livelli di PEEP con FiO ₂ del 100%.....	71
Figura 12- Grafico che mostra variazioni della percentuale di shunt intrapolmonare a due diversi livelli di PEEP.....	72
Figura 13- Grafico che mostra variazioni di compliance toraco-polmonare a due diversi livelli di PEEP.....	73
Figura 14- Misura del diametro cranio-caudale e della distanza fra margine ottuso dell’ombra cardiaca e parete toracica a due differenti livelli di PEEP.....	74
Figure 15 e 16- TC in sezione assiale del torace a 8 e 16 cmH ₂ O di PEEP.....	75
Figura 17- TC in sezione coronale del torace a 8 e 16 cmH ₂ O di PEEP.....	76
Figura 18- TC in sezione sagittale del torace a 8 e 16 cmH ₂ O di PEEP.....	76

Indice delle tabelle

Tabella 1- Cause polmonari ed extrapolmonari di ARDS.....	33
Tabella 2- Criteri di inclusione nello studio.....	57
Tabella 3- Parametri di ricostruzione immagini TC.....	58
Tabella 4- Parametri di acquisizione TC.....	58
Tabella 5- Definizione variabili qCT.....	60
Tabella 6- Variabili dosimetriche.....	66
Tabella 7- Calcolo della dose equivalente.....	69

Abbreviazioni

3CLpro Proteasi 3C-Like

ACE *Angiotensin Converting Enzyme*, enzima convertitore dell'angiotensina

ACE 2 *Angiotensin Converting Enzyme 2*

AECC *American European Consensus Conference*

ALI *Acute Lung Injury*, danno polmonare acuto

APACHE II *Acute Physiologic Assessment and Chronic Health Evaluation II*

ARDS *acute respiratory distress syndrome, sindrome da distress respiratorio acuto*

AST- ALT Aspartico Transaminasi- Alanina Transaminasi

CFR Capacità Funzionale Residua

CoV Coronavirus

COVID 19 *COroNaVirus Disease 2019*, patologia da coronavirus 2019

CPAP *Continuous Positive Airway Pressure*, pressione positiva continua delle vie aeree

CRS *Cytokine Release Syndrome*, sindrome da rilascio citochinico

DICOM *Digital Imaging and Communications in Medicine*, imaging digitale e comunicazioni in medicina

DPCM Decreto del Presidente del Consiglio dei Ministri

ECMO *Extracorporeal Membrane Oxygenation*, ossigenazione extracorporea con membrane

EELV *End-Expiration Lung Volume*, volume polmonare di fine espirazione

EIT *Electric Impedance Tomography*, Tomografia ad impedenza elettrica

ELISA *Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay*

EMA *European Medicines Agency*, agenzia europea del farmaco

EPA Edema Polmonare Acuto

FDA *Food and Drug Administration*

FiO2 Frazione di Ossigeno inspirato

HRCT *High Resolution CT*, TC ad alta risoluzione

HU *Hounsfield Unit*, Unità Hounsfield

IgM- IgG Immunoglobuline classe M e G

IL-6 Interleuchina 6

JAMA *Journal of American Medical Association*

LDH Lattico Deidrogenasi

LDL *Low Density Lipoprotein*, lipoproteina a bassa densità

LUS *Lung UltraSonography*, ecografia polmonare

MERS *Middle East Respiratory Syndrome*, sindrome respiratoria del Medio Oriente

MERS-CoV *Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus*

MOFs *Multi-Organ Failure Syndrome*, sindrome da insufficienza multi-organo

N-t pro-BNP Frammento N-terminale del precursore del Brain Natriuretic Peptide (peptide natriuretico cerebrale)

P/F rapporto fra PaO₂ e FiO₂

PaO₂ Pressione parziale di Ossigeno nel sangue arterioso

PBW *Predicted Body Weight*, peso corporeo previsto

PCWP *Pulmonary Capillary Wedge Pressure*, pressione di incuneamento capillare polmonare

PEEP *Positive End-Expiration Pressure*, pressione positiva di fine espirazione

PLpro Proteasi Papain-Like

PT *Prothrombin Time*, tempo di protrombina

qCT *Quantitative Computed Tomography*, Tomografia Computerizzata quantitativa

qSOFA *Quick Sequential Organ Failure Assessment*

RBD *Receptor Binding Domain*, dominio legante il recettore

RNA *RiboNucleic Acid*, acido ribonucleico

RT-PCR *Real Time Polymerase Chain Reaction*, reazione a catena della polimerasi in tempo reale

SARS *Severe Acute Respiratory Syndrome*, sindrome respiratoria acuta severa

SARS-CoV *Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus*

SARS-CoV-2 *Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2*

SCT *Sequential Computed Tomography*, TC sequenziale

TC Tomografia Computerizzata

UO Unità Operativa

UTI Unità di Terapia Intensiva

VILI *Ventilation-Induced Lung Injury*, danno polmonare indotto dalla ventilazione

1.INTRODUZIONE E GENERALITA'

1.1 “Storia” dell’epidemia

E' purtroppo argomento di grande attualità la nota pandemia sostenuta dal virus conosciuto come Covid19 (*coronavirus disease-2019*), acronimo utilizzato per fare riferimento al Coronavirus identificato a dicembre 2019 in Cina, a seguito del propagarsi di un'epidemia di polmonite, fino ad allora ad eziologia sconosciuta, a partire, secondo la maggior parte degli esperti, dal Huanan Seafood Wholesale Market della città di Wuhan, nella provincia cinese di Hubei.

Caratterizzata da una elevata contagiosità, nei casi più gravi l'infezione si manifestava principalmente con prevalente interessamento delle basse vie aeree, del parenchima e dell'interstizio polmonare, determinando in numerosi casi di quella che gli esperti definiscono ARDS, sigla che sta ad indicare la cosiddetta “*acute respiratory distress syndrome*”.

Ai suddetti quadri clinici sono corrisposti purtroppo numerosi decessi, attribuibili in prima istanza sostanzialmente alla grave insufficienza respiratoria determinata dall'interessamento da parte dell'infezione, appunto, soprattutto del parenchima e dell'interstizio polmonare.

Tuttavia, per quanto riguarda i dati cinesi, l'effettiva attendibilità risulta essere piuttosto dubbia, vista la discutibile trasparenza delle autorità locali nella trasmissione di informazioni tanto rilevanti in tema di salute, come è tristemente noto, anche rispetto a dati di cronaca su possibili censure di addetti ai lavori, che, già in tempi come si suol dire “non sospetti”, avevano paventato la potenziale diffusione di una nuova epidemia, dopo aver osservato diversi casi di infezioni respiratorie, meritevoli quanto meno di ulteriori approfondimenti, tanto dal punto di vista diagnostico-terapeutico quanto da quello epidemiologico.

Quanto si conosce con relativa certezza è il fatto che l'epidemia si sia in seguito propagata inizialmente in tutta la Cina e in alcuni stati asiatici limitrofi, con numerosi casi di infezione confermati, fra gli altri, in Indonesia, Thailandia, Corea del Sud, Iran, Giappone, rispetto a cui si ricorda anche la vicenda, che ha sollevato peraltro anche importanti questioni etiche e di diritto marittimo a livello mondiale, che esulano tuttavia dallo scopo di questa

trattazione, della nave da crociera Diamond Princess, ancorata presso il porto di Yokohama dal 3 febbraio 2020, con 691 casi accertati e almeno 5 morti fra i 2666 passeggeri e i 1045 componenti dell'equipaggio (1).

Per l'inizio della diffusione dell'epidemia in Europa occidentale si fa generalmente riferimento al mese di gennaio 2020, più precisamente al giorno 24, data della descrizione e dell'identificazione dei primi casi, fra gli altri, in Francia(2), Germania e Italia, trattandosi sostanzialmente di cittadini cinesi in viaggio per lavoro o turismo, come nel caso dei due coniugi di 67 e 66 anni originari di Wuhan, passeggeri di una nave da crociera ancorata al porto di Civitavecchia. Arrivati all'aeroporto di Milano Linate il giorno 23 gennaio, sono stati ricoverati il 29 gennaio in isolamento all'Istituto Spallanzani di Roma con diagnosi di polmonite e dimessi il giorno 19 marzo, dopo un periodo trascorso in Terapia Intensiva a seguito delle gravi complicanze respiratorie determinate dall'infezione. In questa occasione, il 31 gennaio, il governo italiano ha inoltre dichiarato lo stato di emergenza, bloccando tutti i voli da e per la Cina, stanziando i primi fondi e nominando Commissario straordinario per l'emergenza il capo della Protezione Civile, Angelo Borrelli.

Per quanto riguarda la situazione italiana, il primo caso di positività cosiddetta "autoctona" al tampone faringeo, utilizzato comunemente per accertare i casi di contagio, risale a giorno 20 febbraio 2020, data del ricovero presso l'Unità di Terapia Intensiva dell'ospedale di Codogno (LO) di un soggetto di sesso maschile di 38 anni, residente a Castiglione d'Adda, affetto da una grave forma di polmonite interstiziale bilaterale, che aveva determinato una ARDS, con conseguente necessità di ricovero, appunto, in UTI e assistenza ventilatoria invasiva previa intubazione orotracheale.

Conseguentemente, è stata avviata un'indagine epidemiologica, con il fine di rintracciare i soggetti venuti a contatto con l'uomo nelle settimane precedenti, la quale ha permesso di individuare ulteriori casi di positività all'infezione fra i colleghi di lavoro, gli amici con cui si dedicava abitualmente ad attività ludico-motoria e la moglie incinta all'ottavo mese di gravidanza.

A seguito di questo evento, il governo, le autorità sanitarie e le amministrazioni regionali italiane hanno adottato rapidamente le misure e le procedure del caso, in parte già predisposte in precedenza grazie allo stretto monitoraggio della situazione cinese e della propagazione presso la regione asiatica(3).

In una prima fase sono stati identificati nel nord Italia principalmente due focolai di diffusione dell'infezione, le cosiddette "zone rosse", corrispondenti la prima alla città di Codogno con altri 9 comuni limitrofi del basso Lodigiano e la seconda al paese veneto di

Vo' Euganeo (PD), comune di cui era originario il primo paziente deceduto a causa dell'infezione, un uomo di 78 anni, ricoverato presso l'ospedale di Schiavonia (PD) per accertamenti relativi a preesistenti patologie da cui era affetto, al momento non rese note. In seguito, con la progressiva individuazione di ulteriori casi anche nelle aree e nelle regioni limitrofe, si è dovuto provvedere ad estendere le zone rosse inizialmente alle intere regioni di Lombardia e Veneto, seguite da Emilia Romagna e Liguria, in cui erano stati accertati nuovi focolai di infezione, probabilmente "importati" dalle aree precedentemente citate, fino al giorno 8 marzo 2020, in cui il presidente del consiglio dei ministri Giuseppe Conte, durante una conferenza stampa, illustrava il contenuto del nuovo DPCM, con il quale venivano di fatto inasprite e rese ancor più stringenti le misure urgenti atte al contenimento del contagio («Gazzetta Ufficiale» s.d.).

Con l'entrata in vigore del suddetto provvedimento, il Paese entrava quindi nella cosiddetta "fase 1", che si sarebbe di fatto prolungata, grazie alle ulteriori modifiche e ai successivi decreti che estendevano le misure contenitive a tutto il territorio nazionale, fino al giorno 4 maggio 2020, data a partire dalla quale era stato previsto un allentamento delle misure previste fino alla progressiva ripresa di tutte le attività produttive e delle interazioni sociali (la cosiddetta "fase 2").

Per quanto concerne la diffusione dell'infezione nel mondo, essa è stata quindi molto rapida, come conferma il fatto che il giorno 11 marzo 2020, durante la conferenza stampa del Direttore Generale dell'Organizzazione Mondiale della Sanità, Tedros Adhanom Ghebreyesus, viene ufficialmente definita una pandemia, con un aumento di 113 volte del numero di casi al di fuori della Cina, 118.000 in 114 Paesi, con 4291 deceduti (4).

A ulteriore dimostrazione della velocità di propagazione e della dirompenza della pandemia, al giorno 25 aprile 2020, il virus si era diffuso in almeno 200 Paesi, con un numero di casi di contagio accertati di oltre 1.700.000 e 11.600 decessi, con un massivo incremento giornaliero (5).

Ad oggi, il Paese che conta più casi e il maggior numero di decessi risultano essere gli Stati Uniti d'America con oltre un milione di casi, seguiti da alcuni Stati europei come Italia, Spagna, Francia, Regno Unito e Germania e ovviamente dalla Cina.

Rispetto ai dati epidemiologici, tuttavia, lo scrivente ritiene personalmente necessario un approccio quanto mai critico ed assennato, in quanto la diffusione degli stessi risente particolarmente di vari bias, primi fra tutti il fatto che alcuni sistemi sanitari siano particolarmente deficitari nell'individuazione dei casi, nella raccolta precisa e scrupolosa dei dati stessi o altrettanto nella loro trasmissione.

Quanto precedentemente affermato si riflette chiaramente in un elevato rischio di rapida diffusione del contagio soprattutto in Paesi che, per carenza di mezzi economici, possono basarsi su un sistema sanitario sostanzialmente non preparato e inadeguato a far fronte ad una emergenza sanitaria di questo tipo, con potenziali conseguenze drammatiche a breve e lungo termine, tanto dal punto di vista della salute della popolazione quanto da quello socio-economico.

Sono, appunto, anche di natura socio-economica le pesanti conseguenze che si prevedono sia nell'immediato che nel prossimo futuro, visto il pesante impatto della pandemia e degli altrettanto gravosi, seppur necessari, provvedimenti attuati dai vari governi mondiali per contenerne l'espansione.

Il dibattito fra gli esperti, come comprensibile, non si espleta solo su un piano clinico, epidemiologico o di salute pubblica, coinvolgente principalmente infettivologi, igienisti, epidemiologi, anestesisti e in generale tutti i clinici che si sono occupati della gestione dei pazienti contagiati, ma anche su quello socio-economico ed imprenditoriale.

E' quindi, per certi versi, naturale che vi sia un gran numero di pareri discordanti fra coloro che si trovano coinvolti in tutti gli ambiti che sono stati purtroppo interessati da questa grave emergenza, la quale determinerà, appunto, conseguenze a 360 gradi, intaccando, più o meno tangenzialmente, tutti gli aspetti della vita degli individui.

Bisogna considerare inoltre le pesanti ripercussioni che la pandemia sta già determinando dal punto di vista diplomatico, come esemplificato dalla nota tensione esistente fra il governo di Washington e quello di Pechino, essendo stato quest'ultimo accusato di scarsa trasparenza e di non aver attuato tempestivamente le misure atte alla prevenzione della diffusione del contagio a seguito dell'individuazione dei primi casi.

Ulteriore accusa, ben più pesante della precedente, è quella sostenuta anche da alcuni esperti di fama mondiale, secondo cui l'origine del virus non sia da attribuirsi al cosiddetto salto di specie fra il pipistrello e l'uomo avvenuto presumibilmente presso il mercato di Wuhan, ma ad un errore umano nella gestione e nel contenimento del patogeno presso un laboratorio ad elevata biosicurezza con sede nella città cinese.

I ragionamenti che potrebbero essere potenzialmente stimolati da questa condizione sono quindi estremamente vari e numerosi, esulando dallo scopo di questa disquisizione, anche in considerazione del fatto che tutt'ora ciò che domina la situazione presente sembra ancora essere una condizione di totale incertezza.

A suffragio di quanto affermato precedentemente, vi è da considerare che ad oggi, sebbene la curva del contagio sembri essere costantemente in una seppur lenta, fase di

discesa, non si può di fatto ancora affermare che il mondo si sia completamente lasciato alle spalle la pandemia, dal momento che continuano a registrarsi ancora diversi contagi in vari Stati (al giorno 4 maggio i casi accertati nel mondo risultavano essere almeno 3,5 milioni) , con ancora un numero non irrilevante di decessi, nonostante la progressiva chiusura di molti dei cosiddetti “reparti COVID”, appositamente istituiti, e la riconversione, con ritorno alle destinazioni e alle attività originarie, di unità operative ospedaliere che erano state in precedenza attrezzate per il ricovero di pazienti con l’infezione da nuovo coronavirus.

1.2 Agente patogeno

Il nome con cui si fa generalmente riferimento al virus responsabile della pandemia è COVID19.

Questo acronimo in realtà significa per esteso “*CO*rona*V*irus *D*isease- 2019”.

Si tratta di un virus appartenente all’ampio insieme, appunto, dei Coronavirus.

In particolare, esso appartiene al genere *Coronavirus*, che fa parte, insieme ai *Torovirus*, della famiglia *Coronaviridae*.

Tutt’ora le conoscenze su questi virus risultano essere piuttosto modeste, poiché difficilmente coltivabili presso i laboratori di microbiologia.

Ciò che si conosce indubbiamente è che possiedono acido nucleico RNA a singola elica positiva, simmetria elicoidale, dimensioni medie (80-230 nm) nell’ambito di quelle di tutti i virus e un involucro lipidico caratteristico che li rende ben riconoscibili in microscopia elettronica e che è anche il motivo della loro denominazione.

L’aspetto, infatti, ricorda la “corona solare” per la presenza di estroflessioni rotondeggianti o a forma di petalo che si dipartono dall’involucro glicoproteico (proteina S).

Sono presenti anche un antigene emoagglutinante e fissante il complemento, una glicoproteina di membrana (M) e una proteina nucleocapsidica (N).

Ne esistono due specie umane note da tempo (229E e OC43), a cui si sono affiancate in seguito altre due di più recente identificazione (NL63 e HKU1), tutte e quattro responsabili di patologie usualmente benigne a carico delle alte vie respiratorie.

Diversamente da quelle precedentemente citate, altre due nuove specie altamente

patogene di coronavirus in grado di infettare l'uomo sono state identificate e sequenziate, rispettivamente, nel 2003 e nel 2012; la prima (SARS-CoV) è quella che si associò all'epidemia di SARS (*severe acute respiratory syndrome*).

La seconda (MERS-CoV, *Middle East respiratory syndrome coronavirus*) identificata inizialmente nella penisola arabica e successivamente anche in Europa (Francia, Italia, Germania, Gran Bretagna) è stata responsabile di forme di polmonite con evoluzione verso sindromi di insufficienza respiratoria gravate da elevata letalità, che si è stimata essere vicina al 30%.

Comunque, con l'eccezione di MERS-CoV e SARS-CoV, i coronavirus umani vengono ritenuti responsabili di infezioni respiratorie lievi e aspecifiche in tutte le età, con maggiore incidenza durante la stagione invernale e l'inizio di quella primaverile.

Il più consueto quadro clinico sembra essere il raffreddore comune, avente come agente eziologico il coronavirus in percentuale variabile dal 5 al 17%.

La frequenza delle infezioni da coronavirus, comunque, è di difficile valutazione, dal momento che il virus circola abbondantemente nella popolazione: gli anticorpi, evidenziabili sin dal primo anno di vita, sono presenti nel 50% dei bambini di 4 anni e nel 70% degli individui adulti (Moroni et al. 2015).

Per quanto riguarda invece più precisamente il nuovo coronavirus identificato a dicembre 2019 in Cina, la sua origine sembra essere tutt'ora sconosciuta e quanto mai nebulosa. Essa è infatti importante oggetto di dibattito fra i numerosi esperti mondiali, nonché di pesanti accuse nei confronti del Paese asiatico da parte di diverse autorità governative mondiali, prima fra tutte quella statunitense.

Infatti, sebbene l'inizio della diffusione sia, secondo la maggior parte degli addetti ai lavori, da ascrivere al cosiddetto "salto di specie" fra un pipistrello (o altri animali secondo alcuni) e l'uomo, presumibilmente avvenuto presso il mercato tradizionale Huanan Seafood Wholesale Market di Wuhan, in cui le condizioni igieniche sono tutt'altro che accettabili, vi sono comunque alcuni esperti che sostengono che la causa della diffusione del virus sia da attribuirsi ad un errore umano nella manipolazione dello stesso in un laboratorio ad elevata biosicurezza nella stessa città cinese, per non parlare di chi sostiene l'ipotesi della guerra o del terrorismo biologico.

Le metodiche di sequenziamento metagenomico e la cosiddetta "*targeted real-time polymerase chain reaction*" (qRT-PCR) hanno identificato un nuovo CoV umano (denominato SARS-CoV-2) nel fluido del lavaggio broncoalveolare prelevato dal cluster iniziale di pazienti di Wuhan.

Il patogeno SARS-CoV-2 è stato coltivato, non con poche difficoltà, in cellule di *Vero*, Huh7 umano e cellule epiteliali delle prime vie aeree umane, dove ha dimostrato di essere citopatico.

Inoltre, immunoglobuline sieriche (IgM e IgG) provenienti dai casi hanno neutralizzato SARS-CoV-2 in colture cellulari e rivelato le cellule infettate dal virus con metodiche di immunofluorescenza indiretta.

L'analisi filogenetica ha rivelato che il virus è strettamente correlato con il SARS-CoV (responsabile, in passato, della nota epidemia), con cui condividerebbe circa 80% del codice genetico, nella sottofamiglia dei *Sarbecovirus*, genere *Betacoronavirus*.

La trasmissione avviene per via aerea tramite droplets o contatto con le mucose delle alte vie aeree e della bocca di secrezioni infette, mentre la via airborne propriamente detta e quella oro-fecale non sono state dimostrate essere efficaci.

Mentre un ospite intermedio non è ancora stato identificato, si sa certamente che il nuovo coronavirus presenta una forte somiglianza dal punto di vista genetico (maggiore del 95%) con noti coronavirus dei pipistrelli provenienti dalla Cina, suggerendo di fatto un'origine dell'infezione a partire proprio da questo mammifero.

Coronavirus relativamente simili sono stati individuati nel pangolino (mammifero venduto anche nel mercato di Wuhan, al centro del commercio illegale per via dell'importanza delle sue scaglie nella medicina orientale).

In questi virus, il *receptor-binding domain* (RBD) della glicoproteina *Spike* (S) è più simile a quella del SARS-CoV-2 di quanto non lo sia quella dei virus del pipistrello.

SARS-CoV-2 condivide la maggior parte del suo codice genetico con SARS-CoV, compresa la glicoproteina S, la RNA polimerasi RNA dipendente (Nsp12) e due proteasi papain-like (PLpro) e la proteasi 3C-like (3CLpro).

E' stata dimostrata anche una sostanziale cross-reattività fra il nuovo agente patogeno e il virus della SARS.

Un recente studio ha confermato che l'enzima convertitore dell'angiotensina 2 (ACE2), espresso nell'epitelio del tratto respiratorio umano, è il recettore di entrata nelle cellule per il SARS-CoV-2 simile al SARS-CoV e è stato dimostrato essere in grado di causare polmonite solo in topi da laboratorio le cui cellule delle vie respiratorie esprimano l'enzima ACE.

Questo è probabilmente mediato dal RBD della glicoproteina S.

In ogni caso, nonostante vi siano ovvie e dimostrate analogie fra SARS-CoV-2 e SARS-CoV e sia stata evidenziata una cross-neutralizzazione, sono anche state notate

significative differenze biologiche, specificamente nella sequenza e nella struttura della glicoproteina S (6).

