



## Pneumopatia da COVID-19: il punto di vista del Medico Vascolare

Luca Costanzo<sup>1</sup>, Simona Antonina Grasso<sup>2</sup>, Francesco Paolo Palumbo<sup>3</sup>, Giorgio Ardita<sup>1</sup>,  
Luigi Di Pino<sup>4</sup>, Pier Luigi Antignani<sup>5</sup>, Leonardo Aluigi<sup>6</sup>, Enrico Arosio<sup>7</sup>, Giacomo Failla<sup>1</sup>.

1. UO Angiologia Osp. S. Marco – A.O.U. Policlinico Vittorio Emanuele – Catania
2. UOC Anestesia e Rianimazione Osp. Policlinico di Catania – A.O.U. Policlinico Vittorio Emanuele – Catania
3. UO Chirurgia Gen. II - Casa di Cura Villa Fiorita – Prato (FI)
4. UOC Malattie Cardiovascolari - Un. Di Catania Dip. Chir. e Spec. Med. - A.O.U. Policlinico Vittorio Emanuele - Catania
5. Centro Vascolare, Nuova Villa Claudia - Roma
6. Angiologia, Casa di cura privata Villalba (GVM) - Bologna
7. Università di Verona FR - Verona

“Position paper” patrocinato dalla SIDV e della SIMV

### Introduzione

Recenti studi hanno evidenziato in corso di malattia da COVID-19 può verificarsi una coagulopatia che, nei casi severi, può esitare in manifestazioni tromboemboliche quali l'embolia polmonare [Chen, 2020; Danzi, 2020; Xie Y, 2020] sino alla coagulazione intravascolare disseminata (CID) [Tang, 2020] con prognosi infausta per il paziente. Partendo dalle evidenze presenti in letteratura, lo scopo di questo articolo è analizzare i possibili meccanismi coinvolti nel processo coagulativo a seguito dell'infezione da COVID-19 e quali potrebbero essere le strategie terapeutiche vascolari da poter attuare.

**Infiammazione e coagulazione.** E' stata ampiamente dimostrata una correlazione tra infiammazione e coagulazione: l'infiammazione può portare a un'alterata coagulazione, con conseguente squilibrio tra lo stato pro- e anticoagulante [Goeijenbier, 2012]. Diverse citochine infiammatorie quali IL-6, IL-8, e il tumor necrosis factor- alpha (TNF- $\alpha$ ) promuovono uno stato pro-coagulante attraverso l'espressione del fattore tissutale con un meccanismo che comprende l'attivazione di cellule endoteliali, piastrine e leucociti [Branchford, 2018]. Inoltre, nella sepsi e in altre condizioni infiammatorie è stato evidenziato un aumentato rilascio di istoni e nucleosomi (DNA + istoni), elementi tossici per l'endotelio. In contrasto, la proteina C attivata inattiva gli istoni, proteggendo l'endotelio nel processo [Xu, 2010]. In risposta all'infezione vengono prodotte le fibre di DNA extracellulare espulse dai neutrofili (Neutrophil Extracellular Traps, NETs) per consentire ai neutrofili di intrappolare e distruggere i microrganismi invasori. I NETs stimolano la formazione e la deposizione di fibrina con lo scopo di intrappolare i microrganismi e controllare l'infezione [Esmon, 2011]. I NETs causano anche adesione piastrinica e in alcuni modelli sperimentali è stato dimostrato il collegamento con la trombosi venosa profonda [Fuchs, 2011].

Il D-dimero è un frammento della degradazione operata dalla plasmina a livello della fibrina stabilizzata. L'incremento del D-dimero si osserva in una serie di condizioni quali la trombosi, la coagulazione intravascolare disseminata e l'infiammazione [Li, 2019]. Il D-Dimero, inoltre, può promuovere la cascata infiammatoria attivando i neutrofili e i monociti, inducendo la secrezione di alcune citochine infiammatorie come IL-6 [Robson, 1994; Shorr, 2002].

