

UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI NAPOLI FEDERICO II



DOTTORATO DI RICERCA IN

MEDICINA CLINICA E SPERIMENTALE

CURRICULUM IN SCIENZE CARDIOVASCOLARI E GERONTOLOGICHE

XXXIII Ciclo

(Anni 2018-2021)

Coordinatore: Prof. Francesco Beguinot

TESI DI DOTTORATO

TITOLO

*Studio della funzione cardiorespiratoria in pazienti con pregressa polmonite
da SARS CoV-2: effetti benefici della riabilitazione*

TUTOR/RELATORE

Chiar.mo

Prof. Carlo Gabriele Tocchetti

CANDIDATO/A

Dott.

Paolo Parrella

INDICE

INTRODUZIONE.....	5
MALATTIA DA CORONAVIRUS 2019 (COVID-19).....	5
<i>Eziologia e cenni storici.....</i>	5
<i>Modalità di trasmissione.....</i>	6
<i>Patogenesi.....</i>	8
<i>Misure di prevenzione e restrizione.....</i>	11
<i>Manifestazioni cliniche.....</i>	13
<i>Diagnosi.....</i>	14
<i>Cenni di terapia.....</i>	22
DIMENSIONI DEL PROBLEMA.....	28
<i>Epidemiologia.....</i>	28
<i>“Long COVID” e “Post COVID”.....</i>	29
RUOLO DELLA RIABILITAZIONE NELLA COVID -19.....	34
UTILITA' DEL TEST DA SFORZO	
CARDIOPOLMONARE (CPET).....	37
STUDIO DI TESI SPERIMENTALE.....	43
DISEGNO DELLO STUDIO.....	43

SCOPO DELLO STUDIO.....	44
MATERIALI E METODI.....	44
<i>Popolazione in studio</i>	44
<i>Valutazione mediante test da sforzo cardiopolmonare (CPET)</i>	53
<i>Analisi statistica</i>	58
RISULTATI.....	60
POPOLAZIONE IN STUDIO.....	60
ANALISI MEDIANTE TEST DEL CAMMINO IN 6 MINUTI (6MWT) E TEST DA SFORZO CARDIOPOLMONARE (CPET).....	74
DISCUSSIONE.....	80
LIMITI DELLO STUDIO.....	86
CONCLUSIONI.....	88
PROSPETTIVE FUTURE.....	89
BIBLIOGRAFIA.....	91

A me.....

INTRODUZIONE

MALATTIA DA CORONAVIRUS 2019 (COVID-19)

Eziologia e cenni storici

Circa a metà dicembre 2019 a Whuan, capoluogo della provincia di Hubei in Cina, le autorità sanitarie fecero registrare i primi casi di una polmonite di origine sconosciuta, che in pochi giorni assunse dimensioni epidemiche soprattutto fra i frequentatori del noto mercato umido locale, e che cominciò a destare notevoli preoccupazioni perché in non poche occasioni esitava rapidamente in una insufficienza respiratoria da sindrome respiratoria acuta severa (SARS), necessitante di trattamento intensivo in ventilazione assistita, spesso inefficace. Fin da subito si ipotizzò che si trattasse di una zoonosi, cioè di una malattia infettiva trasmessa dagli animali all'uomo, [1] e che il microrganismo imputabile fosse un virus particolarmente aggressivo e molto simile al Coronavirus responsabile delle epidemie di SARS (Sindrome Respiratoria Acuta Severa) del 2002 e MERS (Sindrome Respiratoria Mediorientale) del 2012, che causarono la morte di centinaia di persone in tutto il mondo. [2, 3] Nei primi giorni di gennaio 2020 il virus fu identificato e designato come Nuovo Coronavirus del 2019 (2019-nCoV) e successivamente, in seguito alla pubblicazione del suo genoma (analogo per il 70% alla sequenza genica del SARS CoV), [4] fu denominato *SARS CoV-2* (acronimo di *Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2*). Trattasi di un virus ad RNA che si trasmette per via aerea attraverso i droplets (particelle di Flügge) o per contatto diretto, capace di resistere a lungo sulle superfici [5] e che, dalla sua identificazione in poco più di un

mese e mezzo, si diffuse tanto rapidamente da indurre l'Organizzazione Mondiale della Sanità (OMS) a dichiarare lo stato di "Pandemia" in data 11 Marzo 2020. Da quel momento il *tasso netto di riproduzione* del virus (R_0), che ne indica la potenziale trasmissibilità da uomo a uomo, ha fatto registrare valori compresi tra 2,13 e 4,82. [6] Tale parametro rappresenta il numero di persone a cui un paziente risultato infetto può trasmettere la malattia, assume valori positivi tanto maggiori quanto più rapida è la diffusione del contagio ed ha raggiunto valori $R_t < 1$ solo nell'estate 2020 (dove R_t indica lo stesso indice di riproduzione del virus R_0 , ma calcolato nel tempo e varia in funzione degli interventi specifici di prevenzione attuati per il controllo del fenomeno infettivo).

Modalità di trasmissione

In letteratura sono presenti studi discordanti su quale possa essere il serbatoio naturale del virus nella fauna selvatica e l'ospite intermedio che lo ha trasmesso agli esseri umani. Una parte consistente della comunità scientifica ha tuttavia sostenuto che il pipistrello fosse il serbatoio naturale, mentre l'ospite intermedio un uccello o un mammifero. [7] La via di trasmissione oro-fecale del virus è ancora oggetto di studio. Il virus infatti è stato identificato nelle feci per periodi che variano da 1 a 12 giorni, in non pochi casi anche dopo la negativizzazione della via orale, indicando che l'infezione a livello gastrointestinale e la trasmissibilità oro-fecale possono persistere anche dopo l'eliminazione del virus a livello respiratorio. [8] Per alcuni autori le persone infette possono addirittura iniziare a diffondere il virus attraverso l'intestino già una settimana prima delle manifestazioni cliniche della malattia. [9] Altri sostengono che esisterebbe la possibilità che il virus possa essere

trasmesso attraverso l'acqua potabile, i sistemi fognari e l'aria, suggerendo un forte potenziale di diffusione ambientale attraverso questi percorsi. [10] Risulta però quanto meno improbabile che la via oro-fecale sia stata un fattore determinante nello sviluppo della pandemia, infatti è stato dimostrato che le particelle virali di SARS-CoV-2 vengono rapidamente inattivate nel tratto gastrointestinale ed escrete in uno stato non infettivo. [11] In ogni caso la ricerca del virus attraverso la sorveglianza basata sulle acque reflue (*Wastewater-Based Epidemiology, WBE*) può rappresentare un utilissimo strumento di indagine epidemiologica, perché capace di stabilire rapidamente la presenza di infezioni da SARS CoV-2 in una intera comunità, ma sorprendentemente questo strumento non è stato mai adeguatamente adottato da epidemiologi o funzionari della sanità pubblica. [12] Sembra invece che l'inquinamento atmosferico possa giocare un ruolo nella diffusione del virus al pari delle condizioni cliniche e dell'età dei soggetti colpiti dall'infezione. Esiste infatti una correlazione positiva tra l'alto livello di particolato (PM) in alcune aree urbane e la mortalità dovuta a condizioni cardiovascolari e respiratorie. Sembra inoltre che inquinanti atmosferici, come il biossido di azoto (NO₂) il monossido di carbonio (CO) e lo stesso PM, possano in qualche modo consentire, in condizioni climatiche particolari, una più lunga permanenza delle particelle virali nell'aria, favorendo così una diffusione "indiretta", oltre a quella diretta da individuo a individuo. [13] Di certo è stato già dimostrato come una elevata esposizione al PM presente nell'atmosfera può alterare l'immunità dell'ospite alle infezioni virali respiratorie. [14] Questa teoria contribuirebbe a spiegare, insieme a tanti altri fattori sociosanitari ed ambientali, come in Italia i primi focolai di infezione si siano concentrati nelle zone del Nord, [15] esattamente nella pianura padana, nelle città di

Lodi, Cremona e Bergamo, che sono tra le città italiane con i più alti livelli di inquinamento e che nel mese di dicembre 2019 e gennaio 2020 raggiunsero concentrazioni di PM senza precedenti, simili a quelli registrati nella regione di Hubei, in Cina. Per alcuni tuttavia questa ipotesi merita di essere approfondita da ulteriori studi epidemiologici in diverse regioni geografiche colpite dalla pandemia prima di essere convalidata. [16] Ciò nonostante uno studio statunitense ha dimostrato come un piccolo incremento dell'esposizione a lungo termine al PM è associata ad un notevole aumento del rischio di morte causata da SARS CoV-2, [17] e uno studio condotto in Italia, Spagna, Francia e Germania da ricercatori tedeschi ha dimostrato che, nelle regioni di questi paesi con il più alto tasso di inquinamento da NO₂, è stato registrato il maggior numero di morti per infezione da SARS CoV-2. [18] Infine è stato dimostrato come l'aria secca o poco umidificata, che spesso è riscontrabile negli ambienti ospedalieri, o come quella respirata attraverso i ventilatori meccanici, non sempre provvisti di umidificazione adeguata nelle unità ospedaliere ausiliarie, possa rappresentare un fattore che accelera la diffusione del virus e che ne incrementa la sua letalità. [19]

Patogenesi

Il nome ufficiale dato dall'OMS alla sindrome causata dal virus è *COVID-19 (COronaVirus Disease 2019)*. [20]

Grazie a numerosi studi che si avvicendarono nei primi mesi dell'epidemia, fu scoperto che il virus penetra nella cellula ospite attraverso l'enzima di conversione dell'Angiotensina 2 (ACE2), [21]

ubiquitario nell'organismo umano, ma principalmente presente a livello alveolare polmonare. Questo spiegherebbe il motivo per cui la malattia colpisce più frequentemente le vie respiratorie. [22] Per tale motivo inizialmente si pensò che la riduzione dell'attività di ACE2 avrebbe potuto avere effetti protettivi. [21][23] Altri studi al contrario ipotizzarono che la sovraespressione di ACE2, attraverso l'utilizzo di farmaci antagonisti del recettore dell'angiotensina II, avrebbe potuto essere protettivo, [24] ma queste ipotesi devono ancora essere verificate e la questione è rimasta tutt'altro che risolta. [25][26] Sebbene il tropismo di SARS-CoV-2 per le cellule epiteliali del tratto respiratorio che esprimono ACE2 fece inizialmente scalpore nella comunità scientifica, successivamente l'interesse dei ricercatori si spostò sulla evidenza clinica che i pazienti con COVID-19 grave presentassero segni e sintomi di iperinfiammazione sistemica. Fu subito evidenziato infatti come i pazienti affetti da sindrome acuta da distress respiratorio (ARDS) secondaria a COVID-19 presentassero alle analisi di laboratorio elevate concentrazioni sieriche dei classici biomarcatori della Sindrome da Risposta Infiammatoria Sistemica (SIRS), [27] tra cui la proteina C reattiva (PCR), la lattato deidrogenasi (LDH), il D-dimero e la ferritina, sottesa da una sindrome da rilascio di citochine (CRS) proinfiammatorie, quali IL-2, IL-6, IL-7, GM-CSF, IP-10, MCP-1, MIP-1 α e TNF- α , la cosiddetta "tempesta citochinica", [28] che suggeriva un meccanismo immunopatogenico sottostante. [29] Pertanto tra giugno e settembre 2020 furono pubblicati diversi lavori relativi allo stato dell'arte sulle conoscenze dei meccanismi immunopatogenetici che sottendono la gravità e la diffusione della infezione da SARS-CoV2. [30] In questi lavori si evidenziava come il sistema immunitario fosse un target biologico del virus e ciò veniva dimostrato dalla presenza del genoma

virale nelle cellule immunitarie. Ciò spiegherebbe il riscontro di linfopenia nel sangue dei pazienti colpiti dalle forme più gravi, a conferma di una disregolazione immunitaria virus-indotta. Pertanto tali studi sostenevano la necessità strategica di “controllare il virus nella fase iniziale della malattia e domare il sistema immunitario nella fase avanzata”. [31] Non solo, ma con essi si affermava anche la necessità che SARS-CoV-2 dovesse essere considerato meno letale di SARS-CoV e MERS-CoV ancorchè più contagioso, [32] che il tampone naso-orofaringeo (TNOF) per la ricerca dei frammenti genici virali dovesse essere considerato poco affidabile, sulla base della evidenza che pazienti con malattia grave potevano presentarsi con bassi titoli virali nel tampone, mentre titoli virali elevati venivano osservati in individui asintomatici, [33] ed infine che queste alterazioni del sistema immunitario indotte dal virus, dovessero essere considerate la causa dell’iperinfiammazione aberrante, associata alla tempesta citochinica e alla linfopenia, nonchè della perdita di titoli anticorpali, da parte dei pazienti affetti da polmonite SARS CoV-2 correlata, spesso riscontrata dopo settimane o mesi dalla guarigione. [34] Sempre riguardo ai meccanismi patogenetici implicati nella COVID-19, inizialmente fu sostenuta la teoria secondo cui pazienti portatori di determinati gruppi sanguigni, specie del Sistema ABO, fossero maggiormente esposti alla infezione da SARS-CoV-2, [35] senza però alcuna correlazione tra questi e la gravità della malattia. [36] Questi dati furono successivamente confermati da uno studio di metanalisi effettuato a riguardo, [37] ma sono in corso ricerche per definire meglio il ruolo dei gruppi sanguigni nella trasmissione del SARS CoV-2 e nello sviluppo della COVID-19. In ogni caso altri studiosi, tra cui ricercatori italiani, suggeriscono

comunque una suscettibilità geneticamente determinata alle forme più gravi di malattia. [38]

Misure di prevenzione e restrizione

E' stato visto come il periodo di incubazione, durante il quale si è contagiosi, ha un valore mediano di 5 giorni con variazioni da 2 a 14 giorni e per questo motivo tra le varie disposizioni di prevenzione primaria fu inizialmente indicato un periodo di isolamento di 14 giorni dalla possibile esposizione ad un caso sospetto o accertato. Per limitarne la trasmissione l'OMS dispose di assumere alcune specifiche precauzioni, come mantenere la distanza interpersonale di almeno 2 metri e tenere comportamenti corretti sul piano dell'igiene personale (lavare e disinfettare periodicamente le mani, starnutire o tossire in un fazzoletto o nell'incavo del gomito, indossare mascherine e guanti) e ambientale (rinnovare spesso l'aria negli ambienti chiusi aprendo le finestre e mantenere gli ambienti molto puliti). I governi e gli enti competenti in molte parti del mondo disposero l'obbligo per quelli ritenuti infetti, di rimanere in isolamento fiduciario, indossare una mascherina chirurgica, osservare le regole di igiene e contattare quanto prima un medico, al fine di ricevere ulteriori indicazioni, come effettuare un Tampone Naso-Oro-Faringeo (TNOF) "molecolare" per la ricerca di frammenti genici di SARS CoV-2 mediante Real Time PCR. [27] In un certo numero di paesi inizialmente fu sconsigliato alla popolazione di effettuare viaggi a Wuhan e successivamente nella provincia di Hubei ed in tutta la Cina continentale, che furono poi progressivamente confinate e messe in isolamento dal resto del mondo. L'Italia fu il primo paese europeo ad essere colpito dall'epidemia. Il 23 Febbraio 2020 a Codogno

nel Lodigiano fu individuato quello che poi sarà ricordato come “paziente 1” e man mano che il virus si diffondeva, venivano disposte quarantene fiduciarie per pazienti, casi sospetti e possibili contatti, nel disperato e vano tentativo di limitare la diffusione dell’epidemia. Ben presto il virus iniziò a diffondersi nelle altre nazioni europee ed i governi nazionali e le autorità locali disposero limitazioni agli spostamenti sempre più restrittive, dapprima da nazione a nazione, poi da regione a regione, poi tra province e comuni, fino ad arrivare nei primi giorni di marzo 2020 ad un vero e proprio “lockdown”, cioè a misure di confinamento e di blocco della libera circolazione eccezion fatta per pochi casi di comprovata e certificata necessità. Fu imposto l’obbligo di chiusura di gran parte delle attività commerciali, il divieto di praticare attività sportive, specie in luoghi pubblici, palestre e campi sportivi, fu disposta la chiusura di scuole, università, uffici, cinema, teatri, musei, bar e ristoranti, con la sola eccezione dei servizi essenziali per la distribuzione di generi e beni di prima necessità e di svolgere quanto più possibile il proprio lavoro in “smart working”. Gli ospedali furono al collasso, specie i reparti di terapia intensiva, non riuscendo a far fronte alle sempre più ingenti necessità di ricovero e per una iniziale difficoltà di reperimento dei Dispositivi di Protezione Individuale (DPI) e la corretta applicazione delle norme igienico-comportamentali di sicurezza, pertanto il virus iniziò a diffondersi e a mietere vittime anche tra gli operatori sanitari. Rapidamente dunque alla grave crisi sociosanitaria si aggiunse quella economica e finanziaria. Il “lockdown” però ebbe degli effetti positivi, infatti l’incidenza di nuovi contagi, il numero di ricoveri nei reparti di terapia intensiva ed il tasso di mortalità iniziarono a calare, permettendo, a partire dai primi giorni di maggio 2020 l’allentamento graduale delle misure restrittive (la cosiddetta “fase 2”), favorito anche e

probabilmente, dall'incremento della temperatura ambientale. Ad ottobre 2020 però ci fu una nuova ondata di epidemia ed i governi nazionali furono costretti a riprendere nuovamente e gradualmente le precedenti misure restrittive.

Manifestazioni cliniche

Il virus colpisce principalmente il tratto respiratorio superiore e inferiore ma può provocare sintomi che riguardano tutti gli organi ed apparati. In oltre la metà dei casi l'infezione decorre in maniera del tutto asintomatica e in circa un terzo dei casi presenta sintomi simil-influenzali (forma pauci-sintomatica). [27] [39] I sintomi simil-influenzali più frequenti sono: febbre, congestione nasale e/o congiuntivale, tosse, cefalea, faringodinia, dispnea, artralgie e mialgie, astenia e disturbi gastrointestinali quali diarrea, nausea e vomito. [9] In alcuni casi possono associarsi, o più raramente presentarsi in forma isolata, delle manifestazioni cutanee, quali rash maculopapillare, orticaria, vescicole, petecchie, e l'eritema pernio o "gelone" (che configura le cosiddette "dita dei piedi COVID", ma che può localizzarsi anche sui padiglioni auricolari). [40] I sintomi caratteristici della COVID-19 però sono l'anosmia e l'ageusia transitorie, che possono accompagnare gli altri sintomi o essere l'unica manifestazione di malattia. [41] In una minoranza di casi (circa 5-6% dei casi) invece la malattia può manifestarsi in forma moderata o severa con rischio di complicanze soprattutto respiratorie. [42] Nei casi più gravi infatti può verificarsi una polmonite, una sindrome da distress respiratorio acuto (ARDS), una sepsi e uno shock settico fino ad arrivare al decesso del paziente. [43] Altre possibili e temibili complicanze dell'infezione possono essere

lesioni miocardiche acute e danni cronici al sistema cardiovascolare, [44] legati alla risposta infiammatoria sistemica o alla presenza di recettori ACE2 cardiaci, [45] così come trombosi e tromboembolie venose, riscontrate con elevata incidenza in pazienti in terapia intensiva e fortemente correlate a prognosi sfavorevoli, e coagulazione intravascolare disseminata (CID). [46] I bambini sembrano manifestare un corteo sintomatologico generalmente più lieve, ma mancano ancora sufficienti prove a riguardo. [47]

Diagnosi

La diagnosi di infezione da SARS CoV-2 viene fatta attraverso la dimostrazione diretta della presenza del virus nell'organismo del paziente, mediante l'utilizzo di una tecnica di biologia molecolare, ovvero la reazione a catena della polimerasi inversa eseguita in tempo reale (*Reverse Transcription Real Time Polymerase Chain Reaction, rRT-PCR*), che permette di ricercare frammenti genici di RNA virali su materiale biologico prelevato dal paziente attraverso un tampone naso-oro-faringeo (TNOF) o in alternativa su sangue. [48] Il test, comunemente denominato "*Tampone Molecolare*", è ritenuto molto affidabile se il prelievo del campione biologico viene effettuato nei tempi giusti e da personale qualificato e si stima avesse una sensibilità pari al 92% ed una specificità pari al 99%. [49] Falsi negativi infatti sono possibili prevalentemente quando il campione viene prelevato durante la fase precoce di incubazione (almeno 3 giorni dal contatto) o per errori tecnici di raccolta, campionamento, conservazione e trasporto del materiale da analizzare. Si ritiene invece che i falsi positivi siano rari, [50] nonostante alcuni autori sottolineino che il riscontro di un risultato

positivo alla rRT-PCR indica solo la presenza dell'RNA virale e non necessariamente del virus in forma vitale. [51] La metodica “real time” ha permesso di ridurre a 3-5 ore i tempi tecnici per ottenere il risultato del test, ma problemi logistici e di organizzazione, legati alla necessità di eseguire l'analisi in laboratori specializzati, associato all'ingente quantità di campioni da processare nel contesto di una pandemia, ne ha spesso prolungato i tempi di risposta fino a diversi giorni, creando non pochi problemi di gestione dei pazienti posti in isolamento, in attesa del risultato, da parte delle aziende sanitarie locali (ASL) e dei presidi ospedalieri (PO). Per tale motivo il test, nonostante rappresenti il “gold standard” per la diagnosi di COVID-19, viene esclusivamente utilizzato nei casi sospetti sintomatici con o senza link epidemiologico (contatti stretti con casi accertati, viaggi in zone ad elevata prevalenza di malattia), per la definizione di guarigione dei casi positivi e per confermare i risultati degli altri test in situazioni specifiche.

La necessità di effettuare indagini di screening sulla popolazione per individuare ed isolare i casi asintomatici e contenere la diffusione subdola ed insidiosa del contagio, ha successivamente indotto a sviluppare dei test meno costosi, che non richiedono personale e/o laboratori specializzati, ma soprattutto possono offrire risultati in tempi più rapidi (15-30 minuti), come quello comunemente definito “*Tampone Antigenico Rapido*”. Trattasi di un test che, al pari del tampone molecolare, permette ugualmente la dimostrazione diretta della presenza del virus nell'organismo, ma attraverso la rilevazione immunomediata di frammenti proteici o peptidi (antigeni) virali, su campioni biologici prelevati tramite tampone nasale o naso-oro-faringeo o salivare (a seconda dell'azienda produttrice). La reazione immunomediata grazie a

tecniche cromatografiche consente a qualsiasi operatore di leggere il risultato del test ad occhio nudo, senza necessità di laboratori specializzati. Anche con questi test la possibilità di avere falsi negativi dipende dalla precocità con cui viene prelevato il campione rispetto al momento della eventuale esposizione e dalla tecnica di esecuzione del tampone. Purtroppo fino ad oggi non sono stati pubblicati sufficienti studi che forniscano indicazioni sulla affidabilità e l'accuratezza di questi test. [52] Allo stato attuale gli unici dati disponibili a riguardo sono quelli elaborati dalle stesse aziende produttrici che dichiarano, a seconda dei casi, una sensibilità del 70-86% ed una specificità del 95-97%. Tuttavia i test molecolari sembrano avere una maggiore sensibilità prima della comparsa dei sintomi, mentre nella fase iniziale immediatamente successiva all'inizio dell'infezione i test rapidi antigenici e quelli molecolari hanno una sensibilità simile. [53] Va in ogni caso sottolineato come, nonostante il ruolo rilevante dei test rapidi nella diagnostica della COVID-19, ai fini della segnalazione dei casi nel sistema della sorveglianza integrata di tale malattia, coordinata dall'Istituto Superiore della Sanità (ISS), vengano presi in considerazione solo i risultati positivi ottenuti tramite rRT-PCR dai laboratori di riferimento regionali o dai laboratori identificati/autorizzati da questi. Tutti gli altri tipi di test vengono pertanto ritenuti non diagnostici ed i loro risultati necessitano di essere confermati dalla rT-PCR per essere validati.