Altra interessante questione, che si evince dalla frequenza di manifestazioni a carico del sistema nervoso centrale, è quella del neurotropismo del nuovo coronavirus, caratteristica che sembra peraltro comune a tutti i coronavirus umani.

A fronte di tutto quanto precedentemente affermato, risulta tuttavia evidente la necessità di ulteriori studi e approfondimenti circa le caratteristiche genetiche e di patogenicità del virus, che si renderanno indubbiamente fondamentali per un futuro approccio terapeutico e preventivo.

Da sottolineare l'assoluto contributo delle ricercatrici dell'istituto Spallanzani di Roma, le prime ad isolare il virus in laboratorio in Europa.

1.3 Manifestazioni cliniche

Una differenza chiave fra COVID-19 e la polmonite associata all'influenza stagionale è la potenziale gravità della patologia anche in soggetti in età giovane-adulta in assenza di rilevanti comorbidità.

In uno studio che confrontava tre ben condotte case series cinesi con un gruppo di riferimento di pazienti con polmonite associata all'influenza provenienti da 73 ospedali tedeschi, la severità del quadro clinico anche in adulti di età inferiore ai 60 anni senza patologie croniche preesistenti era significativamente maggiore nella COVID-19.

Per esempio, il 28% dei pazienti con COVID-19 trattati in terapia intensiva non aveva comorbidità in anamnesi.

Inoltre, il tasso di ARDS e ricorso a ventilazione meccanica era marcatamente superiore fra i soggetti con la patologia da coronavirus.

La durata media della ventilazione è stata di 9 giorni per quella non invasiva, di 17 per quella invasiva(7).

Considerando tutti gli studi, i sintomi più comuni all'esordio della patologia risultano essere febbre, tosse, fatigue, astenia e mialgie più o meno diffuse.

Tuttavia, i dati in nostro possesso mostrano che solo la metà circa dei pazienti sono

febrili al momento dell'ingresso in ospedale.

Risultano essere abbastanza comuni anche i sintomi gastrointestinali, quali nausea, anoressia, vomito e diarrea, riportati in circa il 40% dei soggetti in alcune coorti, fra cui i bambini di età inferiore agli 8 anni.

Inoltre, fino al 10% dei pazienti presenta i sintomi sopra citati in assenza di febbre o sintomatologia respiratoria.

La patologia è stata associata anche ad uno stato di ipercoagulabilità, con aumento del rischio di trombosi venosa profonda e tromboembolia polmonare, ad aggravare spesso un quadro già di compromesso dal punto di vista respiratorio per la polmonite determinata dall'infezione a questo livello(8).

Sono state descritte anche manifestazioni neurologiche, comprendenti cefalea, vertigine, alterazioni dello stato di coscienza, ictus ischemici ed emorragici (9), così come lesioni muscolari e rhabdomiolisi in casi comunque estremamente rari.

Una quota importante di soggetti riporta alterazioni del senso del gusto e dell'olfatto, fino all'anosmia, generalmente comunque ad evoluzione favorevole(10).

Altre manifestazioni extrapolmonari coinvolgono occhio e cute, come dimostra ad esempio uno studio italiano, in cui il 20% dei pazienti riferisce presenza di lesioni cutanee; le più comuni risultano essere rash eritematoso diffuso, orticarioide e vescicole (11).

In ultimo, sono state riportate anche manifestazioni oculari consistenti sostanzialmente in una congiuntivite(12).

Per quanto riguarda il decorso della malattia, il periodo medio di incubazione stimato risulta essere fra 3 e 6 giorni (range fra 1.3 e 11.3). La durata fra l'esordio dei sintomi e l'insorgenza della dispnea è stata circa 5-6 giorni.

In media, la patologia progredisce ulteriormente fino a richiedere l'ospedalizzazione a 7-8 giorni dalla comparsa dei primi sintomi.

I pazienti possono apparire inizialmente stabili, ma spesso il deterioramento clinico avviene rapidamente, con un quadro di insufficienza respiratoria con severa ipossia.

La caratteristica principale che si osserva in questi casi è la cosiddetta ARDS.

L'intervallo temporale fra l'inizio dei sintomi e lo sviluppo di ARDS è approssimativamente di 8-12 giorni.

In aggiunta a ciò, l'incidenza di manifestazioni cardiovascolari, come ad esempio lesioni miocardiche, sembra essere piuttosto elevata, probabilmente dovuta alla risposta infiammatoria sistemica e alle disfunzioni del sistema immunitario durante la progressione della patologia.

Nelle casistiche considerate, la severità del quadro clinico e lo sviluppo di ARDS sono maggiormente associati con l'età avanzata e le condizioni mediche pregresse.

Inoltre, la neutrofilia, elevati livelli di LDH e D-dimero, conta linfocitaria, conta dei linfociti T CD3 e CD4, AST, prealbumina, creatinina, glicemia, LDL, ferritina sierica e tempo di protrombina (PT) sono stati associati ad un maggior rischio di patologia severa e ARDS. In una coorte di 191 pazienti con outcome clinico definito (137 dimessi e 54 deceduti), la mortalità era indipendentemente associata con età avanzata, elevati score qSOFA, D-dimero >1mcg/mL all'ingresso, e la maggioranza ha avuto una patologia severa e complicanze, come ARDS, danno renale acuto, sepsi.

I fattori associati in misura maggiore con malattia grave erano saturazione arteriosa di ossigeno misurata con pulsossimetro <88% all'ingresso, prima determinazione del D-dimero >2500, ferritina >2500, PCR >200.

Inoltre, i pazienti affetti da malattie cardiovascolari sono stato dimostrati essere a più alto rischio per quanto concerne lo sviluppo di sintomatologia severa, in linea con quanto evidenziato anche in occasione delle epidemie di SARS e MERS.

Per quanto concerne i bambini, la maggior parte sembra sviluppare un quadro clinico di lieve gravità.

In un gruppo di 1391 soggetti in età pediatrica fra sintomatici e sintomatici (età mediana 6.7 anni) con contatti COVID19 documentati presso il Wuhan Children's Hospital, 171(12.3%) erano SARS-CoV-2 positivi; 27(15.8%) erano non mostravano sintomi o segni radiologici compatibili con polmonite, 33(19.3%) lamentavano sintomi attribuibili ad interessamento delle alte vie respiratorie, mentre il 64.9% era affetto da polmonite. Tre pazienti (tutti con preesistenti condizioni patologiche) hanno avuto necessità di ricovero in Unità di Terapia Intensiva e uno è deceduto. Sempre riguardo all'ambito pediatrico, in particolare in soggetti di età inferiore ai 12 anni, ultimamente è stata notata una possibile associazione fra infezione da SARS-CoV-2 e malattia di Kawasaki, una vasculite che colpisce principalmente i vasi di medio calibro, fra cui in genere le arterie coronarie, determinando lo sviluppo di aneurismi e fragilità di parete, con le conseguenze estremamente gravi che si possono immaginare.

In termini di coinfezioni, invece, una analisi di più di 8000 campioni di contatti COVID19 testati per SARS-CoV-2 in Cina ha riportato coinfezioni virali nel 5.8% dei soggetti COVID19 positivi (inclusi coronavirus stagionali, virus dell'influenza A e rinovirus).

Un altro studio di 1206 pazienti ha evidenziato coinfezioni virali in 24 dei 116 (21%) pazienti SARS-CoV-2 positivi; i più frequentemente identificati sono stati rino/enterovirus,

virus respiratorio sinciziale, coronavirus stagionali.

Coinfezioni di natura batterica e fungina sono state documentate soprattutto nel setting delle Unità di Terapia Intensiva, comprendendo, fra i più comuni, *Acinetobacter Baumannii* e *Klebsiella Pneumoniae*.

Fra 191 pazienti, coloro che non sono sopravvissuti sono stati più probabilmente affetti da sepsi, basandosi sul qSOFA score, e infezioni secondarie, anche se non sono stati riportati i risultati dettagliati delle analisi batteriologiche.

Di rilievo e meritevole di ulteriori approfondimenti risulta essere la frequenza di infezioni secondarie e l'associazione fra queste ultime e la somministrazione di terapia steroidea per via sistemica(6).

1.4 Aspetti radiologici

Considerando invece l'infezione dal punto di vista radiologico, per quanto concerne soprattutto l'interessamento dell'apparato respiratorio e in particolare il coinvolgimento polmonare, si trovano in letteratura diverse pubblicazioni che illustrano il risultato di studi condotti in questo ambito, specialmente per quanto riguarda l'imaging ottenuto, più che con la radiologia tradizionale (avente bassa sensibilità, soprattutto nelle fasi iniziali), con la tomografia computerizzata ad alta risoluzione.

Secondo quanto evidenziato in uno studio condotto in Cina fra Gennaio e Febbraio 2020, i principali reperti patologici evidenziati con questa metodica a livello polmonare si sono dimostrati per certi versi differenti a seconda che i pazienti si presentassero in condizioni cliniche lievi o severe.

Tuttavia, entrambi i gruppi di pazienti presentavano all'ingresso in ospedale, in una percentuale fra 87 e 97% dei casi, un quadro di opacità a vetro smerigliato.

Consolidamenti, broncogramma aereo, aspetto a "polmone bianco" e versamento pleurico sono stati refertati con maggiore frequenza in pazienti con quadri clinici severi.

Piuttosto comuni anche il pattern "*crazy-paving*", densità lineari, bronchiectasie, nodularità, il cosiddetto "segno dell'albero in fiore".

Riguardo le differenze fra i due gruppi di pazienti, il coinvolgimento bilaterale diffuso era

più comune in quello con patologia grave, con interessamento di tutti e 5 i lobi polmonari osservato più spesso nel medesimo gruppo, così come un maggior score radiologico di severità a livello lobare.

I casi più lievi, invece, mostravano più comunemente interessamento periferico e dei campi inferiori, con estensione limitata, focale o multifocale subsegmentaria.

Lo studio di cui sopra dimostra peraltro come non vi siano differenze statisticamente significative in termini radiologici fra soggetti asintomatici e pazienti con malattia lieve, così come fra individui febbrili con quadro lieve e apiretici(13).

Come ultima riflessione, a corollario di quanto affermato in precedenza, risulta evidente il fatto che i dati siano assolutamente provvisori e suscettibili di innumerevoli modificazioni in futuro, dal momento che la pandemia, seppur in via di riduzione, quanto meno per quanto concerne la sua fase di acuzie, non può assolutamente considerarsi superata.

Di conseguenza, si rendono necessari il continuo monitoraggio dei dati e approfondimenti da molteplici punti di vista, per determinare ad esempio la mortalità generale e nell'ambito di diverse categorie di pazienti, la quota di soggetti infetti e asintomatici (che ad oggi risulta essere piuttosto elevata, costituendo pertanto un elemento fondamentale nella così ampia diffusione del virus).

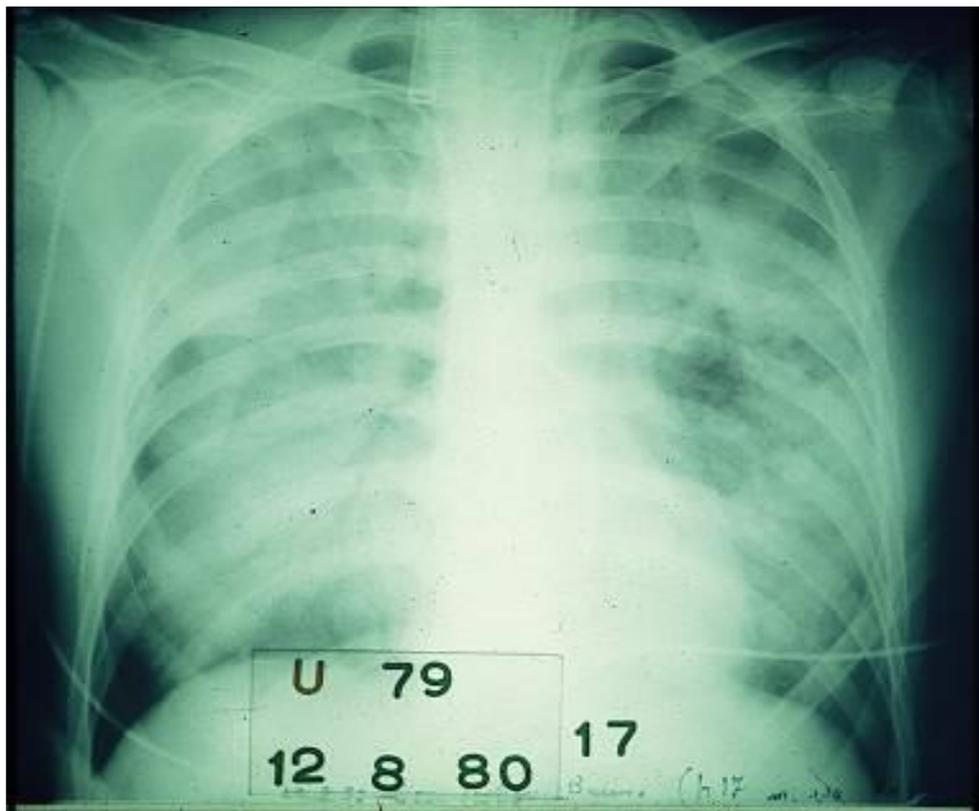


Figura1. Radiogramma di un caso di ARDS severa

1.5 Fattori di rischio e fattori prognostici

Nell'ambito dell'infezione da SARS-CoV-2, vi sono stati diversi tentativi, da parte degli addetti ai lavori, di individuare quanto meno categorie o gruppi di pazienti che presentassero maggior probabilità, una volta acquisita l'infezione stessa, di sviluppare un quadro clinico severo o addirittura in grado di condurre al decesso.

Uno studio retrospettivo di case series condotto presso il Tongji Hospital di Wuhan, in Cina, ha focalizzato la propria attenzione su una coorte di 799 pazienti, acquisendo fino al 28 febbraio i dati riguardanti 113 soggetti deceduti e 161 guariti con diagnosi di COVID19. Secondo lo studio, l'età media dei pazienti deceduti, corrispondente a 68 anni, era significativamente maggiore di quella dei guariti, 51 anni.

Il sesso maschile occupava una percentuale maggiore nel gruppo dei soggetti deceduti rispetto a quello dei guariti.

Ipertensione arteriosa cronica e altre comorbidità cardiovascolari erano più comuni fra i deceduti rispetto a coloro che sono guariti.

Dispnea, discomfort e senso di oppressione a livello toracico e alterazioni dello stato di coscienza si sono dimostrate anch'esse maggiormente presenti nei pazienti andati incontro ad exitus.

La durata mediana del periodo fra l'esordio della malattia e il decesso è stato di 16 giorni. Leucocitosi era presente nel 50% dei pazienti deceduti, ma solo nel 4% dei guariti, mentre linfopenia è stata riscontrata nel 91% e 76% rispettivamente.

Le concentrazioni di AST, ALT, creatinina, creatin chinasi, LDH, troponina I cardiaca, N-t pro-BNP e D-dimero erano marcatamente più elevate fra i pazienti deceduti rispetto a coloro che sono stati dichiarati guariti.

Complicanze comuni osservate con maggior frequenza nel primo gruppo di soggetti sono state ARDS (100%), insufficienza respiratoria di tipo 1, sepsi (100%), danno miocardico acuto, insufficienza cardiaca, alcalosi, iperkaliemia, danno renale acuto ed encefalopatia ipossica.

I pazienti con preesistenti comorbidità cardiovascolari sono stati confermati essere a maggior rischio di sviluppare complicanze di natura cardiologica.

In ogni caso, indipendentemente dalla presenza o meno in anamnesi di una storia di patologia cardiovascolare, danno miocardico acuto e scompenso cardiaco si sono manifestati più frequentemente nei pazienti in seguito deceduti, così come la disfunzione

multiorgano(14).

Un altro studio, retrospettivo multicentrico, è stato condotto a Wuhan, presso il Jinyintan Hospital e il Wuhan Pulmonary Hospital.

Esso prendeva in analisi tutti i pazienti adulti, di età superiore ai 18 anni, con COVID 19 confermata con indagini di laboratorio, afferiti ai due centri sopra citati e dimessi o deceduti entro il 31 gennaio 2020.

Fra i 191 pazienti considerati, 137 sono stati dimessi e 54 sono andati incontro ad exitus in ospedale.

Circa la metà dei soggetti presentava comorbidità, fra le quali la più comune è risultata essere l'ipertensione arteriosa (30% di tutti i pazienti), seguita da diabete mellito (19%) e coronaropatie (8%).

E' stato inoltre evidenziato rischio incrementato di mortalità intraospedaliera per età avanzata, elevato SOFA score e D-dimero maggiore di 1mcg/mL all'ingresso in ospedale. La valutazione dei tre elementi di cui sopra potrebbe quindi costituire un valido aiuto per i clinici nell'identificare i pazienti con prognosi peggiore già agli stadi precoci della malattia(15).

Un ulteriore studio cinese, che comparava un gruppo di pazienti affetti da patologia definita lieve con un altro affetto da malattia grave, ha dimostrato come, nei secondi, la prevalenza di fattori di rischio come ipertensione arteriosa o di comorbidità preesistenti a carico dell'apparato respiratorio o cardiovascolare sia significativamente maggiore(16).

In ultima analisi, considerando globalmente e confrontando i risultati degli studi condotti fino ad oggi e presenti in letteratura, si può affermare con relativa sicurezza che, nell'ambito dei fattori di rischio per lo sviluppo di un quadro clinico grave o addirittura per outcome sfavorevole e decesso, fra i non modificabili figurano sesso maschile e soprattutto età avanzata.

Fra i modificabili, o quanto meno trattabili, merita considerazione l'ipertensione arteriosa, mentre fra le comorbidità rilevanti, un ruolo importante è ricoperto da quelle a carico dell'apparato respiratorio e cardiovascolare.

Le condizioni precedentemente citate, peraltro, si caratterizzano per una prevalenza piuttosto rilevante nella popolazione generale, che risulta essere ancora più elevata se si considerano solamente le fasce di età più avanzate, già di per sé gravate da prognosi peggiore in caso di eventuale infezione da SARS-CoV-2.

1.6 Indagini microbiologiche e diagnostica eziologica

Le metodiche utilizzate per l'identificazione di SARS-CoV-2 e i parametri decisionali per il loro utilizzo nei soggetti in cui fosse presente il sospetto di infezione, sintomatici o completamente asintomatici, sulla base del quadro clinico o di anamnesi personale positiva per contatti a rischio, sono state oggetto di discussione tanto fra gli esperti quanto, purtroppo, nell'ambito della popolazione generale, a causa dell'enorme diffusione di fake news, anche da parte di politici con alta visibilità mediatica, con finalità chiaramente ben diverse dalla tutela della salute dei cittadini.

Uno studio pubblicato su JAMA il giorno 11 marzo 2020 riporta dati sull'identificazione di SARS-CoV-2 in campioni umani prelevati da diversi apparati e tessuti, fra cui fluido di lavaggio broncoalveolare, espettorato, materiale fecale, sangue e urine, con lo scopo di determinare le modalità di trasmissione possibili oltre a quella ben nota costituita da droplets.

Per confermare la diagnosi clinica di infezione da parte del nuovo coronavirus, è stata utilizzata la reazione a catena della polimerasi- trascrittasi inversa cosiddetta "real-time" (rRT-PCR) sui tamponi faringei utilizzati sui soggetti in cui si sospettava la presenza dell'infezione.

Tuttavia, in precedenza non si sapeva se il virus potesse essere identificato anche su campioni provenienti da altre sedi, e se potesse essere trasmesso eventualmente anche attraverso altre modalità oltre ai droplets.

E' stata analizzata la distribuzione del virus fra diversi tessuti di pazienti con diagnosi di COVID19 basata su quadro clinico e reperti radiologici e confermata con l'identificazione di SARS-CoV-2.

Tamponi faringei sono stati ottenuti dalla maggior parte dei pazienti fra 1 e 3 giorni dal ricovero in ospedale.

Durante il decorso della patologia sono stati prelevati campioni di sangue, espettorato, feci, urina, secrezioni nasali.

In pazienti con malattia di gravità severa o sottoposti a ventilazione meccanica invasiva, sono stati raccolti fluido di lavaggio broncoalveolare e biopsia tramite brushing in fibrobroncoscopia.

L'RNA virale è stato estratto dai campioni e identificato con rRT-PCR targettando una specifica sequenza del gene *lab*.

I valori soglia di cicli di rRT-PCR sono stati utilizzati come indicatori del numero di copie di RNA di SARS-CoV-2 nei tessuti di provenienza dei campioni, con bassi valori soglia corrispondenti chiaramente ad una elevata carica virale.

Sono stati identificati anche alcuni campioni fecali contenenti un alto numero di copie di RNA virale e coltivati, e in seguito è stata utilizzata la microscopia elettronica per ricercare il virus vivo.

In totale sono stati ottenuti 1070 campioni da 205 pazienti con COVID19, con età media di 44 anni, in un range fra 5 e 67 anni, per la maggior parte di sesso maschile.

La maggior parte dei soggetti si presentava con febbre, tosse secca e fatigue; il 19% era affetto da patologia grave.

I campioni di fluido di lavaggio broncoalveolare mostravano il più alto tasso di positività (93%), seguiti dall'espettorato (72%), dai tamponi nasali (63%), dalla biopsia con brushing in fibrobroncoscopia (46%), dai tamponi faringei (32%), dalle feci (29%) e dal sangue (1%). Nessuno dei campioni di urina è risultato positivo.

Dai risultati precedentemente illustrati si evince chiaramente quindi che i campioni in cui si può identificare con maggior probabilità il SARS-CoV-2 sono quelli che provengono dal tratto respiratorio inferiore.

Altro dato piuttosto rilevante è quello riguardante il riscontro di RNA virale nelle feci di alcuni pazienti, suggerendo una potenziale possibilità di trasmissione dell'infezione attraverso la via oro-fecale.

Il fatto che in una piccola percentuale i campioni di sangue abbiano dato esito positivo alla PCR potrebbe indicare che talvolta l'infezione potrebbe essere sistemica e non solamente locale a livello del tratto respiratorio.

Inoltre, la trasmissione del virus per vie alternative a quella respiratoria potrebbe aiutare a spiegare la così rapida propagazione della malattia.

Nondimeno, il fatto di processare e analizzare campioni provenienti da diverse sedi potrebbe aumentare la sensibilità e ridurre i falsi negativi dei test(17).

Un altro aspetto piuttosto rilevante e a cui i massimi esperti mondiali si sono mostrati estremamente sensibili è quello delle indagini sierologiche, soprattutto se associate alle metodiche di identificazione diretta del SARS-CoV-2, volte a determinare principalmente se il soggetto è venuto a contatto con il virus e ha sviluppato anticorpi specifici contro quest'ultimo.

Ulteriore argomento sviluppatosi a partire da quanto affermato precedentemente, caratterizzato da molte incertezze che tutt'oggi dividono i massimi esperti mondiali, è la

sostanziale questione se gli anticorpi sviluppati dai soggetti infetti siano protettivi e siano in grado di conferire immunità permanente o meno, visti alcuni casi riportati di reinfezione in pazienti guariti dalla patologia.