**Coagulazione e infezione virale.** Una ridotta funzione piastrinica, così come la ridotta produzione o distruzione delle piastrine, è un fenomeno ben documentato in diverse infezioni virali. La trombocitopenia si verifica spesso sia nelle infezioni virali emorragiche che in quelle non emorragiche. Nella maggior parte dei casi, la trombocitopenia è causata da anticorpi autoimmuni contro le piastrine. Altri meccanismi comprendono la maggiore adesione e attivazione delle piastrine con conseguente consumo di piastrine e l'infezione del midollo osseo che colpisce direttamente i megacariociti e quindi la produzione di piastrine. Nell'infezione da SARS-CoV è stata descritta: una trombocitopenia causata da autoanticorpi [Wong, 2003], [Lee, 2003], [Chong, 2004], and [Hwang, 2005], la presenza di livelli elevati di fattore di von Willebrand nel sangue [Wu, 2006] e un'attivazione della cascata coagulativa con generazione finale di fibrina. I coaguli di fibrina negli alveoli sono una caratteristica importante dell'infezione da SARS-CoV nell'uomo e nei topi. L'obiettivo di questa risposta coagulativa è probabilmente quello di proteggere l'ospite sigillando gli alveoli, prevenendo l'edema e le emorragie alveolari, limitando però lo scambio di ossigeno [Gralinski, 2015].

**Marker di alterata coagulazione nell'infezione virale.** Uno stato procoagulativo si può evidenziare attraverso un aumento dei livelli delle proteine della coagulazione. Livelli aumentati di fibrinogeno, D-dimero, complessi di trombina - antitrombina e / o complessi di plasmina-alfa-2-antiplasmina e trombomodulina sono stati riscontrati nelle infezioni del tratto respiratorio, nell'influenza e nell'infezione da SARS-CoV. Inoltre, è stato evidenziato anche un aumento dei livelli di inibitore dell'attivatore del plasminogeno-1, suggestivo di alterata fibrinolisi [Goeijenbier, 2012]. Una recente di ricerca di Tang e collaboratori ha messo in evidenza in 15 soggetti (71.4%) deceduti per pneumopatia da COVID-19 un'alterazione dei parametri di laboratorio deponenti per CID secondo i criteri diagnostici della International Society on Thrombosis and Haemostasis [Tang, 2020-a]. In particolare, nella fase finale di malattia, gli autori riscontravano elevati livelli di D-dimero e prodotti della degradazione del fibrinogeno.

**Infezione virale e coagulopatia.** In diverse infezioni virali il quadro clinico dell'alterata coagulazione si manifesta con sanguinamento, trombosi o entrambi. Una risposta esagerata può persino portare a una coagulazione intravascolare disseminata con la formazione di trombi microvascolari in vari organi [Levi, 2007]. Le infezioni del tratto respiratorio aumentano il rischio di trombosi venosa profonda e di embolia polmonare [Smeeth, 2006]. Nell'epidemia di influenza H1N1 (influenza suina), sono state segnalate entrambe le complicanze trombotiche ed emorragiche quali trombosi venosa profonda, embolia polmonare ed emorragia polmonare con emottisi, ematemesi, rash petecchiale, e un caso di emorragia cerebrale petecchiale diffusa [Goeijenbier, 2012]. Nell'*influenza aviaria* (H5N1) è stata riportata in diversi pazienti il manifestarsi di coagulazione intravascolare disseminata, emorragia polmonare e trombocitopenia [Wiwanitkit, 2008]. Nell'epidemia di SARS dovuta a un coronavirus, il quadro clinico relativo alla coagulazione consisteva in danno endoteliale vascolare nei vasi polmonari di piccole e medie dimensioni, coagulazione intravascolare disseminata, trombosi venosa profonda e tromboembolia polmonare [Lee, 2003; Chong, 2004; Hwang, 2005].