I *test sierologici* invece non consentono la rilevazione diretta del virus nell'organismo infetto, ma la ricerca di anticorpi IgM ed IgG, prodotti dall'organismo stesso venuto a contatto con il virus e capaci di legare in maniera specifica gli antigeni virali. Essi pertanto sono utili per

dimostrare l'avvenuta esposizione e l'eventuale immunizzazione al virus, ma non per confermare o escludere una infezione in atto. Pertanto, in caso di positività si rimanda ad un test molecolare su tampone per ricevere la conferma. Le metodiche raccomandate per la processazione dei campioni di sangue venoso sfruttano la tecnologia di rilevazione ad immunochemiluminescenza (*Chemiluminescent Immunoassay, CLIA*) ed in alternativa quella immunoenzimatica (*Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay, ELISA*), con una specificità ed una sensibilità rispettivamente non inferiori al 95% ed al 90%. [52] La presenza degli anticorpi nel sangue indica semplicemente l'avvenuta attivazione del sistema immunitario dell'ospite che è venuto a contatto col virus, senza specificare se la infezione è in atto o pregressa. Inoltre la comparsa degli anticorpi in circolo può essere rilevata non prima di 10-15 giorni dal contatto, per cui se il test risulta negativo, non è possibile escludere un eventuale contatto col virus nei giorni immediatamente precedenti e quindi una infezione in atto, ma ancora "sieronegativa". In particolare la presenza in circolo delle sole IgM indica una risposta anticorpale ad una infezione recente ed in atto, ma con contatto avvenuto nei 7-14 giorni precedenti; la presenza contemporanea di IgM ed IgG invece non ci permette di distinguere (senza ulteriori dati clinici, laboratoristici e strumentali) una infezione in atto da una infezione pregressa, ma rivela una risposta anticorpale avvenuta da almeno 15 giorni; la presenza delle sole IgG indica invece l'avvenuta immunizzazione; l'assenza di entrambi gli anticorpi infine può indicare che il paziente non è mai venuto a contatto con il virus o che, nel caso in cui si ha certezza dell'avvenuto contatto o dell'infezione, il paziente è stato infettato, ma il virus è ancora in fase di incubazione o ancora potrebbe essere un falso negativo o indice di una inadeguata risposta immunitaria al virus da parte dell'ospite. [54]

Oltre ai test sierologici ci sono altri *parametri di laboratorio*, rilevabili attraverso il prelievo venoso, che possono risultare alterati nei pazienti con COVID-19. Infatti nei pazienti con sfavorevole progressione della patologia è possibile riscontrare: leucopenia, neutrofilia, linfocitopenia, incrementati valori di D-Dimero, Tempo di Protrombina (PT), Proteina C reattiva (PCR), Alanino Amino Transferasi (ALT), Aspartato Amino Transferasi (AST), Bilirubina e Troponine (Tn). [55] Alcuni di questi possono anche essere considerati fattori predittivi significativi di esiti clinici avversi, in particolare il D-Dimero, le cui concentrazioni sieriche sembrano mostrare una correlazione diretta con il rischio di sviluppare embolia polmonare, [56] con la gravità della malattia [57] [58] e con la morte. [59]

Malgrado la COVID-19 possa manifestarsi con sintomi a livello di vari organi e apparati, esso è prevalentemente una malattia respiratoria con alterazioni a livello del parenchima polmonare che, per essere rilevate, necessitano di tecniche di diagnostica per immagini. Fin da subito fu chiaro che la *Radiografia standard del torace (Chest Radiography, CRX)* fosse una metodica del tutto insufficiente per la diagnosi di polmonite interstiziale SARS-CoV-2 correlata, a causa della sua ridotta sensibilità e specificità rispetto alla *Tomografia Computerizzata ad Alta Risoluzione (High Resolution Computed Tomography), HRCT*). Addirittura nelle prime settimane di pandemia, nonostante la consapevolezza che la RT-PCR rappresentasse il “gold standard” per la diagnosi della COVID-19, quest’ultima metodica, a causa dei tempi di risposta più lunghi, della scarsa disponibilità di kit diagnostici, di problemi pratici di campionamento, del gran numero di falsi negativi, che imponevano la necessità di ulteriori conferme ed alle lunghe liste di attesa di pazienti

che dovevano essere esaminati e isolati nella Provincia di Hubei, fu soppiantata dall'HRCT come metodica di screening. Di fatto, una HRCT iniziale evidenziava un tasso molto più alto di reperti riferibili alla COVID-19 rispetto alla prima versione della RT-PCR (98% vs. 71%). [60] L'utilizzo della HRCT fu esteso anche al follow-up della polmonite interstiziale da SARS CoV-2. A fronte di una elevata sensibilità però, le caratteristiche dell'imaging TC hanno una scarsa specificità per la diagnosi di COVID-19 (~ 39%) e quindi un elevato rischio di dare falsi positivi, specie nelle aree a bassa prevalenza di malattia. [61] Pertanto se in un contesto epidemiologico come quello osservato all'inizio della pandemia, il suo utilizzo come test di screening poteva essere in qualche modo giustificato, è innegabile la necessità attuale di raccordare le informazioni acquisite con tale metodica agli altri dati clinici, epidemiologici ed ovviamente alla RT-PCR del paziente nella diagnosi differenziale con altre pneumopatie interstiziali infettive e non infettive, acute e croniche o patologie non primitivamente polmonari (come lo scompenso cardiaco congestizio), che mostrano gli stessi aspetti radiografici alla HRCT. [62] Le alterazioni caratteristiche (ma non esclusive) della polmonite interstiziale da SARS CoV-2 riscontrabili alla HRCT sono in ordine di insorgenza: le opacità "a vetro smerigliato" (*Ground Glass Opacity, GGO*), con una prevalente distribuzione periferica in sede sub-pleurica, simmetrica bilaterale e nei lobi inferiori; le opacità ad aspetto reticolare intra-lobulare, che costituiscono il modello "a pavimentazione irregolare" (*Crazy Paving Pattern, CPP*), solitamente associato ad uno stadio più grave di malattia; [63] le aree di consolidamento lineare o le aree di GGO con alone di consolidamento periferico (*Reverse Halo Sign, RHS*). Il consolidamento estensivo è associato ad una prognosi più sfavorevole nei pazienti più compromessi.

[64] Bisogna comunque considerare che nei primi giorni dall'insorgenza della sintomatologia clinica, nel 56% dei pazienti possono non essere presenti anomalie radiografiche. [65] Con il passare del tempo, i segni di riparazione del tessuto polmonare, quali strie sub-pleuriche, distorsione della trama bronchiale e strie fibrotiche, iniziano ad insorgere fino alla completa risoluzione del quadro che può progredire in maniera sincrona o meno tra le varie zone polmonari. Da notare, inoltre, che in letteratura sono riportati casi di polmonite asintomatica tra i pazienti con infezione da COVID-19 diagnosticata con RT-PCR e confermata alla TC. Pertanto, occorre prestare attenzione all'identificazione di tali pazienti atipici, poiché questi possono essere fonte di contagio e trasmissione comunitaria. Sebbene la presenza quasi costante delle "opacità a vetro smerigliato" e l'elevata incidenza del "crazy-paving pattern" nelle TC toraciche di questi soggetti siano state etichettate come "polmonite interstiziale" (quantomeno nelle fasi iniziali di malattia), non è da escludere che la loro genesi possa essere attribuibile ad un danno vascolare, tipo vasculite trombofilica. Con ogni probabilità soltanto quando si avranno a disposizione dati autoptici definitivi su pazienti COVID-19 si potrà capire qual è il vero significato anatomopatologico di questi segni di coinvolgimento polmonare. Infine si è più volte sottolineata la necessità di una valutazione quantitativa delle immagini TC per arrivare a definire la stadiazione di malattia rispetto al risultato clinico. A tal proposito sono stati proposti dei punteggi di gravità relativi ai reperti TC dotati di rivelanti correlazioni con la gravità della malattia durante la fase acuta, che tuttavia, come vedremo dai risultati di questo studio, non mostrano alcuna correlazione con lo stato funzionale dei pazienti, una volta guariti. Il più utilizzato tra questi è il *Total Severity Score (TTS)*. [66]

Un'altra tecnica di imaging che si è diffusa in era COVID, per la sua facilità e rapidità di esecuzione e per i bassi costi, è l'ecografia polmonare (*Lung Ultra Sound, LUS*). Tale metodica rientra nell'ambito della ecografia toracica, largamente utilizzata per la valutazione in terapia intensiva di patologie polmonari multiple, come pneumotorace, sindrome da distress respiratorio acuto (ARDS), edema polmonare acuto (EPA), malattia polmonare interstiziale (Interstitial Lung Disease, ILD) e polmonite, [67] e più in generale nella ecografia "Point of Care" (*Point of Care Ultra Sound, POCUS*), una metodica molto diffusa nell'ambito della medicina di emergenza-urgenza, eseguita al letto del paziente a scopo diagnostico (quando l'esame è condotto sulla base dei segni e dei sintomi clinici) o terapeutico (manovre o interventi ecoguidati). [68] Le prestazioni della LUS consentono infatti di integrare l'esame clinico con una metodica di imaging polmonare eseguita dallo stesso medico a letto del paziente per accelerare il processo decisionale nell'iter diagnostico-terapeutico. [69] Le alterazioni caratteristiche (ma non esclusive) della polmonite interstiziale da SARS CoV-2 riscontrabili alla LUS sono l'ispessimento della pleura, le cosiddette "Linee B" diffuse e confluenti, i consolidamenti periferici a distribuzione multilobare su scansioni settoriali multiple anteriori e posteriori e raramente il versamento pleurico. [70] Tali alterazioni sono tutt'altro che patognomoniche di polmonite interstiziale da SARS CoV-2 e sono anzi riscontrabili in tante altre patologie polmonari e cardiache di natura acuta e cronica in cui la LUS viene ampiamente utilizzata. Nonostante ciò, nel contesto epidemiologico in cui si è diffusa la polmonite da SARS CoV-2, per la rapidità e la facilità di esecuzione, l'uso di tale metodica ha trovato ampio riscontro come primo approccio diagnostico al paziente specie in Italia. [71] Inoltre la LUS si è dimostrata essere uno strumento di

monitoraggio necessario per valutare l'efficacia delle manovre di pronosupinazione nei reparti di terapia intensiva, ma si è rivelata invece meno utile del previsto come tecnica per la valutazione della progressione della malattia e per il follow-up. [72] L'uso di radiazioni non ionizzanti, inoltre, rende l'esame ecografico utile, quanto funzionale, per bambini e donne in gravidanza. Infine la POCUS ha assunto un ruolo di primo piano nel contesto della coagulopatia da COVID-19 come metodica di imaging vascolare nei pazienti con sospette trombosi e tromboembolie.

Cenni di terapia

Sostanzialmente il trattamento della COVID-19 consiste nell'isolare il paziente per prevenire la diffusione del contagio e curare i sintomi clinici.

La necessità di trovare rapidamente cure e rimedi per una patologia nuova, a rapida diffusione e con catastrofiche ripercussioni sulla sanità pubblica e sui sistemi socioeconomici mondiali, ha costretto le autorità sanitarie e la stessa OMS ad un continuo avvicinarsi di indicazioni, raccomandazioni, approvazioni provvisorie di farmaci e revisioni dei protocolli di sperimentazione, provocando non pochi disagi negli operatori sanitari e critiche da parte della popolazione.

Per i pazienti paucisintomatici oltre all'isolamento fiduciario è stato proposto un trattamento domiciliare che consiste sostanzialmente nel riposo, nell'assunzione di liquidi per la reidratazione, in una dieta sana ed equilibrata e nell'utilizzo di *antipiretici*, come il Paracetamolo, in caso di febbre e dolori muscolari, da preferire ai Farmaci Antinfiammatori Non Steroidei (FANS), come l'Ibuprofene. [73]

L'utilizzo di integratori di *Vitamina D* si è largamente diffuso sulla base di evidenze scientifiche riguardo alla sua efficacia preventiva. [74] In particolar modo sono state dimostrate associazioni significative tra la carenza di vitamina D e la gravità della COVID-19, con incrementi fino all'80% di ospedalizzazioni e mortalità. [75] Sono in corso numerosi altri studi con lo scopo di esaminare qualsiasi ruolo specifico della vitamina D nella prevenzione primaria e/o secondaria della malattia. [76] Tuttavia, a partire da ottobre 2020, da parte delle autorità sanitarie non vi è stata alcuna raccomandazione consultiva per l'uso specifico della vitamina D o dei suoi metaboliti nella cura e nella prevenzione della COVID-19. Sebbene siano state sollevate preoccupazioni teoriche sugli inibitori dell'Enzima di Conversione dell'Angiotensina (*Angiotensin Converting Enzyme, ACEi*) e sui Bloccanti del Recettore dell'Angiotensina II (*Angiotensin II Receptor Blockers ARBII*), dai dati disponibili non ci sono prove sufficienti per giustificare l'interruzione di questi farmaci. Ulteriori controversie si sono avute poi riguardo all'uso dei *Cortisonici*, la fase della malattia in cui introdurli in terapia ed il dosaggio da somministrare. Sulla base di studi randomizzati, l'OMS raccomanda l'uso di corticosteroidi sistemici nelle linee guida per il trattamento di persone ospedalizzate con malattie gravi o critiche, [77] nonostante le revisioni precedenti suggerivano che il loro uso potrebbe essere addirittura dannoso. Tali studi infatti dimostrano come l'uso di corticosteroidi può ridurre il rischio di morte nei casi più gravi di COVID-19. [78] In particolar modo è stato raccomandato l'uso del Desametasone a basso dosaggio per le persone che richiedono ossigeno supplementare, perché si è dimostrato capace di ridurre la mortalità nei pazienti che ricevono supporto respiratorio. [79] L'*antibioticoterapia*, sebbene riconosciuta utile solo per la prevenzione di sovrainfezioni

batteriche nelle infezioni virali respiratorie, è tutt'ora largamente impiegata e gli antibiotici più utilizzati sono i Macrolidi. Nonostante siano stati pubblicati numerosi studi randomizzati e controllati sull'utilizzo dei farmaci *antivirali*, nessuno di essi si è ancora dimostrato chiaramente efficace nel ridurre la mortalità della COVID-19. [80] Fra questi il Remdesivir è stato quello più utilizzato, avendo ricevuto nel maggio 2020 l'autorizzazione all'uso di emergenza (Emergency Use Authorization, EUA) nelle persone ricoverate in ospedale con forme gravi di COVID-19. L'autorizzazione provvisoria è stata concessa dalle autorità statunitensi considerando la mancanza di altri trattamenti specifici e sulla base di alcuni studi che dimostravano come i suoi potenziali benefici superassero i potenziali rischi. Tuttavia nel settembre 2020, a seguito di una revisione di ricerche successive, l'OMS ha raccomandato di non utilizzare Remdesivir in nessun caso di COVID-19, poiché non vi sono prove valide dei suoi benefici. [77] Ancora, nel novembre 2020, la Food and Drug Administration (FDA) ha rilasciato una nuova autorizzazione all'uso di emergenza (EUA) per l'associazione Baricitinib/Remdesivir, nel trattamento di COVID-19 sospetto o confermato in laboratorio, in persone ospedalizzate, di età pari o superiore a due anni, che richiedono ossigeno supplementare, ventilazione meccanica invasiva, o ossigenazione extracorporea a membrana (ECMO), sulla scorta di uno studio clinico randomizzato, in doppio cieco, controllato con placebo (ACTT-2), condotto dal National Institute of Allergy and Infectious Diseases (NIAID). [81] La *terapia anticoagulante* con eparina a basso peso molecolare (EBPM) sembra offrire benefici significativi nel prevenire i fenomeni tromboembolici da COVID-19 quando sono presenti segni di coagulopatia, quali le concentrazioni sieriche di D-dimero >4-6 volte i valori normali. [82]

Numerosi altri farmaci e trattamenti sono stati proposti e/o utilizzati nel tentativo di trovare una cura efficace che limitasse la rapida progressione della malattia verso le forme gravi di distress respiratorio da SARS CoV-2. Fra questi meritano una particolare menzione: l'*idrossiclorochina*, un farmaco antimalarico, che sembrava molto promettente specie all'inizio della pandemia, tanto da essere usato spesso in associazione con un Macrolide (Azitromicina o Claritromicina) anche al di fuori del contesto ospedaliero, [83] ma i cui benefici furono messi in discussione da diversi studi, [84] uno dei quali, nonostante fosse stato pubblicato su una rivista molto prestigiosa, fu ritirato a causa della dubbia validità dei dati riportati; [85] gli *immunomodulanti*, tra cui gli anticorpi monoclonali come Tocilizumab, o Bamlanivimab, Casirivimab e Imdevimab, per cui a Novembre la FDA ha rilasciato autorizzazioni all'uso temporaneo di emergenza (EUA); infine il *plasma "iperimmune"*, prelevato da pazienti in fase di convalescenza dall'infezione (e quindi contenente anticorpi specifici ad alto titolo) e somministrato ad altri pazienti affetti dalla stessa patologia infettiva per favorirne la guarigione, con non pochi problemi tecnici di ottenimento, gestione e processazione delle donazioni. Allo stato attuale gli studi clinici disponibili in letteratura, pur confermando la sicurezza della terapia con plasma, non hanno fornito risultati conclusivi rispetto alla sua efficacia. [86]

Mentre la somministrazione del plasma iperimmune determina una immunità passiva del paziente contro il patogeno ed è utilizzata per favorire la guarigione dall'infezione, la *vaccinazione* provoca invece una immunità adattativa attiva, utile nel prevenire il contagio. Numerosi sono i vaccini sviluppati dalle varie aziende farmaceutiche, ma solo alcuni di essi hanno per ora superato tutte le fasi di sperimentazione per essere

approvati e messi a disposizione dai governi alle autorità sanitarie. Tra la fine di dicembre 2020 ed i primi giorni di gennaio 2021 sono iniziate le campagne vaccinali in numerosi paesi del mondo, che procedono tutt'ora con non pochi, ma inevitabili, problemi organizzativi. Purtroppo non sono ancora disponibili dati certi sulla efficacia e sulla durata della immunità conferita dai vaccini stessi, considerata inoltre l'emergenza, registrata tra dicembre 2020 e gennaio 2021, di varianti genomiche del SARS CoV-2, specie nel Regno Unito (indicata come VOC 202012/01, anche detta "variante inglese"), in Sud Africa (indicata come 501.V2) ed in Brasile, di cui si è già accertata la maggior trasmissibilità, ma di cui non si conosce ancora bene l'aggressività ed il possibile impatto sull'efficacia della stessa vaccinazione.

La insufficienza respiratoria secondaria a sindrome da distress respiratorio acuto (ARDS) che può complicare una polmonite interstiziale va ovviamente trattata in terapia intensiva con l'utilizzo fra le altre cose della terapia di supporto con ossigeno supplementare a bassi ed alti flussi, ventilazione meccanica non invasiva (Non Invasive Mechanical Ventilation, NIMV) la intubazione oro-tracheale (IOT) per la ventilazione meccanica invasiva (IMV), fino alla ossigenazione extracorporea a membrana (ExtraCorporeal Membrane Oxygenation, ECMO). Per i pazienti con lesioni più estese e con più grave distress respiratorio, poi, si è spesso fatto ricorso alle tecniche di *prono-supinazione ciclica*, per favorire il reclutamento del maggior numero di alveoli ventilabili ed il raggiungimento, per quanto possibile, di un compenso ventiloperfusivo. [87] [88] Tale metodica ha gravato non poco sul lavoro degli operatori sanitari, perchè richiede l'esecuzione di manovre complesse, da effettuarsi con l'obbligo di indossare dispositivi

di sicurezza individuale (DPI), che non ne agevolano l'esecuzione, su pazienti, spesso obesi, che sempre più numerosi facevano ricorso a cure intensive, a fronte di un personale sanitario relativamente carente e costretto a lavorare a turni prolungati.

DIMENSIONI DEL PROBLEMA

Epidemiologia

(Fonte dei dati: Ministero della Salute).

Dall'inizio della pandemia (Dicembre 2019) ad oggi (Maggio 2021) il SARS CoV-2 ha fatto registrare oltre 160 milioni di casi confermati nel mondo (di cui quasi 4,5 milioni in Italia), e circa 3,5 milioni di decessi (di cui quasi 125 mila in Italia). Da gennaio 2021 sono state somministrate circa 1,5 miliardi di dosi di vaccino.

Solo in Italia dall'inizio dell'epidemia si è registrata una media di circa 9.800 nuovi casi su più di 150.000 tamponi processati al giorno. Si stimano medie giornaliere di circa 16.000 ricoverati (intesi come posti letto occupati) in regime di degenza ordinaria, di cui più di 2.000 in unità di terapia intensiva. In queste ultime si contano mediamente circa 250 accessi quotidiani, con tempi di degenza che spesso superano anche i 20 giorni. Inoltre si stimano medie giornaliere di circa 370.000 persone sottoposte ad isolamento fiduciario, di cui molte necessitano di assistenza domiciliare. Ogni giorno in media si assiste alla morte di circa 300 persone.

Da questi numeri si possono facilmente comprendere le conseguenze sanitarie, politiche, economiche e sociali a cui siamo stati chiamati a far

fronte, già dopo poche settimane dall'inizio della pandemia, e le ragioni per cui gli sforzi dei medici e dei ricercatori, da un lato, e dei politici ed amministratori dall'altro, si siano concentrati prevalentemente sulla ricerca affannosa di soluzioni relative alla prevenzione ed al contenimento dei contagi, alla diagnosi e la cura nelle fasi precoci di malattia ed alla riorganizzazione dell'intero Sistema Sanitario Nazionale (SSN), per adattarlo nel migliore dei modi possibili alla situazione di emergenza venutasi a creare.

Nella seconda fase della epidemia poi è emersa progressivamente ed inevitabilmente una ulteriore sfida sociosanitaria: la valutazione ed il trattamento delle sequele cliniche e funzionali della COVID-19. Infatti al crescere del numero dei pazienti convalescenti dalla malattia, è diventato sempre più urgente stabilire e comprendere le loro esigenze sanitarie, un problema anche questo di notevole impatto sulla sanità pubblica, considerato che ad oggi nel mondo si contano oltre 95 milioni di pazienti dimessi o guariti (di cui quasi 4 milioni in Italia).

“Long COVID” e “Post COVID”

La definizione di “guarigione da caso COVID-19” che fù in un primo momento ufficialmente accettata, si legge in una comunicazione emanata dal *Comitato Tecnico Scientifico (CTS) della Presidenza del Consiglio dei Ministri - Dipartimento della Protezione Civile*, in data 19 Marzo 2020 e si fondava sulle seguenti caratteristiche:

- 1) Per il paziente asintomatico, cioè portatore sano “sieropositivo” del virus, è necessaria la negatività ad un test molecolare per la ricerca di SARS CoV-2 effettuato non prima di 14 giorni (pari al

periodo d'isolamento/quarantena) dal riscontro della positività e, in caso di ulteriore positività, non prima di 7 giorni da questo.

2) Per il paziente sintomatico (che ha manifestato cioè sintomi clinici tipici della COVID-19 associati ad infezione virologicamente documentata da SARS CoV-2) è necessario soddisfare contemporaneamente i seguenti criteri:

- a) Risoluzione della sintomatologia clinica dell'infezione da COVID-19 (“paziente clinicamente guarito”, cioè divenuto asintomatico per risoluzione della sintomatologia specifica, ma che può risultare ancora positivo ai test per la ricerca di SARS CoV-2);
- b) Negatività a due test molecolari consecutivi per la ricerca di SARS CoV-2 effettuati a distanza di 24 ore l'uno dall'altro (eliminazione o “clearance” del virus, cioè scomparsa di RNA del SARS-CoV-2 rilevabile nei fluidi corporei).