Ciò che è indubbio è l'utilità dei test sopra citati, se condotti su larga scala, in termini di stima dell'impatto dell'infezione nella popolazione, la gravità della malattia in termini globali e della cosiddetta "immunità di gregge", necessari per calibrare i futuri interventi di sanità pubblica.

Uno studio a riguardo, condotto a marzo 2020, si è servito di un ELISA per individuare nel siero dei soggetti immunoglobuline G e M dirette contro il dominio legante il recettore (RBD, *receptor binding domain*) della proteina *spike* del SARS-CoV-2.

La sensibilità e specificità di questo assay sono state valutate in combinazione con una microneutralizzazione (MN) e PRNT90 in 51 sieri da 24 pazienti con COVID19 confermata virologicamente e in sieri stratificati per età da 200 controlli sani.

L'analisi dei risultati ha confermato che IgG e IgM contro la RBD in ELISA, MN e PRNT90 erano positive dopo 29 giorni dall'esordio della malattia con nessuna cross-reattività evidenziabile nei controlli stratificati per età.

I test PRNT90 si sono dimostrati più sensibili nell'identificare gli anticorpi rispetto ai test MN eseguiti con la convenzionale "100 tissue culture infectious dose challenge".

Il plasma eparinizzato sembra ridurre l'infettività della *challenge dose* del virus e potrebbe confondere l'interpretazione dei test di neutralizzazione.

In ultimo, l'utilizzo di ELISA per identificare le IgG dirette contro l'RBD della proteina *spike* per screenare i sieri per SARS-CoV-2, seguito da conferma servendosi del test PRNT90, risulta essere un valido approccio per studi sierologico-epidemiologici condotti su larga scala(18).

1.7 Opzioni preventive e terapeutiche

Vista l'assoluta rilevanza e il violento impatto a 360 gradi che la pandemia sta avendo in tutto il mondo, sono stati fatti enormi sforzi in tutti i Paesi del mondo da parte dei ricercatori, tanto dal punto di vista della ricerca, appunto, di una terapia efficace nel

controllare o addirittura debellare in maniera assoluta la malattia, quanto da quello preventivo, con sperimentazioni iniziate fin da subito in diversi Stati per individuare un vaccino efficace contro SARS-CoV-2.

Inoltre, anche in questo ambito, le opinioni dei vari esperti mondiali sembrano essere quanto mai variegata e caratterizzate da molte divergenze circa l'efficacia dell'uno o dell'altro trattamento, mostrando talvolta mal celati interessi di natura economica rispetto ad un approccio piuttosto che ad un altro differente.

Per quanto riguarda la prevenzione primaria, e quindi sostanzialmente la ricerca di un vaccino efficace, come affermato anche precedentemente, vari istituti di ricerca in tutto il mondo si sono attivati a questo scopo, non essendo purtroppo però ancora giunti ad un punto di svolta e tanto meno ad aver individuato una soluzione sicura ed efficace.

Secondo alcuni ricercatori, addirittura, non si arriverà ad avere un vaccino efficace e somministrabile su larga scala nella popolazione prima del nuovo anno.

Uno studio pubblicato a febbraio 2020 centrava la sua attenzione sulla somiglianza dal punto di vista genetico di SARS-CoV-2 con altri coronavirus in grado di determinare epidemie in passato, con particolare riferimento a MERS-CoV e SARS-CoV.

Ebbene, SARS-CoV-2 si è dimostrato essere molto simile a SARS-CoV, molto più di quanto non lo sia a MERS-CoV, basandosi su una analisi filogenetica dell'intero genoma. I ricercatori hanno inoltre tentato di capire se quanto detto sopra fosse vero anche a livello delle singole proteine strutturali (S, E, M e N).

Questo è stato confermato da una chiara comparazione basata su una sequenza di riferimento, dimostrando che le proteine M, N ed E di SARS-CoV-2 e SARS-CoV possiedono oltre il 90% di somiglianza genetica, mentre quella della proteina S è molto inferiore, sebbene ancora piuttosto elevata.

Contrariamente, la somiglianza genetica delle suddette proteine strutturali con quelle di MERS-CoV era sostanzialmente inferiore per tutte e quattro: questa caratteristica è evidenziabile anche osservando i corrispondenti grafici filogenetici.

E' inoltre degno di nota il fatto che, nonostante MERS-CoV sia il più recente coronavirus ad aver infettato l'uomo ed presenti anche maggior ricorrenza (avendo causato focolai nel 2012, 2015 e nel 2018) SARS-CoV-2 sia più simile a SARS-CoV, che non è stato più osservato a partire dal 2004.

Data la stretta somiglianza dal punto di vista genetico fra le proteine strutturali del nuovo coronavirus e quello della SARS, i ricercatori hanno tentato di sfruttare studi immunologici per supportare il potenziale sviluppo di un vaccino per SARS-CoV-2.

Hanno focalizzato la propria attenzione in modo particolare sulle proteine S e N, dal momento che esse sono note aver elicitato una risposta immune potente e, pare, permanente, per quanto riguarda SARS-CoV.

Si sono serviti quindi di dati disponibili riguardanti epitopi derivati da SARS-CoV determinati sperimentalmente e hanno cercato di identificare epitopi di cellule T e B che fossero identici, e conseguentemente potenzialmente cross-reattivi, fra SARS-CoV e SARS-CoV-2.

Quello che è assolutamente indubbio è che il vaccino contro il nuovo coronavirus sia una questione di assoluta urgenza.

Una vaccinazione efficace potrebbe infatti giocare un ruolo fondamentale nel limitare o bloccare la diffusione del virus, aiutando eventualmente a eliminarlo dalla popolazione umana.

Tuttavia, è evidente come gli sforzi della ricerca per raggiungere questo obiettivo siano ancora solo all'inizio.

Molto rimane ancora oscuro sul virus, le sue proprietà biologiche, l'epidemiologia, ecc.

A questo stadio, che si può definire come iniziale, si rende evidente anche una sostanziale mancanza di informazioni circa la risposta immunitaria specifica contro SARS-CoV-2, che rappresenta una sfida importante per lo sviluppo di un vaccino.

Degno di considerazione è il fatto che, a dispetto delle non ancora completamente comprese modalità con cui il sistema immunitario risponde naturalmente a SARS-CoV-2, gli epitopi precedentemente citati risultano rilevanti soprattutto per i dati che si sono registrati in occasione dell'epidemia da SARS-CoV e per il fatto che essi mappino in maniera identica a SARS-CoV-2, basandosi su dati concernenti le sequenze disponibili.

In ogni caso, nonostante l'apparentemente elevata somiglianza genetica fra i due virus, c'è ancora una significativa variazione fra i due e non è ancora noto a priori se gli epitopi che scatenano risposta immune contro SARS-CoV siano altrettanto efficaci nel farlo contro SARS-CoV-2.

Di fatto, si rendono quindi necessari ulteriori approfondimenti e numerosi studi per poter ottenere un quadro della situazione più preciso e completo, che potrà costituire una sorta di punto di partenza, la base da cui partire con il fine di riuscire finalmente a sviluppare una vaccinazione sicura ed efficace(19,20).

Per quanto concerne invece l'aspetto terapeutico, vari studi sono stati condotti in tutto il mondo utilizzando altrettanti protocolli terapeutici e tentando di testare l'efficacia, nei confronti dell'infezione da SARS-CoV-2, di diversi farmaci già presenti in commercio e con

indicazione per altre condizioni patologiche o alcuni addirittura non più in uso.

Vi è da dire, purtroppo, che altrettante sono state le polemiche nelle varie occasioni, con opinioni degli esperti, come spesso è accaduto durante questa pandemia, divergenti o in taluni casi diametralmente opposte, per non parlare delle diatribe con i governi o con le varie agenzie regolatrici dei farmaci.

Indubbiamente, quindi, è da tenere presente non solo l'aspetto terapeutico in quanto tale, bensì anche, e secondo alcuni soprattutto, quello degli interessi economici, che spesso sono in grado di condizionare le opinioni e il modo di guardare ai protocolli terapeutici da parte degli addetti ai lavori.

Un lavoro pubblicato su JAMA il 13 aprile sottolinea che ad oggi non esistono provate terapie efficaci per questo coronavirus.

Tuttavia, il rapido incremento delle conoscenze circa questo virus, la sua struttura e la sua patogenicità, fornisce un numero importante di potenziali bersagli terapeutici.

In questo senso, la terapia farmacologica più promettente risulta essere il *remdesivir*.

Questo farmaco antivirale ha una elevata attività in vitro nei confronti di SARS-CoV-2, ma non è approvato dalla FDA né dall'EMA e si sta testando in vari studi randomizzati in diversi paesi del mondo, fra cui l'Italia.

Oseltamivir, d'altra parte, non è stato dimostrato essere efficace, mentre i corticosteroidi per via sistemica non sono raccomandati.

Inoltre, le evidenze ad oggi disponibili non supportano la sospensione della terapia con ACE- inibitori o con antagonisti del recettore dell'angiotensina (sartani) in pazienti affetti da COVID19.

La velocità e il volume dei trial clinici intrapresi per individuare potenziali trattamenti per COVID19 sottolineano sia il bisogno che la capacità di produrre evidenze di alta qualità anche nel corso di una pandemia.

Ad oggi, comunque nessuna terapia si è dimostrata realmente efficace in vivo(21).

Altri autori hanno rivolto la propria attenzione sugli inibitori della serina proteasi TMPRSS2, ritenuta fondamentale per il fatto che diverse serina proteasi delle cellule dell'ospite si sono dimostrate utili a alcuni virus (fra cui Ebola, SARS-CoV, MERS-CoV e virus dell'influenza), che le impiegano per attivare le glicoproteine del proprio envelope e infettare quindi la cellula ospite.

In particolare, l'enzima di cui si serve SARS-CoV-2, per la fusione di membrana e l'ingresso nella cellula, risulta essere, appunto, TMPRSS2.

Di conseguenza, gli inibitori di questa proteasi, come *camostat mesilato* o *nafamostat*

mesilato, potrebbero essere eleggibili come trattamento farmacologico della patologia, soprattutto in fase precoce.

Un'altra categoria di farmaci su cui si è molto discusso sono gli inibitori di ACE2, dal momento che questo enzima riveste fondamentale importanza nell'ingresso nelle cellule dell'epitelio respiratorio da parte del SARS-CoV e dei coronavirus correlati.

Purtroppo, però, gli ACE inibitori utilizzati come scelta di trattamento di ipertensione arteriosa e insufficienza cardiaca cronica non riescono a inibire ACE2, ma varie altre molecole e composti sono stati dimostrati essere in grado di avere questo effetto.

Fra i farmaci già in uso nel presente o in passato con indicazione per altre patologie e testati oggi per COVID19, figurano anche i tradizionali antimalarici, utilizzati sia in trattamento che in profilassi, ma anche in altre patologie come la febbre Q cronica o patologie autoimmuni come il lupus eritematoso sistemico, come la *cloroquina fosfato* e il suo derivato *idrossicloroquina*.

Queste molecole si sono mostrate infatti recentemente come potenziali farmaci antivirali ad ampio spettro.

La *cloroquina fosfato* inibisce la fosforilazione terminale di ACE2, tappa critica per il suo funzionamento, mentre l'*idrossicloroquina* eleva il pH negli endosomi coinvolti nell'ingresso del virus nelle cellule.

Inoltre, studi molto recenti rivelano che *cloroquina fosfato* e, più efficacemente, *idrossicloroquina* sono in grado di inibire la replicazione di SARS-CoV-2 in cellule di *Vero*. Uno studio condotto fra più di dieci ospedali cinesi, in oltre 100 pazienti con COVID19, ha dimostrato che il trattamento con *cloroquina fosfato* è superiore a quello di controllo nel contrastare l'esacerbazione della polmonite, migliorando i reperti di imaging polmonare, promuovendo la negativizzazione in laboratorio e accorciando la durata della malattia.

Un potenziale ruolo, almeno da quello che si può osservare in vitro, potrebbe rivestirlo la triplice associazione di *cefarrantina*, *selamectina* e *meflochina idrocloride*.

In ogni caso, anche secondo lo studio a cui si è fatto riferimento precedentemente, il farmaco ad oggi più promettente sembra essere *Remdesivir*.

Esso è un farmaco antivirale, appartenente alla classe degli analoghi adenin nucleotidici, dimostratosi efficace contro il virus Ebola nel macaco Rhesus.

Remdesivir possiede attività antivirale anche contro altri virus a RNA a singola elica, compresi filovirus, pneumovirus, paramyxovirus e i coronavirus MERS-CoV e SARS-CoV. Strutturalmente, si tratta di un profarmaco che, una volta metabolizzato nella sua forma attiva, interferisce con l'attività della RNA polimerasi e promuove l'evasione dalla

correzione delle sequenze errate da parte della esoribonucleasi virale, portando di fatto all'inibizione della sintesi dell'RNA virale.

Remdesivir agisce precocemente nell'infezione e determina un calo dei livelli di RNA virale in maniera dose-dipendente che vanno in parallelo con la diminuzione della carica virale in vitro.

Questi meccanismi sono stati dimostrati in vitro per il virus Ebola, SARS-CoV e MERS-CoV, ma un recente studio mostra come il farmaco è in grado di contrastare in vitro l'infezione, da parte di SARS-CoV-2, di cellule di *Vero*, ma anche di cellule di carcinoma epatico umano Huh-7, che sono suscettibili all'infezione.

Secondo i risultati di diversi lavori, *Remdesivir* costituisce potenzialmente una valida opzione terapeutica in pazienti che non sono sottoposti a ventilazione meccanica invasiva, nell'ambito della quale i risultati non sembrano essere promettenti.

Come considerazione finale, va detto quindi che, non esistendo ancora una vaccinazione efficace e somministrabile su larga scala, risulta necessario identificare farmaci approvati off-label e sperimentali contro l'infezione da SARS-CoV-2 e la patologia COVID19.

Tali farmaci possono quindi essere, riassumendo, inibitori della serina proteasi TMPRSS2 e di ACE2, antimalarici, antivirali inibitori della RNA polimerasi, delle proteasi virali e della fusione con la membrana della cellula ospite, come alcuni fitofarmaci in cui si è resa evidente attività antivirale(22).

Anche gli anticorpi monoclonali sono stati considerati come un potenziale valido approccio terapeutico per i pazienti COVID19 positivi, sebbene con non poche polemiche e diatribe sul piano scientifico.

Questo ragionamento deriva dal fatto che grandi moli di dati suggeriscono che, soprattutto nei pazienti che sviluppano un quadro clinico grave, vi sia una cosiddetta tempesta citochinica di grado moderato o severo, che risulta essere anche una rilevante causa di morte o che comunque contribuisce in maniera importante nel condurre i pazienti ad exitus.

A ulteriore conferma di quanto affermato in precedenza, il trattamento della stessa è diventato una componente importante nel percorso terapeutico dei pazienti più gravi. In particolare, nell'ambito della tempesta citochinica, un ruolo centrale sembra essere occupato dall'interleuchina 6, soprattutto in quella che si definisce "*cytokine release syndrome (CRS)*".

Basandosi su questa osservazione, quindi, a maggior ragione nel trattamento dei pazienti con quadro clinico severo, si potrebbe pensare di bloccare il pathway di trasduzione del

segnale di IL-6.

A questo proposito, un farmaco efficace potrebbe essere *Tocilizumab*, un anticorpo monoclonale umanizzato in grado di bloccare il recettore dell'interleuchina 6 e quindi di interrompere la trasduzione del segnale di questa citochina(23).

Infine, recentemente si è affacciata al panorama dei possibili trattamenti eleggibili la cosiddetta plasmaterapia, che si basa sull'impiego del plasma di soggetti che siano stati dichiarati guariti dalla malattia e che abbiano sviluppato una carica anticorpale sufficiente a contrastare l'infezione nei pazienti che vengono sottoposti alla trasfusione.

Senza dubbio, questo è l'approccio che ha suscitato il maggior numero di polemiche, anche da parte di cittadini non addetti ai lavori, principalmente per motivi di cattiva informazione e per il dilagare sul web e sui social network di ondate di fake news, diffuse purtroppo anche da personaggi di spicco della politica nazionale.

Secondo quanto riportato da uno studio condotto in Cina, seppur con il grosso limite di numeri molto piccoli, il plasma dei soggetti convalescenti può interrompere la disseminazione virale, ma non ridurre la mortalità in pazienti con malattia severa end-stage, e il trattamento dovrebbe essere iniziato più precocemente(24).

Anche in Italia vari esperti hanno mostrato grande sensibilità e interesse a proposito dell'approccio terapeutico basato sul plasma di soggetti convalescenti, con dati in attesa di conferma, ma quanto meno promettenti.

2. Definizione e aspetti caratterizzanti la ARDS

L'acronimo ARDS significa per esteso "*acute respiratory distress syndrome*".

Questa sindrome è stata descritta per la prima volta nel 1967, in pazienti con cianosi refrattaria, causata da un quadro di insufficienza respiratoria che richiedeva l'impiego della ventilazione meccanica.

Essa ha avuto varie definizioni nel corso degli anni, ultima delle quali, a cui si fa oggi riferimento, è quella di Berlino del 2012, che ha revisionato i criteri AECC elaborati nel 1994.

Il limite iniziale dell'ARDS è oggi stabilito entro i sette giorni dall'evento patogeno o dall'insorgenza o peggioramento dei sintomi respiratori.

Resta indispensabile la presenza di opacità bilaterali visualizzate attraverso metodiche di imaging, mentre altre cause, come versamenti, noduli e il collasso completo o parziale di un polmone dovrebbero essere escluse.

Viene inoltre affermato con decisione il fatto che l'insufficienza cardiaca o il sovraccarico di fluidi siano criteri di esclusione; in ogni caso, coerentemente con la pratica clinica attuale, viene enfatizzato l'importante ruolo dell'ecocardiogramma, nel rimpiazzare la cateterizzazione dell'arteria polmonare con il catetere di Swan-Ganz.

La definizione di ALI (*acute lung injury*), a cui si faceva riferimento nelle precedenti classificazioni, è stata eliminata e sostituita assegnando all'ARDS una scala di gravità sulla base del rapporto fra PaO₂ e FiO₂: lieve per un rapporto compreso fra 300 e 200 mmHg, moderata per un rapporto fra 200 e 100 mmHg, grave se un rapporto inferiore a 100 mmHg.

La cosiddetta ARDS e la conseguente insufficienza respiratoria acuta che essa determina è stata individuata dai diversi studi come la principale causa di morte nei pazienti colpiti dall'infezione da SARS-CoV-2, essendo stata riscontrata nel 100% dei pazienti andati in seguito incontro ad exitus in diverse casistiche.

In ogni caso, anche fra i soggetti sopravvissuti alla malattia COVID19, in coloro che hanno sviluppato quadri clinici più severi, la ARDS si è resa responsabile in numerosi casi di una grave insufficienza respiratoria acuta, con necessità di ricovero in Unità di Terapia Intensiva e utilizzo di dispositivi per CPAP (in questo ambito, il casco sembra essere il device che vede maggiore utilizzo) e assistenza respiratoria, con ricorso a tecniche di ventilazione non invasiva o invasiva nei quadri di maggiore gravità, vedendo l'intubazione

orotracheale come la tecnica di più comune utilizzo.

In particolare, l'acronimo ARDS sta ad indicare "*acute respiratory distress syndrome*", una sindrome clinica, appunto, caratterizzata da grave dispnea a rapida insorgenza, ipossiemia e infiltrati polmonari diffusi che conducono all'insufficienza respiratoria.

L'ARDS è dovuta a lesioni polmonari multiple che possono essere causate da numerose condizioni mediche e chirurgiche.

Le suddette lesioni possono essere determinate con meccanismo diretto, come in caso di inalazione di sostanze tossiche, o indiretto, come nella sepsi.

I criteri per la diagnosi di questa condizione clinica includono la gravità, sulla base del rapporto P/F, l'insorgenza acuta, la presenza di infiltrati alveolari o interstiziali bilaterali alla radiografia del torace e una PCWP (anche nota come pressione di incuneamento capillare a livello polmonare) inferiore o uguale a 18 mmHg o nessuna evidenza clinica di incremento della pressione atriale sinistra, valutata, come affermato precedentemente, anche attraverso l'ecocardiografia.

Gli stadi di lieve, moderata e grave ARDS sono associati, in modalità crescente, con il rischio di morte e la durata della ventilazione meccanica nei sopravvissuti.

L'incidenza annuale di questa sindrome, prima della pandemia sostenuta da SARS-CoV-2, era stimata essere di oltre 60 casi/ 100000 persone.

Circa il 10% dei ricoveri nelle Unità di Terapia Intensiva riguardava pazienti con insufficienza respiratoria acuta e il 20% circa rientrava nei criteri diagnostici di ARDS.

Ad oggi, vista l'esistenza della pandemia sopra citata, i numeri precedentemente illustrati si dimostrano enormemente aumentati, con intere UTI, alcune delle quali appositamente istituite, che accolgono esclusivamente pazienti COVID19 positivi.

Dal punto di vista dell'eziologia, sebbene numerose patologie mediche e chirurgiche siano associate allo sviluppo di ARDS, la maggior parte dei casi (si stima più dell'80%) è conseguente ad un numero limitato di condizioni cliniche: la sepsi grave e/o polmonite batterica o virale, i traumi, le trasfusioni multiple, l'aspirazione del contenuto gastrico e il sovradosaggio di farmaci.

Fra i traumi, la contusione polmonare, le fratture ossee multiple e le lesioni della parete toracica/costali sono le condizioni più frequentemente associate ad ARDS, mentre i traumi cranici, l'annegamento, l'inalazione di sostanze tossiche e le ustioni sono piuttosto rari.

Il rischio che si sviluppi una ARDS aumenta nei pazienti che presentano più di una condizione medica o chirurgica predisponente.

Numerose altre variabili cliniche sono state associate con lo sviluppo di ARDS.

Tra queste l'età avanzata, l'abuso cronico di sostanze alcoliche, l'acidosi metabolica e la gravità della malattia.

I pazienti traumatizzati con punteggio APACHE II uguale o superiore a 16 hanno un rischio di sviluppare ARDS aumentato di 2,5 volte, mentre in quelli che hanno un punteggio superiore a 20 l'incidenza della sindrome è 3 volte maggiore rispetto a quelli che presentano un punteggio uguale o inferiore a 9.

Cause polmonari (p-ARDS)	Cause extrapolmonari (exp-ARDS)
Polmonite infettiva	Sepsi e shock settico
Polmonite <i>ab ingestis</i>	Trasfusioni multiple
Inalazione di sostanze tossiche	Overdose di narcotici
Contusione polmonare	Pancreatite acuta con SIRS
Tromboembolia polmonare	Bypass cardiopolmonare
Danno da riperfusione polmonare	

Tabella 1. Cause polmonari ed extrapolmonari di ARDS

Considerando decorso clinico e fisiopatologia, la storia naturale dell'ARDS si sviluppa in tre fasi, ognuna delle quali con caratteristiche cliniche e patologiche peculiari.

La prima di queste viene definita essudativa.