In corso di pneumopatia da Covid-19, simili riscontri sono stati riportati da Tang e collaboratori. Secondo gli autori, in una fase avanzata della pneumopatia si instaurerebbe una coagulopatia da consumo indotta dalla sepsi e innescata dal rilascio di citochine a seguito della lesione endoteliale e dell'attivazione monocitaria con iperpressione di fattore tissutale, secrezione di fattore di von Willerbrand con eccessiva produzione finale di fibrina, attivazione piastrinica e stimolo della fibrinolisi [Tang, 2020-a].

### **Razionale dell'uso di eparine nell'infezione da Covid-19.**

Le eparine sono sostanze anticoagulanti utilizzate correntemente nella profilassi e nella terapia del tromboembolismo venoso e sono classificate in base al loro peso molecolare, che indica la grandezza della molecola (Alquwaizani, 2013). L'eparina esercita indirettamente le sue proprietà anticoagulanti legandosi reversibilmente con l'antitrombina III (AT) amplificandone il successivo effetto inibitorio sul fattore X attivato e sulla trombina (fattore Xa) [Brinkhous, 1939; Lindahl, 1979]. Per l'azione a livello della trombina è necessaria un'eparina contenente almeno 18 sequenze saccaridiche mentre il legame a livello dell'ATIII, che catalizza l'azione inibitoria a livello del fattore Xa, avviene grazie ad una peculiare sequenza pentasaccaridica [Lane, 1984]. Questa caratteristica è stata sfruttata dalla ricerca farmacologica per la realizzazione delle eparine a basso peso molecolare che, pertanto, non sono in grado di legare la trombina, ma solo il FXa (Hirsh J 2001).

Il Fondaparinux è un analogo sintetico della sequenza pentasaccaridica e rispetto all'eparina presenta un'emivita più lunga e non interagisce con le piastrine [Zhang, 2019]. Il Fondaparinux si lega selettivamente e irreversibilmente all' AT. Ciò si traduce in una neutralizzazione del fattore Xa, che alla fine inibisce la formazione di trombina e lo sviluppo del trombo. Tale molecola è attualmente indicata nella profilassi e trattamento del tromboembolismo venoso [Johnston, 2018].

L'eparina, usata clinicamente come anticoagulante, presenta anche proprietà antinfiammatorie [Mousavi, 2015]. Seppur ancora da chiarire completamente, alcuni dei meccanismi proposti includono il legame con le citochine infiammatorie, l'inibizione della chemiotassi dei neutrofili e la migrazione dei leucociti, la neutralizzazione del fattore C5a del complemento e il sequestro delle proteine della fase acuta quali P-selectina e L-selectina e l'induzione all'apoptosi cellulare attraverso i pathways del TNF- $\alpha$  and NF- $\kappa$ B [Oduah, 2016; Thachil J, 2020].

La cellula endoteliale, ubiquitaria nell'organismo, è spesso interessata dall'invasione patogena con conseguente disfunzione. Inoltre, anche gli istoni rilasciati dalle cellule danneggiate possono essere responsabili di lesione endoteliale [Xu J, 2009]. L'eparina può antagonizzare gli istoni e quindi "proteggere" l'endotelio [Iba T, 2015; Zhu C, 2019]. Un altro meccanismo è attraverso i suoi effetti sulla metilazione dell'istone e sui percorsi del segnale MAPK e NF- $\kappa$ B [Ma J, 2015]. Pertanto, l'eparina può influire sulla disfunzione microcircolatoria e possibilmente diminuire danno d'organo.

Un altro concetto interessante è il potenziale ruolo antivirale dell'eparina, oggetto di studio in modelli sperimentali. La natura polianionica dell'eparina consente alla stessa di legarsi a diverse proteine e quindi agire come efficace inibitore dell'adesione virale [Shukla D, 2001]. Ad esempio, nel caso di infezioni da virus dell'herpes simplex, l'eparina compete con il virus per le glicoproteine di superficie della cellula ospite per limitare l'infezione e nell'infezione da virus Zika previene la morte cellulare indotta da virus di cellule progenitrici neurali umane [Shukla D, 2001 ; Ghezzi S, 2017]. Inoltre, l'uso di eparina a una concentrazione di 100 mcg/mL ha dimezzato l'infezione in

cellule sperimentali contaminate con espettorato di un paziente con polmonite da SARS-CoV [Vincenzi E, 2004].