Tali raccomandazioni suscitarono non pochi problemi di sorveglianza sanitaria per la mole dei tamponi molecolari da effettuare e pertanto furono rispettate con estrema difficoltà ed evidenti ripercussioni negative sulla diffusione dei contagi. Inoltre solo in un secondo momento si scoprì che molti pazienti positivi ai test e rimasti in quarantena presso il proprio domicilio, in realtà erano affetti da polmonite interstiziale paucisintomatica, successivamente ed accidentalmente documentata da esami radiografici.

A causa della notevole pressione sul Sistema Sanitario Nazionale (SSN) e le difficoltà organizzative legate all'esigenza di creare percorsi assistenziali dedicati, nel rispetto delle norme di sicurezza sulla

prevenzione della diffusione dei contagi, separati ed isolati da quelli tradizionali, sono stati istituiti dei veri e propri “Centri COVID”, spesso all’interno degli stessi presidi ospedalieri o in aree dedicate.

La necessità incessante di posti letto per far fronte alla continua domanda di ricovero in regime di degenza ordinaria ha costretto spesso i medici di questi centri alla dimissione “protetta” dei pazienti solo dopo la guarigione clinica, ossia dopo la risoluzione della sintomatologia tipica dell’infezione, senza attendere la negativizzazione dei tamponi, lasciando che questa si realizzasse in isolamento fiduciario domiciliare, spesso anche a distanza di qualche settimana. Altri pazienti invece seppur risultati negativi ai test molecolari, dopo una lunga degenza, soprattutto se trascorsa in terapia intensiva, alla dimissione manifestavano ancora grave decondizionamento fisico, marcata compromissione funzionale con ridotta tolleranza allo sforzo, sequele respiratorie con dispnea residua per sforzi lievi, grave limitazione nello svolgimento delle normali attività della vita quotidiana, deficit della deambulazione, marcata astenia, disabilità e non autosufficienza, con lenta ripresa fino ad oltre 6 mesi. Il mancato accesso da parte di questi pazienti agli istituti di riabilitazione, dovuto spesso alle misure restrittive messe in atto dalle autorità sanitarie per limitare i contagi, o addirittura alla loro conversione a “Centri COVID”, ha sicuramente contribuito ad amplificare il problema.

A partire dalla metà del 2020 numerosi autori iniziarono a pubblicare studi su quella che fu definita “*Sindrome post-acuta da COVID-19*”, o semplicemente “*Sindrome post-COVID*”. [89] Si è visto infatti che fino all’ 80% dei pazienti guariti dalla malattia, indipendentemente dalla sua gravità, continuavano a lamentare disturbi, che potevano durare per oltre

un mese e nel 20% dei casi per i successivi 3-6 mesi, [90] riducendone la qualità di vita e impattando sulle loro performance lavorative. [91] Il sintomo più frequentemente riscontrato è stato l'astenia (presente nell'80% dei pazienti), seguita dalla dispnea (65% dei casi) e dalle mialgie (5% dei casi), a cui si aggiungono in percentuali minori artralgie, dolore toracico, aritmie, anosmia, ageusia, disturbi della memoria, deficit di concentrazione, cefalea, vertigini, insonnia, ansia e depressione. [92] I pazienti affetti da questa sindrome sono stati definiti "portatori a lungo termine" ("long-haulers"). [93] Anche per altri virus era stata documentata una "sindrome post-virale" (SARS CoV-1, Orthomyxovirus, Epstein-Barr, HIV), ma con un corredo sintomatologico molto più ristretto ("sindrome da stanchezza cronica") ed una durata massima di alcune settimane. Si è osservato invece che il 3% dei guariti, specie quelli colpiti dalle forme più gravi ed in età lavorativa (in media intorno ai 45 anni), presentano dei veri e propri danni d'organo con disfunzione multisistemica e sintomi cardiorespiratori, neuromuscolari e psichiatrici, documentabili con indagini strumentali o con prove di funzionalità, che durano oltre i sei mesi e che compromettono notevolmente la loro capacità funzionale, rendendoli meritevoli di essere identificati per essere sottoposti a piani riabilitativi personalizzati presso strutture specializzate. Per questo motivo numerosi autori preferiscono definire la sindrome come "*Long COVID*", facendo riferimento all'aspetto di cronicità che assumono le manifestazioni cliniche che la caratterizzano. [94] In prima ipotesi, per spiegare il perdurare dei sintomi della COVID-19 dopo la guarigione, si è pensato ad una alterazione della disponibilità dell'ossigeno nel sangue, secondaria ad un danno permanente o di lenta risoluzione dell'interstizio polmonare, che ne ostacola la diffusione alveolo-capillare, come esito

della stessa polmonite virale acuta. Tale ipotesi non ha convinto dal momento che questo problema colpisce anche chi nel corso della malattia non ha sperimentato una significativa insufficienza respiratoria e perché, come dimostrato dal presente studio, i test di diffusione eseguiti sui pazienti post-acuti non rilevano vere e proprie alterazioni parenchimali. Un'altra ipotesi è quella del danno diretto da parte del virus agli altri organi e tessuti, ma anche questa può essere messa in discussione dal nostro studio, in cui, come vedremo, è stata arruolata una popolazione senza evidenti segni clinico-strumentali e laboratoristici di altre patologie, se non quella polmonare da SARS CoV-2.

Recentemente alcuni autori hanno altresì osservato l'insorgenza "ex novo" di sintomi da COVID-19 a distanza di settimane o mesi dalla infezione, anche in soggetti guariti da forme lievi o addirittura asintomatiche di malattia. Questa condizione ancora in fase di studio viene definita dagli stessi autori col termine "*Post COVID*", in contrapposizione al termine "Long COVID", che, come abbiamo visto, si riferisce ad un'altra condizione, di più frequente riscontro nei pazienti guariti da forme gravi di COVID-19, e caratterizzata da manifestazioni cliniche che persistono, senza soluzione di continuità con quelle della fase acuta della malattia, per lungo tempo dopo l'infezione. Si tratta prevalentemente di manifestazioni di natura cardiologica, neurologica ed internistica, che come già detto, compaiono a distanza dall'infezione, con un periodo intermedio di relativo benessere. Sembra che tali disturbi siano direttamente correlati alla risposta infiammatoria o ad una reazione immuno-mediata, come succede in alcune forme di encefalopatia demielinizzante o nella sindrome di Guillan-Barrè.

Per concludere non bisogna dimenticare che i recenti progressi scientifici e tecnologici a cui abbiamo assistito negli ultimi decenni hanno

permesso un notevole miglioramento delle cure intensive ed un significativo incremento della sopravvivenza dei pazienti con patologie critiche. Se però da un lato la conseguenza di tale progresso è stata un miglioramento della prognosi a breve termine dei pazienti in terapia intensiva, da un altro lato è emerso il problema delle conseguenze a lungo termine dei trattamenti intensivi. Si è potuto infatti osservare come molti, sopravvissuti alla terapia intensiva, sperimentino cali del proprio funzionamento fisico e cognitivo che persistono ben oltre il loro ricovero in acuto, a prescindere dalla malattia di cui sono affetti. [95] Per aumentare la consapevolezza del problema, gli autori hanno recentemente introdotto in letteratura il termine “sindrome post-terapia intensiva” (*Post-Intensive Care Syndrome, PICS*). La PICS pertanto non va confusa con il “Long COVID”, soprattutto in considerazione dell’ingente numero di pazienti COVID sopravvissuti alle terapie intensive. Essa è caratterizzata da una serie di sequele fisiche, come la cosiddetta “debolezza acquisita in terapia intensiva” (*Intensive Care Unit-Acquired Weakness, ICU-AW*), [96] sequele psichiche (ansia, depressione, disturbo da stress post-traumatico, che si manifesta con incubi e ricordi indesiderati) e sequele cognitive (deficit della memoria e della concentrazione) [97] direttamente correlate alla sedazione profonda e l’immobilizzazione prolungata. [98] Tali sequele persistono per mesi o anni dopo il trattamento intensivo e richiedono un trattamento preventivo già all’interno dell’unità di rianimazione (risveglio graduale utilizzando una lieve sedazione, svezzamento graduale dalla ventilazione meccanica e precoce deambulazione) [99] ed un successivo trattamento riabilitativo. [100]

Ricapitolando dunque bisogna tenere presente che nelle fasi post-acute di una COVID-19 si possono verificare ben 4 condizioni patologiche,

spesso difficilmente distinguibili tra loro, benchè sottese da meccanismi patogenetici differenti: la sindrome post-virale, il Long COVID (di origine ancora poco chiara), il Post COVID (dovuto ad una reazione immunomediata) e la PICS (dovuta al trattamento intensivo). [101]

RUOLO DELLA RIABILITAZIONE NELLA COVID-19

Per ovvi motivi legati alla troppo recente individuazione e diffusione del SARS CoV-2, le conseguenze a lungo termine dell'infezione da COVID-19, specialmente riguardo alle sue forme moderato-severe, sono ancora in gran parte sconosciute. Tuttavia, sulla base delle prove scientifiche attualmente disponibili, si possono fare alcune considerazioni preliminari su questo tema.

Innanzitutto i risultati di uno studio sul follow-up tomografico di pazienti sopravvissuti ad una Sindrome da Distress Respiratorio (ARDS), mostrano come a distanza di 5 anni si è assistito ad una completa risoluzione dei consolidamenti rilevati alla HRCT e solo nel 10% dei casi è stato possibile riscontrare lievi anomalie residue. [102]

Altri studi invece dimostrano che la disabilità, intesa come limitazione all'esercizio fisico, le conseguenze psicologiche, la diminuzione della qualità della vita e l'aumento dei costi e dell'uso dei servizi sanitari sono state sequele importanti a 5 anni per pazienti sopravvissuti all'ARDS, sottoposti a valutazione mediante test di funzionalità polmonare, 6MWT, ossimetria a riposo e da sforzo, imaging del torace e valutazione della qualità della vita mediante interviste in cui veniva segnalato il loro utilizzo dei servizi sanitari. [103]

Abbiamo discusso inoltre di come, a fronte di una migliorata sopravvivenza dei pazienti sottoposti a terapia intensiva, si assista all'emergenza di un nuovo problema gestionale dato dalla disabilità a cui tali pazienti, sempre più numerosi, vanno incontro. Si stima infatti che la nota sindrome post-terapia intensiva (PICS), se non curata, abbia un notevole impatto sulle spese di assistenza sanitaria, paragonabile, in termine di "costi sanitari per paziente all'anno" a quelli dei pazienti anziani con gravi malattie croniche. [103] Tale dato assume sicuramente una importanza ancor più rilevante se applicato al contesto della pandemia da COVID-19 che ha costretto decine di migliaia di persone a trattamenti intensivi. Abbiamo altresì discusso riguardo alla emergenza di una nuova entità nosologica, chiamata "Long COVID", per cui, sebbene clinicamente guariti a domicilio o dimessi da unità operative ospedaliere non necessariamente deputate ai trattamenti intensivi, alcuni pazienti, superata l'infezione da SARS CoV-2, presentino compromissione funzionale di cuore, polmone e fegato, uno stato ipoimmune e problemi psicologici, spesso di difficile definizione diagnostica e terapeutica e con conseguente incremento della domanda di assistenza sociosanitaria. [104] Ebbene sembra ragionevole pensare che gli effetti negativi del Long COVID sulla spesa sanitaria, se non curato, possano essere paragonabili, in termini di "costi sanitari per paziente all'anno", a quelli già dimostrati per la PICS, che possano sommarsi ad essi e che possano essere addirittura di proporzioni ancora maggiori considerato il numero di pazienti coinvolti. Il problema assume un ulteriore aspetto di gravità, se si tiene conto che il Long COVID colpisce preferenzialmente pazienti relativamente giovani, in età lavorativa e ciò può avere dunque ripercussioni anche sulla gestione economica del lavoro.

Nell'ottica di tali considerazioni, così come sono stati dimostrati i benefici, in termini economici e di salute pubblica, del trattamento riabilitativo nei pazienti affetti da PICS, sembra ragionevole aspettarsi benefici ancor più importanti, considerate le dimensioni del problema, dalla riabilitazione applicata al Long COVID.

Già durante il soggiorno in terapia intensiva, come abbiamo visto per la PICS, raggiunta la stabilità clinica, i pazienti affetti da COVID-19 potrebbero trarre vantaggio da un trattamento riabilitativo basato sulla mobilizzazione passiva, la stimolazione elettrica neuromuscolare, i frequenti cambi di posizione ed il raggiungimento graduale della postura antigravitaria. Vanno inoltre considerati una gestione multidisciplinare della ventilazione meccanica invasiva (IMV), onde evitare lesioni polmonari indotte dal ventilatore, ed il lento e progressivo svezzamento da essa con un graduale ritorno alla respirazione spontanea. Nella fase successiva alla dimissione, i benefici della riabilitazione polmonare specifica, in termini di recupero della funzione respiratoria, della capacità di esercizio e della qualità di vita, è stata dimostrata nei pazienti sopravvissuti alla ARDS dal virus influenzale H1N1, [105] ma il momento più adatto per svolgere una riabilitazione polmonare specifica, dopo la degenza in terapia intensiva, deve ancora essere definito per i pazienti affetti dalla COVID-19. Allo stesso modo, tenendo conto dell'ampia gamma di presentazioni cliniche, bisognerebbe prendere in considerazione differenti strategie riabilitative a seconda della gravità della malattia. Resterebbero ancora incerti i benefici di un approccio riabilitativo strutturato nei pazienti affetti da forme lievi di Long COVID, caratterizzate prevalentemente da disturbi del sonno e dell'umore. [106] Tuttavia, con lo scopo di ridurre al minimo il rischio di

contatto e contagio in questo periodo di emergenza globale, la telemedicina e teleriabilitazione potrebbero rappresentare un valido supporto per i pazienti con infezione non grave da SARS-CoV-2. In linea con questa esigenza, un recente studio condotto dal gruppo di lavoro con cui ho collaborato per la stesura della seguente tesi, svolto su pazienti giovani affetti da artrite reumatoide, dimostra come la combinazione tra la realtà virtuale e l'esercizio fisico di alcuni videogiochi commerciali (*Exergames*), possa in qualche modo aiutare a mantenere un livello adeguato di attività fisica al proprio domicilio, con costi notevolmente ridotti rispetto a quelli necessari per una riabilitazione tradizionale. [107] Al contrario, i pazienti ospedalizzati e sottoposti a ventilazione meccanica non invasiva (NIMV) prolungata, potrebbero beneficiare di trattamenti riabilitativi intensivi da effettuarsi in strutture ospedaliere specializzate, in quanto sembrano mostrare addirittura livelli di decondizionamento superiore rispetto a quelli osservati in pazienti trattati in terapia intensiva, probabilmente per aver sostenuto tempi di ventilazione più lunghi o stress respiratori maggiori.

Alla luce di quanto detto, sembra evidente come, non solo sia necessaria una valutazione scientifica adeguata, che dimostri in tempi brevi i benefici di un trattamento riabilitativo strutturato nei pazienti affetti da COVID-19, ma come sia soprattutto necessaria l'individuazione di strumenti capaci di stabilire i principali fattori responsabili delle limitazioni funzionali di ogni singolo paziente, considerata l'ampia gamma di manifestazioni cliniche possibili del Long COVID, per sottoporli poi a cicli di riabilitazione specifici e personalizzati.

UTILITA' DEL TEST DA SFORZO CARDIOPOLMONARE (CPET)

Il Test da Sforzo Cardiopolmonare (*Cardiopulmonary Exercise Test, CPET*), anche conosciuto come Ergospirometria, è una metodica relativamente non invasiva che consente di valutare le risposte integrate del sistema muscoloscheletrico, dell'apparato cardiovascolare e dell'apparato respiratorio, ad un esercizio muscolare a carico crescente.

Si tratta di un test ormai ben conosciuto, ma ancora poco diffuso, specie in Italia, dove è utilizzato soprattutto in ambito cardiologico, per misurare il consumo di ossigeno al picco dell'esercizio (*VO₂ peak*). E' stato ampiamente dimostrato infatti che tale parametro può essere utilizzato per quantificare la limitazione funzionale e definire la prognosi dei pazienti affetti da scompenso cardiaco cronico. [108]

L'utilizzo del CPET limitato alla valutazione della *VO₂ peak* ha ovviamente un rapporto costo/beneficio molto sfavorevole, pertanto a lungo andare tale metodica è stata soppiantata da strumenti surrogati, molto più pratici e meno costosi, progettati per lo stesso scopo, e che però non hanno permesso, alla comunità medica e scientifica, di valorizzare ed apprezzare l'importanza e le potenzialità di questo straordinario esame. [109] Il CPET infatti fornisce tantissime informazioni sulla performance cardiopolmonare, muscoloscheletrica e metabolica dei soggetti che si sottopongono al test, tanto da godere di innumerevoli indicazioni alla sua esecuzione e pochissime controindicazioni. [110] Esso infatti permette non solo di identificare con estrema accuratezza una limitazione funzionale del paziente, ma anche di quantificarla con precisione e di stabilirne la causa. Ci permette inoltre, nell'ambito della specifica malattia per cui il test viene indicato,

di individuare quale sia la funzione più alterata, permettendo di “mirare fisiologicamente” la terapia. Purtroppo però l’interpretazione dei parametri misurati con tale metodica non è semplice e necessita di personale specificamente addestrato.

Il CPET viene utilizzato in quanto i risultati dei test cardiaci e polmonari a riposo non predicano e non correlano con la capacità di esercizio di un individuo (Capacità funzionale, o capacità lavorativa o tolleranza allo sforzo).

Il test consiste nel sottoporre un soggetto ad uno sforzo muscolare a carico incrementale generalmente “continuo” (a “rampa”, cioè con un costante incremento del carico di lavoro nel tempo), mentre vengono misurate, respiro dopo respiro (*“breath by breath”*): le concentrazioni dei gas espirati (VO_2 e VCO_2), attraverso un analizzatore di gas; i volumi di aria mobilizzata (VE), mediante uno spirometro; la saturazione emoglobinica di ossigeno ($SatO_2$), attraverso una linea arteriosa diretta o mediante un pulsossimetro; la pressione arteriosa sistolica e diastolica (PAS e PAD), mediante uno sfigmomanometro; l’attività elettrica cardiaca, mediante un elettrocardiografo. Generalmente le misurazioni vengono effettuate a riposo, alla soglia anaerobica, all’acme dello sforzo e durante il recupero. Dalle misurazioni poi vengono derivati numerosi parametri, che vengono a loro volta confrontati con i valori teorici riportati nelle linee guida ed espressi in valore percentuale. [111] [112] Inoltre vengono derivati anche alcuni grafici, che esprimono come si modifica un dato parametro nel corso del test. [113] Questi parametri numerici e grafici, una volta interpretati correttamente da personale medico addestrato, ci consentono di studiare sotto vari aspetti le performance cardiorespiratorie, metaboliche e muscoloscheletriche dei

soggetti che si sottopongono al test, individuandone e quantificandone le eventuali limitazioni. [114] Lo sforzo può essere eseguito utilizzando un tappeto rotante (Treadmill) o un cicloergometro (Cyclette) o ultimamente anche “a corpo libero”, grazie alla recente introduzione nel mercato di dispositivi portatili. [115] Si definisce “soglia anaerobica” (*Anaerobic Threshold, AT*) il massimo livello di sforzo fisico che un organismo può sostenere utilizzando solo l’energia ricavata dal consumo di ossigeno (metabolismo aerobico), senza accumulare acido lattico attraverso la glicolisi anaerobica, oppure, si può definire anche come il livello di intensità dell’attività fisica oltre il quale il metabolismo energetico passa da una fase aerobica, cioè a prevalente consumo di ossigeno, ad una fase anaerobica, in cui il consumo di ossigeno diventa secondario. Per stabilire con precisione tale livello di intensità dello sforzo, il carico di lavoro a cui viene sottoposto il paziente deve necessariamente aumentare gradualmente e continuamente (“test a carico incrementale continuo”). Il carico di lavoro a cui viene sottoposto il paziente viene regolato dalla resistenza dei pedali nel caso della cyclette o dalla velocità di rotazione e dalla pendenza del tappeto rotante nel caso del treadmill. Bisogna tenere presente che nel passaggio ad un metabolismo di tipo anaerobico, si innesca la glicolisi e la produzione di lattati, questi ultimi vengono trasformati in anidride carbonica (CO_2), che viene a sua volta eliminata attraverso la respirazione. Pertanto in tale occasione si assiste ad un improvviso incremento della produzione di lattati e quindi di anidride carbonica (CO_2) e della ventilazione al minuto (VE). Mediante la misura diretta della lattacidemia attraverso una linea arteriosa, oppure attraverso la misura indiretta dell’anidride carbonica (CO_2) eliminata (VCO_2), attraverso l’analizzatore dei gas, è pertanto possibile individuare con precisione il momento esatto in cui si

raggiunge la massima capacità aerobica del paziente. Si è visto come il valore dell'AT correla con la capacità di esercizio del paziente ed una sua riduzione è indice di ridotta capacità aerobica, che può dipendere da un decondizionamento fisico e muscolare o da limitazioni cardiogeniche. Questa appena descritta è solo una delle tante possibilità di valutazione che il test fornisce. Infatti attraverso l'analisi integrata dei vari parametri misurati è possibile effettuare una enorme quantità di valutazioni che permettono al test un vasto campo di applicazione. Il test infatti può essere utilizzato: nella diagnosi complementare, nella valutazione prognostica e nel follow-up delle malattie cardiovascolari, [116] delle malattie respiratorie [117] e delle malattie muscolari croniche, proprio perché offre la possibilità di rivelare dettagli patologici non altrimenti valutabili con altre metodiche; nella diagnosi differenziale della dispnea da sforzo e nella identificazione della dispnea psicogena; nell'identificare in maniera obiettiva la classe funzionale dei pazienti con insufficienza cardiaca o respiratoria, senza ricorrere a metodi soggettivi (e quindi meno accurati), come per esempio la classe NYHA per i malati di cuore, necessari per la valutazione della indicazione al trapianto d'organo; [118] in ambito sportivo il test è utile per la valutazione della performance fisica e l'individuazione dei programmi di allenamento più idonei ai singoli atleti; infine nella valutazione dei pazienti da sottoporre a riabilitazione per una corretta e personalizzata prescrizione della stessa e per valutarne i benefici. Riguardo a quest'ultima purtroppo il CPET resta una metodica diffusa solo in ambiente cardiologico. Nell'ambito della riabilitazione respiratoria infatti, viene preferito il test del cammino in 6 minuti (*Six Minute Walk Test, 6MWT*), a discapito di tutta una serie di informazioni che non è in grado di fornire. Tale test infatti consiste nel far camminare il paziente per sei minuti su una superficie piana, a

prescindere da eventuali interruzioni o cambi di velocità, misurando i metri percorsi. [119] Quest'ultimi infatti correlano con la capacità funzionale del paziente. [120] Il test inoltre è basato su una modalità di esecuzione cosiddetta "self pace", il paziente sceglie cioè la sua intensità di sforzo, cosa che lo distingue da altri test massimali, venendo invitato dal personale sanitario a camminare alla velocità preferita e può effettuare soste, riprendere il cammino ed utilizzare presidi, come il bastone, se è abituato a farlo. Il test a seconda dei casi può essere eseguito sia in aria ambiente che durante ossigenoterapia (con bombola portatile). Il test è riproducibile, di facile esecuzione e di basso costo e può essere utilizzato con estrema praticità prima e dopo qualsiasi intervento terapeutico, farmacologico o riabilitativo, per valutarne l'efficacia. Per tale motivo è ampiamente diffuso in Riabilitazione.