In questa fase le cellule epiteliali alveolari (pneumociti di tipo I) e le cellule endoteliali dei capillari alveolari risultano danneggiati, con conseguente perdita dell'integrità della barriera alveolare e stravasamento di liquidi e macromolecole.

Il liquido edematoso, ricco di proteine, si accumula nell'interstizio e negli spazi alveolari.

Concentrazioni significativamente elevate di citochine (per esempio interleuchina 1, interleuchina 8 e fattore di necrosi tumorale alfa) e mediatori lipidici (per esempio leucotriene B4) sono presenti nel polmone durante la fase acuta.

In risposta ai mediatori proinfiammatori, i leucociti, fra i quali soprattutto neutrofili, migrano nell'interstizio polmonare e negli alveoli.

Inoltre, macromolecole proteiche plasmatiche si aggregano con detriti cellulari e surfattante polmonare inattivato all'interno degli spazi aerei a formare spirali di membrane ialine (da cui derivava in passato il nome della sindrome, "*malattia delle membrane*").

ialine”).

Nella fase iniziale dell'ARDS si assiste anche ad un danno a carico dei vasi della circolazione polmonare, con obliterazione del lume degli stessi da parte di microtrombi e proliferazione di fibrocellule stimolata dal quadro flogistico presente.

L'edema alveolare coinvolge prevalentemente le aree declivi del polmone, determinando riduzione della ventilazione e atelettasia.

Il collasso di estese regioni riduce marcatamente la compliance del polmone, portando ad un fenomeno di shunt intrapolmonare e ipossiemia con conseguente aumento del lavoro respiratorio e, in definitiva, della dispnea.

Le alterazioni fisiopatologiche che si verificano negli spazi alveolari sono ulteriormente aggravate dall'occlusione microvascolare più o meno diffusa, che comporta riduzione del flusso arterioso nelle aree ventilate del polmone, aumentando lo spazio morto, e può determinare l'insorgenza di ipertensione polmonare.

Pertanto, oltre all'ipossiemia grave, anche l'ipercapnia secondaria all'aumento dello spazio morto polmonare è una caratteristica predominante già nelle fasi iniziali dell'ARDS.

La fase essudativa va evolvendosi durante i primi 7 giorni dall'esposizione al fattore precipitante l'ARDS, nei quali il paziente sviluppa i primi sintomi respiratori.

Anche se essi si presentano in genere nelle prime 12-36 ore dalla lesione iniziale, talvolta possono insorgere con un ritardo di 5-7 giorni.

La dispnea esordisce come una sensazione di respiro rapido e superficiale accompagnata da quella che il paziente generalmente riferisce come fame d'aria.

La tachipnea e l'aumento del lavoro respiratorio portano spesso alla fatica respiratoria e poi all'insufficienza.

I dati di laboratorio sono solitamente aspecifici e riflettono principalmente le condizioni cliniche sottostanti o precipitanti.

La radiografia del torace mostra generalmente opacità alveolari e interstiziali che interessano almeno tre quarti dei campi polmonari.

Quantunque caratteristici di ARDS, tali reperti radiologici non sono specifici e possono essere indistinguibili da quelli che si possono evidenziare in corso di edema polmonare cardiogeno.

Tuttavia, diversamente da quest'ultimo, raramente le radiografie del torace mostrano cardiomegalia, versamento pleurico, più spesso bilaterale, o ridistribuzione vascolare polmonare, per lo più verso i campi superiori e apicali, segno invece di una patologia che ha avuto un decorso cronico, fino al momento di acuzie, come succede nella maggior

parte dei casi di EPA cardiogeno, appunto.

Considerando la TC del torace in corso di ARDS, in genere si evidenzia una diffusa eterogeneità del coinvolgimento polmonare.

Vista la sostanziale aspecificità delle caratteristiche precoci della sindrome, si rende quanto mai necessaria una accurata diagnostica differenziale.

Le più comuni patologie da considerare nella diagnosi differenziale con ARDS sono l'edema polmonare cardiogeno, la polmonite diffusa e l'emorragia alveolare.

Quadri meno frequenti sono le patologie polmonari interstiziali acute come ad esempio la polmonite acuta interstiziale, il danno immunologico acuto (ad esempio la polmonite da ipersensibilità), il danno da tossine (polmonite attinica) e l'edema polmonare neurogenico. La seconda fase della sindrome da distress respiratorio acuto è quella che viene definita comunemente proliferativa, coprendo di solito il periodo che va dal settimo al ventunesimo giorno.

Durante questa fase, la maggior parte dei pazienti va incontro a rapido miglioramento e viene svezzata dal ventilatore.

Vi è tuttavia da considerare che nonostante ciò, molti pazienti presentano ancora dispnea, tachipnea e ipossiemia.

Alcuni sviluppano inoltre, durante questa fase, lesioni parenchimali progressive e alterazioni precoci caratteristiche della fibrosi polmonare.

Dal punto di vista istologico sono spesso evidenti in questa fase i primi segni di risoluzione, rappresentati dall'inizio del processo riparativo, dall'organizzazione degli essudati alveolari dal passaggio da un infiltrato polmonare prevalentemente neutrofilo ad uno più specificamente linfocitario.

Come parte del processo riparativo, si assiste ad una proliferazione di pneumociti di tipo II lungo le membrane alveolari basali.

Queste cellule epiteliali specializzate producono nuovo surfattante e si differenziano in pneumociti di tipo I.

La terza e ultima fase è quella fibrotica, che fortunatamente non coinvolge tutti i pazienti affetti da ARDS, in quanto molti riescono a ottenere un recupero parziale o completo della funzione polmonare nell'arco di 3-4 settimane.

Nell'evenienza in cui invece il soggetto vada incontro alla fase fibrotica, essa richiede generalmente ventilazione meccanica e/o ossigenoterapia a lungo termine.

Sotto il profilo istologico, l'edema alveolare e gli essudati infiammatori delle fasi iniziali lasciano il posto ad una diffusa fibrosi duttale e interstiziale.

Il marcato sovvertimento dell'architettura acinare porta ad alterazioni simili a quelle dell'enfisema a grosse bolle.

La proliferazione fibrosa intimale del microcircolo polmonare determina una progressiva occlusione del lume dei vasi e ipertensione polmonare.

Le conseguenze fisiologiche comprendono un aumentato rischio di pneumotorace, una riduzione della compliance polmonare e un aumento dello spazio morto.

In questa fase si osserva un marcato incremento della morbilità.

L'evidenza istologica di fibrosi alla biopsia polmonare, in qualunque stadio dell'ARDS, è associata ad un aumento della mortalità.

Venendo all'aspetto prognostico, secondo stime recenti, la mortalità per ARDS varia dal 26 al 44%.

Pur in presenza di una significativa variabilità, appare evidente una tendenza al miglioramento nella prognosi rispetto al passato.

E' interessante osservare che la mortalità attribuibile a questa sindrome è dovuta prevalentemente a cause non polmonari, bensì ad altre patologie fra cui la sepsi e l'insufficienza d'organo, specie se multipla, come nella cosiddetta MOFs, ovvero la "*multi organ failure syndrome*", che rendono conto di oltre l'80% dei decessi.

Pertanto, è verosimile che il miglioramento della sopravvivenza sia una conseguenza dei progressi nel trattamento dei pazienti con sepsi/infezione e di quelli con insufficienza multiorgano.

D'altra parte, i più rilevanti fattori di rischio per la mortalità nell'ARDS sono di natura extrapolmonare.

Uno dei più importanti è l'età avanzata.

I soggetti oltre i 75 anni, in particolare, presentano un sostanziale aumento di mortalità (60% circa) a confronto con quelli di età inferiore ai 45 anni (20% circa).

Inoltre, i pazienti di età superiore ai 60 anni con ARDS e sepsi presentano una mortalità di 3 volte superiore rispetto a quelli di età inferiore ai 60 anni.

Una preesistente disfunzione d'organo dovuta a patologia cronica, in particolare l'epatopatia cronica, la cirrosi epatica, l'alcolismo, l'immunosoppressione cronica, la sepsi, l'insufficienza renale cronica o di qualsiasi organo extrapolmonare come anche elevati punteggi di APACHE III, rappresenta un ulteriore fattore di rischio.

I pazienti con ARDS da danno polmonare diretto (ivi comprese polmonite, contusione polmonare e aspirazione) sono gravati da una mortalità quasi doppia rispetto a quelli con lesioni polmonari indirette, mentre i pazienti chirurgici e traumatizzati con ARDS,

soprattutto quelli senza insulto polmonare diretto, hanno un tasso di sopravvivenza migliore rispetto a quelli precedentemente considerati.

Un precoce (entro 24 ore dalla presentazione clinica) aumento dello spazio morto polmonare ($>0,60$) e un'ipossiemia arteriosa grave ($P/F <100$ mmHg) predicono un'aumentata mortalità nei pazienti con ARDS; altri parametri predittivi di mortalità nella ARDS sono il livello minimo di PEEP necessario durante la ventilazione (maggiore o uguale a 10 cm H₂O), la compliance del sistema respiratorio (≤ 40 mL/cm H₂O), l'estensione degli infiltrati alveolari alla radiografia toracica e il corretto volume espiratorio per minuto (≥ 10 L/min).

Per quanto concerne il recupero funzionale nei sopravvissuti ad ARDS, sebbene essi in genere presentino a lungo un'insufficienza respiratoria e la loro sopravvivenza dipenda dalla ventilazione meccanica, la maggior parte va incontro ad un recupero funzionale polmonare pressoché completo.

Di solito i pazienti recuperano la funzione polmonare massima entro i 6 mesi successivi. Un anno dopo l'estubazione endotracheale, più di un terzo dei sopravvissuti presenta valori spirometrici e capacità di diffusione nella norma, mentre nei restanti soggetti si osservano solo modeste anomalie della funzionalità polmonare.

A differenza di quanto si osserva per il rischio di mortalità, il recupero della funzionalità polmonare è strettamente correlato con l'estensione del danno parenchimale nella fase precoce dell'ARDS.

Una bassa compliance respiratoria statica, la necessità di elevati livelli di PEEP, una maggiore durata della ventilazione meccanica ed elevati punteggi relativi alla lesione polmonare sono tutti fattori associati ad un recupero peggiore della funzione polmonare. Se quest'ultima viene valutata 5 anni dopo l'ARDS, si documentano spesso limitazioni all'esercizio fisico e un decremento della qualità della vita rispetto ad una funzione normale o quasi normale.

Nel trattamento dei pazienti sopravvissuti a questa sindrome risulta essere di grande importanza il fatto di considerare la possibilità di un notevole carico di sintomi sicuramente respiratori, ma anche emotivi, tanto nei pazienti quanto nei familiari.

E' inoltre significativa l'incidenza di depressione maggiore e di disturbo da stress post-traumatico (Harrison et al., 2017).

Per quanto riguarda la diagnostica eziologica, è stato proposto l'impiego della tomografia computerizzata (TC), sia tradizionale sia quantitativa, quale metodica complementare al work-up diagnostico clinico con la finalità di distinguere diversi sottogruppi di pazienti

affetti da ARDS sulla base, appunto, dell'eziologia.

Ad oggi, tuttavia, non vi sono quadri univocamente riconosciuti che possano indirizzare verso una causa specifica di danno alveolare, ma è possibile evidenziare alcune differenze fra quadro radiologico di ARDS extra-polmonare e polmonare (ovvero da danno diretto o indiretto).

Infatti, nella prima sono di frequente riscontro opacità con pattern “*ground glass*” (o “a vetro smerigliato”), le aree di consolidamento non reclutabili sono meno frequenti e si localizzano generalmente in sede paravertebrale senza nessuno specifico gradiente in direzione cranio-caudale.

Diversamente da quanto appena affermato, nell'ARDS di origine polmonare i consolidamenti, di più frequente riscontro, hanno tendenza a concentrarsi maggiormente nelle regioni medio-basali.

Inoltre, una spiccata asimmetria nella distribuzione lesionale, soprattutto se con predominanza nell'emitorace sinistro, orienta verso una forma polmonare di ARDS.

Sulla scorta di queste osservazioni, quindi, una delle ipotesi più accreditate sarebbe quella secondo cui le aree di consolidamento siano riconducibili a meccanismi di danno polmonare di tipo diretto, mentre le opacità in generale possano riconoscere varie cause alla base.

Si è visto altresì che una parte delle atelettasie può ricondursi al collasso alveolare determinato dall'aumento di peso del polmone che si ripercuote soprattutto sulle sue regioni declivi, fenomeno peraltro osservabile anche nei polmoni sani di pazienti sottoposti ad anestesia generale curarizzati.

Bisogna considerare tuttavia che, per la mancanza di algoritmi validati, di tecniche che permettano di ridurre l'esposizione alle radiazioni ionizzanti e le oggettive difficoltà logistiche nella movimentazione dei pazienti intubati costituiscono un limite rilevante all'impiego della TC per questo fine al di fuori dell'ambito della ricerca.

3. Ruolo della TC quantitativa polmonare nello studio dell'ARDS

Considerando l'imaging quantitativo, i primi studi eseguiti negli anni ottanta del novecento hanno evidenziato una relazione lineare tra unità *Hounsfield* e densità fisica, osservazione sulla cui base si sono sviluppate sostanzialmente due tecniche di TC quantitativa: la densitometria ossea e la qCT polmonare.

Nella fase iniziale, la maggior parte degli studi sulla qCT polmonare si sono focalizzati sulla stadiazione dell'enfisema polmonare, principalmente alla ricerca di correlazioni con i risultati dell'anatomia patologica.

L'introduzione della qCT polmonare in Italia si deve al gruppo milanese di Gattinoni et al. (25), vedendo un largo impiego in molti lavori, specialmente per lo studio della distribuzione spaziale dei gas nel paziente sottoposto a ventilazione meccanica e per la valutazione del reclutamento indotto dalla PEEP.

Questa metodica è considerata tutt'oggi lo standard di riferimento ed è oggetto in questi ultimi anni di molteplici perfezionamenti volti a migliorarne l'accuratezza e la rapidità di esecuzione.

Vi sono tuttavia da considerare alcune criticità legate alla ricostruzione d'immagine.

Con questa locuzione si intende la combinazione di spessore di strato e *kernel* che vengono impiegate dalla macchina TC per la ricostruzione delle immagini DICOM a partire dalla matrice grezza di dati 3D acquisita con la scansione spirale.

Questo parametro viene solitamente impostato dal radiologo sulla base delle esigenze dettate dalla diagnostica convenzionale.

La densitometria di tessuti omogenei, di cui l'osso è un valido esempio, è poco influenzata dai parametri ricostruttivi.

Diverso è invece il discorso per quanto concerne la TC quantitativa riguardante materiali e parenchimi di morfologia "schiumosa" (cosiddetta *foam-like*), come nel caso del polmone.

In questo ambito, infatti, già verso la fine degli anni novanta alcuni fisici medici, come Kemerink e Kruize, suggerivano prudenza nella scelta dello spessore di strato.

In ogni caso, nonostante un'ampia letteratura a riguardo, in ambito pneumologico queste osservazioni sono state recepite piuttosto tardivamente: infatti l'effetto della ricostruzione nella qCT per la stadiazione dell'enfisema polmonare è stato studiato in modo sistematico solo a partire dal 2004(26).

Successivamente si è affermata una fervente attività di ricerca, conclusasi con la

definizione di metodi matematici per la correzione dell'errore introdotto dall'uso di ricostruzioni non-standard.

Nel campo della rianimazione, dove la qTC nell'ARDS, pur essendo universalmente riconosciuta come *gold standard*, fatica ad entrare nella routine clinica, il primo studio in merito risale al 2008 e si limita ad una osservazione del fenomeno senza proporre alcun metodo correttivo(27).

3.1 Tecniche di campionamento nella letteratura corrente

Uno dei maggiori limiti di applicazione della qTC nei pazienti con insufficienza respiratoria risultano essere i tempi di segmentazione manuale elevati, che variano da circa 20 minuti su ricostruzioni da 5 mm a diverse ore su ricostruzioni da 1 mm.

Il polmone del paziente ricoverato in terapia intensiva è costantemente interessato da un variabile grado di opacizzazione, elemento che costituisce un impedimento all'utilizzo degli algoritmi di segmentazione automatica basati sul gradiente di attenuazione abitualmente utilizzati nello studio dell'enfisema.

Di recente alcuni autori hanno avanzato la proposta di accelerare i tempi di segmentazione estrapolando l'analisi quantitativa da un numero limitato di sezioni-campione.

Tuttavia, al momento tutti gli studi si limitano ad estrapolare le sezioni-campione dalla serie DICOM completa, rappresentando quindi un vantaggio dal punto di vista del tempo di segmentazione ma non da quello radioprotezionistico.

3.2 Tecniche emergenti alternative alla qCT

Negli ultimi anni si stanno affermando principalmente due tecniche alternative alla qTC che presentano come principale vantaggio la maneggevolezza, in quanto eseguibili

direttamente al letto del paziente: la LUS (Lung Ultrasonography) e la EIT (Electric Impedance Tomography).

Ulteriore vantaggio di queste due tecniche, rispetto alla qCT, è quello di non esporre il paziente a radiazioni ionizzanti.

Ciononostante, la qCT continua a rivestire un ruolo dominante nel setting ventilatorio, essendo l'unica metodica in grado di fornire una adeguata stima del parenchima iperventilato con sufficiente risoluzione spaziale.



Figura 2. Tomografo ad impedenza elettrica (*Dräger Pulmovista 500*)

4. Aspetti della ventilazione meccanica in pazienti con ARDS

4.1 VILI e ventilazione protettiva

In corso di ARDS la ventilazione meccanica rappresenta il cardine del trattamento, ovviamente in unione al trattamento eziologico delle condizioni patologiche causali sottostanti.

Peraltro sono svariati i fattori che rendono la sua impostazione una vera e propria sfida per il rianimatore. Essa stessa infatti può danneggiare il polmone e perfino costituire un fattore di aggravamento di patologie polmonari preesistenti.

Questa condizione viene comunemente denominata *Ventilation-Induced Lung Injury* (VILI). Esso è un concetto tutt'altro che recente: infatti già negli anni sessanta i fisiologi avevano introdotto il concetto di "*stress and strain*", che includeva una serie di meccanismi fisiopatologici in grado di danneggiare il parenchima polmonare.

Di conseguenza, negli anni successivi gli intensivisti si sono molto concentrati sullo studio e sull'individuazione di strategie di ventilazione meccanica che fossero il più possibile scevre da questo tipo di complicanze.

Questo tipo di ventilazione è stato definito ventilazione protettiva.

Il concetto alla base di questo approccio è stato efficacemente riassunto da Lachmann agli inizi degli anni novanta con la seguente frase: "*open the lung and keep it open*"(28).

4.2 Meccanismi di danno da ventilazione meccanica

Il danno al parenchima polmonare determinato dalla ventilazione meccanica può essere essenzialmente dovuto a quattro meccanismi principali: barotrauma, volutrauma, atelectrauma e biotrauma.

I primi due vengono a determinarsi, rispettivamente, quando vengono applicati al parenchima polmonare una pressione o un volume di ventilazione eccessivi;

l'atelectrauma, invece, si verifica allorché si susseguono cicli di apertura e chiusura degli alveoli, mentre il biotrauma è sostanzialmente la risposta flogistica a qualsiasi condizione di stress a cui sia sottoposto il parenchima polmonare.

E' stata formulata anche un'ipotesi secondo cui proprio il biotrauma potrebbe giocare un ruolo fondamentale nell'estensione del danno polmonare in corso di ARDS, una volta che esso sia stato innescato da uno degli altri tre meccanismi citati.

4.3 Concetto di stress e strain

Lo *stress* è definito come la distribuzione di forze interne per unità di area in grado di bilanciare un carico esterno(29).

La deformazione associata viene invece definita *strain*, ovvero il cambiamento in forma o dimensioni rispetto allo stato iniziale.

Stress e strain sono collegati dalla formula che segue:

$$\textit{stress} = k \cdot \textit{strain}$$

Dove k è l'elastanza specifica del polmone.

Nella pratica clinica uno stimatore equivalente dello stress è la pressione trans-polmonare, che si definisce come la differenza fra la pressione alveolare (P_{ALV}) e la pressione pleurica(P_{PL}).

In condizioni statiche la pressione alveolare equivale alla pressione delle vie aeree (P_{AW}): in assenza di flusso d'aria questa ultima rappresenta la pressione necessaria per evitare il ritorno elastico del sistema respiratorio.

La pressione pleurica è invece definita come forza per unità di superficie pleurica e la sua misurazione risulta difficoltosa *in vivo*.

Nella maggior parte degli studi essa è stata stimata con quella esofagea, che ne rappresenta una buona approssimazione(30).

Per quanto concerne l'equivalente dello *strain* nella pratica clinica, esso può essere considerato il rapporto di variazione di volume(ΔV) a capacità funzionale residua (CFR), stato in cui si può considerare che le fibre della struttura polmonare si trovino nella loro

naturale posizione di riposo, con la pressione delle vie aeree uguale a quella atmosferica e la muscolatura espiratoria, che è il motore dello *strain*, inattivata e rilassata.

Da notare che la CFR non va confusa con il volume di fine espirazione (EELV) misurato in presenza di PEEP positiva: in questo caso il volume dovuto alla presenza della PEEP è parte costituente del ΔV .

Esiste un range di pressioni all'interno del quale la relazione pressione- volume è lineare, e risponde alla formula:

$$\Delta P_L(\textit{stress}) = EL_{lung} \cdot \frac{\Delta V}{CFR}(\textit{strain})$$

4.4 Metodi clinici per misurare lo stress

Chiumello et al. Hanno proposto di servirsi della pressione esofagea(P_{ES}) come approssimazione della pressione intrapleurica allo scopo di calcolare lo stress polmonare, potendo osservare una notevole variabilità interindividuale in condizioni di *stress* massimale, da ricondursi sostanzialmente a differenze di meccanica della parete toracica e alla diversa distribuzione di aree non reclutabili(31).

La pressione delle vie aeree si può misurare durante la ventilazione meccanica con una manovra di occlusione a fine espirazione, mentre attualmente l'unica modalità valida per misurare quella intrapleurica è l'approssimazione di quella esofagea, utilizzando un trasduttore collegato ad un pallone inserito nel terzo medio dell'esofago.

Secondo quanto sostengono Talmor et al.(32), la misurazione della pressione esofagea in pazienti ARDS può essere efficace e sicura per stimare la pressione intrapleurica e guidare la ventilazione meccanica di questi soggetti.

Per quantificare lo *strain* è necessario misurare il volume polmonare, operazione eseguibile in automatico da parte di diversi ventilatori.

Ciononostante, il volume di riferimento per lo *strain* polmonare è sempre stato argomento piuttosto controverso.

In corso di ventilazione meccanica, generalmente si considera come volume di riferimento

la CFR a 0 cmH₂O di PEEP.

La cosiddetta “posizione di riposo” del polmone è definita come la posizione di equilibrio fra le forze della parete toracica e le forze interne al polmone.

Durante l'applicazione della PEEP in ventilazione meccanica, lo *strain* si può calcolare come rapporto fra la variazione di volume e la somma di CFR e volume PEEP-indotto.