In un recentissimo lavoro consultabile online è stata utilizzata la risonanza plasmonica di superficie e il microismo circolare ed è stato dimostrato che il dominio di legame del recettore della proteina Spike S1 SARS- CoV-2 interagisce con l'eparina [https://www.biorxiv.org/content/10.1101/2020.02.29.971093v1.full].

Infine, nel recente report di Tang e collaboratori è stato evidenziato un outcome favorevole con l'utilizzo di EBPM nei pazienti gravi con COVID-19 che soddisfano i criteri SIC (coagulopatia indotta dalla sepsi) o con D-dimero marcatamente elevato [Tang N, 2020-b]. Su 99 pazienti trattati con eparina per almeno 7 giorni, nella quasi totalità dei pazienti (n=94) veniva utilizzato un dosaggio di 40/60 mg die di enoxaparina sottocute mentre in 5 pazienti era stata somministrata eparina non frazionata (10000-15000 U/die),

### **Considerazioni e possibili risvolti terapeutici**

Le crescenti evidenze pongono l'accento su un coinvolgimento dello spettro coagulativo su base infiammatoria nei pazienti con pneumopatia da COVID-19. Sebbene ancora i dati siano numericamente insufficienti a stabilire quale possa essere il regime terapeutico appropriato, si ritiene che l'aggiunta di eparina alla terapia standard utilizzata nell'infezione da COVID-19 possa avere un impatto positivo nella progressione della malattia.

I dati riportati evidenziano che nella maggioranza dei casi l'infezione ha decorso asintomatico. In questa popolazione non si ritiene necessario l'utilizzo di eparina. Tuttavia, in caso di comparsa e persistenza di sintomi respiratori, anche nei pazienti in isolamento presso il proprio domicilio, si ritiene utile iniziare una profilassi con eparina a basso peso molecolare (EBPM) o con Fondaparinux, quest'ultimo caratterizzati dalla copertura terapeutica nelle 24 h e la non interferenza con le piastrine. Qualora il paziente dovesse sviluppare un progressivo peggioramento della sintomatologia respiratoria in associazione all'incremento dei marker di coagulazione, la terapia con EBPM andrebbe effettuata a dosi terapeutiche/sub-terapeutiche tenendo in considerazione le caratteristiche cliniche del soggetto e la cinetica farmacologica. Negli stati avanzati, dal momento che si verifica una potente generazione intravascolare di trombina, vi potrebbe essere un ruolo dell'eparina non frazionata. In questi pazienti, inoltre, è necessario un attento monitoraggio dei parametri della coagulazione a causa della possibile evoluzione in CID nella fase finale della malattia [Tang 2020-a].

### **Referenze**

Alquwaizani M, Buckley L, Adams C, Fanikos J. Anticoagulants: A Review of the Pharmacology, Dosing, and Complications. *Curr Emerg Hosp Med Rep* 2013; 1, 83–97.

Branchford BR, Carpenter SL. The Role of Inflammation in Venous Thromboembolism. *Front Pediatr* 2018; 6: 142.

Brinkhous K, Smith H, Warner E, Seegers W. The Inhibition of Blood Clotting: An Unidentified Substance Which Acts in Conjunction with Heparin to Prevent the Conversion of Prothrombin into Thrombin. *Am J Physiol* 1939; 125: 683–687.