STUDIO DI TESI SPERIMENTALE

DISEGNO DELLO STUDIO

In questo studio osservazionale prospettico monocentrico sono stati arruolati consecutivamente 38 pazienti di età maggiore di 18 anni, provenienti dal proprio domicilio o dimessi dai “Centri COVID” attivati presso la A.O.U. “Federico II” di Napoli con diagnosi di “polmonite interstiziale bilaterale SARS CoV-2 correlata”, e ricoverati presso la Macroarea Cardiorespiratoria, composta dall’U.O. di Cardiologia Riabilitativa e l’U.O. di Pneumologia Riabilitativa dell’ I.C.S. - Maugeri – I.R.C.C.S. di Telese Terme (BN), per eseguire un ciclo di riabilitazione cardiorespiratoria specifica post-acuzie secondo i protocolli istituzionali.

Tutti i pazienti hanno eseguito al momento del ricovero una valutazione clinico-strumentale e funzionale cardiorespiratoria e durante il ricovero hanno svolto un ciclo di riabilitazione specifico, al termine del quale sono stati nuovamente sottoposti a valutazione strumentale e funzionale attraverso i test di funzionalità respiratoria, il Six Minute Walking Test (6MWT) ed il test ergospirometrico (Cardiopulmonary Exercise Test - CPET), con lo scopo di quantificare il loro recupero funzionale e definire i benefici del trattamento riabilitativo. Infine i parametri funzionali misurati prima e dopo il ciclo di riabilitazione sono stati messi in relazione con i parametri clinici, laboratoristici e strumentali acquisiti all’atto del ricovero presso il centro di riabilitazione, per testare il loro possibile ruolo prognostico relativo al recupero funzionale dei suddetti pazienti.

SCOPO DELLO STUDIO

Lo studio è stato realizzato innanzitutto per tracciare un “profilo” clinico-funzionale cardiorespiratorio dei pazienti dimessi dai presidi ospedalieri per acuti con diagnosi di polmonite bilaterale da SARS CoV-2, a prescindere dalla intensità di cura ricevuta, valutarne la capacità funzionale, individuare i principali fattori responsabili delle limitazioni funzionali e della ridotta tolleranza all’esercizio fisico e successivamente valutare gli effetti benefici ottenuti da una terapia riabilitativa standardizzata e la sua efficacia nel promuovere il recupero funzionale dei pazienti con esiti cardiorespiratori di polmonite SARS CoV-2 correlata, per proporre l’utilizzo nei protocolli di trattamento del cosiddetto “Long-COVID”. Lo studio inoltre si propone di valutare eventuali correlazioni tra il valore dei parametri clinici, laboratoristici e strumentali misurati al momento del ricovero presso il centro di riabilitazione ed i risultati, in termini di miglioramento funzionale, ottenuti con la terapia riabilitativa, con lo scopo di individuare “marcatori di gravità” delle condizioni cliniche e funzionali che ci permettano di individuare a loro volta pazienti maggiormente a rischio di disabilità e che pertanto beneficerebbero di trattamenti intensificati.

MATERIALI E METODI

Popolazione in studio

In questo studio di tesi sperimentale sono stati arruolati 38 pazienti consecutivi di età >18 anni, provenienti dal proprio domicilio o dimessi dai “Centri COVID” dell’ A.O.U. “Federico” di Napoli con diagnosi di “polmonite interstiziale acuta da SARS CoV-2”, sottoposta a diversi

livelli di intensità di cura durante la fase acuta di malattia (terapia steroidea, anticoagulante, antibiotica, antivirale, immunomodulante, sostitutiva, biologica, ossigenoterapia a bassi ed alti flussi, ventilazione meccanica non invasiva, intubazione orotracheale), complicata da limitazione funzionale con ridotta tolleranza allo sforzo e limitazione nello svolgimento delle normali attività quotidiane e successivamente ricoverati presso la U.O. di Pneumologia Riabilitativa e la U.O. di Cardiologia Riabilitativa - Macroarea Cardiorespiratoria - dell' I.C.S. "Maugeri" - I.R.C.C.S. di Telese Terme (BN) nel periodo di tempo compreso tra dicembre 2020 e gennaio 2021 per eseguire un ciclo di riabilitazione cardiorespiratoria specifico.

I *criteri di inclusione* utilizzati nello studio sono stati i seguenti:

- età ≥ 18 anni;
- diagnosi di "Polmonite interstiziale SARS CoV-2 correlata".

I *criteri di esclusione* invece sono stati:

- età < 18 anni;
- storia clinica di pneumopatie e/o cardiopatie acute o croniche o comunque in atto, debilitanti o condizionanti una insufficienza d'organo o comunque una limitazione della capacità funzionale;
- storia clinica di malattie infiammatorie o immunitarie acute o croniche o comunque in atto, debilitanti o condizionanti una insufficienza d'organo o comunque una limitazione della capacità funzionale;
- storia clinica di osteoartropatie, miopatie o neuropatie acute o a carattere cronico-degenerativo o comunque in atto, debilitanti o condizionanti una insufficienza d'organo o comunque una limitazione della capacità funzionale;

- incapacità o impossibilità a svolgere i test di valutazione funzionale cardiorespiratoria (test spirometrici, 6MWT, CPET);
- mancato rilascio del consenso informato.

Ciascun paziente giunto alla nostra osservazione è stato sottoposto ad una valutazione clinica, laboratoristica e strumentale completa, sia per verificare i criteri di esclusione dal protocollo del nostro studio, sia per tracciarne un “profilo cardiorespiratorio”, mediante raccolta dei seguenti dati anagrafici, antropometrici ed anamnestici: età, sesso, peso, altezza, indice di massa corporea (*Body Mass Index, BMI*; assumendo come valori di riferimento: <18,5 per la popolazione definita “in sottopeso”, 18,5-24,9 per la popolazione “in normopeso”, 25-30 per la popolazione “in sovrappeso” e >30 per la popolazione definita “obesa”, quest’ultima divisa in 3 gradi di severità), area della superficie corporea (*Body Surface Area, BSA*), abitudine tabagica, esposizione lavorativa a polveri inerti o agenti irritanti inalanti, patologie pregresse e concomitanti che non costituiscano criteri di esclusione dallo studio (diabete mellito, ipertensione arteriosa, dislipidemia, aritmie cardiache non complicate, obesità, sindrome delle apnee del sonno), gravità ed estensione della polmonite valutata con la tomografia assiale computerizzata ad alta risoluzione (*High Resolution Computed Tomography, HRCT*) mediante “Total Severity Score” (*HRTC-TSS*), un sistema a punteggio con cui viene assegnato un valore da 0 a 4 per ognuno dei 5 lobi polmonari a seconda della percentuale di parenchima polmonare coinvolto dalle lesioni (0 punti: nessun coinvolgimento parenchimale; 1 punto: 1-25%; 2 punti: 26-50%; 3: punti 51-75%; 4 punti: >75%. Il valore finale è dato dalla somma dei singoli punteggi), assumendo come cut-off per la diagnosi di “tipo grave-critico” un punteggio pari a 7,5, [121] e terapia di

supporto respiratorio praticate durante la fase acuta (ossigenoterapia convenzionale, ossigenoterapia ad alti flussi, ventilazione meccanica non invasiva, intubazione orotracheale); mediante un esame obiettivo completo sono stati raccolti i seguenti dati: pressione arteriosa, frequenza cardiaca, frequenza respiratoria, sintomatologia soggettiva generale e specifica (dispnea, tosse, astenia, facile affaticabilità, dolore toracico), classe funzionale NYHA e WHO (I-IV), principali segni clinici (edemi declivi, epatomegalia, reflusso epato-giugulare, turgore delle giugulari, ipofonesi, iperfonesi, soffio bronchiale, ronchi, gemiti, fischi, sibili, crepitii e sfregamenti all'auscultazione toracica, soffi patologici e toni aggiunti all'auscultazione cardiaca), saturazione dell'O₂ mediante pulsossimetria; mediante prelievo venoso sono stati stimati i seguenti parametri di laboratorio: immunoglobuline sieriche anti SARS CoV-2 (*SARS CoV-2 IgM ed IgG*), Troponina I con metodica di rilevamento ultrasensibile (*TnI HS*), Mioglobina (*Mb*), Creatinafosfochinasi (*CPK*), Creatinasi isoenzima MB in concentrazione di massa (*CK-MB*), Peptide Natriuretico tipo B (*BNP*) e/o il relativo frammento N-terminale (*NT-proBNP*), D-Dimero (*DD*), Filtrato Glomerulare Stimato (*Estimated Glomerular Filtration, eGFR*) con formula CKD-EPI (*Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration*), Creatinina, Azotemia, Emoglobina (*Hb*), Emoglobina glicata (*HbA1c*), Alanino Amino Transferasi (*ALT*), Aspartato Amino Transferasi (*AST*), Gamma Glutamil Transferasi (*γ-GT*), Proteina C reattiva (*PCR*), Velocità di Eritrosedimentazione (*VES*), Procalcitonina (*PCT*), Ormone Tireostimolante (*TSH*). Ogni paziente inoltre è stato sottoposto ad una terapia medica in continuità con il trattamento svolto a domicilio o presso la struttura dimettente (corticosteroidi, antibiotici, anticoagulanti, ACE-inibitori, sartani, calcioantagonisti, betabloccanti, diuretici,

antialdosteronici, antiaritmici, antidiabetici ed antidislipidemici) e ad esami strumentali cardiologici e pneumologici: elettrocardiogramma a 12 derivazioni per la ricerca di anomalie specifiche dell'attività elettrica cardiaca (anomalie della conduzione atrio-ventricolare ed intraventricolare, della fase di ripolarizzazione, segni di ischemia/necrosi, anomalie del ritmo cardiaco, segni di ipertrofia cardiaca), elettrocardiogramma dinamico delle 24h sec. Holter (Holter ECG 24h), per la misurazione della frequenza cardiaca media giornaliera (*FC media*) e la variabilità circadiana dell'intervallo R-R (*VRR*), parametri utili nella valutazione dell'attività del sistema nervoso autonomo, monitoraggio pressorio delle 24h (Ambulatory Blood Pressure Monitoring, ABPM), con misurazioni automatiche programmate ad intervalli regolari (ogni 15 minuti durante il periodo compreso tra le ore 8 e le ore 22, ed ogni ora nel periodo compreso tra le ore 22 e le ore 8), per ottenere il valore della pressione arteriosa media, minima e massima, sistoliche e diastoliche nelle 24h, le percentuali delle misurazioni che risultano oltre i valori limite, la valutazione dell'andamento circadiano dei valori di pressione arteriosa, determinando la percentuale della fisiologica riduzione dei valori medi delle misurazioni effettuate durante il sonno rispetto a quelle diurne (fenomeno del "dipping"), parametro, anche questo, utile nella valutazione dell'attività del sistema nervoso autonomo, assumendo come profilo "dipper" una percentuale di riduzione della media dei valori pressori compresi nell'intervallo 10-20%, "non dipper" una percentuale compresa nell'intervallo 0-10%, "extreme dipper" una percentuale >20% e "reverse dipper" una percentuale negativa, cioè quando si registra un incremento (invece che un fisiologico decremento) della media dei valori pressori notturni rispetto ai diurni, EcoColorDoppler cardiaco

transtoracico (ETT), utilizzando un apparecchio ultrasonografico GE Vivid E95, con una sonda settoriale da 3,4 MHz ed utilizzando in combinazione tecniche di imaging bidimensionale standard, Color-Doppler, Doppler-pulsato, Doppler-continuo e Doppler tissutale pulsato (*Tissue Doppler Imaging*, TDI) per acquisire immagini nelle proiezioni parasternale asse lungo e asse corto, nella proiezione apicale (due-, tre-, quattro- e cinque-camere) e nella proiezione sottocostale, seguendo le indicazioni delle più recenti linee guida dell'ASE (*American Society of Echocardiography*), [122] [123] valutare e quantificare l'eventuale presenza di versamento pericardico ed ottenere le misurazioni dei principali parametri relativi alle sezioni cardiache destre (tempo di accelerazione del flusso Doppler pulsato sulla valvola polmonare, *AT*; velocità di picco sistolico a livello dell'annulus tricuspidalico misurata al doppler tissutale ad emissione pulsata, *onda S'* del ventricolo destro; escursione sistolica del piano dell'anello valvolare tricuspidalico, *TAPSE*; pressione arteriosa sistolica polmonare stimata, *PAPs* ed il loro rapporto, *TAPSE/PAPs*, che mostra una maggiore sensibilità nella valutazione della funzione sistolica del ventricolo destro, in quanto il limite principale della *TAPSE* è la sua stretta dipendenza dal sovraccarico ventricolare destro e diversi studi dimostrano come il post-carico, rappresentato dalla *PAPs*, è in grado di influenzare il valore della *TAPSE*) [124] e sinistre (Velocità di picco del flusso attraverso la valvola mitralica durante la fase di riempimento rapido del ventricolo sinistro, *onda E*, misurata utilizzando il Doppler pulsato; velocità di picco del flusso trans-mitralico durante la sistole atriale, *onda A*, misurata mediante Doppler pulsato; rapporto *E/A*; tempo di decelerazione dell'onda E, *Deceleration time*, *DT*; rapporto *E/e'*, dove *e'* indica la velocità del flusso trans-mitralico all'inizio della diastole

misurata tramite TDI al segmento basale sulla parete laterale del ventricolo sinistro e che fornisce una stima delle pressioni di riempimento del ventricolo stesso; grado di disfunzione diastolica misurato attraverso la valutazione integrata di E/A, E/e', DT; frazione di eiezione del ventricolo sinistro, *left ventricular ejection fraction, LVEF*, espresso in percentuale sfruttando il metodo Simpson biplano; velocità di picco sistolico a livello dell'annulus mitralico, studiata tramite immagini acquisite con doppler tissutale ad emissione pulsata, *onda S'* del ventricolo sinistro; strain longitudinale globale, *Global Longitudinal Strain, GLS*, inteso come media aritmetica del grado di deformazione dei segmenti miocardici durante la fase di contrazione, espresso in valore percentuale negativo, utilizzando, attraverso specifico software integrato, la tecnica della *speckle-tracking echocardiography, STE*, che permette la valutazione della funzione globale e regionale dei ventricoli e degli atri, in maniera angolo-indipendente, in quanto non utilizza la tecnica Doppler, [125] [126] e che costituisce un importante indice di funzione ventricolare sistolica globale). Dopo la valutazione iniziale ciascun paziente è stato sottoposto ad un ciclo di riabilitazione cardiorespiratoria specifica della durata di 3 settimane, con lo scopo di essere orientato ed educato alla conoscenza, al controllo ed alla eliminazione dei fattori di rischio cardiovascolari e respiratori, alla corretta alimentazione ed al monitoraggio dello stato nutrizionale, alla riduzione della percezione della dispnea, migliorando ed ottimizzando il pattern respiratorio, l'espansibilità toracica, la ventilazione alveolare e la capacità di clearance delle secrezioni bronchiali, alla ripresa del tono, della forza e del trofismo muscolare per migliorare la capacità fisica, la tolleranza all'esercizio e l'autonomia nelle attività di vita quotidiana e relazionale, con conseguente riduzione del grado di disabilità, secondo i protocolli

istituzionali, articolati ed organizzati in: sedute educazionali quotidiane individuali e/o collettive della durata di 30 minuti sulla gestione della patologia, sull'uso corretto dei farmaci, sugli aspetti nutrizionali, sulle tecniche di disostruzione bronchiale e sulla disassuefazione dall'abitudine tabagica; sedute quotidiane di rilassamento muscolare della durata di 30 minuti; sedute quotidiane di rieducazione diaframmatica respiratoria individuale e/o collettiva della durata di 30 minuti; sedute quotidiane di espirazione contro resistenza con sistemi PEEP tipo PEP Mask della durata di 30 minuti; sedute quotidiane di training muscolare per gli arti superiori con ergometro a braccia ed inferiori con treadmill, cicloergometro o motomed della durata di 30 minuti per ciascuna modalità; sedute di mobilizzazione attiva degli arti superiori ed inferiori mediante esercizi calistenici della durata di 30 minuti, per ricondizionare il paziente alla attività fisica generale e ad una ripresa della propria autonomia. Ciascun paziente infine al momento del ricovero ed al termine del ciclo riabilitativo è stato sottoposto a valutazione funzionale attraverso i seguenti test: Six Minute Walking Test (6MWT), che permette di misurare la distanza percorsa in 6 minuti camminando su una superficie piana il più velocemente possibile a prescindere da eventuali interruzioni e che rappresenta una metodica semplice per valutare il grado di limitazione funzionale di un soggetto; test di funzionalità respiratoria, attraverso un apparecchio spirometrico COSMED Quark PFT integrato con cabina pletismografica Q-Box, tra cui la spirometria semplice con valutazioni delle curve flusso-volume, prima e dopo test di broncoreversibilità, per la misurazione della capacità vitale forzata (*Forced Vital Capacity, FVC*), del volume espiratorio massimo in 1 secondo (*Forced Expiratory Volume in 1 second, FEV₁*), il loro rapporto percentuale (*Indice di Tiffeneau, FEV₁/FVC%*), utile nella

discriminazione tra deficit ostruttivo e restrittivo [127], la massima ventilazione volontaria (*Maximal Voluntary Ventilation, MVV*), che rappresenta il volume totale di aria espirato in 12 secondi con una respirazione rapida e profonda, che può essere anche stimata attraverso la formula $FEV_{1 \times 40}$ e che è utile per la determinazione della riserva respiratoria durante il test da sforzo cardiopolmonare [113], la massima pressione inspiratoria (*Maximal Inspiratory Pressure, MIP*) e la massima pressione espiratoria (*Maximal Expiratory Pressure*), utili per lo studio della funzionalità dei muscoli respiratori; [128] spirometria globale mediante tecnica pletismografica e/o diluzione dell'elio e/o washout dell'azoto, con determinazione dei principali volumi polmonari quali la capacità polmonare totale (*Total Lung Capacity, TLC*), il volume residuo (*Residual Volume, RV*) ed il rapporto percentuale tra i due (*Indice di Motley, RV/TCL%*), utile per distinguere il deficit restrittivo dal deficit ostruttivo; [129] spirometria con test di diffusione polmonare, che valuta la capacità di diffusione alveolo-capillare del monossido di carbonio (*Diffusion Lung CO, DL_{CO}*) espressa in percentuale del valore teorico ed in valore corretto per il volume alveolare (DL_{CO}/VA o K_{CO}), utile per discriminare il deficit di diffusione da sindrome restrittiva “parenchimale” da quello da sindrome restrittiva “non parenchimale” o “di parete”, [130] in cui la quantità di CO assorbita risulterà ridotta principalmente a causa di un minor volume di CO inspirato, piuttosto che dall'inabilità della CO di trasferirsi dagli alveoli ai capillari attraverso l'interstizio polmonare. Pertanto si preferisce correggere la DL_{CO} per la capacità polmonare totale, misurata contemporaneamente in occasione del test ed indicata come volume alveolare (VA), poiché misurato in seguito ad un singolo atto inspiratorio, rispetto a come si misura normalmente. Tutti i parametri spirometrici sopra indicati sono

stati espressi ed analizzati sia in valore assoluto misurato, sia in valore percentuale rispetto al rispettivo valore teorico di riferimento secondo le linee guida dell'ATS/ERS (*American Thoracic Society/European Respiratory Society*). [128]

Valutazione mediante test da sforzo cardiopolmonare (CPET)

Tutti i pazienti al momento del ricovero e prima della dimissione sono stati sottoposti ad un test da sforzo cardiopolmonare (*Cardiopulmonary Exercise Test*, CPET), utilizzando un apparecchio ergospirometrico Vyair Medical Vyntus CPX® (CareFusion Hoechberg, Germany), costituito da un trasduttore di volume digitale, in sostituzione del classico sistema a turbina o dello pneumotacografo, per la misurazione della ventilazione polmonare ed un analizzatore dei gas espirati con sistema di campionamento respiro dopo respiro (*“breath by breath”*), integrato da un dispositivo di monitoraggio ECG Vyntus bluetooth a 12 derivazioni, un sistema di calibrazione automatica volume/gas, un cicloergometro VIA sprint® 150P/200P dotato di pulsossimetro e sfigmomanometro automatici ed una piattaforma software SentrySuite® di Vyair Medical per la gestione dei dispositivi integrati, l'impostazione dei protocolli di esercizio e la misurazione, la registrazione e l'analisi dei dati. Seguendo le indicazioni delle più recenti linee guida dell'ATS/ACCP (*American Thoracic Society/American College of Chest Physicians*), [111] e dell'ERS (*European Respiratory Society*), [112] per ciascun paziente è stato utilizzato un protocollo di esercizio incrementale continuo (a rampa), cioè con costante e continuo incremento del carico di lavoro, per un totale di 10 Watt ogni minuto, previa una fase di apprendimento e riscaldamento con un carico di 10 Watt della durata di

2 minuti, mantenendo una velocità di pedalata costante, pari a 55-65 rpm, per tutta la durata dell'esercizio e fino al raggiungimento della massima tollerabilità del paziente, seguita da una fase di recupero della durata di 3 minuti con un carico di 50 Watt ed ulteriori 2 minuti di monitoraggio dei parametri a riposo.