Il livello di PEEP nei pazienti affetti da ARDS può essere impostato sulla base della curva pressione-volume.

Questa curva mostra un aspetto quasi lineare intorno alla CFR in soggetti sani, mentre in pazienti ARDS presenta un aspetto sigmoide con due punti di flesso.

Venendo agli effetti della PEEP sulla meccanica respiratoria, essi si possono valutare analizzando la curva pressione-tempo.

In pazienti ventilati meccanicamente con flusso costante e controllo volumetrico, essa riesce a identificare sia il reclutamento alveolare che la sovradistensione.

I volumi polmonari in eccesso, sovradistendendo il polmone, determinano inevitabilmente una riduzione della compliance e, modificandosi con gli atti respiratori, creano aree con cicli di apertura e chiusura ripetuta degli alveoli, con conseguente rischio di atelectrauma. Entrambi i fenomeni possono promuovere lo sviluppo del VILI.

Si è quindi proposto di calcolare un indice di *stress* (coefficiente *b*) che possa descrivere la forma della curva pressione-tempo, in maniera da poter quantificare lo *stress* meccanico.

$$P_L = a \cdot t^b + c$$

Dove P_L è la pressione trans-polmonare, *a* è l'inclinazione della curva pressione-tempo, *t* il tempo e *c* la pressione al tempo zero.

La curva pressione-tempo può mettere in evidenza, con uno strumento non invasivo e continuo, il reclutamento e l'iperdistensione polmonari, così da permettere di identificare in maniera precoce la presenza di *stress* meccanico dovuto ad un setting ventilatorio sub-ottimale.

4.5 Trasduzione meccanica del danno

La trasduzione meccanica è il fenomeno attraverso cui gli stimoli meccanici, appunto, vengono convertiti in attività chimiche o biomolecolari e riveste un ruolo centrale nella patogenesi del VILI.

Il polmone è generalmente soggetto alla presenza di forze meccaniche, anche durante la respirazione spontanea normale, che diventano più consistenti qualora si verifichi una dinamica respiratoria di natura patologica.

La maggior parte delle patologie che si riscontrano in rianimazione richiedono come terapia di supporto la ventilazione meccanica.

Chiaramente essa non presenta le stesse identiche caratteristiche del respiro fisiologico, applicando al polmone forze che possono essere dannose sia per un meccanismo di distorsione meccanica sia di danno mediato dalla trasduzione meccanica, a seconda dell'entità e della frequenza delle forze che vengono utilizzate. Le forze vengono rilevate dalle cellule attraverso recettori e complessi di adesione che connettono il citoscheletro alla matrice extracellulare, alterando la loro conformazione e funzione. La distribuzione dello *stress* e dello *strain* a livello alveolare non è uniforme, e riflette la disposizione dei sensori molecolari in queste cellule.

La distribuzione topografica dello *stress* parenchimale e lo *strain* del polmone normale non è uniforme, perché vincolata dall'appaiamento di due solidi elastici deformati dalla forza di gravità: i polmoni e la parete toracica. La presenza del cuore e la compressione esercitata dal diaframma e dalla gabbia toracica influenzano inoltre la forma del polmone e la distribuzione locale dei volumi.

A parità di stress applicato ai polmoni di diversi pazienti, si possono osservare risposte variabili e piuttosto eterogenee(33).

Vista la piuttosto consistente variabilità locale dello *stress* e la disomogeneità nella suscettibilità delle diverse strutture polmonari alla distorsione meccanica, probabilmente una singola e univoca soglia universale di *stress* non è individuabile. Le alterazioni microscopiche descritte in modelli sperimentali di VILI includono edema interstiziale e alveolare, lesioni endoteliale, formazione di connessioni intercellulari, danneggiamento della membrana basale e rottura della membrana cellulare degli pneumociti. Alcuni di questi fenomeni potrebbero rappresentare il risultato del rimodellamento e non il meccanismo primitivo di danno polmonare.

È stato comunque dimostrato che la distensione non fisiologica delle cellule polmonari può esitare in un quadro di infiammazione polmonare generalizzata.

4.6 Evidenza clinica

La finalità di uno dei primi studi è stata quella di verificare se il volume corrente e la pressione di plateau fossero equivalenti al modello dello *stress* e *strain*, cercando di quantificare la relazione tra i due confrontando pazienti affetti da ARDS e soggetti controllo. Sono stati arruolati quattro gruppi di pazienti: 19 pazienti post-chirurgici sani, 11 pazienti medici, 26 pazienti con ALI e 24 con ARDS. I quattro gruppi sono stati sottoposti ad un test alla PEEP (5 e 15 cmH₂O) con 6, 8, 10, e 12 mL/kg di volume corrente. In questo studio Gattinoni et al. hanno dimostrato che né il volume corrente né la pressione di plateau approssimano correttamente il modello dello *stress* e *strain*(31).

Un secondo studio poneva invece come scopo quello di identificare una soglia di *stress* e *strain* oltre la quale il VILI si può verificare. Ventinove maiali sani sono stati ventilati per 54 ore con volumi correnti differenti, per uno *strain* variabile tra 0.45 e 3.30. Il VILI è stato definito come aumento significativo del peso del polmone. La soglia di danno sembra collocarsi in quella regione dove la relazione *stress-strain* perde la linearità e comincia la crescita esponenziale, suggerendo che alcune regioni del polmone raggiungano la loro capacità massima e non possano essere ulteriormente espanse. Si è osservato come in tutto il range di linearità della relazione *stress-strain* non si sia generato nessun danno polmonare macroscopico. Al di fuori di questa regione le conseguenze della ventilazione ad alti volumi sono state molto consistenti(34).

4.7 Ventilazione protettiva in corso di ARDS

Il principale obiettivo dell'approccio ventilatorio al paziente ARDS al giorno d'oggi è la riduzione dell'incidenza di VILI.

I principali meccanismi patogenetici di questa complicanza sono la sovradistensione

alveolare e bronchiale nella ventilazione ad elevati volumi correnti, l'alta pressione transpolmonare e i cicli di chiusura e riapertura degli alveoli e delle piccole vie aeree dovute ad una bassa pressione di fine espirazione.

Altri elementi che possono aggravare o indurre danno polmonare sono l'elevata FiO₂, il disaccoppiamento ventilazione/perfusione e la reazione flogistica del parenchima polmonare.

E' stato dimostrato che la ventilazione protettiva con bassi volumi correnti (al fine di ridurre la distensione a fine espirazione), e alte pressioni di fine espirazione (per evitare cicli di chiusura/apertura degli alveoli) si associ ad una risposta citochinica polmonare e sistemica inferiore e minore incidenza di disfunzione d'organo nei pazienti con ARDS, se confrontata con la ventilazione convenzionale(35).

Si può affermare che globalmente, ai fini della sopravvivenza, il ricorso a bassi volumi correnti e PEEP elevata sembra essere l'unico intervento in grado di ridurre la mortalità in corso di ARDS(36).

L'identificazione di livelli di PEEP adeguati è quindi un intervento fondamentale allo scopo di migliorare la distribuzione del volume corrente somministrato nell'atto respiratorio, minimizzare il collasso alveolare evitando o quanto meno limitando la sovradistensione delle aree meno danneggiate del polmone, con l'obiettivo di ridurre in maniera globale il fenomeno infiammatorio.

Altro effetto importante della PEEP potrebbe essere la protezione rispetto alla perdita di surfattante e della sua funzionalità.

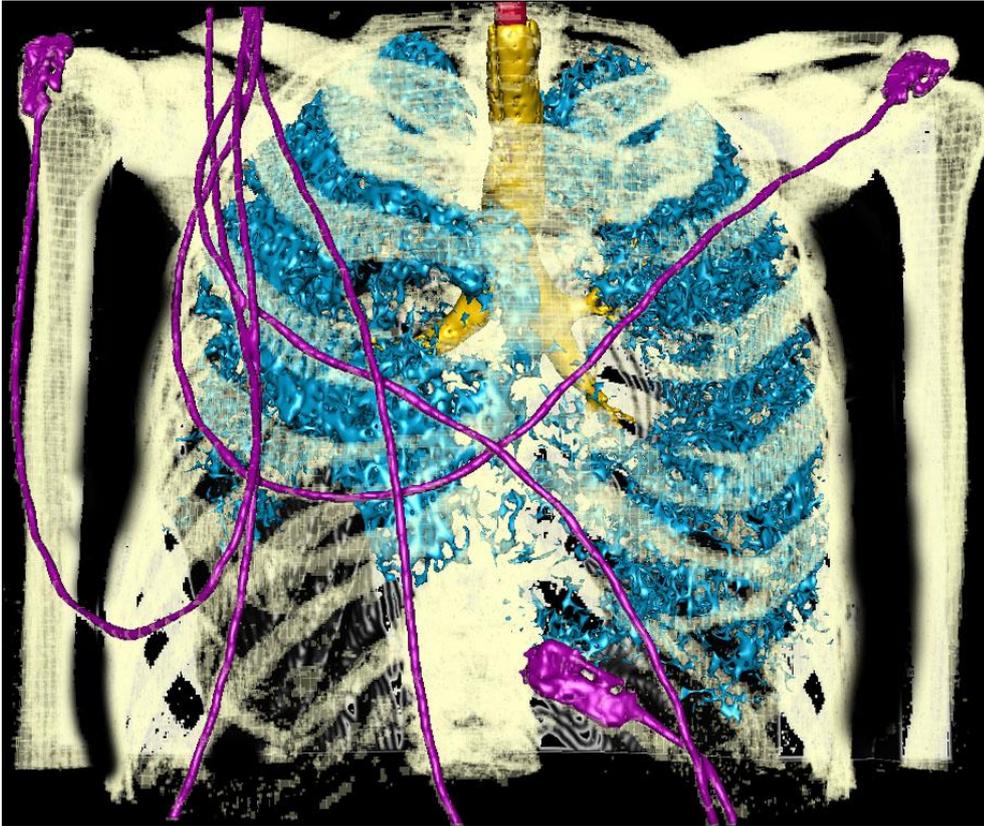


Figura 3. Il concetto di "baby lung", in azzurro le aree normalmente aerate in un paziente con ARDS

In corso di ARDS il polmone si definisce "*baby lung*" a rimarcare il fatto che il parenchima normalmente aerato ha un volume molto ridotto, motivo per cui sembra ragionevole una ventilazione a basso volume corrente, nell'ordine dei 6 ml/kg.

Bisogna tenere comunque presente che in letteratura è segnalata insorgenza di VILI anche a volumi correnti e pressioni di plateau largamente al di sotto di quelle identificate come dannose.

Sostanzialmente due teorie potrebbero spiegare questo fenomeno: secondo la prima, un polmone aperto ma infiammato potrebbe mostrare maggiore fragilità e suscettibilità a fenomeni di *stress* e *strain*; la seconda teoria sostiene invece che il polmone interessato da ARDS è molto disomogeneo con grandi e numerose interfacce che agiscono come moltiplicatori di pressione, definendosi per questo "*stress raisers*".

In questo ambito la TC quantitativa trova un importante ruolo come strumento per identificare la miglior PEEP.

4.8 Tecniche di imaging per la personalizzazione della ventilazione protettiva

Recenti studi in letteratura hanno utilizzato la TC quantitativa per valutare la reclutabilità e per l'impostazione della ventilazione meccanica. In uno studio pilota, Gattinoni et al. hanno misurato la reclutabilità polmonare in 68 pazienti con ARDS, effettuando una scansione CT a 5 e 45 cmH₂O di PEEP. Per verificare gli effetti della PEEP elevata, una ulteriore scansione è stata effettuata a PEEP = 15 cmH₂O, livello sufficiente a mantenere reclutato circa il 50% del parenchima potenzialmente reclutabile.

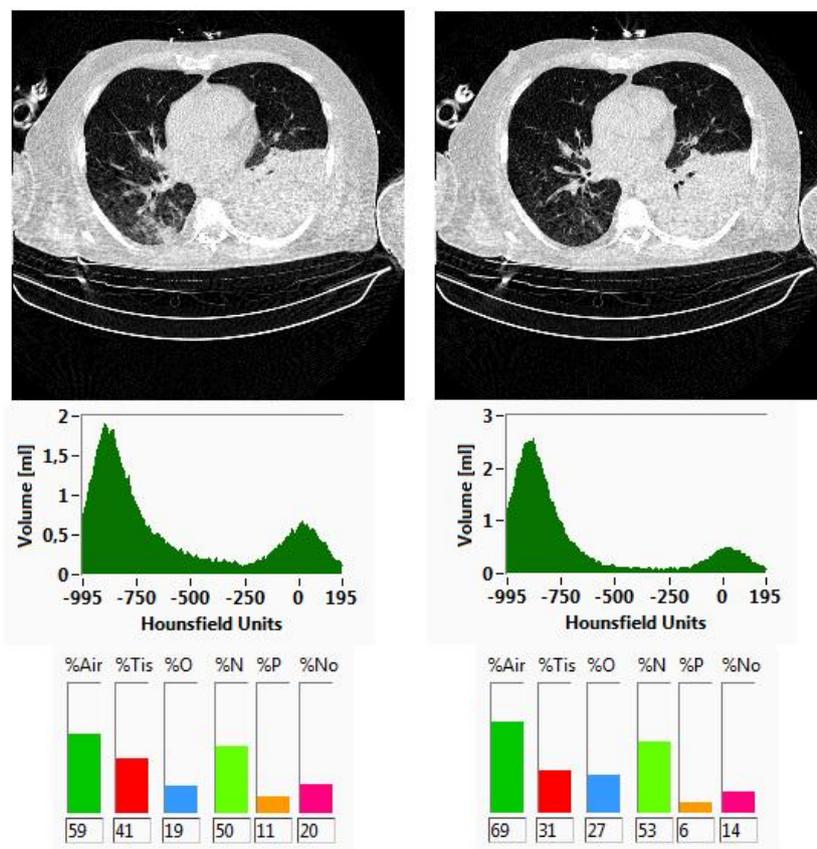


Figura 4-5. Paziente con p-ARDS, scansioni eseguite a 5 e 45 cmH₂O

La percentuale di parenchima reclutabile è risultata molto variabile, e strettamente collegata con il grado di danno polmonare così come rilevato dalla qCT e dagli altri parametri clinici. Tra i parametri clinici e le variabili di fisiologia respiratoria nessuno si è confermato un buon predittore di reclutabilità polmonare. Sulla base di questi risultati gli autori concludono che la valutazione qCT-guidata della reclutabilità polmonare deve costituire un momento irrinunciabile nel percorso di individuazione del livello di PEEP

ottimale da applicare al singolo paziente(37).

Lo stesso gruppo, più di recente, ha studiato come la reclutabilità influenzi lo *strain* alveolare dopo l'applicazione di PEEP elevate.

Rianalizzando i dati di qCT dello studio precedente, è stato dimostrato che, in pazienti con reclutabilità più elevata, l'impatto sulla riduzione della presenza di aree di apertura e chiusura alveolare di una PEEP elevata sembra compensare il rischio di sottoporre gli alveoli ad uno *strain* elevato.

Nonostante la discordanza circa quale sia la PEEP migliore da applicare in pazienti affetti da ARDS, questo lavoro suggerisce che alti livelli di PEEP (nell'ordine di 15-20 cmH₂O) siano da preferirsi, a maggior ragione in soggetti con elevata reclutabilità.

Peraltro, questi risultati sono in linea con quelli di una metanalisi condotta da Briel, che mostra una riduzione di mortalità nei pazienti ARDS ventilati con alte PEEP(38).

Tuttavia, nonostante le precedenti rassicurazioni, è necessario tenere in considerazione che lo *strain* alveolare, definito come rapporto fra volume corrente e volume di parenchima aerato, potrebbe diventare troppo elevato in pazienti con un compartimento polmonare non aerato particolarmente ampio.

Questo fenomeno è stato di recente evidenziato da Terragni et al. E assume un rilievo notevole, dal momento che la qCT sembra essere in grado di individuare il sottogruppo di pazienti che non sarà protetto neanche da volumi correnti estremamente ridotti, come ad esempio 6 ml/kg PBW(39).

Si comprende quindi come sia fondamentale il ruolo della qCT nell'identificazione dei pazienti non adatti ad una ventilazione meccanica protettiva convenzionale, che necessitano di ulteriore riduzione del volume corrente e probabilmente di rimozione extracorporea della CO₂ e/o metodi innovativi di ventilazione ad alta frequenza.

Le manovre di reclutamento alveolare sono impiegate comunemente nella ventilazione del paziente ARDS e, insieme con un adeguato livello di PEEP, vengono utilizzate al fine di ridurre i cicli di apertura e chiusura di regioni instabili del polmone.

Dal momento che la porzione di parenchima potenzialmente reclutabile varia in maniera molto significativa fra i pazienti affetti da ARDS, è prevedibile come il ricorso routinario a manovre di reclutamento porti a risultati variabili in termini di scambi gassosi, instabilità emodinamica e volume reclutato(40).

Uno studio condotto da Constantin et al. ha mostrato che la presenza di una perdita focale di aerazione correla con una scarsa risposta alle manovre di reclutamento, che anzi determina in questi pazienti un'ampia area di sovradistensione(41).

5. Introduzione allo studio

Come è ormai noto, l'imaging, soprattutto a livello toracico e in particolare polmonare, riveste un ruolo fondamentale sostanzialmente in tutte le fasi della patologia da SARS-CoV-2, soprattutto nei soggetti che sviluppano un quadro clinico grave, con necessità di ospedalizzazione, generalmente per una sintomatologia riconducibile all'apparato respiratorio.

Fra i sintomi più comuni si annoverano infatti, oltre ad alcuni assolutamente aspecifici come ad ipo/ageusia ipo/anosmia, febbre, senso di malessere diffuso, astenia, artralgie anche quelli che indicano più chiaramente un richiamo d'organo, come tosse stizzosa persistente e, nei casi più severi dispnea ingravescente.

Il reperto radiologico, in questi casi, risulta essere generalmente quello di una polmonite interstiziale bilaterale, nella maggior parte dei casi a localizzazione, almeno nelle fasi iniziali, basale, in grado di determinare una sindrome da distress respiratorio acuto (ARDS), con necessità di ricovero del paziente in Unità di Terapia Intensiva e ricorso a CPAP (con varie interfacce, nell'ambito delle quali la più utilizzata è risultata essere il casco), bi-level e ventilazione meccanica non invasiva, o invasiva previa intubazione orotracheale o tracheostomia.

La ARDS è risultata essere, insieme alla sindrome da insufficienza multi-organo (MOFs), la principale causa di decesso dei pazienti affetti dalla patologia COVID19.

Tornando a quanto concerne l'utilizzo dell'imaging, la metodica che fin da subito si è proposta come indagine di scelta nella tipologia di pazienti sopra descritta è stata la Tomografia Computerizzata del torace, viste le sue elevate sensibilità e specificità nell'identificare i quadri di cui sopra e i limiti diagnostici di altre tecniche come ecografia polmonare e radiografia del torace, essendo quest'ultima assai meno sensibile soprattutto nelle fasi iniziali, considerando anche la sostanziale aspecificità del quadro radiologico, particolarmente per quanto riguarda il periodo di esordio della malattia, come confermano i dati ricavati da uno studio condotto fra il 24 febbraio e l'8 aprile 2020 presso il Policlinico San Donato di Milano, in cui la radiografia del torace ha mostrato una sensibilità dell'89%, specificità del 60,6%, valore predittivo positivo dell'87,9%, valore predittivo negativo del 63,1%(Schiaffino et al. 2020).

In ogni caso, il ricorso a questa tecnica di imaging si è dimostrato utile non solo nelle fasi iniziali della patologia, fornendo, oltre che un utile supporto diagnostico, anche una valida

base per stratificare i pazienti secondo quadri clinici di differente gravità. Infatti gli addetti ai lavori guardano alla TC polmonare anche come ad una affidabile metodica a cui fare ricorso nel monitoraggio dell'evoluzione della malattia e come un importante supporto per quanto concerne diverse decisioni terapeutiche e soprattutto di assistenza ventilatoria, nonché nei controlli in follow up di pazienti dimessi dall'ospedale. Come affermato in precedenza, i reperti TC più comuni in pazienti COVID19 sono risultati essere il cosiddetto "*ground glass*" (opacità a vetro smerigliato), più o meno diffuso su tutti i campi polmonari anche a seconda della gravità del quadro clinico, il "*crazy paving*", opacità lineari o alveolari, strie distelettasiche e aree di consolidamento, essendo queste ultime piuttosto diffuse o addirittura estese alla totalità dei campi polmonari in casi di drammatica gravità, alcuni dei quali hanno suggerito addirittura il ricorso ad ECMO, seppur con una prognosi generalmente infausta.

Per quanto riguarda più precisamente l'utilizzo della TC del torace nello studio a cui ha partecipato lo scrivente, ci si è serviti di essa per valutare il grado di aerazione polmonare in pazienti COVID19 sottoposti a ventilazione meccanica invasiva con due livelli differenti di *pressione positiva di fine espirazione* (PEEP), in particolare 8 e 16 cm H₂O.

5.1 Scopo dello studio

Lo scopo principale di questo lavoro di tesi è stato quello di valutare se un livello superiore di PEEP, in particolare quello di 16 cm H₂O, fosse migliore di quello inferiore, di 8 cm H₂O, nel supportare e incrementare l'aerazione polmonare nei soggetti sopra descritti. Importante è stato quindi, come sempre in medicina, effettuare una valutazione dei benefici di questo approccio di ventilazione invasiva, soprattutto in termini di incremento dell'aerazione polmonare e conseguentemente degli scambi gassosi in rapporto ai rischi che una pressione alla fine della fase espiratoria superiore ai valori fisiologici comporta, principalmente per quanto riguarda complicanze come il cosiddetto VILI di cui si è parlato in precedenza, soprattutto a causa di una ridotta compliance con conseguente aumento del rischio di sovradistensione e danno meccanico.

5.2 Concetti generali

Come concetto guida, si è scelto di valutare la possibilità di sostituire la scansione spirale dell'intero torace con una scansione sequenziale assiale (*Sequential Computed Tomography, SCT*), con un *feed* elevato, in modo da ridurre drasticamente l'esposizione dei pazienti alle radiazioni.

Tuttavia, da questa concezione di base è emersa una problematica collaterale piuttosto rilevante, ovvero la dipendenza dell'analisi quantitativa del parenchima polmonare dal tipo di ricostruzione scelta.

5.3 Effetto della ricostruzione sull'analisi quantitativa

In una fase preliminare dello studio si è cercato di estendere all'ambito di interesse, ovvero l'ARDS, l'applicazione di una metodica proposta di recente da un gruppo di ricerca della *Washington University School of Medicine* (42), allo scopo di correggere il *bias* introdotto dalla ricostruzione nella stadiazione qCT dell'enfisema polmonare.

La traslazione nell'ambito di interesse di questo lavoro di tesi delle conoscenze acquisite in ambito pneumologico richiede una maggiore flessibilità rispetto alle soglie utilizzate per calcolare il volume iperaerato, nonché lo studio di quadri polmonari più variegati.