Chen, Jianpu and Wang, Xiang and Zhang, Shutong and Liu, Bin and Wu, Xiaoqing and Wang, Yanfang and Wang, Xiaoqi and Yang, Ming and Sun, Jianqing and Xie, Yuanliang, Findings of Acute Pulmonary Embolism in COVID-19 Patients (3/1/2020). Available at SSRN: <https://ssrn.com/abstract=3548771> or <http://dx.doi.org/10.2139/ssrn.3548771>

Chong PY, Chui P, Ling AE, Franks TJ, Tai DY, Leo YS, Kaw GJ, Wansaicheong G, Chan KP, Ean Oon LL, Teo ES, Tan KB, Nakajima N, Sata T, Travis WD. Analysis of deaths during the severe acute respiratory syndrome (SARS) epidemic in Singapore: Challenges in determining a SARS diagnosis. *Arch Pathol Lab Med* 2004; 128:195–204.

Danzi GB, Loffi M, Galeazzi G, Gherbesi E. Acute pulmonary embolism and COVID-19 pneumonia: a random association? *Eur Heart J*. 2020 Mar 30. [Epub ahead of print]

Esmon CT, Xu J, Lupu F. Innate immunity and coagulation. *J Thromb Haemost* 2011; 9:182– 8.

Fuchs TA, Brill A, Wagner DD. Neutrophil extracellular trap (NET) impact on deep vein thrombosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2012; 32:1777–83.

Hwang DM, Chamberlain DW, Poutanen SM, Low DE, Asa SL, Butany J. Pulmonary pathology of severe acute respiratory syndrome in Toronto. *Mod Pathol* 2005; 18:1–10.

Iba T, Hashiguchi N, Nagaoka I, Tabe Y, Kadota K, Sato K. Heparins attenuated histone-mediated cytotoxicity in vitro and improved the survival in a rat model of histone-induced organ dysfunction. *Intensive Care Med Exp* 2015; 3:36.

Johnston A, Hsieh SC, Carrier M, Kelly SE, Bai Z, Skidmore B, et al. A systematic review of clinical practice guidelines on the use of low molecular weight heparin and fondaparinux for the treatment and prevention of venous thromboembolism: implications for research and policy decision- making. *PLoS One* 2018; 13:e0207410.

Lane DA, Denton J, Flynn AM, Thunberg L, Lindahl U. Anticoagulant Activities of Heparin Oligosaccharides and Their Neutralization by Platelet Factor 4. *Biochem J* 1984; 218:725–732.

Lee N, Hui D, Wu A, Chan P, Cameron P, Joynt GM, Ahuja A, Yung MY, Leung CB, To KF, Lui SF, Szeto CC, Chung S, Sung JJ. 2003. A major outbreak of severe acute respiratory syndrome in Hong Kong. *N Engl J Med* 348:1986–1994.

Li J, Hara H, Wang Y, Esmon C, Cooper DKC, Iwase H. Evidence for the important role of inflammation in xenotransplantation. *J Inflamm (Lond)* 2019; 16:10.

Lindahl U, Bäckström G, Höök M, Thunberg L, Fransson LA, Linker A. Structure of the Antithrombin-Binding Site in Heparin. *Proc Natl Acad Sci USA* 1979; 76:3198–3202.

Ghezzi S, Cooper L, Rubio A, Pagani I, Capobianchi MR, Ippolito G, et al. Heparin prevents Zika virus induced-cytopathic effects in human neural progenitor cells. *Antiviral Res* 2017; 140:13-17.

Goeijenbier M, van Wissen M, van de Weg C, Jong E, Gerdes VE, Meijers JC, Brandjes DP, van Gorp EC. Review: Viral infections and mechanisms of thrombosis and bleeding. *J Med Virol* 2012; 84:1680-96.

Gralinski LE, Baric RS. Molecular pathology of emerging coronavirus infections. *J Pathol* 2015; 235:185-95.

Hirsh J, Warkentin TE, Shaughnessy SG, Anand SS, Halperin JL, Raschke R, Granger C, Ohman EM, Dalen JE. Heparin and low-molecular-weight heparin: mechanisms of action, pharmacokinetics, dosing, monitoring, efficacy, and safety. *Chest* 2001; 119:64S-94S.

Levi M. Disseminated intravascular coagulation. *Crit Care Med* 2007; 35:2191–2195.