Nell'analisi dei risultati del test sono stati presi in considerazione i principali dati numerici misurati a riposo, alla soglia anaerobica (cioè il momento in cui, durante lo sforzo incrementale, il paziente passa da un metabolismo prevalentemente di tipo aerobico, ad un metabolismo prevalentemente di tipo anaerobico) e all'acme dello sforzo, confrontati con i valori teorici di riferimento secondo le linee guida dell'ATS/ACCP (*American Thoracic Society/American College of Chest Physicians*), [111] ed espressi come percentuale del predetto. Inoltre per una corretta interpretazione dei risultati sono stati presi in considerazione ulteriori dati derivati dalle relazioni tra l'andamento di alcuni specifici parametri nel corso del test e riportati in 9 grafici fondamentali, detti "grafici di Wasserman". [113] In particolare i principali parametri ergospirometrici misurati ed analizzati sono stati: il carico di lavoro massimo raggiunto espresso in Watt (*Work*); il flusso inspiratorio (consumo) di ossigeno all'acme dell'esercizio (*VO₂ peak*), utile per la valutazione della tolleranza allo sforzo e quindi per la stima della capacità funzionale del paziente, ed espresso in ml/Kg/min per definire il grado di compromissione funzionale secondo la classificazione di Weber (per cui una $VO_{2peak} >20$ ml/Kg/min identifica una popolazione con compromissione da nulla a lieve, una $VO_{2 peak} = 16-20$ ml/Kg/min identifica una popolazione con compromissione da lieve a moderata, una $VO_{2 peak} = 11-15$ ml/Kg/min quella con compromissione da moderata a

severa ed una VO_2 peak ≤ 10 ml/Kg/min quella con compromissione severa), [108] oppure espresso in valore percentuale rispetto al valore teorico per definire il grado di compromissione funzionale secondo la classificazione di Cooper e Storer (per cui una VO_2 peak $>80\%$ identifica la popolazione normale, una VO_2 peak = 71-80% identifica la popolazione con compromissione lieve, una VO_2 peak = 51-70% identifica quella con compromissione moderata ed una VO_2 peak $\leq 50\%$ quella con compromissione severa); [114] il flusso espiratorio (produzione) di anidride carbonica (VCO_2); il quoziente respiratorio (QR), che rappresenta il rapporto tra il valore che VO_2 e VCO_2 assumono “respiro dopo respiro” durante il test (*Respiratory Exchange Ratio, RER*); la ventilazione al minuto (VE) e gli equivalenti respiratori dei gas espirati (VE/VO_2 e VE/VCO_2), che rappresentano l’aria che bisogna mobilitare rispettivamente per consumare 1 ml di ossigeno ed eliminare 1 ml di anidride carbonica. Per la valutazione della capacità aerobica e quindi di una eventuale limitazione metabolica all’esercizio fisico è stata considerato il valore del consumo di ossigeno alla soglia (*Anaerobic Threshold, AT*), espresso sia in ml/Kg/min (assumendo una $AT \geq 14$ ml/Kg/min come valori normali, una $AT = 11-13$ ml/Kg/min come intervallo di valori per definire una limitazione lieve, una $AT = 8-10$ ml/Kg/min per definire una limitazione moderata ed una $AT < 8$ per definire una limitazione severa), che in percentuale rispetto al valore del consumo di ossigeno massimo teorico (VO_2 max) di riferimento [115] e l’efficienza metabolica espressa dalla pendenza della relazione tra il consumo di ossigeno ed il carico lavorativo ($VO_2/Work$ slope). La valutazione della risposta cardiovascolare allo sforzo è stata effettuata tramite la misurazione continua della frequenza cardiaca *Heart Rate, HR*), la misurazione periodica della pressione arteriosa (*Blood Pressure,*

BP) e la misurazione “respiro dopo respiro” del polso di O₂ (*O₂Pulse*), che rappresenta il rapporto tra il flusso inspiratorio di O₂ e la frequenza cardiaca (VO_2/HR) ed esprime praticamente la quantità di ossigeno consumata da ogni battito cardiaco. La valutazione della presenza di un eventuale impegno vascolare polmonare è stata effettuata tramite la stima della efficienza ventiloperfusiva, espressa dalla pendenza della relazione tra la ventilazione al minuto e la produzione di anidride carbonica (*VE/VCO₂ slope*). La stima della ventilazione dello spazio morto (*V_d*) è stata effettuata tramite l’intercetta sull’asse delle ordinate della curva che esprime la relazione tra la ventilazione al minuto e la produzione di anidride carbonica (*VE/VCO₂ intercetta*), cioè dell’intercetta dell’andamento del rapporto VE/VCO₂ sull’asse della VE e che rappresenta il valore che assume la ventilazione (VE = aria mobilizzata in un minuto) quando la produzione di anidride carbonica (VCO₂) è pari a zero. La valutazione della risposta ventilatoria allo sforzo è stata effettuata tramite la misurazione dei seguenti parametri: frequenza respiratoria massima raggiunta durante lo sforzo (*Respiratory Rate, BF*), espressa sia in atti respiratori al minuto che in valore percentuale rispetto al teorico; volume corrente massimo raggiunto durante lo sforzo (*Maximal Tidal Volume, V_t max*); massima ventilazione durante sforzo (*VE max*), espressa sia in l/min che in percentuale rispetto al valore predetto; riserva respiratoria (*Breathing Reserve, BR*), espressa come valore percentuale e calcolata con la formula $(MVV - VE \text{ max}) / MVV \times 100$ (dove MVV è la massima ventilazione volontaria misurata con la spirometria e VE max è la massima ventilazione al minuto misurata durante il test cardiopolmonare) oppure stimata con la formula $(VE \text{ max predetta} - VE \text{ max misurata}) / VE \text{ max predetta} \times 100$ (dove VE max predetta = FEV₁ ×

40), quando il paziente non era in grado di eseguire una massima ventilazione volontaria alla spirometria; minima e massima percentuale di emoglobina satura di ossigeno misurate al pulsossimetro (SpO_2). La valutazione degli scambi gassosi e del rapporto ventilazione/perfusione (V/Q) durante lo sforzo è stata eseguita attraverso la misurazione dei seguenti parametri: pressione telespiratoria dell'ossigeno ($PETO_2$); pressione telespiratoria dell'anidride carbonica ($PETCO_2$); variazione del rapporto V_d/V_t durante sforzo ($\Delta V_d/V_t$), cioè la differenza tra il rapporto V_d/V_t misurato a riposo e quello misurato all'acme dello sforzo, rapporto che normalmente si dimezza all'acme dello sforzo, perché durante lo sforzo la profondità del respiro (V_t) aumenta più rapidamente rispetto alla ventilazione dello spazio morto (V_d). Per la valutazione dell'attività del sistema nervoso autonomo parasimpatico al termine dello sforzo fisico è stata calcolata la differenza tra la frequenza cardiaca rilevata all'acme dell'esercizio e quella rilevata al primo (*Hearth Rate Recovery 1*, HRR_1) e terzo minuto di recupero (*Hearth Rate Recovery 3*, HRR_3). Al termine del test ad ogni paziente è stato chiesto il grado di percezione della dispnea e dello sforzo secondo le Scale di BORG per la dispnea (*BORG D*, 0-10) e per lo sforzo (*BORG S*, 0-10).

Per la determinazione della soglia anaerobica sono stati utilizzati in combinazione il metodo della V-Slope (che identifica la soglia nel punto in cui si modifica la pendenza della relazione tra i valori di VO_2 e VCO_2 durante il test), il metodo degli equivalenti respiratori (che identifica la soglia nel punto di incremento dell'andamento di VE/VO_2 rispetto all'andamento di VE/VCO_2 durante il test), il metodo delle pressioni di fine espirazione (che identifica la soglia nel punto di incremento dell'andamento della $PETO_2$ rispetto all'andamento della $PETCO_2$

durante il test) in accordo con le indicazioni di Wasserman [113] ed il metodo di Weber secondo cui la soglia anaerobica (AT) corrisponde al punto in cui il quoziente respiratorio (*Respiratory Exchange Ratio, RER*), assume valore pari ad 1 nella relazione tra l'andamento della VO₂ e della VCO₂ rispetto al tempo di esercizio. [130] Infine per definire la massimalità del test sono stati assunti 5 criteri, con la necessità di soddisfarne almeno uno: il raggiungimento di un valore del RER $\geq 1,1$; il raggiungimento di una frequenza cardiaca $\geq 85\%$ della frequenza cardiaca massima teorica per l'età (*FCMT*, calcolata con la formula 220bpm-età); il raggiungimento del massimo carico di lavoro predetto (Watt) secondo il metodo di Buhlmann; il raggiungimento del 100% della VO₂ peak predetta, cioè della VO₂max, che corrisponde al raggiungimento di un *plateau* della curva che rappresenta l'incremento della VO₂ peak rispetto al tempo (t) e/o al carico di lavoro (Watt); il raggiungimento di una ventilazione minuto pari o superiore alla massima ventilazione volontaria ($VE \geq MVV$).

Analisi statistica

Tutti i dati a nostra disposizione sono stati archiviati utilizzando un software di calcolo ed analisi Microsoft Excel[®] e sottoposti ad analisi statistica mediante un software dedicato IBM SPSS[®].

Le variabili continue sono state espresse come media \pm DS o come mediana (range interquartile, IQR) e confrontate usando il *test t Student* a due code per campioni indipendenti per le variabili distribuite normalmente. Per il confronto tra variabili continue non distribuite normalmente invece è stato usato il *test U di Mann-Whitney* per

campioni indipendenti ed il *test di Wilcoxon* per campioni non indipendenti, così come il *test di Kolmogorov-Smirnov (test K-S)* a due code per campioni di piccole dimensioni non indipendenti. Le variabili discrete e dicotomiche sono state espresse come frequenze in valore assoluto e in percentuale e confrontate usando il *test χ^2* .

E' stato assunto come significatività statistica un valore di $p < 0,05$.

RISULTATI

POPOLAZIONE IN STUDIO

Da dicembre 2020 a gennaio 2021 sono stati arruolati 38 pazienti consecutivi di età ≥ 18 anni, di cui 4 (che rappresentano il 10,5% della popolazione in studio) provenienti dal proprio domicilio e 34 (l'89,5% della popolazione) dimessi dai "Centri COVID" dell'A.O.U. "Federico" di Napoli. Tutti i pazienti avevano una diagnosi di "polmonite interstiziale acuta da SARS CoV-2, complicata da limitazione funzionale con ridotta tolleranza allo sforzo e limitazione nello svolgimento delle normali attività quotidiane", con indicazione ad eseguire un ciclo di riabilitazione cardiorespiratoria, e pertanto sono stati ricoverati presso la U.O. di Pneumologia Riabilitativa e la U.O. di Cardiologia Riabilitativa - Macroarea Cardiorespiratoria - dell'I.C.S. "Maugeri" - I.R.C.C.S. di Telese Terme (BN). Durante la degenza nell'istituto di riabilitazione 6 pazienti (il 15,8% della popolazione in studio) sono stati persi al follow-up, hanno eseguito cioè tutti i test iniziali, ma non hanno completato il ciclo di riabilitazione e quindi lo studio per cui erano stati arruolati, non avendo eseguito cioè i test di rivalutazione funzionale al termine del ciclo riabilitativo. Di essi è stato comunque possibile tracciare il "profilo cardiorespiratorio", che è comunque uno degli scopi fondamentali del presente studio.

Tutti i risultati inseriti nelle tabelle e descritti nel presente capitolo, sono riportati come valore medio assunto nella popolazione \pm DS e/o come percentuale media nella popolazione \pm DS rispetto al valore predetto, se riferiti alla misura di uno specifico parametro, o, dove espressamente specificato, come mediana (range interquartile, IQR). Sono invece

riportati in valore assoluto (n) e relativa percentuale rispetto alla popolazione in studio, i risultati riferiti a dati epidemiologici.

Come mostrato nella **Tabella 1**, che ne riassume le principali caratteristiche anagrafiche, antropometriche e cliniche di base, la popolazione in studio era composta da 3 Femmine (7,9%) e 35 maschi (92,1%), di età compresa tra 33 ed 80 anni e con un'età media di 55 ± 11 anni. 16 pazienti (42,1% della popolazione) erano in sovrappeso e 12 (31,6% della popolazione) risultavano obesi, con un BMI medio di $28,8 \pm 4,8$ Kg/m² ed una BSA media di $2 \pm 0,2$ m². Dei pazienti in studio, 17 (44,7% della popolazione) avevano storia di tabagismo e di questi solo 1 (2,6% della popolazione) era ancora fumatore al momento dell'arruolamento, mentre 21 (55,3% della popolazione) non avevano mai fumato e nessuno aveva storia di esposizione professionale a polveri sottili. Molti dei pazienti oggetto di studio presentavano uno o più fattori di rischio cardiovascolare e/o comorbidità, di questi infatti il 10,5% (4 pazienti) era affetto da diabete mellito, il 50% (19 pazienti) da ipertensione arteriosa, il 10,5% (4 pazienti) da dislipidemia, il 31,6% (12 pazienti) da obesità ed il 7,9% (3 pazienti) da sindrome delle apnee del sonno. Durante la degenza presso la struttura per acuti solo 1 paziente (2,6% della popolazione in studio) era stato ricoverato in unità di terapia intensiva con necessità di intubazione orotracheale (IOT), 9 pazienti (23,7% della popolazione in studio) erano stati sottoposti alla sola ossigenoterapia in reparto di degenza ordinaria, mentre 23 pazienti (60,5% della popolazione in studio) erano stati sottoposti ad ossigenoterapia dopo svezzamento dalle altre modalità di supporto ventilatorio in unità di terapia subintensiva, tra cui la ventilazione meccanica non invasiva (*Non Invasive Mechanical Ventilation, NIMV*) e

l'ossigenoterapia con cannule nasali ad alto flusso (*High Flow Nasal Cannula, HFNC*) e 4 pazienti (10,5% della popolazione) invece erano

Tabella 1. Descrizione delle caratteristiche anagrafiche, antropometriche e cliniche della popolazione al momento dell'arruolamento.

	Tutti i pazienti (n=38)
Femmine, n (%)	3 (7,9)
Maschi, n (%)	35 (92,1)
Età, anni	55 ± 11
BMI, kg/m²	28,8 ± 4,8
BSA, m²	2 ± 0,2
Fumatori, n (%)	1 (2,6)
Ex fumatori, n (%)	16 (42,1)
Esposizione professionale, n (%)	0 (0)
Diabete, n (%)	4 (10,5)
Ipertensione arteriosa, n (%)	19 (50)
Dislipidemie, n (%)	4 (10,5)
Obesità, n (%)	12 (31,6)
Sindromi delle apnee del sonno, n (%)	3 (7,9)
HRCT TSS, 0-20	12 (7,75-14)*
O₂ terapia, n (%)	32 (84,2)
NIMV/HFNC, n (%)	23 (60,5)
IOT, n (%)	1 (2,6)
Trattati a domicilio, n (%)	4 (10,5)
Ospedalizzati in “Centri COVID”, n (%)	34 (89,5)

Elenco delle abbreviazioni: *BMI* = Body Mass Index; *BSA* = Body Surface Area; *HRCT TSS* = High Resolution Computed Tomography Total Severity Score; *NIMV* = Non Invasive Mechanical Ventilation; *HFNC* = High Flow Nasal Cannula; *IOT* = Intubazione Orotracheale; *= mediana (IQR).

stati sottoposti a trattamento conservativo presso il proprio domicilio. A tutti i pazienti durante la fase acuta era stato eseguito un esame radiografico mediante Tomografia Computerizzata ad Alta Risoluzione (HRCT), la cui mediana dei punteggi di gravità (*Total Severity Score, HRCT TSS*) ricavati era 12 (IQR 7,75-14), con un punteggio minimo registrato pari a 5 ed un punteggio massimo pari a 18 e con 29 pazienti (pari al 76,3% della popolazione in studio) che hanno fatto registrare un punteggio superiore a 7,5 (cut-off assunto per la diagnosi di “tipo grave-critico”).

Ciascun paziente durante il ciclo di riabilitazione è stato sottoposto a trattamento medico continuativo rispetto a quello svolto a domicilio o presso la struttura dimettente per acuti e la **Tabella 2** ne riassume le principali caratteristiche. 16 pazienti (42,1% della popolazione in studio) hanno proseguito l' O_2 *terapia* con una frazione inspiratoria (FiO_2) media del 28 ± 4 % (v.n. = 21%) e con un progressivo svezzamento avvenuto durante la degenza, 26 pazienti (68,4% della popolazione in studio) hanno continuato ad assumere corticosteroidi (CCS) e 24 pazienti (63,1% della popolazione in studio) Eparine a Basso Peso Molecolare (EBPM), mentre 8 pazienti (21,1% della popolazione in studio) hanno dovuto continuare ad assumere *antibiotici* durante il ciclo riabilitativo. Inoltre tutti i pazienti hanno continuato ad assumere la propria terapia domiciliare e pertanto 7 pazienti (18,4% della popolazione in studio) assumevano inibitori dell'Enzima di Conversione dell'Angiotensina (ACEi), 7 pazienti (18,4% della popolazione in studio) assumevano Sartani (Bloccanti del Recettore dell'Angiotensina II, ARB), 5 pazienti (13,2% della popolazione in studio) assumevano Calcio Antagonisti (Ca^{++} -Antagonisti), 6 pazienti (15,8% della popolazione in studio)

assumevano Bloccanti dei recettori β -Adrenergici (β -Bloccanti), 1 paziente (2,6% della popolazione in studio) assumeva *antiaritmici*, 6 pazienti (15,8% della popolazione in studio) assumevano *diuretici* e 4 pazienti (10,5% della popolazione in studio) assumevano *Statine*.

Tabella 2. Descrizione delle principali terapie sottoposte alla popolazione in studio durante la degenza presso la struttura di riabilitazione.

	Tutti i pazienti (n=38)
O₂ terapia, n (%)	16 (42)
FiO₂, %	28 \pm 4
CCS, n (%)	26 (68,4)
EBPM, n (%)	24 (63,1)
Antibiotici, n (%)	8 (21)
ACEi, n (%)	7 (18,4)
ARB, n (%)	7 (18,4)
Ca⁺⁺ Antagonisti, n (%)	5 (13,2)
β-Bloccanti, n (%)	6 (15,8)
Antiaritmici, n (%)	1 (2,6)
Diuretici, n (%)	6 (15,8)
Statine, n (%)	4 (10,5)

Elenco delle abbreviazioni: *FiO₂*= Frazione inspiratoria dell'O₂; *CCS*= Corticosteroidi; *EBPM*= Eparine a Basso Peso Molecolare; *ACEi*= Inibitori dell'Enzima di Conversione dell'Angiotensina; *ARB*= Angiotensin II Receptor Blockers.

Tra i parametri di laboratorio principalmente indagati e riportati in **Tabella 3** sono stati riscontrati: valori medi di *IgG anti SARS CoV-2* pari a 6,7 \pm 1,7 S/CO (v.n. <1,4 S/CO), con una immunizzazione completa registrata in tutta la popolazione oggetto di studio; una risposta anticorpale *IgM anti SARS CoV-2* pari a 20,9 \pm 16,8 S/CO (v.n. <1 S/CO), con soli 2 pazienti (5,3% della popolazione in studio) che hanno

Tabella 3. Descrizione dei principali parametri di laboratorio rilevati nella popolazione esaminata al momento dell'arruolamento nello studio.

	Tutti i pazienti (n=38)
SARS CoV-2 IgM, S/CO	20,9 ± 16,8
SARS CoV-2 IgG, S/CO	6,7 ± 1,7
Tn I HS, pg/ml	4 ± 2,6
Mb, mcg/l	40 ± 18,6
CK-MB, ng/ml/l	0,8 ± 0,5
CPK, U/l	32 ± 18,8
D-dimero, ng/ml	426 ± 293
BNP, pg/ml	20,5 ± 17
Hb, g/dl	13 ± 1,5
HbA1c, mmol/mol	39 ± 9,1
Urea, mg/dl	36 ± 11
Creatinina, mg/dl	0,83 ± 0,14
GFR, ml/min/1,73m²	98,7 ± 14,9
AST, U/l	26 ± 15,2
ALT, U/l	57 ± 29,8
γ-GT, U/l	45 ± 23,7
VES, mm	16 ± 6
PCR, mg/l	6,2 ± 4,5
ProCalcitonina, ng/ml	0,06 ± 0,04
TSH, mcUI/ml	0,89 ± 0,52

Elenco delle abbreviazioni: *SARS CoV-2*= Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2; *IgM*= Immunoglobuline M; *IgG*=Immunoglobuline G; *S/CO*= Segnale/Cut off; *Tn I HS*= Troponina isoenzima I High Sensitivity; *Mb*= Mioglobina; *CK-MB*= Creatina chinasi isoenzima MB; *CPK*= Creatina fosfochinasi; *BNP*= Brain Natriuretic Peptide; *Hb*= Emoglobina; *HbA1c*= Emoglobina glicosilata; *GFR*= Glomerular Filtration Ratio; *AST*= Aspartato Aminotransferasi; *ALT*= Alanino Aminotransferasi; *γ-GT*= γ-Glutamil Transpeptidasi; *VES*= Velocità di Eritrosedimentazione; *PCR*= Proteina C reattiva; *TSH*= Thyroid Stimulating Hormone.

mostrato valori nella norma, indicativa di una completa “sieroconversione”; valori di *Troponina I HS* pari a $4 \pm 2,6$ pg/ml (v.n. 28,9-39,2 pg/ml), risultata nella norma in tutti i pazienti studiati; valori medi di *Mioglobina* pari a $40 \pm 18,6$ mcg/l (v.n. 10-46 mcg/l), risultata al di sopra della norma in 6 pazienti (15,8% della popolazione studiata); valori di *CK-MB* in concentrazione di massa pari a $0,8 \pm 0,5$ ng/ml/l (v.n. 0,3-5,1 ng/ml/l), risultata nei limiti della norma in tutti i pazienti studiati; valori di *CPK* pari a $32 \pm 18,8$ U/l (v.n. 30-200 U/l), risultata normale in tutta la popolazione studiata; valori di *D-dimero* pari a 426 ± 293 ng/ml (v.n. <500ng/ml), risultato elevato in 7 pazienti (18,4% della popolazione in studio); valori di *BNP* pari a $20,5 \pm 17$ pg/ml (v.n. 0-100 pg/ml), nella norma in tutti i pazienti studiati; valori di *Emoglobina* pari a $13 \pm 1,5$ g/dl (v.n. 14-18 g/dl), risultata al di sotto del limite inferiore di riferimento in 26 pazienti (68,4% della popolazione in studio); valori di *HbA1c* pari a $39 \pm 9,1$ mmol/mol (v.n. 20-42 mmol/mol), elevata in 8 pazienti (21% della popolazione studiata); valori di *Urea* pari a 36 ± 11 mg/dl (v.n. 18-55 mg/dl), al di sopra del range di normalità in 2 pazienti (5,3% della popolazione di riferimento); valori di *Creatinina* pari a $0,83 \pm 0,14$ mg/dl (v.n. 0,72-1,25 m/dl), risultata nella norma in tutta la popolazione studiata; valori di *Filtrato Glomerulare* pari a $98,7 \pm 14,9$ ml/min/1,73m² (v.n. ≥ 120 ml/min/1,73m²), in nessun paziente <60 ml/min/1,73m² (indice di significativa malattia renale cronica); valori di *AST* pari a $26 \pm 15,2$ U/l (v.n. 5-34 U/l), al di sopra della norma in 5 pazienti (13,2% della popolazione in studio); valori di *ALT* pari a $57 \pm 29,8$ U/l (v.n. 2-55 U/l), risultato elevato in 19 pazienti (50% della popolazione in studio); valori di *γ -GT* pari a $45 \pm 23,7$ U/l (v.n. 11-59 U/l), risultati al di sopra della norma in 8 pazienti (21,1% della popolazione studiata); valori di *VES* pari a 16 ± 6 mm (v.n. <15 mm),

elevati in 8 pazienti (21,1% della popolazione oggetto di studio); valori di *PCR* pari a $6,2 \pm 4,5$ mg/l (v.n. 0,10-5 mg/l), elevati in 11 pazienti (28,9% della popolazione studiata); valori di *Procalcitonina* pari a $0,06 \pm 0,04$ ng/ml (v.n. 0-0,5 ng/ml), al di sopra della norma in 6 pazienti (15,8% della popolazione in studio); TSH pari a $0,89 \pm 0,52$ mcUI/ml (v.n. 0,350-4,940 mcUI/ml), in 1 caso (2,6% della popolazione studiata) al di sotto dei valori di riferimento.

La **Tabella 4** mostra il risultato delle principali misurazioni dei test cardiovascolari. All'ECG dinamico sec. Holter la frequenza cardiaca media (*FC media*) nelle 24h è stata di $77 \pm 10,5$ bpm (v.n. 60-100 bpm), mentre la variabilità media dell'intervallo R-R (*VRR*) è stata di $798 \pm 110,6$ ms. Al Monitoraggio Ambulatoriale della Pressione Arteriosa (ABPM) la pressione arteriosa sistolica media nelle 24h (*PAS media 24h*) è stata di $122 \pm 12,7$ mmHg (v.n. ≤ 130 mmHg), con una percentuale di dipping notturno medio (*PAS Dipping*) pari a $7 \pm 8,8$ %, mentre la diastolica media (*PAD media 24h*) è stata di $80 \pm 6,2$ mmHg (v.n. ≤ 80 mg), con una percentuale di dipping notturno medio (*PAD Dipping*) pari a $10 \pm 8,6$ %. Riguardo il ritmo circadiano della Pressione Arteriosa Sistolica (PAS), 13 pazienti (34,2% della popolazione in studio) hanno mostrato un normale profilo “dipper” (valori di dipping compresi nell'intervallo 10-20%), 12 pazienti (31,6% della popolazione in studio) hanno mostrato un profilo “non dipper” (valori di dipping compresi nell'intervallo 0-10%), 1 paziente (2,6% della popolazione in studio) ha mostrato un profilo “extreme dipper” (valori di dipping $>20\%$) e 12 pazienti (31,6% della popolazione) hanno mostrato un profilo “reverse dipper” (valori percentuali negativi). Riguardo alla Pressione Arteriosa

Tabella 4. Descrizione dei principali parametri misurati ai test cardiovascolari e rilevati nella popolazione esaminata

	Tutti i pazienti (n=38)
ECG DINAMICO 24h SEC. HOLTER	
FC media nelle 24h, bpm	77 ± 10,5
VRR, ms	798 ± 110,6
ABPM	
PAS media nelle 24h, mmHg	122 ± 12,7
PAD media nelle 24h, mmHg	80 ± 6,2
PAS Dipping, %	7 ± 8,8
PAD Dipping, %	10 ± 8,6
ECOCOLORDOPPLER CARDIACO	
AT, ms	110 ± 11,4
RV S', cm/s	15 ± 2,4
TAPSE, mm	24 ± 3,3
PAPs, mmHg	27 ± 5,7
TAPSE/PAPs, mm/mmHg	0,9 ± 0,19
E/A	0,9 ± 0,2
DT, ms	189 ± 51,1
E/e'	5 ± 1,2
LV S', cm/s	12 ± 2,3
LV EF, %	58 ± 4
GLS, %	-17,5 ± 2,4

Elenco delle abbreviazioni: *ECG*= Elettrocardiogramma; *FC*= Frequenza Cardiaca; *VRR*= Variabilità dell'intervallo R-R; *ABPM*= Ambulatory Blood Pressure Monitoring; *PAS*= Pressione Arteriosa Sistolica; *PAD*= Pressione Arteriosa Diastolica; *AT*= Acceleration Time; *RV S'*= Right Ventricular S' wave; *TAPSE*= Tricuspid Annular Plane Systolic Excursion; *PAPs*= Pressione Arteriosa Sistolica stimata; *E/A*= rapporto tra onda E ed onda A al doppler pulsato sulla mitrale; *DT*= Deceleration Time; *LV S'*= Left Ventricular S' wave; *LV EF*= Left Ventricular Ejection Fraction; *GLS*= Global Longitudinal Strain.