5.4 Campionamento

In fase retrospettiva, come miglior approssimazione della scansione sequenziale, si è scelto di ottenere la serie *DICOM* a fetta sottile estrapolandola dalle ricostruzioni da 1.25 mm con *kernel "body"*.

5.5 Dosimetria

Ci si è serviti di una tecnica di dosimetria retrospettiva che permettesse di stimare la riduzione di dose ottenibile con la metodica di campionamento proposta.

6. Materiali e metodi

Il lavoro di tesi si è svolto interamente come studio retrospettivo.

6.1 Popolazione

Sono state raccolte e analizzate in modo retrospettivo le scansioni TC spirali multistrato di 14 pazienti ricoverati, a partire dal 29 febbraio 2020, data del primo ricovero, presso l'Unità di Terapia Intensiva del Policlinico San Martino dedicata ai pazienti affetti da COVID19 durante la nota pandemia, ventilati meccanicamente attraverso tubo endotracheale o cannula tracheostomica, dei quali è stata raccolta la storia clinica grazie alle informazioni disponibili sulla cartella elettronica.

Si è trattato quindi sostanzialmente di pazienti affetti da forme di ARDS per lo più classificabili come gravi.

Inoltre, l'analisi quantitativa richiede che le immagini TC siano estratte direttamente dalla macchina TC in modo da ottenere file in formato DICOM non compresso a risoluzione completa.

I criteri di inclusione nello studio sono riportati nella tabella seguente

Criteri di inclusione

- **Età > 18 anni**
- **Positività a SARS-CoV-2 accertata microbiologicamente**
- **Paziente ventilato meccanicamente attraverso tubo endotracheale o cannula tracheostomica**
- **Assenza di mezzo di contrasto**
- **Assenza di artefatti di moto significativi**
- **Ventilazione ininterrotta**
- **Protocollo di scansione standard**

Tabella 2. Criteri di inclusione nello studio

6.2 Scansioni TC e ricostruzione delle immagini

Le scansioni TC sono state eseguite sullo scanner del Dipartimento di Emergenza e Accettazione, un *LightSpeed 16* (GE Medical Systems, Milwaukee, Stati Uniti).

Lo studio ha incluso solo pazienti che, per varie indicazioni, si fossero sottoposti a una scansione del torace con protocollo standard (“*Torace Standard*”) le cui immagini fossero state ricostruite con tre specifiche combinazioni di *kernel* e spessore di fetta.

Per ragioni di brevità le ricostruzioni verranno in seguito indicate con la loro sigla.

Si tratta di ricostruzioni che comunemente vengono richieste dal radiologo nel corso di un esame tomografico convenzionale, ognuna delle quali è in grado di evidenziare particolari strutture o anomalie morfologiche.

Va inoltre precisato come le tre ricostruzioni siano calcolate a partire dalla stessa acquisizione spirale, comportando quindi una singola esposizione del paziente alle radiazioni ionizzanti.

Sigla	Spessore	Kernel	Tipo di kernel	di Impiego abituale
1B	1.25 mm	<i>Body</i>	<i>Smooth</i>	Ricerca lesioni focali, linfonodi
5B	5 mm	<i>Body</i>	<i>Smooth</i>	Studio del mediastino
5L	5 mm	<i>Lung</i>	<i>Sharp</i>	Studio del parenchima polmonare

Tabella 3. Parametri di ricostruzione immagini TC

I settaggi della macchina TC sono stati verificati a posteriori analizzando i *tag* dei file *DICOM*.

Sigla	Parametro	Media ± D.S.	Range
kVp	<i>Tensione di picco del tubo</i>	120 kV	
mAs	<i>Prodotto corrente tempo medio</i>	266 ± 79 mAs	168 – 440 mAs
FoV	<i>Campo di ricostruzione</i>	393 ± 42	360 – 500

Tabella 4. Parametri di acquisizione TC

6.3 Segmentazione e analisi quantitativa

La segmentazione e l'analisi quantitativa delle immagini TC sono state eseguite con il software *Maluna®* (Università di Mannheim, Göttingen, Germania) con un algoritmo semi-automatico con affinamento manuale sulle tre ricostruzioni. I vasi sanguigni e le vie aeree più ampie di 5 cm² sono stati esclusi dalla segmentazione.

Su ogni serie *DICOM* è stata eseguita un'analisi quantitativa con *Maluna®* per ricavare l'istogramma di distribuzione dell'attenuazione dei *voxel*, con il conteggio dei *voxel*

normalizzato in millilitri e scala di *Hounsfield* compresa tra -1000 e +200 HU in classi da 10 HU.

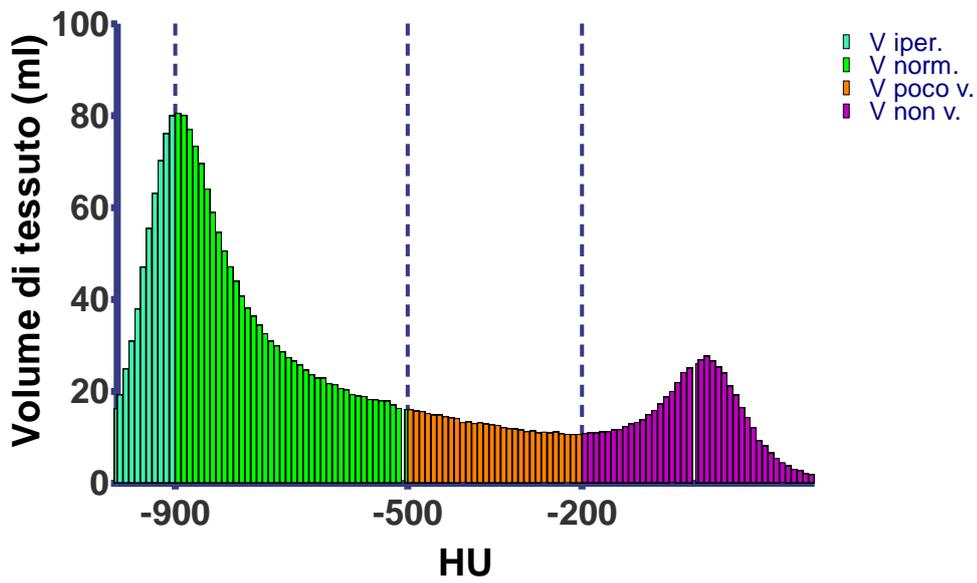


Figura 6. Istogramma di attenuazione dei voxel

Da questo istogramma sono state ricavate le variabili a cui si farà riferimento in seguito.

	Variabile	UdM	Calcolo	Definizione
Globali	V_{TOT}	ml	$\sum_{-1000}^{+200} voxel$	<i>Volume polmonare totale</i>
	CT_w	HU	$\frac{\sum_{-1000}^{+200} voxel_i \cdot HU_i}{\sum voxel}$	<i>Attenuazione (radiodensità) media</i>
	V_{AIR}	ml	$\frac{CT_w \cdot V_{TOT}}{-1000}$	<i>Volume stimato di aria</i>
	V_{TISS}	ml	$V_{TOT} - V_{AIR}$	<i>Volume stimato di tessuto</i>
Compartmentali	$VH_{900 \dots 950}$	ml	$\sum_{-1000}^{-900 \dots 950} voxel$	<i>Volume iperaerato</i>
	V_{NOR}	ml	$\sum_{-900}^{-500} voxel$	<i>Volume normalmente aerato</i>
	V_{POOR}	ml	$\sum_{-500}^{-200} voxel$	<i>Volume poco aerato</i>
	V_{NON}	ml	$\sum_{-200}^{+200} voxel$	<i>Volume non aerato</i>
Percentuali	$VH_{900 \dots 950}\%$	%	$VH_{900 \dots 950} / V_{TOT}$	<i>Volumi espressi come percentuale del volume polmonare totale.</i>
	$V_{NOR}\%$	%	VH_{NOR} / V_{TOT}	
	$V_{POOR}\%$	%	VH_{POOR} / V_{TOT}	
	$V_{NON}\%$	%	VH_{NON} / V_{TOT}	
	$V_{AIR}\%$	%	VH_{AIR} / V_{TOT}	
	$V_{TISS}\%$	%	VH_{TISS} / V_{TOT}	

Tabella 5. Definizione variabili qCT

E' inoltre importante punto di riflessione come ognuna delle variabili definite dipenda da valori soglia variabili, proposti nella letteratura scientifica degli ultimi vent'anni(43) in modo non sempre univoco(44).

In particolare, la soglia per il volume iperaerato è stata oggetto di un ampio carteggio e di altrettanto ampio dibattito, non ancora risolto, motivo per cui si è scelto di calcolarlo a tutte le soglie proposte (-900, -910, -920, -930, -940, -950 HU) e analizzare separatamente il comportamento di tutte queste variabili ($VH_{900 \dots 950}$).

Per quanto concerne le variabili V_{AIR} e V_{TISS} , esse dipendono da una modellizzazione

molto semplificata, che considera il CT_w come risultato della media pesata tra una componente aerea di densità -1000 HU ed una tissutale con densità 0 HU, ovvero assimilabile ad acqua, secondo la formula $CT_w = \frac{0 \cdot V_{TISS} + (-1000) \cdot V_{AIR}}{V_{TOT}}$.

Le variabili sono state definite globali, compartimentali o percentuali, a seconda che si riferissero, rispettivamente, a caratteristiche del polmone nel suo complesso, ai suoi compartimenti funzionali ventilatori, o se espresse come rapporto sul volume polmonare totale.

Individuazione della correzione

I volumi iperaerati, calcolati sulle tre ricostruzioni sopra descritte, sono stati confrontati a coppie, come segue:

- $VH_{900...950}$ calcolato su 5B vs. $VH_{900...950}$ calcolato su 1B
- $VH_{900...950}$ calcolato su 5L vs. $VH_{900...950}$ calcolato su 5B
- $VH_{900...950}$ calcolato su 5L vs. $VH_{900...950}$ calcolato su 1B

Per ogni coppia di ricostruzioni è stata identificata quella da considerare come riferimento, scegliendo quella che più si avvicinasse ai criteri proposti da Reske et al. (27).

Questo gruppo di ricerca sostiene che ricostruzioni con sezioni intorno ai 5 mm e *kernel* di tipo *soft* siano quelle che forniscono risultati più attendibili.

Per ogni coppia di ricostruzioni sono stati realizzati grafici a dispersione che utilizzassero il $VH_{900...950}$ calcolato nella ricostruzione di riferimento come variabile indipendente, ed si è proceduto a ricercare la funzione che meglio descrivesse la relazione intercorrente tra le variabili, con una regressione non lineare.

È stata valutata la possibilità di descrivere queste relazioni con funzioni tipo potenza ($y = a \cdot x^b$) e polinomi di secondo grado ($y = a \cdot x^2 + b \cdot x + c$), come suggerito da Bartel et al.(42), scegliendo il miglior modello con il criterio di Akaike.

6.4 Valutazione della correzione

La funzione matematica così individuata è stata utilizzata per cercare di correggere l'errore introdotto dall'impiego di una ricostruzione non-standard.

Sono stati calcolati gli errori, come differenza tra i volumi iperaerati calcolati nelle due ricostruzioni di ogni coppia, prima e dopo l'applicazione della formula di correzione individuata.

La distribuzione degli errori è stata verificata come non-gaussiana con un test di *D'Agostino – Pearson*. Con un test di *Wilcoxon* si è verificata la devianza dallo zero degli errori, con un test di *Wilcoxon* per dati appaiati la significatività della differenza degli errori prima e dopo la correzione.

6.5 Campionamento

Presso la nostra Unità Operativa è stato sviluppato il software *Downsampler*, di cui è possibile osservare uno *screenshot* nella figura che segue, in grado di estrapolare un subset di sezioni-campione a partire dalla serie *DICOM* completa, una volta stabilito uno specifico passo di campionamento (di seguito *feed*), ovvero la distanza tra le due sezioni successive estrapolate.

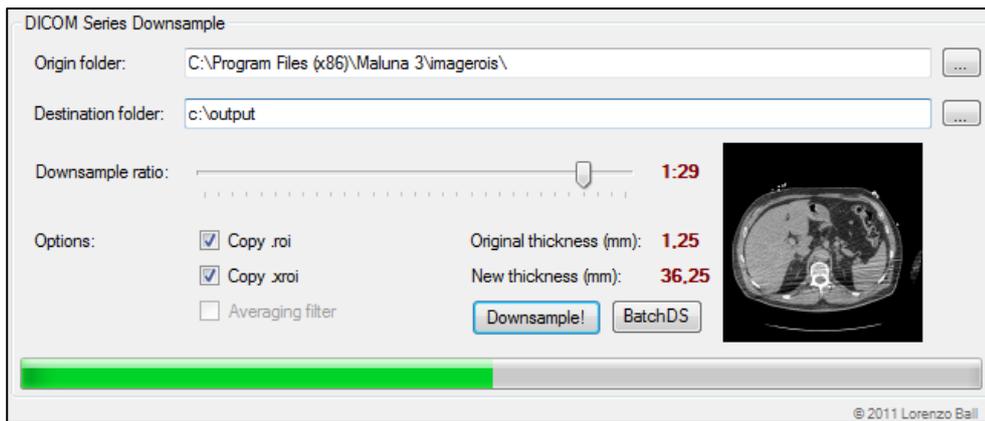


Figura 7. Il software *Downsampler*

Il campionamento è stato eseguito sulla ricostruzione 1B, perché ritenuta quella più simile ai risultati che si otterrebbero in una scansione prospettica sequenziale assiale a fetta sottile, come in un protocollo *SCT / HRCT*.

6.6 Estensione di Opacità

Un'analisi è stata effettuata per verificare che influenza avesse l'estensione della patologia polmonare sulla validità dell'approssimazione con campionamento.

L'estensione dell'opacità (*EO*) è stata definita come percentuale di sezioni assiali di polmone interessate da un'opacità più ampia di 5 cm². Per ogni paziente i risultati ottenuti dalla *TC* polmonare completa sono stati confrontati con quelli ottenuti dall'estrapolazione, calcolando l'errore percentuale introdotto dall'approssimazione su tutte le variabili considerate, più la media dei valori assoluti di questi errori.

È stata inoltre valutata la correlazione (test *ρ di Spearman*) tra ogni errore e l'*EO*.

6.7 Dosimetria

Le misure sono state effettuate, nel corso di una sessione di controlli di qualità sulla macchina *TC*, con una camera a ionizzazione di tipo *pencil(45)* modello *DCT10* (*RTI, Regno Unito*), con l'impiego di un fantoccio in polimetilmetacrilato (*PMMA, Plexiglas®*) e in collaborazione con il Servizio di Radioprotezione e Fisica Sanitaria.

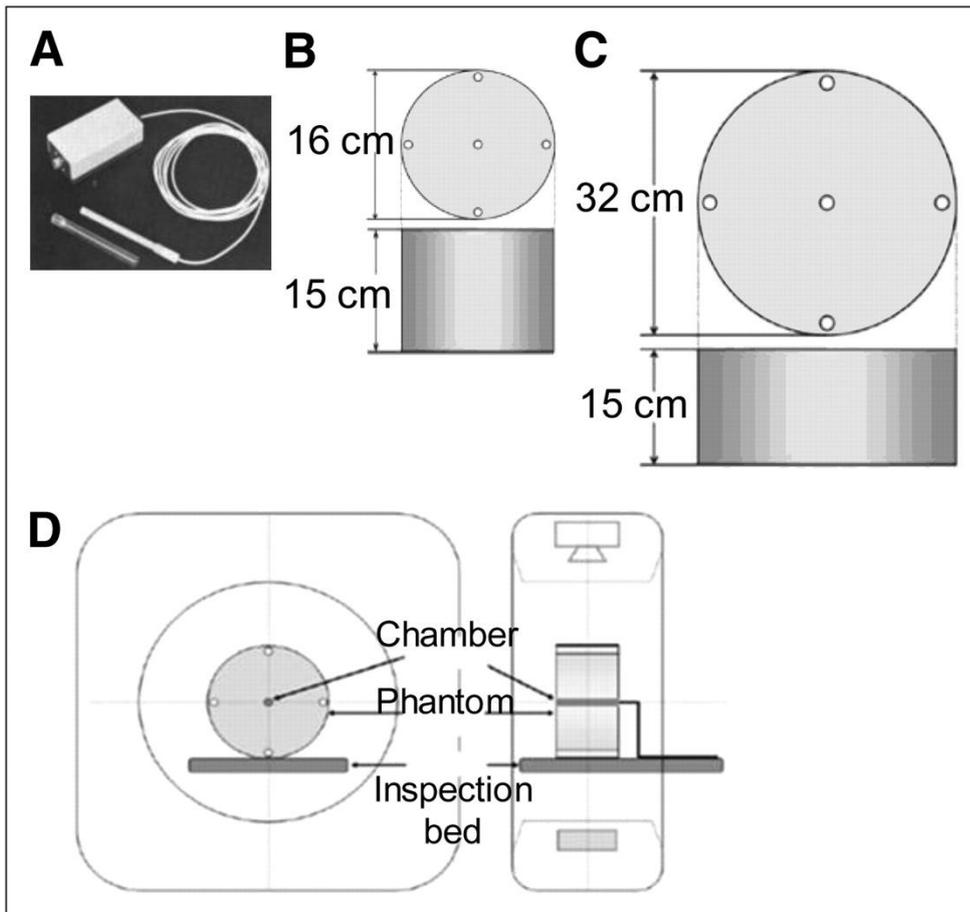


Figura 8. Fantoccio in PMMA (B,C), camera a ionizzazione (A) e modalità di misurazione (D).

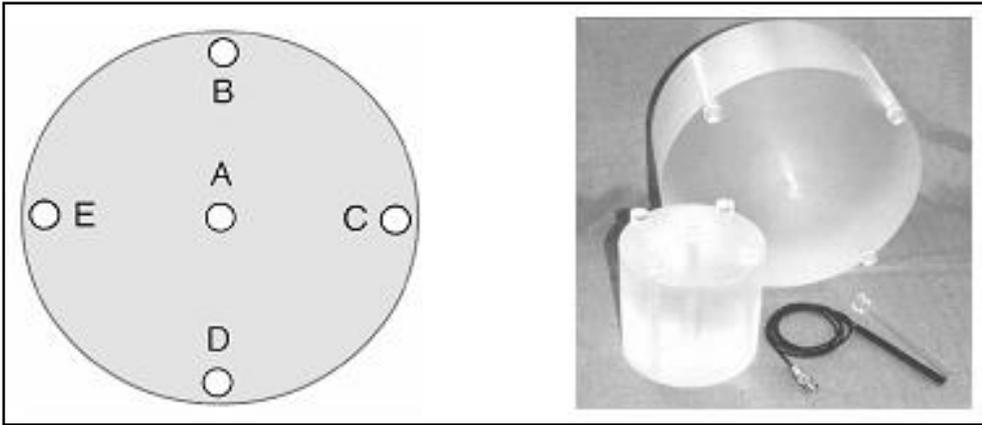


Figura 9. Il $CTDI_{100,P}$ è calcolato come media delle misurazioni in B, C, D, E

Per la stima dei valori di dose sono stati misurati o calcolati i parametri riportati di seguito.

Variabile	Rilevamento	Formula	Unità di misura
CTDI _{100,C}	Foro centrale	$\frac{1}{nT} \int_{-5cm}^{+5cm} D(z) dz$	mGy/100·mAs·cm
CTDI _{100,P}	Media dei quattro fori laterali	$\frac{1}{nT} \int_{-5cm}^{+5cm} D(z) dz$	mGy/100·mAs·cm
CTDI _w	Calcolato	$\frac{1}{3} CTDI_{100,C} + \frac{2}{3} CTDI_{100,P}$	mGy/100·mAs·cm
CTDI _{VOL}	Calcolato	$CTDI_w / pitch$	mGy/100·mAs·cm
DLP _{AXIAL}	Calcolato	$CTDI_w \cdot N_{sezioni} \cdot T$	mGy/100·mAs
DLP _{SPIRAL}	Calcolato	$CTDI_{VOL} \cdot L$	mGy/100·mAs
D(z)	Profilo di dose lungo una singola scansione assiale.		
n	Numero di strati acquisiti simultaneamente (16 nel nostro caso).		
T	Spessore nominale dello strato per scansioni assiali (1 mm nel nostro scanner), ampiezza del singolo gruppo di rivelatori per TC multistrato (0.625 mm nel nostro caso).		
pitch	Spiral Pitch Factor (1.75 nel protocollo “torace standard”).		
L	Lunghezza scansione		

Tabella 6. Variabili dosimetriche

Il CTDI_w in fantoccio è lo standard di riferimento adottato dalla Comunità Europea nel documento “*Quality Criteria and Reference Doses in CT*”, ed è il parametro individuato dal D.Lg. 187 per la verifica della dosimetria in TC.

Ulteriori valutazioni sull'esposizione a radiazioni sono state svolte sulla base dei dati estratti dal manuale d'uso e dal report dosimetrico dello scanner TC.

6.8 SmartmA–3–D dose modulation e dosimetria retrospettiva

Gli scanner TC moderni utilizzano svariate strategie per ridurre l'esposizione di dose al paziente.

Risulta di particolare rilievo la modulazione della corrente del tubo radiogeno sulla base della densità attesa nel corpo nei diversi distretti anatomici.

Da questo deriva l'importante vantaggio per cui il radiologo può impostare un range di mAs in cui la macchina possa variare il prodotto corrente-tempo del tubo, scegliendolo liberamente come compromesso tra dose erogata e qualità dell'immagine (rapporto segnale / rumore).

Lo scanner modulerà la corrente all'interno del range imposto sulla base della densità attesa, stimata analizzando il topogramma *scout*.

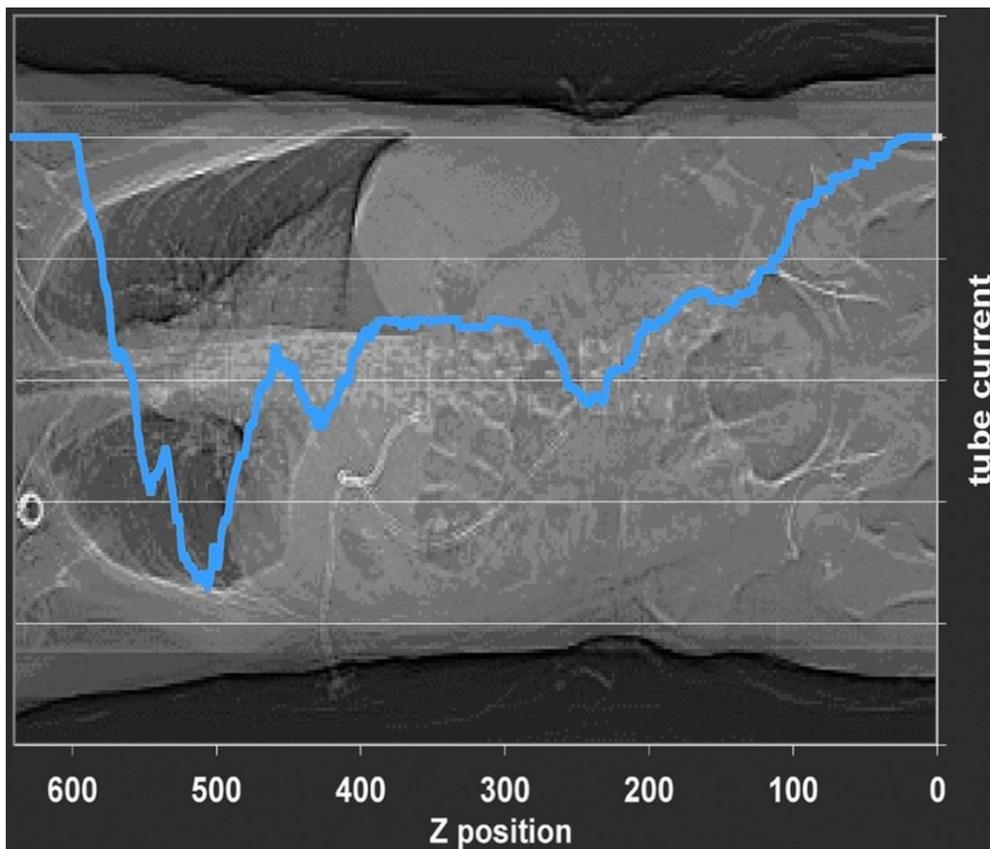


Figura 10. Modulazione di mAs in una scansione *total-body*

Come risulta evidente nella figura precedente, le sezioni assiali corrispondenti ai campi polmonari medi, in cui è presente una grande quota di aria rispetto al tessuto, possono essere acquisite con un prodotto corrente-tempo molto inferiore rispetto, ad esempio, alle sezioni passanti per il cuore o per le grandi articolazioni.