Ma J, Bai J. Protective effects of heparin on endothelial cells in sepsis. *Int J Clin Exp Med* 2015; 8:5547-52.

Mousavi S, Moradi M, Khorshidahmad T, Motamedi M. Anti-Inflammatory Effects of Heparin and Its Derivatives: A Systematic Review. *Adv Pharmacol Sci* 2015; 2015:507151. doi:

Oduah EI, Linhardt RJ, Sharfstein ST. Heparin: Past, Present, and Future. *Pharmaceuticals* 2016; 9

Robson SC, Shephard EG, Kirsch RE, et al. Fibrin degradation product D-dimer induces the synthesis and release of biologically active IL-1 beta, IL-6 and plasminogen activator inhibitors from monocytes in vitro. *Br J Haematol* 1994; 86:322–6.

Smeeth L, Cook C, Thomas S, Hall AJ, Hubbard R, Vallance P. Risk of deep vein thrombosis and pulmonary embolism after acute infection in a community setting. *Lancet* 2006; 367:1075–1079.

Shorr AF, Thomas SJ, Alkins SA, et al. D-dimer correlates with proinflammatory cytokine levels and outcomes in critically ill patients. *Chest* 2002; 121:1262–8.

Shukla D, Spear PG. Herpesviruses and heparan sulfate: an intimate relationship in aid of viral entry. *J Clin Invest* 2001; 108:503-10.

Tang N, Li D, Wang X, Sun Z. Abnormal coagulation parameters are associated with poor prognosis in patients with novel coronavirus pneumonia. *J Thromb Haemost* 2020; 18:844-847. (a)

Tang N, Bai H, Chen X, Gong J, Li D, Sun Z. Anticoagulant treatment is associated with decreased mortality in severe coronavirus disease 2019 patients with coagulopathy. *J Thromb Haemost* 2020 [Epub ahead of print] (b)

Thachil J. The versatile heparin in COVID-19. *J Thromb Haemost* 2020 [Epub ahead of print]

Vicenzi E, Canducci F, Pinna D, Mancini N, Carletti S, Lazzarin A, et al. Coronaviridae and SARS-associated coronavirus strain HSR1. *Emerg Infect Dis* 2004; 10:413-8.

Wiwanitkit V. Hemostatic disorders in bird flu infection. *Blood Coagul Fibrinolysis* 2008; 19:5–6.

Wong RS, Wu A, To KF, Lee N, Lam CW, Wong CK, Chan PK, Ng MH, Yu LM, Hui DS, Tam JS, Cheng G, Sung JJ. Haematological manifestations in patients with severe acute respiratory syndrome: Retrospective analysis. *BMJ* 2003; 326:1358–1362.

Wu YP, Wei R, Liu ZH, Chen B, Lisman T, Ren DL, Han JJ, Xia ZL, Zhang FS, Xu WB, Preissner KT, de Groot PG. Analysis of thrombotic factors in severe acute respiratory syndrome (SARS) patients. *Thromb Haemost* 2006; 96:100–101.

Xie Y, Wang X, Yang P, Zhang S. COVID-19 Complicated by Acute Pulmonary Embolism. *Radiology: Cardiothoracic Imaging* 2020; 2.

Xu J, Zhang X, Pelayo R, Monestier M, Ammollo CT, Semeraro F, et al. Extracellular histones are major mediators of death in sepsis. *Nat Med* 2009; 15:1318-21.

Xu J, Lupu F, Esmon CT. Inflammation, innate immunity and blood coagulation. *Hamostaseologie* 2010; 30:5-9.

Zhang Y, Zhang M, Tan L, Pan N, Zhang L. The clinical use of Fondaparinux: A synthetic heparin pentasaccharide. *Prog Mol Biol Transl Sci* 2019; 163:41-53.

Zhu C, Liang Y, Li X, Chen N, Ma X. Unfractionated heparin attenuates histone-mediated cytotoxicity in vitro and prevents intestinal microcirculatory dysfunction in histone-infused rats. *J Trauma Acute Care Surg* 2019; 87:614-622.