Diastolica (PAD), 14 pazienti (36,8% della popolazione in studio) hanno mostrato un normale profilo “dipper”, 13 pazienti (34,2% della popolazione in studio) hanno mostrato un profilo “non dipper”, 5 pazienti (13,2% della popolazione in studio) hanno mostrato un profilo “extreme dipper” e 6 pazienti (15,8% della popolazione in studio) hanno mostrato un profilo “reverse dipper”. All’ecocolorDoppler cardiaco: 5 pazienti (13,2% della popolazione in studio) hanno mostrato un versamento pericardico non emodinamicamente significativo; il tempo di accelerazione del flusso al doppler pulsato sulla valvola polmonare (AT) è risultato al di sotto della norma in 6 pazienti (15,8% della popolazione oggetto di studio), con un valore medio di $110 \pm 11,4$ ms (v.n. ≥ 105 ms); l’onda S’ (RV S’) misurata sulla parete libera del ventricolo destro al doppler tissutale (TDI) è risultata nella norma in tutti i pazienti studiati, facendo registrare un valore medio di $15 \pm 2,4$ cm/s (v.n. $\geq 9,5$ cm/s); la media delle escursioni sistoliche del piano dell’anello tricuspidalico (TAPSE) è stato di $24 \pm 3,3$ mm (v.n. ≥ 17 mm), risultando nella norma in tutti i pazienti arruolati; la media delle Pressioni Arteriose Sistoliche Polmonari stimate (PAPs) è stata di $27 \pm 5,7$ mmHg (v.n. ≤ 35 mmHg), risultando al di sopra della norma in 1 solo paziente (2,6% della popolazione in studio); il valore medio della TAPSE corretta per la PAPs (TAPSE/PAPs) è stato di $0,9 \pm 0,19$ mm/mmHg (v.n. $\geq 0,35$ mm/mmHg), risultando nella norma in tutti i pazienti studiati. Per quanto riguarda la funzione diastolica delle sezioni sinistre l’onda E del flusso transmitralico misurata al doppler pulsato (PW) sulla valvola mitrale ha assunto valori medi pari a $57 \pm 13,7$ cm, con un tempo di decelerazione medio (Deceleration Time, DT) di $189 \pm 51,1$ ms (v.n. 150-200 ms), in 11 casi (28,9% della popolazione studiata) superiore alla norma, mentre l’onda A media è stata di $64 \pm 11,7$ cm/s ed il rapporto tra le due (E/A)

ha assunto valori medi pari a $0,9 \pm 0,2$, in 24 casi (63,2% della popolazione studiata) compatibile con una disfunzione diastolica di I grado ($E/A < 1$). Al doppler tissutale (TDI) è stata misurata l'onda e' sulla parete libera del ventricolo sinistro di tutti i pazienti e poi rapportata all'onda E (E/e') misurata al doppler pulsato, e tale rapporto ha assunto un valore medio nella popolazione di $5 \pm 1,2$ (v.n. < 8), in nessun caso compatibile con segni di incrementate pressioni di riempimento. Per quanto riguarda invece la funzione sistolica delle sezioni sinistre, risultata nella norma in tutti i pazienti arruolati, la frazione di eiezione media ($LV EF$) è risultata di $58 \pm 4 \%$ (v.n. $\geq 52 \%$), mentre l'onda S' misurata sulla parete libera del ventricolo sinistro col doppler tissutale (TDI) ha assunto un valore medio nella popolazione pari a $12 \pm 2,3$ cm/s. Con la tecnica ecocardiografica dello speckle-tracking (speckle-tracking echocardiography, STE), abbiamo misurato lo strain longitudinale globale (*Global Longitudinal Strain*, GLS), che costituisce un importante indice di funzione ventricolare sistolica globale e che nella popolazione in studio ha assunto un valore medio di $-17,5 \pm 2,4 \%$ (v.n. $< 18 \%$), al di fuori del range di normalità in 22 casi (57,9% della popolazione studiata).

Tutti i pazienti all'ingresso dell'istituto di riabilitazione hanno svolto i test di funzionalità respiratoria, ma di questi solo 33 (corrispondenti all'86,4% della popolazione arruolata) hanno ripetuto i test alla dimissione, mentre 5 (corrispondenti al 13,2% della popolazione arruolata) hanno interrotto precocemente la riabilitazione e sono stati persi al follow-up. Ai test d'ingresso un solo paziente (2,6% della popolazione studiata) presentava un profilo spirometrico di base compatibile con una sindrome disventilatoria ostruttiva di grado lieve (GOLD 1), avendo fatto

registrare una FEV_1 post-broncodilatatore pari al 62% della FVC misurata (FEV_1/FVC o Indice di Tiffeneau, v.n. $\geq 0,70$) e pari all' 82% del valore teorico (assumendo come "ostruzione lieve" o GOLD 1 valori di $FEV_1 \geq 80\%$ del teorico, "ostruzione moderata" o GOLD 2 valori di FEV_1 pari al 50-79% del teorico, "ostruzione grave" o GOLD 3 valori di FEV_1 pari al 30-49% del teorico, "ostruzione molto grave" o GOLD 4 valori di $FEV_1 < 30\%$ del teorico, previo un valore di $FEV_1/FVC < 0,70$), [131] in tutti gli altri pazienti invece sono stati riscontrati valori pressochè normali o compatibili con una sindrome disventilatoria restrittiva, sia al test d'ingresso, sia al test di controllo successivo alla riabilitazione, senza miglioramenti significativi tra le due prove, come mostrato nella **Tabella 5**. In particolare il valore medio del volume espiratorio forzato in 1 secondo (FEV_1) è stato di $2,78 \pm 0,79$ litri all'ingresso e $3,05 \pm 0,74$ litri alla dimissione, corrispondenti rispettivamente all' $82 \pm 20,2$ % del teorico all'ingresso ed all' 88 ± 16 % alla dimissione (v.n. ≥ 80 % del teorico), la capacità vitale forzata media (FVC) è stata di $3,41 \pm 1,03$ litri all'ingresso e $3,73 \pm 0,93$ litri alla dimissione, che corrispondono rispettivamente all' $80 \pm 20,7$ % del teorico all'ingresso ed all' $86 \pm 16,4$ % alla dimissione (v.n. ≥ 80 % del teorico), l'*indice di Tiffeneau* (FEV_1/FVC) medio è stato dell' $82 \pm 6,9$ % all'ingresso e dell' $86 \pm 16,4$ % alla dimissione (v.n. ≥ 70 %). La sindrome restrittiva poi, là dove sospettata alla spirometria con curva flusso-volume, è stata confermata alla pletismografia per lo studio dei volumi polmonari in 31 pazienti (corrispondenti all'81,6% della popolazione oggetto di studio), che hanno inoltre mostrato significativi miglioramenti all' esame di controllo successivo alla riabilitazione ed eseguito alla dimissione, rispetto all'esame d'ingresso. In particolare la capacità totale polmonare (TLC) ha assunto un valore medio nella

Tabella 5. Correlazione tra i principali parametri spirometrici (espressi in valore assoluto ed in percentuale rispetto al predetto) rilevati nella popolazione esaminata prima e dopo il ciclo di riabilitazione cardiorespiratoria e loro significatività statistica.

	N° pazienti pre (=38)	N° pazienti post (=33)	p value
FEV₁, l (%pre)	2,78 ± 0,79 82 ± 20,2	3,05 ± 0,74 88 ± 16	NS NS
FVC, l (%pre)	3,41 ± 1,03 80 ± 20,7	3,73 ± 0,93 86 ± 16,4	NS NS
FEV₁/FVC, %	82 ± 6,9	82 ± 5,8	NS
TLC, l (%pre)	4,57 ± 1,42 67 ± 18,2	5,76 ± 1,04 81 ± 14,4	0,042 0,066
RV, l (%pre)	1,12 ± 0,69 49 ± 28,5	1,73 ± 0,62 76 ± 28,9	0,035 0,030
RV/TLC, %	25 ± 11,8	28 ± 6,4	NS
DL_{co}, * (%pre)	19,1 ± 5,5 66 ± 18	21,4 ± 6,6 72 ± 18,8	NS NS
DL_{co}/VA, # (%pre)	3,89 ± 0,71 91 ± 14,7	3,98 ± 0,59 93 ± 13,1	NS NS
MIP, cmH₂O (%pre)	93 ± 23,6 84 ± 20,2	92 ± 19,9 82 ± 14,6	NS NS
MEP, cmH₂O (%pre)	112 ± 24,5 54 ± 12,1	110 ± 26,6 52 ± 11,6	NS NS
MVV, l/min	131 ± 34,9	140 ± 35,4	NS

Elenco delle abbreviazioni: l= litri; FEV₁= Forced Expiratory Volume in 1 second; FVC= Forced Vital Capacity; FEV₁/FVC= Indice di Tiffeneau; TLC= Total Lung Capacity; RV= Residual Volume; RV/TLC= indice di Motley; DL_{co}= Diffusion Lung CO; *= ml/mmHg/min; VA= Volume alveolare; #= ml/mmHg/min/l; MIP= Maximal Inspiratory Pressure; MEP= Maximal Expiratory Pressure; MVV= Massima Ventilazione Volontaria; NS= Non significativa.

popolazione pari a 4,57 ± 1,42 litri all'ingresso e 5,76 ± 1,04 litri alla dimissione, corrispondenti rispettivamente all' 67 ± 18,2 % all' ingresso ed all' 81 ± 14,4 % alla dimissione (v.n. 80-120% del teorico), mentre il volume residuo (RV) medio all'ingresso è stato di 1,12 ± 0,69 litri e di 1,73 ± 0,62 litri alla dimissione, che corrispondono rispettivamente al 49

$\pm 28,5$ % rispetto al teorico all'ingresso ed al $76 \pm 28,9$ % alla dimissione (v.n. 80-120% del teorico). *L'indice di Motley (RV/TLC)* invece è risultato pressochè nella norma in 28 pazienti (corrispondenti al 74% della popolazione in studio), a conferma della presenza di una sindrome restrittiva, assumendo un valore medio nella popolazione pari a $25 \pm 11,8$ % all'ingresso e $28 \pm 6,4$ % alla dimissione (v.n. = 20-30 %). 32 pazienti (corrispondenti all'84,2% degli arruolati) poi ha mostrato un deficit al test di diffusione del monossido di carbonio (DL_{co}), facendo riscontrare valori medi all'ingresso pari a $19,1 \pm 5,5$ ml/mmHg/min, corrispondenti al 66 ± 18 % rispetto al teorico, e valori medi alla dimissione pari a $21,4 \pm 6,6$ ml/mmHg/min, corrispondenti al $72 \pm 18,8$ % del teorico (v.n. 80-120 % del teorico), [127] non mostrando dunque un miglioramento significativo dopo il ciclo riabilitativo. Il riscontro di tale deficit di diffusione però non sembra dovuto ad una alterazione dell'interstizio polmonare, ma ad un difetto del pattern ventilatorio, come si evince dai valori di diffusione corretti per il volume alveolare (DL_{CO}/VA), risultati nella norma in 33 pazienti (corrispondenti all'86,8% della popolazione studiata), con valori medi all'ingresso pari a $3,89 \pm 0,71$ ml/mmHg/min/l, corrispondenti al $91 \pm 14,7$ % del teorico (v.n. $\geq 80\%$ del teorico), e valori medi alla dimissione pari a $3,98 \pm 0,59$ ml/mmHg/min/l, corrispondenti al $93 \pm 13,1$ % del teorico. Per valutare l'efficienza dei muscoli respiratori inoltre sono stati misurati il valore della massima pressione inspiratoria (*MIP*), che ha assunto valori medi pari a $93 \pm 23,6$ cmH₂O all'ingresso e $92 \pm 19,9$ cmH₂O alla dimissione, corrispondenti all' $84 \pm 20,2$ % del teorico all'ingresso ed all' $82 \pm 14,6$ % alla dimissione, ed il valore della massima pressione espiratoria (*MEP*), che ha assunto valori medi pari a $112 \pm 24,5$ cmH₂O all'ingresso e $110 \pm 26,6$ cmH₂O alla dimissione, corrispondenti all' $54 \pm 12,1$ % del

teorico all'ingresso ed all' $52 \pm 11,6$ % alla dimissione. Infine, per poter valutare la riserva respiratoria al test da sforzo cardiopolmonare è stata misurata la massima ventilazione volontaria (*MVV*) mediante test spirometrico nei pazienti complianti, invece nei pazienti impossibilitati ad eseguire il test e stata applicata la formula $FEV_1 \times 40$ per ottenerne una stima approssimativa. I valori medi riscontrati sono stati $131 \pm 34,9$ l/min al test d'ingresso e $140 \pm 35,4$ l/min alla dimissione.

ANALISI MEDIANTE TEST DEL CAMMINO IN 6 MINUTI (6MWT) E TEST DA SFORZO CARDIOPOLMONARE (CPET)

Per valutare la propria capacità lavorativa ed i benefici della riabilitazione, abbiamo deciso di sottoporre ogni paziente, sia all'ingresso che alla dimissione, al test del cammino in 6 minuti (6MWT) ed al test da sforzo cardiopolmonare (CPET), i cui risultati sono riassunti nella **Tabella 6**. Il valore medio nella popolazione dei metri percorsi al test del cammino in 6 minuti (6MWT) è stato di $255 \pm 92,3$ m all'ingresso e $399 \pm 79,7$ m alla dimissione, con un incremento significativo, registrato in tutto la popolazione, che dimostra l'efficacia della riabilitazione nel migliorare la capacità lavorativa dei pazienti con esiti di polmonite SARS CoV-2 correlata.

Per confermare tale dato ed approfondire gli aspetti metabolici, muscolari, cardiaci e/o respiratori dei benefici ottenuti con il trattamento riabilitativo, abbiamo deciso di sottoporre ulteriormente tutti i pazienti al test da sforzo cardiopolmonare (CPET) sia all'ingresso che alla dimissione. Di questi, 6 pazienti hanno arbitrariamente interrotto il ciclo di riabilitazione e pertanto non hanno effettuato il test finale. Quasi tutte le prove (91,1% dei test eseguiti) sono risultate massimali, sia secondo il

Tabella 6. Correlazione tra i principali parametri rilevati al 6MWT ed al CPET nella popolazione esaminata prima e dopo il ciclo di riabilitazione cardiorespiratoria.

	N° pazienti pre (=38)	N° pazienti post (=32)	p value
6MWT, metri	255 ± 92,3	399 ± 79,7	<0,001
Work, Watt	100 ± 27	115 ± 25,8	0,016
BORG D, 0-10	5 (3-5)*	3 (3-5)*	0,002
VO₂ peak, ml/Kg/min (%pre)	16,7 ± 3,9 63 ± 16,1	19,2 ± 3,2 73 ± 13,1	0,004 0,009
AT, ml/Kg/min (%pre)	12,5 ± 3,2 48 ± 14,9	13,3 ± 2,6 52 ± 15	NS NS
VO₂/Work Slope	9,2 ± 2	10,2 ± 0,8	<0,001
O₂Pulse, ml/b (%pre)	10,5 ± 3,3 75 ± 23,8	11,7 ± 2,2 80 ± 19,9	NS NS
FC min, bpm	96 ± 18,4	88 ± 17,9	NS
FC max, bpm (%pre)	143 ± 20,5 87 ± 11,7	146 ± 20,1 89 ± 10,1	NS NS
HRR₁, bpm	18 ± 9,7	22 ± 10	NS
VE/VCO₂ slope	35,3 ± 5,2	32,3 ± 4,1	0,011
Vt max, l	2 ± 0,6	2,2 ± 0,6	NS
BF max, a/min	35 ± 8	35 ± 7,2	NS
VE max, l/min (%pre)	65 ± 14,3 67 ± 14,1	75 ± 16,1 78 ± 15,4	0,008 0,004
BR, %	48 ± 9,1	45 ± 12,7	NS
ΔSpO₂, %	- 3 ± 3,2	- 2 ± 2,4	0,017
ΔVd/Vt,	0,01 ± 0,04	0,02 ± 0,05	NS
PET O₂, kPa	17,13 ± 0,45	17,06 ± 0,43	NS
PET CO₂, kPa	4,33 ± 0,43	4,40 ± 0,47	NS

Elenco delle abbreviazioni: *6MWT*= 6 Minute Walking Test; *Work*= Carico di lavoro; *BORG D*= scala di BORG per dispnea; *VO₂ peak*= Consumo di O₂ al picco; *AT*= Anaerobic Threshold; *O₂Pulse*= VO₂/FC; *FC*= Frequenza Cardiaca; *HRR₁*= Heart Rate Recovery dopo 1 minuto; *VE*= Ventilazione minuto; *VCO₂*= Produzione di anidride carbonica; *Vt*= Tidal Volume; *l*= litri; *BF*= Breath Frequency; *a/min*= atti respiratori al minuto; *BR*= Breathing Reserve; *ΔSpO₂*= Variazione della percentuale di emoglobina satura di ossigeno al pulsossimetro; *Vd*= Death Volume; *PET*= Pressure Of End Tidal; *= mediana (IQR).

Criterio relativo al quoziente respiratorio (*RER*), che ha mostrato un valore medio di $1,2 \pm 0,2$ all'ingresso e di $1,2 \pm 0,1$ alla dimissione, sia secondo il criterio relativo alla frequenza cardiaca massima raggiunta durante il test (*FC max*), che ha mostrato valori medi pari a $143 \pm 20,5$ bpm all'ingresso, corrispondenti all' $87 \pm 11,7$ % del teorico, e $146 \pm 20,1$ bpm alla dimissione (v.n. = 220bpm-età), corrispondenti all' $89 \pm 10,1$ % del teorico (v.n. ≥ 85 %). Anche col test da sforzo cardiopolmonare abbiamo dimostrato un netto miglioramento della performance fisica dei pazienti al termine del ciclo di riabilitazione, come si evince dal valore medio del carico di lavoro (*Work*) raggiunto all'acme dello sforzo, che è stato di 100 ± 27 Watt all'ingresso e $115 \pm 25,8$ Watt alla dimissione e dal valore medio del consumo di ossigeno massimo raggiunto (*VO₂ peak*) durante il test, che è stato di $16,7 \pm 3,9$ ml/Kg/min all'ingresso, corrispondente al $63 \pm 16,1$ % rispetto al predetto, e $19,2 \pm 3,2$ ml/Kg/min (v.n. ≥ 20 ml/Kg/min) alla dimissione, corrispondente al $73 \pm 13,1$ % del predetto (v.n. ≥ 80 % del teorico). Il consumo medio di ossigeno alla soglia (*AT*) invece è stato di $12,5 \pm 3,2$ ml/Kg/min all'ingresso, corrispondente al $48 \pm 14,9$ % del predetto, e di $13,3 \pm 2,6$ ml/Kg/min (v.n. ≥ 14 ml/Kg/min) alla dimissione, corrispondente al 52 ± 15 % del predetto (v.n. 40-80 % del teorico). Col test da sforzo però abbiamo avuto la possibilità di approfondire e valutare i vari aspetti della performance fisica dei pazienti e nello specifico abbiamo dimostrato un miglioramento significativo della capacità aerobica ed un recupero della condizione fisica dopo il trattamento riabilitativo, come si evince dal valore medio del *VO₂/Work slope* che è stato di $9,2 \pm 2$ all'ingresso e $10,2 \pm 0,8$ (v.n. $>9,9$) alla dimissione. Abbiamo registrato inoltre un miglioramento significativo della ventilazione minuto (*VE max*), come si evince dal confronto tra il

suo valore medio di $65 \pm 14,3$ l/min misurato all'ingresso e che corrisponde al $67 \pm 14,1$ % del predetto, ed il suo valore medio di $75 \pm 16,1$ l/min misurato alla dimissione e che corrisponde al $78 \pm 15,4$ % del predetto, senza una significativa variazione del valore medio della frequenza respiratoria (*BF*), che è stato di 35 ± 8 atti respiratori al minuto all'ingresso e $35 \pm 7,2$ atti al minuto alla dimissione (v.n. $\geq 80\%$ del predetto), del valore medio della profondità del respiro (*V_t*), che è stato di $2 \pm 0,6$ litri all'ingresso e $2,2 \pm 0,6$ litri alla dimissione, e del valore medio della riserva respiratoria (*BR*), che è stato di $48 \pm 9,1$ % all'ingresso e $45 \pm 12,7$ % alla dimissione (v.n. $>15\%$), ma che ha condizionato una significativa riduzione della variazione percentuale di emoglobina satura di ossigeno (ΔSpO_2) registrata durante lo sforzo alla dimissione, rispetto a quella registrata all'ingresso, e che ha assunto infatti un valore medio negativo pari a $3 \pm 3,2$ % all'ingresso ed un valore medio negativo pari a $2 \pm 2,4$ % alla dimissione, ed un significativo miglioramento della percezione della fatica respiratoria sotto sforzo, come si evince dal valore medio assegnato da ogni paziente alla scala di BORG per la dispnea (*BORG D*, 0-10) pari a $5 \pm 1,4$ all'ingresso e 4 ± 1 alla dimissione. Si è registrato infine un miglioramento della efficienza ventiloperfusiva, come dimostrato dai valori medi assunti dal *VE/VCO₂* slope, pari a $35, \pm 5,2$ all'ingresso e $32,3 \pm 4,1$ alla dimissione (v.n. ≤ 30), senza una significativa variazione del valore medio di $\Delta Vd/Vt$ pari a $0,01 \pm 0,04$ all'ingresso e $0,02 \pm 0,05$ alla dimissione e delle pressioni di fine espirazione dell'ossigeno (*PET_{O₂}*), che ha assunto valore medio pari a $17,13 \pm 0,45$ KPa all'ingresso e $17,06 \pm 0,43$ KPa alla dimissione, e dell'anidride carbonica (*PET_{CO₂}*), che ha assunto valore medio pari a $4,33 \pm 0,43$ KPa all'ingresso e $4,40 \pm 0,47$ KPa alla dimissione. I parametri

cardiovascolari invece non hanno subito significative variazioni dopo il trattamento riabilitativo, infatti il polso di ossigeno (O_2Pulse) ha fatto registrare valori medi pari $10,5 \pm 3,3$ ml/b all'ingresso e $11,7 \pm 2,2$ ml/b alla dimissione, corrispondenti rispettivamente al $75 \pm 23,8$ % ed all' $80 \pm 19,9$ % (v.n. $\geq 80\%$ del predetto), mentre la frequenza cardiaca media della popolazione a riposo (FC_{min}) è stata di $96 \pm 18,4$ bpm all'ingresso ed $88 \pm 17,9$ alla dimissione (v.n. 60-100 bpm), valori pressochè alti o comunque ai limiti alti della norma, dato quest'ultimo che ci ha indotto a sospettare la presenza di una anomalia funzionale o una eventuale risposta compensatoria del sistema nervoso autonomo al deficit ventiloperfusivo registrato con lo stesso test da sforzo cardiopolmonare. A tal proposito abbiamo misurato la frequenza cardiaca al primo ed al terzo minuto di recupero dopo lo sforzo, e le abbiamo confrontate con la frequenza cardiaca raggiunta all'acme dell'esercizio, calcolandone il decremento (Recupero Cronotropo al 1° minuto = $FC_{acme} - FC_{1^o}$; Recupero Cronotropo al 3° minuto = $FC_{acme} - FC_{3^o}$), con lo scopo di valutare l'attività del sistema nervoso parasimpatico, che fisiologicamente viene attivato dopo uno sforzo muscolare per riportare la frequenza cardiaca e la pressione arteriosa ai valori normali a riposo (cosiddetti "recupero cronotropo e pressorio"). Il valore medio nella popolazione del recupero cronotropo dopo un minuto dal termine dell'esercizio (*Heart Rate Recovery 1, HRR₁*) è stato di $18 \pm 9,7$ bpm al test d'ingresso e 22 ± 10 bpm al test di controllo prima della dimissione (v.n. ≥ 12 bpm), invece il valore medio nella popolazione del recupero cronotropo dopo tre minuti dal termine dell'esercizio (*Heart Rate Recovery 3, HRR₃*) è stato di $34 \pm 13,8$ bpm al test d'ingresso e 39 ± 12 bpm al test di controllo prima della dimissione. Infine la maggior parte dei pazienti non ha mostrato miglioramenti

significativi della percezione della fatica muscolare misurata attraverso la scala di BORG per lo sforzo (*BORG S*, 0-10), a cui i pazienti hanno attribuito un punteggio medio nella popolazione pari a $4 \pm 1,3$ al test di ingresso e $4 \pm 1,2$ al test pre-dimissione, con una mediana pari a 5 (IQR, 3-5) all'ingresso e 3 (IQR, 3-5) alla dimissione, né ha mostrato segni di “ventilazione inefficace” come si evince dal valore medio nella popolazione assunto dall'intercetta dell'andamento del rapporto VE/VCO_2 sull'asse della VE, cioè dal valore che assume la ventilazione (VE = aria mobilizzata in un minuto) quando la produzione di anidride carbonica (VCO_2) è pari a zero (*VE/VCO₂ intercetta*). Il valore di tale rapporto infatti è stato di $2 \pm 2,3$ l/min al test d'ingresso e $2,3 \pm 2,4$ l/min al test prima della dimissione (v.n. 0-4 l/min).