Si tratta di algoritmi proprietari specifici di ogni singolo produttore, in particolare *General Electric* sul *Lightspeed 16* implementa un sistema brevettato con il nome di *SmartmA-3-D*.

Il fatto che la corrente venga modulata lungo l'asse longitudinale introduce un'ulteriore difficoltà nella stima a posteriori della dose cui è stato sottoposto il paziente durante la scansione: non possono essere utilizzate direttamente le formule di conversione da $CTDI_{VOL}$ a DLP perché il valore del prodotto corrente-tempo non è una costante.

Si è deciso di ovviare a questo problema con il metodo proposto recentemente dal un gruppo di ricerca del centro *Henri Tudor*, che prevede il calcolo del valore medio di mAs attraverso l'estrapolazione dello stesso dagli *header* dei file DICOM di ogni sezione acquisita. In questo modo è possibile stimare a posteriori la dose somministrata durante una determinata scansione. Si tratta di una metodica approssimata ma semplice ed economica, che evita il ricorso a costosi software di simulazione statistica(46).

Il software realizzato dal gruppo di studio citato purtroppo non è di pubblico dominio, è stato dunque necessario implementare questa funzione di calcolo del prodotto corrente-tempo nel nostro software *Downsampler*.

La dose equivalente delle scansioni spirali è stata calcolata come illustrato nella tabella seguente.

Parametro	Formula	Unità di misura
DOSE ₁₀₀ Dose equivalente per una corrente media di 100 mAs	$DLP \cdot 0.017 \text{ mSv/mGy (uomo)}$ $DLP \cdot 0.022 \text{ mSv/mGy (donna)}$	$\text{mSv}/100 \cdot \text{mAs}$
DOSE _{EFF} Dose equivalente effettiva	$DOSE_{100} \cdot \frac{\overline{\text{mAs}}}{100 \text{ mAs}}$	mSv
$\overline{\text{mAs}}$	Prodotto medio corrente – tempo, valore estrapolato dai DICOM con il software <i>Downsampler</i> .	

Tabella 7. Calcolo della dose equivalente

7. Risultati

La popolazione inclusa nello studio risultava composta da 14 pazienti, di età compresa fra 32 e 80 anni, con infezione da SARS-CoV-2 accertata microbiologicamente, tramite RT-PCR su campioni ottenuti da tamponi nasofaringei, che presentavano un quadro clinico che soddisfaceva i criteri di Berlino del 2012 per l'inquadramento dell'ARDS.

In particolare, questi soggetti si presentavano in condizioni tali da essere classificabili come affetti da ARDS grave, richiedendo quindi il ricovero presso l'UO di Terapia Intensiva del Policlinico San Martino dedicata ai pazienti COVID19, con necessità di ventilazione meccanica invasiva previa intubazione orotracheale o tracheostomia.

I suddetti ricoveri sono avvenuti nel periodo di tempo compreso fra il 29 febbraio 2020, data del primo accesso nell'UO di un soggetto COVID19, e il 3 maggio 2020, data del ricovero dell'ultimo dei 14 pazienti sopra citati.

Durante gli esami radiologici, in particolare la TC, senza interrompere la ventilazione meccanica, i soggetti sono stati sottoposti a diverse scansioni del torace a due diversi livelli di pressione positiva di fine espirazione (PEEP), rispettivamente 8 e 16 cmH₂O.

La valutazione, oltre che sulle immagini qCT, si basava anche su parametri clinici e valori emogasanalitici su sangue arterioso che potessero fornire importanti informazioni al curante circa la funzionalità polmonare, oltre che alla morfologia, ovvero sull'entità degli scambi gassosi.

In particolare, è stata focalizzata l'attenzione sulla PO₂ arteriosa con erogazione di FiO₂ al 100%, sull'entità dello shunt intrapolmonare e sulla compliance polmonare, osservando le variazioni di questi tre elementi precedentemente citati in funzione dei due differenti livelli di PEEP.

Ciò che si può osservare, come mostrato anche nei grafici che seguono, è il fatto che la PO₂ arteriosa mostri un incremento modesto e statisticamente non significativo per il livello superiore di PEEP (251 ± 143 mmHg vs. 235 ± 143 mmHg, p 0.433).

Per quanto riguarda invece lo shunt intrapolmonare, esso si riduce significativamente per livelli maggiori di PEEP ($24\% \pm 11\%$ vs $27\% \pm 13\%$, p 0.043), grazie all'aumento della superficie disponibile per il fisiologico scambio gassoso.

Diverso è invece il discorso per quanto concerne la compliance polmonare, che va incontro a una globale riduzione quando vengono applicati livelli di PEEP superiori (43 ± 13

mL/cmH₂O vs. 52±12 mL/cmH₂O, p 0.004), con un aumentato rischio di danno da ventilazione meccanica.

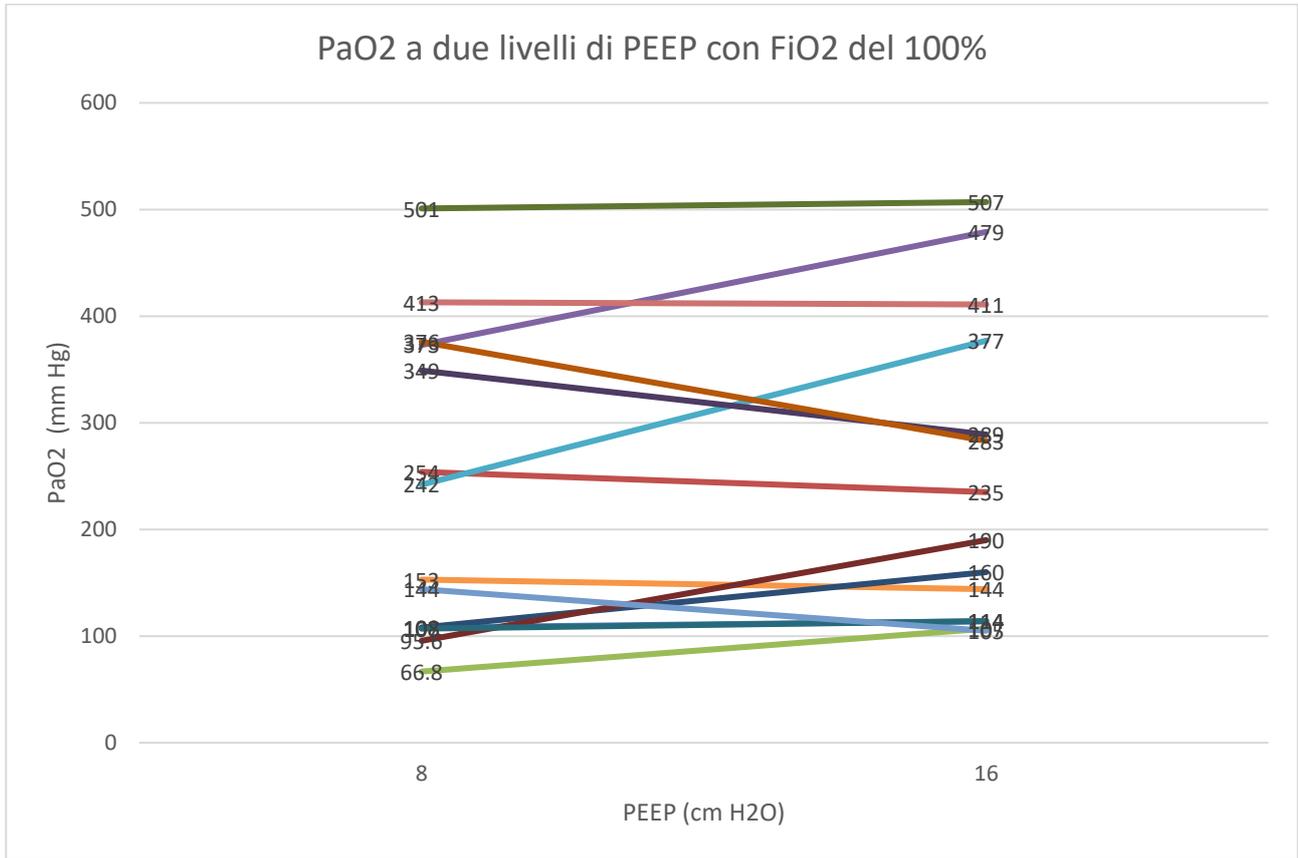


Figura 11. Grafico che mostra variazioni di PaO₂ a due diversi livelli di PEEP con FiO₂ del 100%

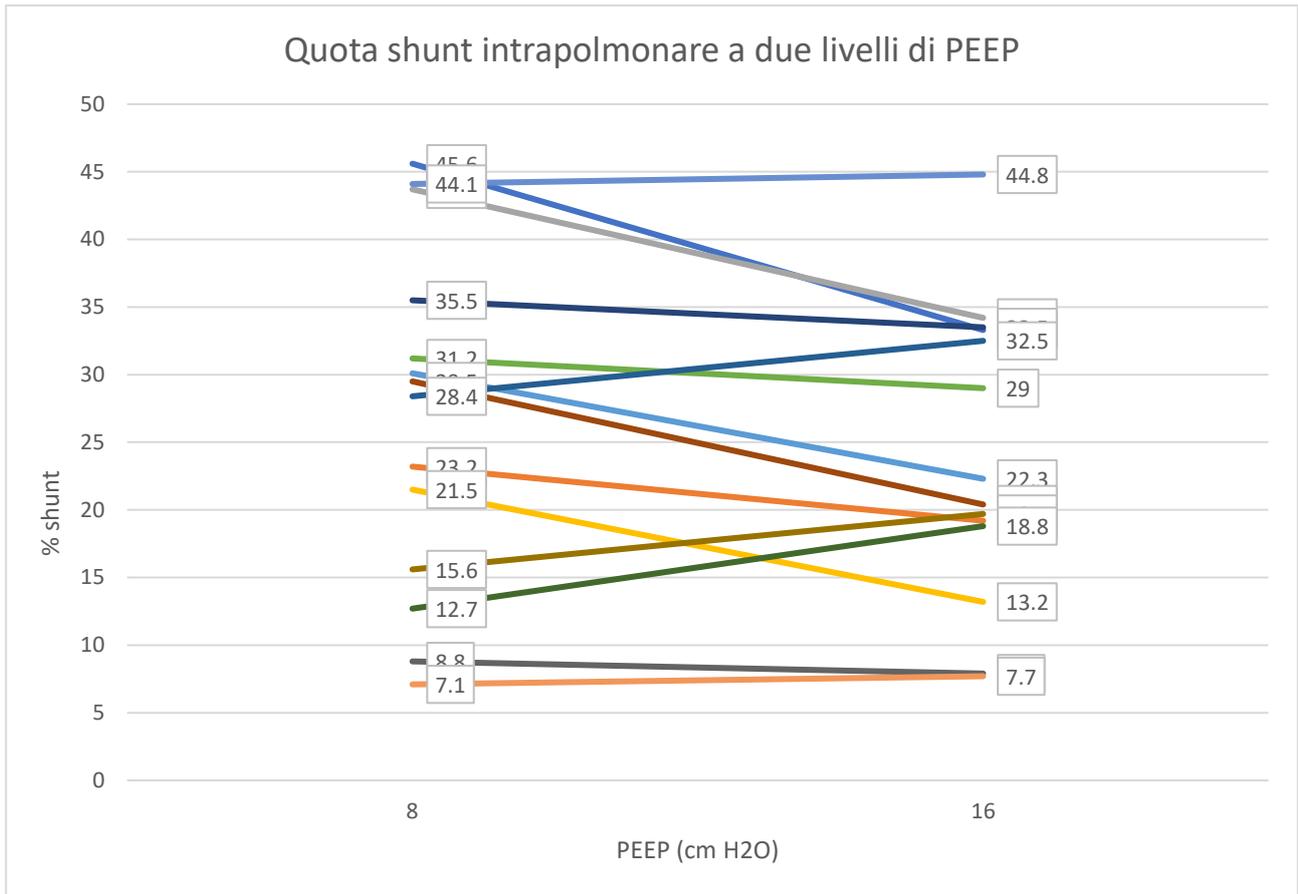


Figura 12. Grafico che mostra variazioni della percentuale di shunt intrapolmonare a due diversi livelli di PEEP

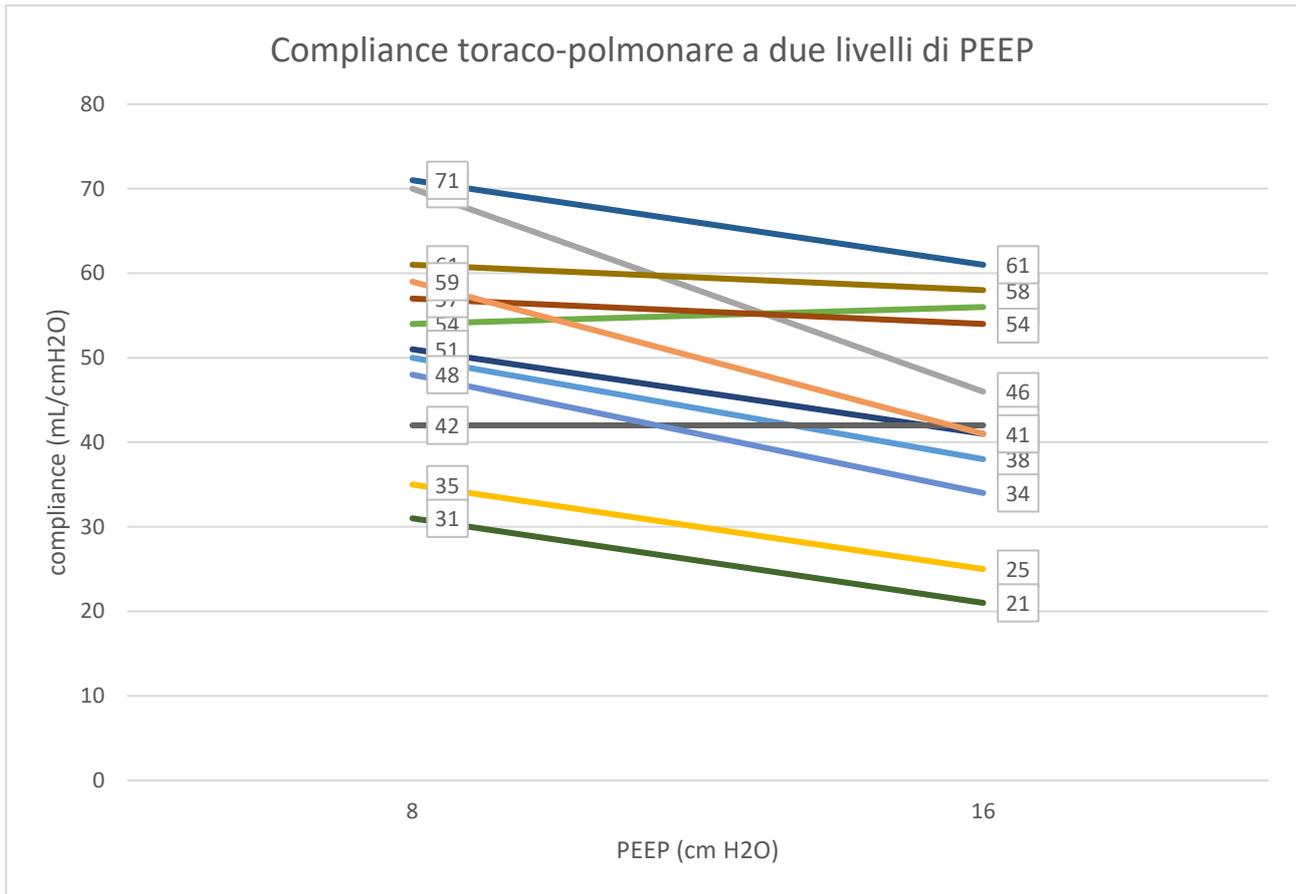
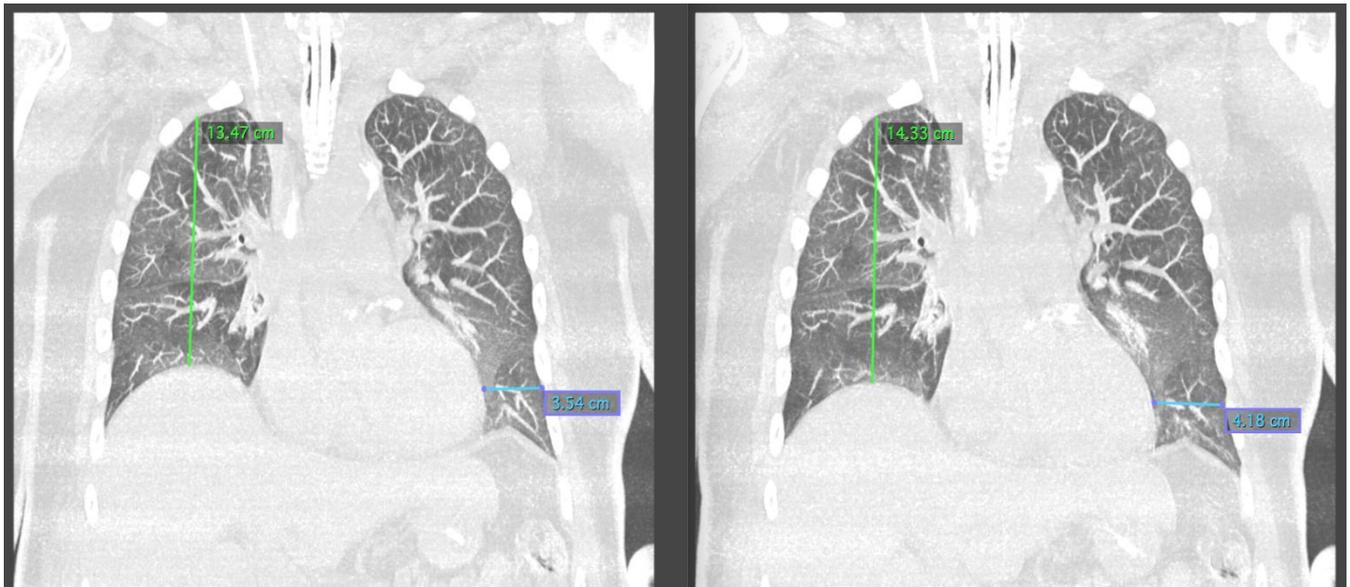


Figura 13. Grafico che mostra la variazione di compliance toraco-polmonare a due diversi livelli di PEEP

Per quanto riguarda l'imaging, ciò che si può chiaramente osservare, anche dalle immagini di seguito riportate, consiste sostanzialmente in tre fenomeni principali.

Il primo elemento che si osserva è il fatto che, con il livello superiore di PEEP, a 16 cmH2O, il polmone mostra una maggiore distensione, con abbassamento della cupola diaframmatica bilateralmente, ed aumento dei diametri trasversali, come mostra la figura in cui viene misurata la distanza fra la parete toracica e la porzione di ombra cardiaca ascrivibile al margine ottuso, effetto visibile soprattutto da una sezione coronale.



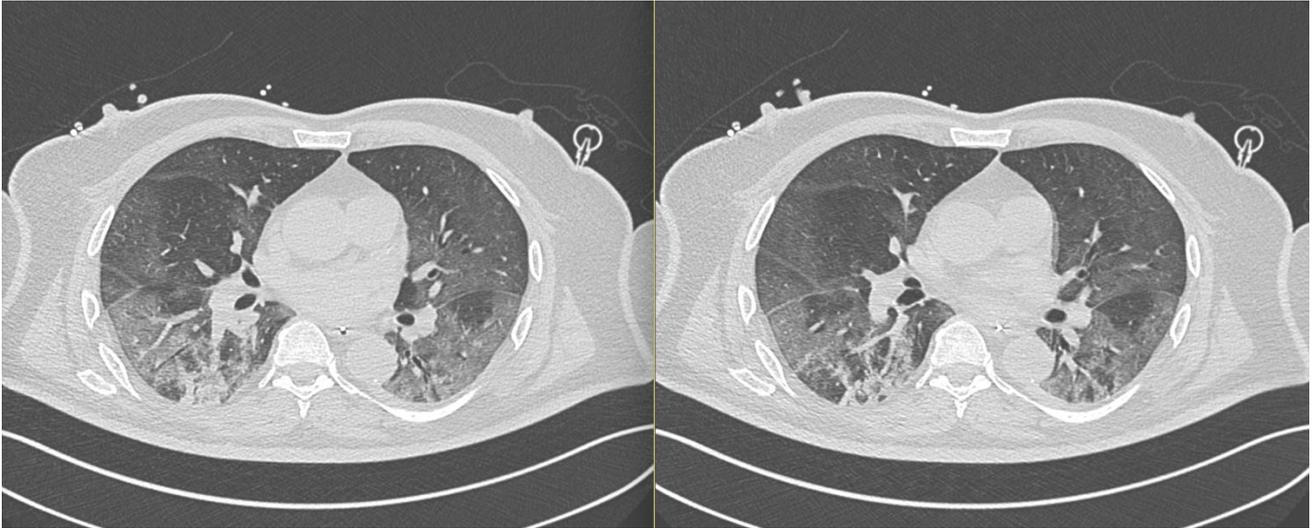
PEEP 8 cmH₂O

PEEP 16 cmH₂O

Figura 14. Misura del diametro craniocaudale e della distanza fra margine ottuso dell'ombra cardiaca e parete toracica a due differenti livelli di PEEP

Il secondo aspetto degno di nota è il fatto che, esaminando le immagini sempre a due livelli di PEEP, le aree di opacità con pattern *ground glass* (vetro smerigliato), nelle scansioni eseguite a 16 cmH₂O mostrano una sostanziale attenuazione rispetto a quelle ottenute a 8 cmH₂O, a suggerire probabilmente un miglioramento della reclutabilità alveolare, con possibile riflesso positivo quindi sui parametri clinici e emogasanalitici, riconducibile sostanzialmente ad un aumento della superficie di scambio gassoso.