DISCUSSIONE

Il ruolo della riabilitazione cardiorespiratoria nei pazienti con esiti di polmonite interstiziale SARS CoV-2 correlata è ancora discusso in letteratura. In particolare in studi precedenti è stato utilizzato il 6MWT per la valutazione funzionale dei pazienti con disabilità residua nel cosiddetto “Long COVID”, un test valido ed accurato, ma poco specifico, perché permette di definire soltanto il grado di intolleranza all’esercizio, senza identificare i fattori limitanti la capacità lavorativa del paziente. Con il test cardiopolmonare da sforzo invece abbiamo avuto la possibilità, non solo di dimostrare l’efficacia della riabilitazione nei pazienti con disabilità da COVID-19, come con il 6MWT, ma anche di tracciare un profilo dettagliato del paziente in fase post-acuta, identificare l’origine respiratoria, cardiaca, muscolare o metabolica della ridotta tolleranza all’esercizio ed adattare i protocolli riabilitativi alle specifiche esigenze di ciascun paziente.

Dai risultati ottenuti col presente studio abbiamo visto come i pazienti arruolati, senza importanti patologie cardiache o polmonari in anamnesi, al momento del ricovero presso l’istituto di riabilitazione fossero per la maggior parte (73,7% dei casi) obesi o comunque in sovrappeso (come si deduce dal valore medio dell’indice di massa corporea, riscontrato, BMI), avessero tutti sviluppato un certo grado di immunità anticorpale contro il SARS CoV-2 (come si evince dai valori delle IgG ed IgM sieriche anti SARS CoV-2 misurati), risultassero avere valori pressochè normali dei parametri di laboratorio, eccezion fatta per gli indici di flogosi (VES, PCR, D-Dimero) e per la concentrazione sierica delle γ -GT, mostrassero per lo più un alterato ritmo circadiano della pressione

arteriosa, con un profilo prevalentemente “non dipper” o “reverse dipper” nel 66% dei casi, al Monitoraggio Pressorio Ambulatoriale delle 24h, indice di una possibile alterazione del Sistema Nervoso Autonomo (SNA) o di un eventuale squilibrio tra attività simpatica e parasimpatica, e come la maggior parte di essi all’ecocolorDoppler cardiaco non mostrasse anomalie degne di nota, ad eccezione di una lieve disfunzione diastolica registrata in alcuni di essi, deducibile dal valore del rapporto E/A <1 riscontrato nel 28,9% dei casi, e dal valore del tempo di decelerazione del flusso doppler pulsato sulla valvola mitrale (DT) >200ms (v.n. = 150-200ms) riscontrato nel 63,2% dei casi, e correlabile verosimilmente al sovrappeso e/o all’età.

Ai test di funzionalità respiratoria, 1 solo paziente ha mostrato un lieve deficit ventilatorio di natura ostruttiva delle grandi vie aeree, come si evince dal riscontro di un indice di Tiffeneau (FEV_1/FVC) <0,70 ed un FEV_1 >80% del teorico, mentre la maggior parte dei pazienti ha mostrato segni di deficit ventilatorio di tipo restrittivo, come si evince dai valori pressochè normali dell’ indice di Tiffeneau misurati alla spirometria con curva flusso-volume e come poi confermato con lo studio dei volumi polmonari alla spirometria globale. Infatti nell’81,6% dei casi sono risultati inferiori ai limiti della normalità sia i valori della capacità polmonare totale (TLC), che del volume residuo (RV), mentre nel 74% dei casi sono risultati pressochè nella norma i valori del rapporto tra essi (Indice di Motley), proprio come si verifica tipicamente nel paziente cosiddetto “ristretto”. La spirometria con test di diffusione è risultata alterata nell’84,2% dei pazienti studiati, come mostrato dai valori percentuali misurati di DL_{CO} ed inoltre nell’86,8% dei casi sono stati riscontrati valori mediamente alti della DL_{CO} corretta per il volume

alveolare (DL_{CO}/VA), dato importante che dimostra come nella maggior parte dei casi tale deficit di diffusione sia di natura “non parenchimale”, cioè non legato ad una vera e propria interstiziopatia, ma ad alterazioni funzionali della dinamica respiratoria.

Ciascun paziente al momento del ricovero presso la struttura di riabilitazione e dopo essere stato arruolato nello studio, è stato sottoposto al test del cammino (6MWT) per valutarne la capacità funzionale e tutti i pazienti, come si evince dalla media \pm DS dei *metri percorsi* rispetto ai valori attesi per l'età, hanno mostrato una ridotta tolleranza all'esercizio. Per meglio caratterizzare le limitazioni funzionali ed individuare il programma riabilitativo cardiorespiratorio più idoneo al recupero della capacità di esercizio, ciascun paziente è stato poi sottoposto al test da sforzo cardiopolmonare (CPET). I risultati del test mostrano una capacità lavorativa mediamente ridotta, con un grado di deficit funzionale per lo più moderato, come si evince dalla media \pm DS dei valori del carico di lavoro svolto (*Watt*) e del consumo di ossigeno (VO_2), misurato sia alla soglia (*AT*) che al picco dell'esercizio (VO_2 *peak*) e confrontati con i valori predetti [110], utilizzando, con particolare riferimento alla VO_2 , la classificazione di Weber e Janicki [107] per definire il grado di compromissione funzionale in termini di valore assoluto espresso in ml/Kg/min (assumendo una VO_2 *peak* >20 ed una *AT* ≥ 14 come intervallo di valori per definire la popolazione con compromissione da nulla a lieve, una VO_2 *peak* = 16-20 ed una *AT* = 11-13 per quella con compromissione lieve-moderata, una VO_2 *peak* = 11-15 ed una *AT* = 8-10 per quella con compromissione moderata-severa, una VO_2 *peak* ≤ 10 ed una *AT* <8 per quella con compromissione severa) e la classificazione di Coopier e Storer [112] per definire il grado di compromissione

funzionale in termini di valore percentuale rispetto al valore teorico (assumendo una VO_2 peak $>80\%$ per definire la popolazione normale, una VO_2 peak = 71-80% come intervallo di valori per definire la popolazione con compromissione lieve, una VO_2 peak = 51-70% per quella con compromissione moderata, VO_2 peak $\leq 50\%$ per quella con compromissione severa). La maggior parte dei pazienti inoltre ha mostrato una limitazione mista alla capacità di esercizio, legata sia ad una inefficienza metabolica da ridotta capacità aerobica, come da decondizionamento fisico, che si evince dai valori di $VO_2/Work$ slope (v.n. ≥ 10) registrati e risultati per lo più (81,6% dei casi) al di sotto dei valori normali, del polso di O_2 (VO_2/HR , v.n. $\geq 80\%$ del predetto) e della frequenza cardiaca a riposo (FC min, v.n. = 60-100bpm), sia ad una insufficienza ventiloperfusiva, che si evince dai valori di VE/VCO_2 slope (v.n. ≤ 30) registrati e risultati al di sopra dei valori normali nell'89,5% dei casi. Si ricordi che il rapporto VE/VCO_2 indica in pratica quanto bisogna ventilare al minuto per eliminare respiro dopo respiro (“*breath by breath*”) una unità di CO_2 e che lo “slope” ne indica l’andamento nel tempo dell’esercizio. L’insufficienza ventiloperfusiva d’altra parte sembra solo in minima parte legata ad una inefficienza ventilatoria, come dimostrato dai valori poco al di sopra della norma di frequenza respiratoria massima raggiunta da ciascun paziente (BF max) rispetto alla pressochè normale profondità degli atti respiratori, misurata come volume corrente al massimo dello sforzo (V_t), fattori determinanti nel condizionare elevati valori di ventilazione minuto all’acme dello sforzo (VE max) ed una maggiore tendenza all’esaurimento della riserva respiratoria (BR , v.n. $>30\%$ della MVV misurata o stimata sulla base del FEV1) sotto stress. Tale inefficienza ventilatoria, caratterizzata da un aumento della frequenza degli atti respiratori (BF) sotto stress, piuttosto

che da un aumento della loro profondità (V_t), potrebbe essere in parte ricondotta anch'essa ad uno stato di decondizionamento muscolare, in particolare del diaframma e dei muscoli respiratori accessori (tenendo conto che la maggior parte dei pazienti ha necessitato di assistenza meccanica, seppur non invasiva, alla ventilazione durante la fase acuta di malattia), piuttosto che ad una alterazione interstiziale polmonare, come dimostrato dai risultati della spirometria globale (TLC, RV, TLC/RV, MIP, MEP) e della spirometria con test di diffusione (DL_{CO} , DL_{CO}/VA) già discussi. L'insufficienza ventiloperfusiva piuttosto sembra soprattutto legata ad un impegno vascolare polmonare, come dimostrato dai ridotti valori della variazione del rapporto V_d/V_t , misurato a riposo e all'acme dello sforzo ($\Delta V_d/V_t$, v.n. $<0,35$ a riposo e $<0,25$ all'acme) e dai valori delle pressioni di fine espirazione della CO_2 ($PETCO_2$). L'impegno vascolare polmonare infatti è determinato da un effetto "shunt" che condiziona un pattern ventilatorio caratterizzato da una maggiore ventilazione dinamica dello spazio morto (V_d), dovuta anche all'aumento della frequenza respiratoria (BF), senza un proporzionale incremento del volume corrente (V_t) e quindi della profondità degli atti respiratori. Pertanto in tale condizioni il rapporto V_d/V_t non si riduce significativamente all'acme dello sforzo rispetto al riposo, come normalmente accade nel paziente sano, ma addirittura per alcuni pazienti aumenta. Questo è un dato molto interessante soprattutto in considerazione del fatto che il presente studio rientra in un progetto di ricerca molto più ampio, in cui viene dimostrato, attraverso correlazioni tra la dilatazione mediata dal flusso (*Flow Mediated Dilatation, FMD*) e le concentrazioni sieriche di alcuni marcatori specifici di danno endoteliale, che alla base dei meccanismi fisiopatologici di molte manifestazioni cliniche del COVID-19, potrebbe esserci in realtà una

disfunzione dell' endotelio, responsabile delle principali alterazioni vascolari riscontrabili nel decorso naturale della malattia, quali l'incrementata incidenza di trombosi venosa, la vasculite, la disfunzione autonoma parasimpatica e la stessa insufficienza respiratoria. Secondo tale teoria infatti la malattia polmonare acuta che si realizza dopo l'infezione da SARS CoV-2 sarebbe sottesa non solo da fenomeni di natura infiammatoria, ma anche di natura vasomotoria di origine endoteliale. La dilatazione mediata dal flusso (FMD) è un fenomeno caratterizzato dalla dilatazione di un vaso arterioso che si verifica a seguito di un incremento di velocità di flusso sanguigno all'interno del vaso stesso. L'aumento del flusso provoca un incremento dello "shear stress" che il fluido esercita sulle pareti del vaso e questo stimolo meccanico attiva alcune vie di trasduzione a livello endoteliale che provocano un rilascio locale di mediatori con azione vasodilatatrice (Ossido Nitrico, NO). L'entità della dilatazione del vaso dipende dunque dalla funzionalità dell'endotelio. [132] Si è osservato infatti nei pazienti arruolati una minor risposta vasodilatatrice, valutata con l'ecoDoppler dell'arteria brachiale, ad uno stimolo ischemico, applicato alla stessa arteria brachiale, gonfiando il bracciale di uno sfigmomanometro per 5 minuti ad una pressione di almeno 50mmHg al di sopra della pressione sistolica del paziente a riposo, ed in molti casi addirittura si è avuta una risposta vasocostrittiva con valori di FMD negativi.

Ciascun paziente al termine del ciclo riabilitativo è stato poi sottoposto a rivalutazione funzionale con lo scopo di stimarne i benefici ottenuti.

Dai risultati conseguiti si evince come nessun parametro spirometrico mostra un miglioramento significativo ad eccezione dei volumi polmonari stimati (*TLC* e *RV*), tra l'altro con una relativamente debole

correlazione statistica tra i valori misurati prima e dopo il ciclo di riabilitazione (rispettivamente $p=0,042$ e $p=0,035$). I metri percorsi al 6MWT invece mostrano un netto miglioramento della capacità di esercizio di tutti i pazienti, ottenuta dopo il periodo di riabilitazione ($p<0,001$), e questo dato viene confermato anche al test cardiopolmonare da sforzo attraverso i risultati ottenuti in termini di carico di lavoro raggiunto (*Watt*, $p=0,016$) e di consumo di ossigeno (*VO₂ peak*, $p=0,004$) prima e dopo il ciclo riabilitativo. Il test da sforzo cardiopolmonare però, come più volte ribadito, offre la possibilità di approfondire i vari aspetti dei miglioramenti ottenuti dai pazienti con la riabilitazione cardiorespiratoria. Nel particolare infatti si nota un miglioramento sia della capacità aerobica (*VO₂/Work slope*, $p<0,001$), sia della efficienza ventilatoria (*VE max*, $p=0,008$) dei pazienti, che si traduce anche in una loro minore tendenza alla desaturazione dell'emoglobina sotto sforzo (ΔSpO_2 , $p=0,017$) ed in una loro minore percezione soggettiva della dispnea da sforzo (*BORG D*, $p=0,002$). Il dato interessante è che l'impegno vascolare polmonare dei pazienti, seppur ridotti significativamente dopo il ciclo di riabilitazione cardiorespiratoria (*VE/VCO₂ slope*, $p=0,011$), resta determinante nel condizionare una benchè lieve limitazione funzionale residua dei pazienti dimessi dall'istituto di riabilitazione, come si evince dai valori misurati di *VE/VCO₂ slope* al test di rivalutazione cardiopolmonare eseguito alla dimissione, che persistono al di sopra della norma.

LIMITI DELLO STUDIO

Lo studio è stato condotto su un campione relativamente limitato di pazienti, condizione dettata anche dalla necessità di arruolare in un breve

periodo di tempo (dicembre 2020 - gennaio 2021) pazienti privi di una comorbilità tale da limitarne la capacità di esercizio e/o inficiare i risultati dei test funzionali. Il campione inoltre è risultato essere disomogeneo per genere (solo il 7,9% era di sesso femminile) ed inoltre non è stato preso in considerazione il tempo di degenza di ciascun paziente nel reparto per acuti, ed il tempo trascorso in ventilazione assistita, fattori importanti nel determinismo del decondizionamento fisico. La ridotta numerosità del campione ci ha negato peraltro la possibilità di stratificare la popolazione in sottogruppi suddivisi in base alla gravità del Total Severity Score (TSS) o al livello di intensità di cura ricevuta (terapia medica, ossigenoterapia, NIMV o IOT) per valutarne le eventuali correlazioni con il grado di limitazione funzionale ed i benefici ottenuti dalla riabilitazione. Inoltre si tratta di uno studio monocentrico, pertanto tali risultati andrebbero confermati da studi condotti su campioni a numerosità più ampia ed effettuati secondo un disegno prospettico e multicentrico.

CONCLUSIONI

Questo studio ci ha permesso di tracciare un “profilo” clinico-funzionale cardiorespiratorio dei pazienti con esiti da polmonite SARS CoV-2 correlata, individuare i principali fattori responsabili delle limitazioni funzionali e della ridotta tolleranza all’esercizio fisico attraverso il test da sforzo cardiopolmonare (CPET) e successivamente valutare gli effetti benefici ottenuti da una terapia riabilitativa specifica della durata di 3 settimane. In particolar modo abbiamo visto come il paziente oggetto di studio risulta essere per lo più in sovrappeso, presentare una lieve disfunzione diastolica ventricolare sinistra all’ecocardiogramma transtoracico ed un deficit ventilatorio restrittivo ai test di funzionalità respiratoria. Abbiamo poi dimostrato come tale deficit ventilatorio sia legato prevalentemente ad uno stato di decondizionamento dei muscoli respiratori, dovuto probabilmente all’assistenza respiratoria ricevuta nella fase acuta di malattia, piuttosto che ad una vera e propria interstiziopatia. Abbiamo dimostrato inoltre che il paziente con esiti di polmonite da SARS Co-V2 presenta importanti limitazioni funzionali ed una ridotta capacità di esercizio e pertanto necessita di un ciclo di riabilitazione cardiorespiratoria specifica, che risulta efficace dopo 3 settimane di fisiokinesiterapia. Abbiamo dimostrato ancora che i test di funzionalità respiratoria a riposo (spirometria con curve flusso-volume, spirometria globale, spirometria con test di diffusione), per quanto utili nella valutazione iniziale dei pazienti, non offrono alcun vantaggio nella valutazione successiva al ciclo riabilitativo degli stessi, che il 6MWT invece è uno strumento semplice, poco costoso e di facile e rapido utilizzo per la valutazione della intolleranza allo sforzo da parte di tali pazienti e dei miglioramenti ottenuti dopo il ciclo di riabilitazione, ma

che il CPET offre in tal senso una maggiore specificità e ci permette di individuare le singole limitazioni alla capacità lavorativa del paziente e personalizzarne il progetto riabilitativo. Abbiamo infine dimostrato che i principali fattori limitanti la capacità funzionale dei pazienti oggetto di studio sono una ridotta capacità aerobica e quindi un decondizionamento fisico ed un impegno vascolare polmonare, probabilmente dovuto ad una disfunzione endoteliale che potrebbe caratterizzare le basi fisiopatologiche della malattia e che la riabilitazione cardiorespiratoria agisce soprattutto nel migliorare la condizione fisica generale ed il pattern respiratorio del paziente, un po' meno nel ridurre l'impegno vascolare polmonare, che persiste, anche se di entità ridotta, dopo il ciclo di riabilitazione.

PROSPETTIVE FUTURE

Ulteriori studi, con una numerosità campionaria maggiore e magari a carattere multicentrico, sono necessari per confermare queste tesi e per definire meglio il ruolo della disfunzione endoteliale e quindi dell'impegno vascolare polmonare nel determinismo della polmonite interstiziale da SARS CoV-2.

Inoltre sarebbe interessante studiare in modo più approfondito e magari con tecniche e metodiche specifiche, l'attività del Sistema Nervoso Autonomo nei pazienti con esiti di polmonite SARS CoV-2 correlata, per spiegarne alcuni aspetti irrisolti, come il profilo “non dipper” di questi pazienti al Monitoraggio Ambulatoriale della Pressione Arteriosa nelle 24h e la tendenza a far registrare elevati valori di frequenza cardiaca a riposo, che potrebbero dipendere da una disfunzione del

Sistema Nervoso Autonomo o da una sua risposta compensatoria all'impegno vascolare polmonare e sistemico secondario ad una disfunzione endoteliale innescata dal virus stesso.

Sarebbe altresì interessante effettuare anche delle valutazioni psicologiche dei suddetti pazienti, magari con l'utilizzo di scale validate e standardizzate, e correlarle agli indici di disfunzione autonoma, per verificarne un possibile ruolo nel determinismo di alcuni segni e sintomi clinici.

Infine sarebbe utile sottoporre i pazienti ad un follow-up clinico-strumentale attraverso rivalutazioni periodiche sia radiologiche (HRTC con punteggio TSS) che funzionali (6MWT e CPET) e correlare tra loro i risultati ottenuti per stabilire quanto l'estensione e la gravità delle lesioni polmonari valutate alla Tomografia Computerizzata ad alta risoluzione attraverso il Total Severity Score possano risultare determinanti nel condizionare la capacità funzionale dei pazienti, con lo scopo di evitare superflui costi di gestione sanitaria e danni da radiazioni per i pazienti.

BIBLIOGRAFIA

1. Parry J, et al. China coronavirus: cases surge as official admits human to human transmission. *BMJ*. 2020 Jan 20;368:m236.
2. Cohen J, Normile D, et al. New SARS-like virus in China triggers alarm. *Science*. 2020 Jan 17;367(6475):234-235.
3. Hui DS, Azhar EI, et al. The continuing 2019-nCoV epidemic threat of novel coronaviruses to global health — The latest 2019 novel coronavirus outbreak in Wuhan, China. *Int J Infect Dis*. 2020 Feb;91:264-266.
4. Schnirring L, et al. Thailand finds Wuhan novel coronavirus in traveler from China. *CIDRAP news*, 2020 Jan.
5. Doremalen N, Bushmaker T, et al. Aerosol and surface stability of SARS-CoV-2 as compared with SARS-CoV-1. *N Engl J Med*. 2020 Apr 16;382(16):1564-1567.
6. Yang Y, Lu Q, et al. Epidemiological and clinical features of the 2019 novel coronavirus outbreak in China. *MedRxiv*, 2020 Feb. doi:2020.02.10.20021 675
7. Callaway E, Cyranoski D, et al. Why snakes probably aren't spreading the new China virus. *Nature*. 2020 Jan 23. doi:10.1038/d41586-020-00180-8
8. Zang R, Gomez Castro MF, et al. TMPRSS2 and TMPRSS4 promote SARS-CoV-2 infection of human small intestinal enterocytes. *Sci Immunol*. 2020 May 13;5(47):eabc358.
9. Gu J, Han B, et al. COVID-19: Gastrointestinal manifestations and potential fecal-oral transmission. *Gastroenterology*. 2020 May;158(6):1518-1519.
10. Hoseinzadeh E, Safoura J, et al. An updated min-review on environmental route of the SARS-CoV-2 transmission. *Ecotoxicol Environ Saf*. 2020 Oct 1;202:111015.
11. Wölfel R, Corman VM, et al. Virological assessment of hospitalized patients with COVID-2019. *Nature*. 2020 May;581(7809):465–469.
12. Daughton CG, et al. Wastewater surveillance for population-wide Covid-19: The present and future. *Sci Total Environ*. 2020 Sep 20;736:139631.
13. Frontera A, Martin C, et al. Regional air pollution persistence links to COVID-19 infection zoning. *J Infect*. 2020 Apr;81(2):318-356.
14. Ciencewicz J, Jaspers I, et al. Air pollution and respiratory viral infection. *Inhal Toxicol*. 2007 Nov;19(14):1135-46.
15. Setti L, Passarini F, et al. Airborne transmission route of COVID-19: Why 2 meters/6 feet of inter-personal distance could not be enough. *Int J Environ Res Public Health*. 2020 Apr 23;17(8):2932.

16. Martelletti L, Martelletti P, et al. Air pollution and the novel Covid-19 disease: a putative disease risk factor. *SN Compr Clin Med*. 2020 Apr 15;1-5.
17. Wu X, Nethery RC, et al. Air pollution and COVID-19 mortality in the United States: Strengths and limitations of an ecological regression analysis. *Sci Adv*. 2020 Nov 4;6(45):eabd4049.
18. Ogen Y, et al. Assessing nitrogen dioxide (NO₂) levels as a contributing factor to coronavirus (COVID-19) fatality. *Sci Total Environ*. 2020 Jul 15;726:138605.
19. Lauc G, Markotić A, et al. Fighting COVID-19 with water. *J Glob Health*. 2020 Jun;10(1):010344.
20. World Health Organization. WHO Director-General's remarks at the media briefing on 2019-nCoV. *The Post*, 2020 Feb.
21. Zhang H, Penninger JM, et al. Angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2) as a SARS-CoV-2 receptor: molecular mechanisms and potential therapeutic target. *Intensive Care Med*. 2020 Apr;46(4):586-590.
22. Hamming I, Timens W, et al. Tissue distribution of ACE2 protein, the functional receptor for SARS coronavirus. A first step in understanding SARS pathogenesis. *J Pathol*. 2004 Jun;203(2):631-7.
23. Xu H, Zhong L, et al. High expression of ACE2 receptor of 2019-nCoV on the epithelial cells of oral mucosa. *International Journal of Oral Science*, 2020 Feb. 12(1): pp. 8.
24. Gurwitz D, et al. Angiotensin receptor blockers as tentative SARS-CoV-2 therapeutics. *Int J Oral Sci*. 2020 Feb 24;12(1):8.
25. Vaduganathan M, Vardeny O, et al. Renin-Angiotensin-Aldosterone System inhibitors in patients with Covid-19. *New England Journal of Medicine*, 2020 Apr. 382(17): pp. 1653-1659.
26. Mancia G, Rea F, et al. Renin–Angiotensin–Aldosterone System blockers and the risk of Covid-19. *N Engl J Med*. 2020 Apr 23;382(17):1653-1659.
27. Huang C, Wang Y, et al. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *Lancet*. 2020 Feb 15;395(10223):497-506.
28. Lucas C, Wong P, et al. Longitudinal analyses reveal immunological misfiring in severe COVID-19. *Nature*, 2020 Jul. 584(7821): pp. 463–46.
29. Zhang C, Wu Z, et al. Cytokine release syndrome in severe COVID-19: interleukin-6 receptor antagonist tocilizumab may be the key to reduce mortality. *Nature*. 2020 Aug;584(7821):463-469.

30. Vabret N, Britton GJ, et al. Immunology of COVID-19: current state of the science. *Immunity*. 2020 Jun 16;52(6):910-941.
31. Zhou T, Su TT, et al. Immune asynchrony in COVID-19 pathogenesis and potential immunotherapies. *J Exp Med*. 2020 Oct 5;217(10):e20200674.
32. Sanche S, Lin YT, et al. High contagiousness and rapid spread of severe acute respiratory syndrome coronavirus 2. *Emerg Infect Dis*. 2020 Jul;26(7):1470-1477.
33. Zou L, Ruan F, et al. SARS-CoV-2 viral load in upper respiratory specimens of infected patients. *N Engl J Med*. 2020 Mar 19;382(12):1177-1179.
34. Long QX, Tang XJ, et al. Clinical and immunological assessment of asymptomatic SARS-CoV-2 infections. *Nat Med*. 2020 Aug;26(8):1200-1204.
35. Fan Q, Zhang W, et al. Association between ABO blood group system and COVID-19 susceptibility in Wuhan. *Front Cell Infect Microbiol*. 2020 Jul 21;10:404.
36. Latz CA, De Carlo C, et al. Blood type and outcomes in patients with COVID-19. *Ann Hematol*. 2020 Sep;99(9):2113-2118.
37. Wu BB, Gu DZ, et al. Association between ABO blood groups and COVID-19 infection, severity and demise: A systematic review and meta-analysis. *Infect Genet Evol*. 2020 Oct;84:104485.
38. Novelli A, Andreani M, et al. HLA allele frequencies and susceptibility to COVID-19 in a group of 99 Italian patients. *HLA*. 2020 Nov;96(5):610-614.
39. Chen N, Zhou M, et al. Epidemiological and clinical characteristics of 99 cases of 2019 novel coronavirus pneumonia in Wuhan, China: a descriptive study. *Lancet*. 2020 Feb 15;395(10223):507-513.
40. Seirafianpour F, Sodagar S, et al. Cutaneous manifestations and considerations in COVID-19 pandemic: A systematic review. *Dermatol Ther*. 2020 Nov;33(6):e13986.
41. De Maria A, Varese P, et al. High prevalence of olfactory and taste disorder during SARS-CoV-2 infection in outpatients. *J Med Virol*. 2020 Nov;92(11):2310-2311.
42. Wang, Hu B, et al. Clinical characteristics of 138 hospitalized patients with 2019 novel coronavirus–infected pneumonia in Wuhan, China. *JAMA*. 2020 Mar 17;323(11):1061-1069.
43. Guan WJ, Ni ZY, et al. Clinical characteristics of Coronavirus disease 2019 in China. *N Engl J Med*. 2020 Apr 30;382(18):1708-1720.
44. Zheng YY, Ma YT, et al. COVID-19 and the cardiovascular system. *Nat Rev Cardiol*. 2020 May;17(5):259-260.

45. Turner AJ, Hiscox JA, et al. ACE2: from vasopeptidase to SARS virus receptor. *Trends Pharmacol Sci.* 2004 Jun;25(6):291-4.
46. Cui S, Chen S, et al. Prevalence of venous thromboembolism in patients with severe novel coronavirus pneumonia. *J Thromb Haemost.* 2020 Jun;18(6):1421-1424.
47. Parri N, Magistà AM, et al. Characteristic of COVID-19 infection in pediatric patients: early findings from two Italian Pediatric Research Networks. *Eur J Pediatr.* 2020 Aug;179(8):1315-1323.
48. Mancini F, Barbanti F, et al. Laboratory management for SARS-CoV-2 detection: a user-friendly combination of the heat treatment approach and rt-Real-time PCR testing. *Emerg Microb Infect.* 2020;9(1):1393-1396.
49. Mina MJ, Parker R, et al. Rethinking Covid-19 test sensitivity — A strategy for containment. *N Engl J Med.* 2020 Nov 26;383(22):e120
50. Bai Y, Yao L, et al. Presumed asymptomatic carrier transmission of COVID-19. *JAMA.* 2020 Apr 14;323(14):1406-1407.
51. Wölfel R, Corman VM, et al. Virological assessment of hospitalized patients with COVID-2019. *Nature.* 2020 May;581(7809):465-469.
52. Russo A, Minichini C, et al. Current status of laboratory Diagnosis for COVID-19: a narrative review. *Infect Drug Resist.* 2020 Aug 3;13:2657-2665.
53. Dinnes J, Deeks JJ, et al. Rapid, point-of-care antigen and molecular-based tests for diagnosis of SARS-CoV-2 infection. *Cochrane Database Syst Rev.* 2020 Aug 26;8:CD013705.
54. Zhang W, Du RH, et al. Molecular and serological investigation of 2019-nCoV infected patients: implication of multiple shedding routes. *Emerg Microbes Infect.* 2020 Feb 17;9(1):386-389.
55. Lippi G, Plebani M, et al. Laboratory abnormalities in patients with COVID-2019 infection. *Clin Chem Lab Med.* 2020 Jun 25;58(7):1131-1134.
56. Garcia-Olive I, Sintes H, et al. D-dimer in patients infected with COVID-19 and suspected pulmonary embolism. *Respir Med.* 2020 Aug;169:106023.
57. Fan BE, Chong VCL, et al. Hematologic parameters in patients with COVID-19 infection. *Am J Hematol.* 2020 Jun;95(6):E131-E134.
58. Zhou F, Yu T, et al. Clinical course and risk factors for mortality of adult inpatients with COVID-19 in Wuhan, China: a retrospective cohort study. *Lancet.* 2020 Mar 28;395(10229):1054-1062.

59. Tang N, Li D, et al. Abnormal coagulation parameters are associated with poor prognosis in patients with novel coronavirus pneumonia. *J Thromb Haemost*. 2020 Apr;18(4):844-847.
60. Xue H, Jin Z, et al. The appropriate position of radiology in COVID-19 diagnosis and treatment - current status and opinion from China. *Chin J Acad Radiol*. 2020 Mar 26;1-3. doi:10.1007/s42058-020-00030-6
61. Kim H, Hong H, et al. Diagnostic performance of CT and Reverse Transcriptase-Polymerase Chain Reaction for coronavirus disease 2019: a meta-analysis. *Radiology*. 2020 Sep;296(3):E145-E155.
62. Bao C, Liu X, et al. Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) CT findings: a systematic review and meta-analysis. *J Am Coll Radiol*. 2020 Jun;17(6):701-709.
63. Ye Z, Zhang Y, et al. Chest CT manifestations of new coronavirus disease 2019 (COVID-19): a pictorial review. *Eur Radiol*. 2020 Aug;30(8):4381-4389.
64. Wu J, Wu X, et al. Chest CT findings in patients with corona virus disease 2019 and its relationship with clinical features. *Invest Radiol*. 2020 May;55(5):257-261.
65. Bernheim A, Mei X, et al. Chest CT findings in coronavirus disease-19 (COVID-19): relationship to duration of infection. *Radiology*. 2020 Jun;295(3):200463.
66. Chung M, Bernheim A, et al. CT imaging features of 2019 Novel Coronavirus (2019-nCov). *Radiology*. 2020 Apr;295(1):202-207.
67. Mayo PH, Copetti R, et al. Thoracic ultrasonography: a narrative review. *Intensive Care Med*. 2019 Sep;45(9):1200-1211.
68. Kendall JL, Hoffenberg SR, et al. History of emergency and critical care ultrasound: the evolution of a new imaging paradigm. *Crit Care Med*. 2007 May;35(5 Suppl):S126-30.
69. Manivel V, Lesnewski A, et al. CLUE: COVID-19 Lung Ultrasound in Emergency Department. *Emerg Med Australas*. 2020 Aug;32(4):694-696.
70. Peng QY, Wang XT, et al. Findings of lung ultrasonography of novel coronavirus pneumonia during the 2019-2020 epidemic. *Intensive Care Med*. 2020 May;46(5):849-850.
71. Poggiali E, Dacrema A, et al. Can lung ultrasound help critical care clinicians in the early diagnosis of novel coronavirus (COVID-19) pneumonia? *Radiology*. 2020 Jun;295(3):E6.
72. Pontet J, Yic C, et al. Impact of an ultrasound-driven diagnostic protocol at early intensive-care stay: a randomized-controlled trial. *Ultrasound J*. 2019 Sep 30;11(1):24.
73. Day M, et al. Covid-19: ibuprofen should not be used for managing symptoms, say doctors and scientists. *BMJ Nutr Prev Health*. 2020 Mar;368:m1086.
74. Lanham-New SA, Webb AR, et al. Vitamin D and SARS-CoV-2 virus/COVID-19 disease. *BMJ Nutr Prev Health*. 2020 May 13;3(1):106-110.

75. Pereira M, Dantas Damascena A, et al. Vitamin D deficiency aggravates COVID-19: systematic review and meta-analysis. *Crit Rev Food Sci Nutr*. 2020 Nov 4;1-9.
76. Quesada-Gomez JM, Entrenas-Castillo M, et al. Vitamin D receptor stimulation to reduce acute respiratory distress syndrome (ARDS) in patients with coronavirus SARS-CoV-2 infections: Revised Ms SBMB 2020_166. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 2020 Sep;202:105719.
77. Rochwerg B, Agoritsas T, et al. Update to living WHO guideline on drugs for covid-19. *BMJ*. 2020 Sep 4;370:m3379.
78. The WHO Rapid Evidence Appraisal, Sterne JAC, Murthy S, et al. Association Between Systemic Corticosteroids and Mortality Among Critically Ill Patients With COVID-19. *JAMA*. 2020 Sep 2;324(13):1330–1341.
79. Rizk JG, Kalantar-Zadeh K, et al. Pharmaco-Immunomodulatory Therapy in COVID-19. *Drugs*. 2020 Sep;80(13):1267-1292.
80. Sanders JM, Monogue ML, et al. Pharmacologic Treatments for Coronavirus Disease 2019 (COVID-19): A Review. *JAMA*. 2020 May 12;323(18):1824-1836.
81. Favalli EG, Biggioggero M, et al. Baricitinib for COVID-19: a suitable treatment? *Lancet Infect Dis*. 2020 Sep;20(9):1012-1013.
82. Tang N, Bai H, et al. Anticoagulant treatment is associated with decreased mortality in severe coronavirus disease 2019 patients with coagulopathy. *J Thromb Haemost*. 2020 May;18(5):1094-1099.
83. Gautret P, Lagier JC, et al. Hydroxychloroquine and Azithromycin as a treatment of COVID-19: results of an open-label non-randomized clinical trial. *Int J Antimicrob Agents*. 2020 Jul;56(1):105949.
84. Magagnoli J, Narendran S, et al. Outcomes of Hydroxychloroquine usage in United States veterans hospitalized with Covid-19. *MedRxiv*. 2020 Dec 18;1(1):114-127.e3.
85. Mehra MR, Desai SS, et al. Hydroxychloroquine or chloroquine with or without a macrolide for treatment of COVID-19: a multinational registry analysis. *Lancet*. 2020 May 22;0(0). DOI:10.1016/S0140-6736(20)31180-6
86. Casadevall A, Joyner MJ, et al. A Randomized trial of convalescent plasma for COVID-19- potentially hopeful signals. *JAMA*. 2020 Aug 4;324(5):455-457.
87. Gattinoni L, Tognoni G, et al. Ventilation in the prone position. The prone-supine study collaborative group. *Lancet*. 1997 Sep 13;350(9080):815.

88. Taccone P, Pesenti A, et al. Prone positioning in patients with moderate and severe acute respiratory distress syndrome: a randomized controlled trial. *JAMA*. 2009;302(18):1977-1984.
89. Nalbandian A, Sehgal K, et al. Post-acute COVID-19 syndrome. *Nat Med*. 2021 Apr;27(4):601-615.
90. Huang C, Huang L, et al. 6-month consequences of COVID-19 in patients discharged from hospital: a cohort study. *Lancet*. 2021 Jan 16;397(10270):220-232.
91. Garrigues E, Janvier P, et al. Post-discharge persistent symptoms and health-related quality of life after hospitalization for COVID-19. *J Infect*. 2020 Dec;81(6):e4-e6.
92. Carfi A, Bernabei R, et al. Persistent symptoms in patients after acute COVID-19. *JAMA*. 2020 Aug 11;324(6):603-605.
93. Marshall M. The lasting misery of coronavirus long-haulers. *Nature*. 2020 Sep;585(7825):339-341.
94. Gorna R, MacDermott N, et al. Long COVID guidelines need to reflect lived experience. *Lancet*. 2021 Feb 6;397(10273):455-457.
95. Needham DM, Davidson J, et al. Improving long-term outcomes after discharge from intensive care unit: Report from a stakeholders' conference. *Crit Care Med*. 2012 Feb;40(2):502-9.
96. Ohtake PJ, Lee AC, et al. Physical impairments associated with post-intensive care syndrome: systematic review based on the world health organization's international classification of functioning, disability and health framework. *Phys Ther*. 2018 Aug 1;98(8):631-645.
97. Inoue S, Hatakeyama J, et al. Post-intensive care syndrome: its pathophysiology, prevention, and future directions. *Acute Med Surg*. 2019 Apr 25;6(3):233-246.
98. Lee M, Kang J, et al. Risk factors for post-intensive care syndrome: A systematic review and meta-analysis. *Aust Crit Care*. 2020 May;33(3):287-294.
99. Kress JP. Sedation and Mobility: Changing the Paradigm. *Crit Care Clin*. 2013 Jan;29(1):67-75. Fuke R, Hifumi T, et al. Early rehabilitation to prevent postintensive care syndrome in patients with critical illness: a systematic review and meta-analysis. *BMJ Open*. 2018 May 5;8(5):e019998.
100. Mahase E. Long covid could be four different syndromes, review suggests. *BMJ*. 2020 Oct 14;371:m3981.
101. Wilcox ME, Patsios D, et al. Radiologic outcomes at 5 years after severe ARDS. *Chest*. 2013;143:920-6.

102. Herridge MS, Tansey CM, et al. Functional disability 5 years after acute respiratory distress syndrome. *N Engl J Med*. 2011 Apr 7;364(14):1293-304.
103. Han Y, Geng H, et al. A follow-up study of 69 discharged SARS patients. *J Tradit Chin Med*. 2003 Sep;23(3):214-7.
104. Hsieh MJ, Lee WC, Cho HY, et al. Recovery of pulmonary functions, exercise capacity, and quality of life after pulmonary rehabilitation in survivors of ARDS due to severe influenza A (H1N1) pneumonitis. *Influenza Other Respi Viruses*. 2018;12:643-8.
105. Li J. Effect and enlightenment of rehabilitation medicine in COVID-19 management. *Eur J Phys Rehabil Med*. 2020 Jun;56(3):335-338
106. Ambrosino P, Iannuzzi GL, et al. Exergaming as an additional tool in rehabilitation of young patients with rheumatoid arthritis: a pilot randomized controlled trial. *Games Health J*. 2020 Oct;9(5):368-375.
107. Weber KT, Janicki JS, et al. *Cardiopulmonary exercise (CPX) testing*. Philadelphia: WB Saunders Co 153.1986.
108. Paolillo S, Agostoni PG. Prognostic role of cardiopulmonary exercise testing in clinical practice. *Ann Am Thorac Soc*. 2017 Jul;14:S53-S58.
109. Mezzani A. *Cardiopulmonary exercise testing: basics of methodology and measurements*. Ann Am Thorac Soc. 2017 Jul;14:S3-S11.
110. ATS/ACCP. Statement on Cardiopulmonary Exercise Testing. *Am J Respir Crit Care Med*. 2003 Jan 15;167(2):211-77.
111. ERS Task Force: Palange P, Ward SA, et al. Recommendations on the use of exercise testing in clinical practice. *Eur Respir J*. 2007 Jan;29(1):185-209.
112. Wasserman K, Hansen JE, et al. *Principles of exercising testing and interpretation*. 5th edition. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia. 2012 ISBN-13: 978-1-60913-899-8.
113. Cooper CB, Storer TW, eds. *Exercise testing an interpretation: A practical approach*. Cambridge, Cambridge University Press, 2001.
114. ACC/AHA Task Force: Gibbons RJ, Balady GJ, et al. 2002 guideline update for exercise testing: summary article. A report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines (Committee to Update the 1997 Exercise Testing Guidelines). *J Am Coll Cardiol*. 2002 Oct 16;40(8):1531-40.
115. Corra U, Agostoni PG, et al. Role of cardiopulmonary exercise testing in clinical stratification in heart failure. A position paper from the committee on exercise Physiology and training of the heart failure association of the European society of cardiology. *Eur J Heart Fail*. 2018 Jan;20(1):3-15.

116. Guazzi M, Bandera F, et al. Cardiopulmonary exercise testing: what is its value? *J Am Coll Cardiol.* 2017 Sep 26;70(13):1618-1636.
117. Kallianos A, Rapti A, et al. Cardiopulmonary exercise testing (CPET) as preoperative test before lung resection. *In Vivo.* Nov-Dec 2014;28(6):1013-20.
118. ATS. ATS statement: guidelines for the six-minute walk test. ATS committee on proficiency standards for clinical pulmonary function laboratories. *Am J Respir Crit Care Med.* 2002 Jul 1;166(1):111-7.
119. Enright PL, McBurnie MA, et al. The Cardiovascular Health Study. The six minute walk test: a quick measure of functional status in elderly adults. *Chest.* 2003 Feb;123(2):387-98.
120. Li K, Fang Y, et al. CT image visual quantitative evaluation and clinical classification of coronavirus disease (COVID-19). *Eur Radiol.* 2020 Aug;30(8):4407-4416.
121. Lang RM, Badano LP, et al. Recommendations for cardiac chamber quantification by echocardiography in adults: an update from the American Society of Echocardiography and the European Association of Cardiovascular Imaging. *Eur Heart J Cardiovasc Imaging.* 2015;16(3):233-70.
122. Mitchell C, Rahko PS, et al. Guidelines for Performing a Comprehensive Transthoracic Echocardiographic Examination in Adults: Recommendations from the American Society of Echocardiography. *J Am Soc Echocardiogr.* 2019 Jan;32(1):1-64.
123. Guazzi M, Bandera F, et al. Tricuspid annular plane systolic excursion and pulmonary arterial systolic pressure relationship in heart failure: an index of right ventricular contractile function and prognosis. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2013 Nov 1;305(9):H1373-81.
124. Amundsen BH, Helle-Valle T, et al., Noninvasive myocardial strain measurement by speckle tracking echocardiography: validation against sonomicrometry and tagged magnetic resonance imaging. *J Am Coll Cardiol.* 2006 Feb 21;47(4):789-93.
125. Langeland S, D'hooge J, et al., Experimental validation of a new ultrasound method for the simultaneous assessment of radial and longitudinal myocardial deformation independent of insonation angle. *Circulation.* 2005 Oct 4;112(14):2157-62.
126. Pauwels RA, Buist AS, et al. On behalf of the GOLD Scientific Committee: Global strategy for the diagnosis, management, and prevention of chronic obstructive pulmonary disease. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2001 Apr;163(5):1256-76.
127. Brusasco V, Crapo R, et al. Coming together: the ATS/ERS consensus on clinical pulmonary function testing. *Eur Respir J.* 2005 Jul;26(1):1-2.
128. Pellegrino R, Viegi G, et al. Interpretative strategies for lung function tests. *Eur Respir J.* 2005 Nov;26(5):948-68.

129. Hughes JMB, Pride NL. Examination of the carbon monoxide diffusing capacity (DLCO) in relation to its KCO and VA components. *Am J Respir Crit Care Med.* 2012 Jul 15;186(2):132-9.
130. Weber KT. What can we learn from exercise testing beyond the detection of myocardial ischemia. *Clin Cardiol.* 1997 Aug;20(8):684-96.
131. Halpin DMG 1, Criner GJ, et al. Global Initiative for the Diagnosis, Management, and Prevention of Chronic Obstructive Lung Disease. The 2020 GOLD Science Committee Report on COVID-19 and Chronic Obstructive Pulmonary Disease. *Am J Respir Crit Care Med.* 2021 Jan 1;203(1):24-36.
132. Celermajer DS, Sorensen KE, et al. Non-invasive detection of endothelial dysfunction in children and adults at risk of atherosclerosis. *Lancet.* 1992 Nov 7;340(8828):1111-5.