Vi è tuttavia da segnalare, quale terzo aspetto evidenziabile dalle immagini che seguono, come invece le aree di consolidamento risultino sostanzialmente invariate in termini di dimensioni e densità e non reclutabili, potendo subire di fatto solo una lieve modificazione di sede da ascrivere all'aumento del volume polmonare determinato dal maggiore livello di PEEP.



PEEP 8 cmH2O

PEEP 16 cmH2O

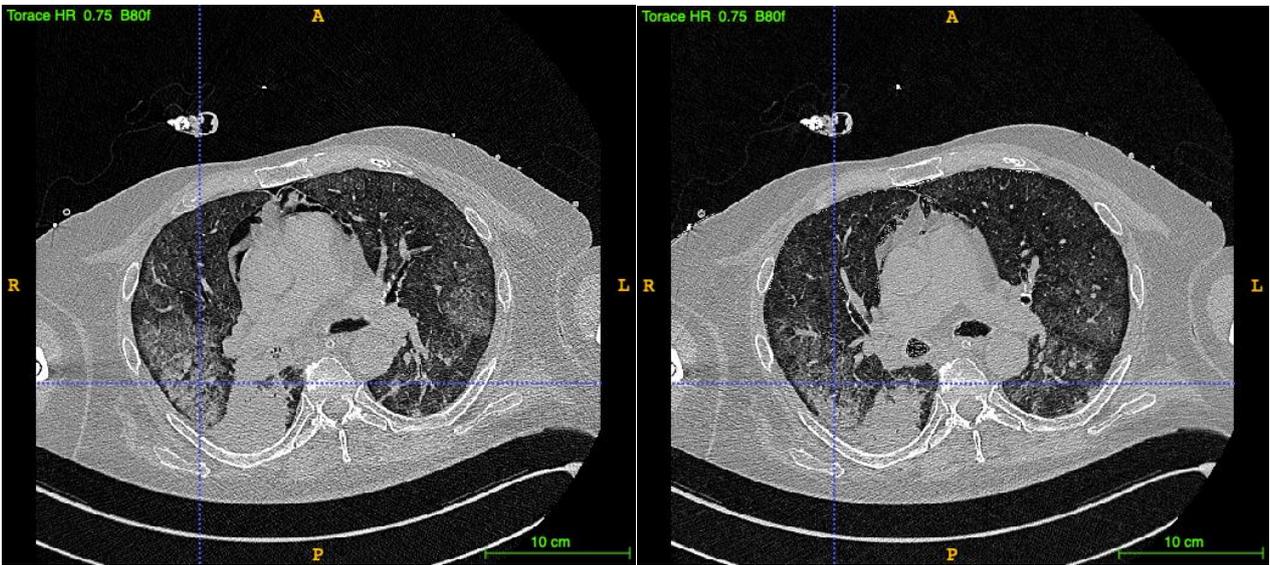
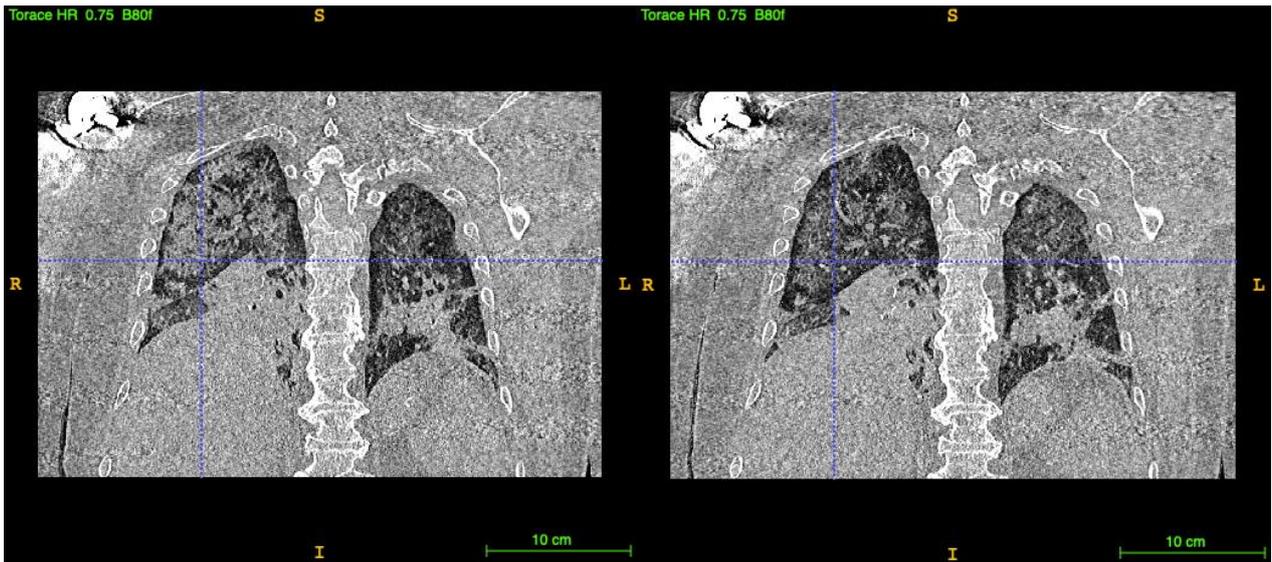


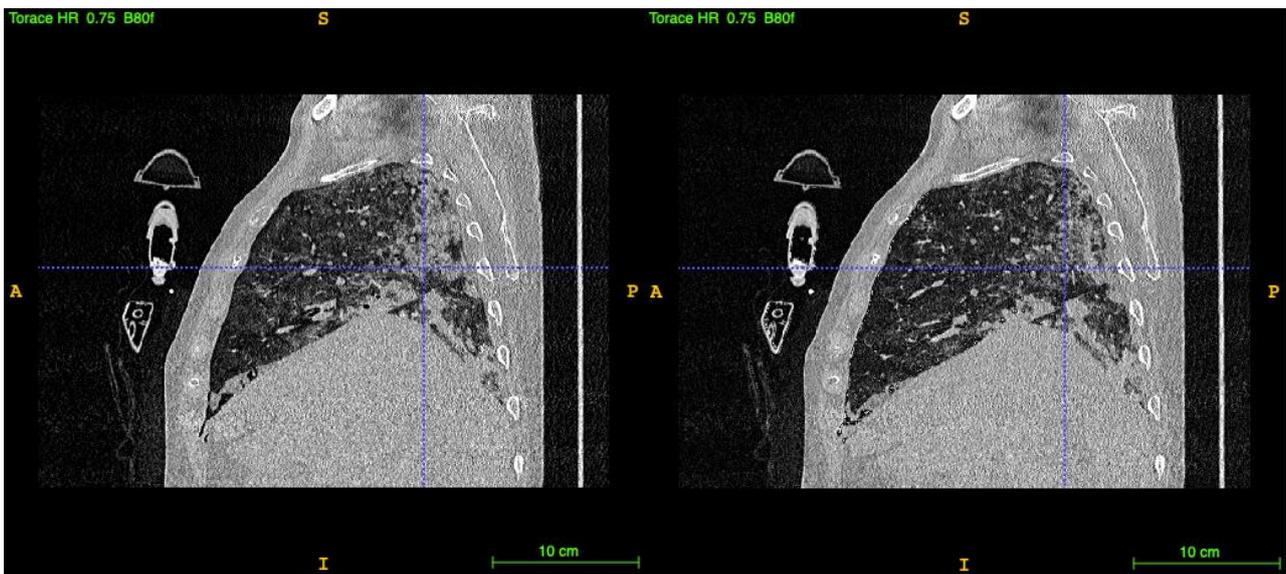
Figure 15-16. TC in sezione assiale a 8 e 16 cmH2O di PEEP



PEEP 8 cmH2O

PEEP 16 cmH2O

Figura 17. TC in sezione coronale del torace a 8 e 16 cmH2O di PEEP



PEEP 8 cmH2O

PEEP 16 cmH2O

Figura 18. TC in sezione sagittale del torace a 8 e 16 cmH2O di PEEP

8. Discussione e conclusioni

Come emerge anche da questo lavoro di tesi, a conferma di quanto si evince dai numerosissimi lavori presenti in letteratura, l'impostazione della ventilazione meccanica invasiva in tutte le sue sfaccettature in pazienti affetti da ARDS da tutte le cause, non solo quella in corso di infezione da SARS-CoV-2, costituisce una delle maggiori difficoltà che si presentano di fronte al medico rianimatore.

Questo si deve a numerosi fattori presenti contemporaneamente in varia misura, sia legati al paziente che alle attrezzature disponibili e all'esperienza del clinico.

In particolare, è dimostrabile come livelli superiori di pressione positiva di fine espirazione siano in modo globale maggiormente efficaci rispetto a quelli inferiori nel ridurre la quota di shunt intrapolmonare e ma non altrettanto nell'aumentare la pressione parziale di ossigeno nel sangue arterioso.

Questi livelli di PEEP, determinando generalmente una riduzione della compliance polmonare, espongono d'altro canto il paziente ad un maggior rischio di VILI, ovvero il danno al parenchima polmonare indotto dalla ventilazione meccanica, che si estrinseca principalmente attraverso quattro meccanismi: barotrauma, volutrauma, atelectrauma e biotrauma.

Fra questi, il primo sembra giocare un ruolo predominante, verificandosi per pressioni di ventilazione eccessive a volumi di insufflazione costanti.

Di conseguenza, da questa valutazione preliminare dei rischi e dei benefici relativi all'applicazione di una PEEP superiore o inferiore (rispettivamente 16 e 8 cmH₂O), risulta evidente come non sia raccomandabile l'impiego, come approccio standard nella ventilazione di pazienti con ARDS grave in corso di infezione da SARS-CoV-2, di livelli di PEEP più elevati.

Sembra essere maggiormente efficace, invece, un approccio il più possibile personalizzato e adattato al singolo paziente, soprattutto per quanto riguarda, appunto, i livelli di PEEP, allo scopo di ottenere un'ottimizzazione degli scambi gassosi a livello polmonare, con un monitoraggio dal punto di vista morfologico attraverso l'impiego della TC quantitativa del torace, mentre per quello "funzionale" si dovrebbe fare ricorso a reperti clinici e dati emogasanalitici.

Da segnalare il fatto che, come affermato in precedenza e già noto in passato, la metodica di imaging di scelta nel monitoraggio di questa tipologia di pazienti resta la TC quantitativa

del torace, se possibile con valutazione di più sezioni e diverse proiezioni.

Infine, va detto a onor del vero che le osservazioni riportate necessiterebbero di ulteriori approfondimenti da diversi punti di vista, considerato l'esiguo numero di soggetti considerati ed il periodo emergenziale tutt'ora ben lungi dalla sua chiusura.

Tuttavia, lo scrivente ritiene i risultati di questo lavoro di tesi quanto meno un valido spunto per eventuali successivi studi che possano confermare e approfondire in maniera puntuale i dati e i risultati emersi da questa indagine preliminare.

Bibliografia

1. Nakazawa E, Ino H, Akabayashi A. Chronology of COVID-19 Cases on the Diamond Princess Cruise Ship and Ethical Considerations: A Report From Japan. *Disaster Med Public Health Prep.* :1–8.
2. Lescure F-X, Bouadma L, Nguyen D, Parisey M, Wicky P-H, Behillil S, et al. Clinical and virological data of the first cases of COVID-19 in Europe: a case series. *Lancet Infect Dis.* 27 marzo 2020;
3. Salute M della. Covid-19, in gazzetta ufficiale il Dpcm 1 marzo 2020. Tutte le misure di contenimento per zone [Internet]. [citato 3 maggio 2020]. Available at: <http://www.salute.gov.it/portale/nuovocoronavirus/dettaglioNotizieNuovoCoronavirus.jsp?id=4137>
4. Salute M della. L'Organizzazione mondiale della sanità dichiara il coronavirus pandemia [Internet]. [citato 1 maggio 2020]. Available at: http://www.salute.gov.it/portale/news/p3_2_1_1_1.jsp?lingua=italiano&menu=notizie&p=dalministero&id=4209
5. Helmy YA, Fawzy M, Elasad A, Sobieh A, Kenney SP, Shehata AA. The COVID-19 Pandemic: A Comprehensive Review of Taxonomy, Genetics, Epidemiology, Diagnosis, Treatment, and Control. *J Clin Med.* 24 aprile 2020;9(4).
6. Cevik M, Bamford C, Ho A. COVID-19 pandemic – A focused review for clinicians. *Clin Microbiol Infect* [Internet]. 25 aprile 2020 [citato 4 maggio 2020]; Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7182753/>
7. Tolksdorf K, Buda S, Schuler E, Wieler LH, Haas W. Influenza-associated pneumonia as reference to assess seriousness of coronavirus disease (COVID-19). *Eurosurveillance* [Internet]. 19 marzo 2020 [citato 5 maggio 2020];25(11). Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7096775/>
8. Ranucci M, Ballotta A, Di Dedda U, Bayshnikova E, Dei Poli M, Resta M, et al. The procoagulant pattern of patients with COVID-19 acute respiratory distress syndrome. *J Thromb Haemost JTH.* 17 aprile 2020;
9. Asadi-Pooya AA, Simani L. Central nervous system manifestations of COVID-19: A systematic review. *J Neurol Sci.* 15 giugno 2020;413:116832.
10. Reinhard A, Ikonmidis C, Broome M, Gorostidi F. [Anosmia and COVID-19]. *Rev Med Suisse.* 29 aprile 2020;16(N° 691-2):849–51.
11. Update on the Cutaneous Manifestations of COVID 19. *Clin Dermatol* [Internet]. 25 aprile 2020 [citato 5 maggio 2020]; Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7194632/>
12. Yu A-Y, Tu R, Shao X, Pan A, Zhou K, Huang J. A comprehensive Chinese experience against SARS-CoV-2 in ophthalmology. *Eye Vis* [Internet]. 7 aprile 2020

[citato 5 maggio 2020];7. Available at:
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7136699/>

13. Zhang R, Ouyang H, Fu L, Wang S, Han J, Huang K, et al. CT features of SARS-CoV-2 pneumonia according to clinical presentation: a retrospective analysis of 120 consecutive patients from Wuhan city. *Eur Radiol*. 11 aprile 2020;1–10.
14. Chen T, Wu D, Chen H, Yan W, Yang D, Chen G, et al. Clinical characteristics of 113 deceased patients with coronavirus disease 2019: retrospective study. *BMJ*. 26 2020;368:m1091.
15. Zhou F, Yu T, Du R, Fan G, Liu Y, Liu Z, et al. Clinical course and risk factors for mortality of adult inpatients with COVID-19 in Wuhan, China: a retrospective cohort study. *Lancet Lond Engl*. 28 2020;395(10229):1054–62.
16. Yang J, Zheng Y, Gou X, Pu K, Chen Z, Guo Q, et al. Prevalence of comorbidities and its effects in coronavirus disease 2019 patients: A systematic review and meta-analysis. *Int J Infect Dis IJID Off Publ Int Soc Infect Dis*. 12 marzo 2020;94:91–5.
17. Wang W, Xu Y, Gao R, Lu R, Han K, Wu G, et al. Detection of SARS-CoV-2 in Different Types of Clinical Specimens. *JAMA [Internet]*. 11 marzo 2020 [citato 9 maggio 2020]; Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7066521/>
18. Perera RA, Mok CK, Tsang OT, Lv H, Ko RL, Wu NC, et al. Serological assays for severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2), March 2020. *Eurosurveillance [Internet]*. 23 aprile 2020 [citato 9 maggio 2020];25(16). Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7189648/>
19. Ahmed SF, Quadeer AA, McKay MR. Preliminary Identification of Potential Vaccine Targets for the COVID-19 Coronavirus (SARS-CoV-2) Based on SARS-CoV Immunological Studies. *Viruses [Internet]*. 25 febbraio 2020 [citato 10 maggio 2020];12(3). Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7150947/>
20. Chen W-H, Strych U, Hotez PJ, Bottazzi ME. The SARS-CoV-2 Vaccine Pipeline: an Overview. *Curr Trop Med Rep*. 3 marzo 2020;1–4.
21. Sanders JM, Monogue ML, Jodlowski TZ, Cutrell JB. Pharmacologic Treatments for Coronavirus Disease 2019 (COVID-19): A Review. *JAMA*. 13 aprile 2020;
22. McKee DL, Sternberg A, Stange U, Laufer S, Naujokat C. Candidate drugs against SARS-CoV-2 and COVID-19. *Pharmacol Res [Internet]*. 29 aprile 2020 [citato 12 maggio 2020]; Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7189851/>
23. Zhang C, Wu Z, Li J-W, Zhao H, Wang G-Q. The cytokine release syndrome (CRS) of severe COVID-19 and Interleukin-6 receptor (IL-6R) antagonist Tocilizumab may be the key to reduce the mortality. *Int J Antimicrob Agents*. 29 marzo 2020;105954.
24. Zeng Q-L, Yu Z-J, Gou J-J, Li G-M, Ma S-H, Zhang G-F, et al. Effect of Convalescent Plasma Therapy on Viral Shedding and Survival in COVID-19 Patients. *J Infect Dis*. 29 aprile 2020;

25. Gattinoni L, Pelosi P, Pesenti A, Brazzi L, Vitale G, Moretto A, et al. CT scan in ARDS: clinical and physiopathological insights. *Acta Anaesthesiol Scand Suppl.* 1991;95:87–94; discussion 94-96.
26. Boedeker KL, McNitt-Gray MF, Rogers SR, Truong DA, Brown MS, Gjertson DW, et al. Emphysema: effect of reconstruction algorithm on CT imaging measures. *Radiology.* luglio 2004;232(1):295–301.
27. Reske AW, Busse H, Amato MBP, Jaekel M, Kahn T, Schwarzkopf P, et al. Image reconstruction affects computer tomographic assessment of lung hyperinflation. *Intensive Care Med.* novembre 2008;34(11):2044–53.
28. Lachmann B. Open up the lung and keep the lung open. *Intensive Care Med.* 1992;18(6):319–21.
29. Gattinoni L, Carlesso E, Caironi P. Stress and strain within the lung. *Curr Opin Crit Care.* febbraio 2012;18(1):42–7.
30. Loring SH, O'Donnell CR, Behazin N, Malhotra A, Sarge T, Ritz R, et al. Esophageal pressures in acute lung injury: do they represent artifact or useful information about transpulmonary pressure, chest wall mechanics, and lung stress? *J Appl Physiol Bethesda Md 1985.* marzo 2010;108(3):515–22.
31. Chiumello D, Carlesso E, Cadringer P, Caironi P, Valenza F, Polli F, et al. Lung stress and strain during mechanical ventilation for acute respiratory distress syndrome. *Am J Respir Crit Care Med.* 15 agosto 2008;178(4):346–55.
32. Talmor D, Sarge T, O'Donnell CR, Ritz R, Malhotra A, Lisbon A, et al. Esophageal and transpulmonary pressures in acute respiratory failure. *Crit Care Med.* maggio 2006;34(5):1389–94.
33. Pelosi P, D'Andrea L, Vitale G, Pesenti A, Gattinoni L. Vertical gradient of regional lung inflation in adult respiratory distress syndrome. *Am J Respir Crit Care Med.* gennaio 1994;149(1):8–13.
34. Protti A, Cressoni M, Santini A, Langer T, Mietto C, Febres D, et al. Lung stress and strain during mechanical ventilation: any safe threshold? *Am J Respir Crit Care Med.* 15 maggio 2011;183(10):1354–62.
35. Ney L, Kuebler WM. Ventilation with lower tidal volumes as compared with traditional tidal volumes for acute lung injury. *N Engl J Med.* 14 settembre 2000;343(11):812–3; author reply 813-814.
36. Seah AS, Grant KA, Aliyeva M, Allen GB, Bates JHT. Quantifying the roles of tidal volume and PEEP in the pathogenesis of ventilator-induced lung injury. *Ann Biomed Eng.* maggio 2011;39(5):1505–16.
37. Gattinoni L, Caironi P, Cressoni M, Chiumello D, Ranieri VM, Quintel M, et al. Lung recruitment in patients with the acute respiratory distress syndrome. *N Engl J Med.* 27 aprile 2006;354(17):1775–86.
38. Briel M, Meade M, Mercat A, Brower RG, Talmor D, Walter SD, et al. Higher vs lower positive end-expiratory pressure in patients with acute lung injury and acute

respiratory distress syndrome: systematic review and meta-analysis. *JAMA*. 3 marzo 2010;303(9):865–73.

39. Terragni PP, Rosboch G, Tealdi A, Corno E, Menaldo E, Davini O, et al. Tidal hyperinflation during low tidal volume ventilation in acute respiratory distress syndrome. *Am J Respir Crit Care Med*. 15 gennaio 2007;175(2):160–6.
40. Fan E, Wilcox ME, Brower RG, Stewart TE, Mehta S, Lapinsky SE, et al. Recruitment maneuvers for acute lung injury: a systematic review. *Am J Respir Crit Care Med*. 1 dicembre 2008;178(11):1156–63.
41. Constantin J-M, Grasso S, Chanques G, Afort S, Futier E, Sebbane M, et al. Lung morphology predicts response to recruitment maneuver in patients with acute respiratory distress syndrome. *Crit Care Med*. aprile 2010;38(4):1108–17.
42. Bartel ST, Bierhals AJ, Pilgram TK, Hong C, Schechtman KB, Conradi SH, et al. Equating quantitative emphysema measurements on different CT image reconstructions. *Med Phys*. agosto 2011;38(8):4894–902.
43. Pelosi P, Crotti S, Brazzi L, Gattinoni L. Computed tomography in adult respiratory distress syndrome: what has it taught us? *Eur Respir J*. maggio 1996;9(5):1055–62.
44. Madani A, Keyzer C, Gevenois PA. Quantitative computed tomography assessment of lung structure and function in pulmonary emphysema. *Eur Respir J*. ottobre 2001;18(4):720–30.
45. Suzuki A, Suzuki MN. Use of a pencil-shaped ionization chamber for measurement of exposure resulting from a computed tomography scan. *Med Phys*. dicembre 1978;5(6):536–9.
46. Jahnen A, Kohler S, Hermen J, Tack D, Back C. Automatic computed tomography patient dose calculation using DICOM header metadata. *Radiat Prot Dosimetry*. settembre 2011;147(1–2):317–20.

Ringraziamenti

In questo fondamentale momento, ci tengo a ringraziare particolarmente il mio relatore, il professor Lorenzo Ball, per la grande disponibilità mostrata e per avermi seguito assiduamente nonostante i pesanti impegni assistenziali che lo hanno visto protagonista in prima linea durante l'emergenza sanitaria che ha investito il nostro paese.

Un grande ringraziamento ed eterna gratitudine vanno anche alla mia famiglia ed ai miei amici, componenti fondamentali della mia esistenza che hanno mostrato incredibile pazienza e forza nel sostenermi durante questa fase della mia vita.