

COVID-19

# SARS-COV-2 ED ENDOTELIO: UNA INTERAZIONE CATASTROFICA

## SARS-CoV-2 and endothelium: a catastrophic interaction

VANESSA BIANCONI, ELENA COSENTINI, FILIPPO FIGORILLI,  
MASSIMO R. MANNARINO

*Struttura Complessa Medicina Interna, Dipartimento di Medicina e Chirurgia,  
Università degli Studi di Perugia*

### SUMMARY

Although it begins as a disease of the respiratory system, in some cases the SARS-CoV-2 infection can evolve as a multisystem disease with various manifestations of life-threatening organ damage. Endothelial dysfunction appears to play a crucial role in the clinical progression of SARS-CoV-2 infection. In particular, the current evidence regarding the interaction between SARS-CoV-2 infection and endothelium suggests, on the one hand, that endothelial dysfunction may be a consequence of the infection, secondary to the direct cytopathic effect of the virus and to the harmful effects of the immune-inflammatory response against infection, and, on the other hand, that the endothelial dysfunction itself, favoring the dysregulation of the immune-inflammatory response and coagulation homeostasis, may have an active role in promoting the evolution of the infection towards its most clinically severe forms. It therefore seems that endothelial dysfunction is at the center of a vicious circle capable of fueling pathophysiological processes that can ultimately lead to generalized microcirculatory incompetence, negatively affecting the prognosis of the infection. This review examines the mechanisms underlying the pathophysiological link between SARS-CoV-2 infection and endothelial dysfunction and discusses the role of endothelial dysfunction as a potential prognostic marker and therapeutic target in SARS-CoV-2 infection.

**Keywords:** SARS-CoV-2, COVID-19, infection, endothelium, endothelial dysfunction.

### *Indirizzo per la corrispondenza*

Vanessa Bianconi  
Dipartimento di Medicina e Chirurgia  
Università degli Studi di Perugia  
Piazzale Menghini, 1 - 06132 Perugia  
E-mail: vanessa.bianconi@unipg.it

### Introduzione

L'infezione da SARS-CoV-2 o *coronavirus disease 2019* (COVID-19), descritta per la prima volta nel dicembre 2019, rappresenta ancora oggi una causa rilevante di ospedalizzazione e mortalità su scala mondiale, nonostante l'ampia disponibilità di vaccini neutralizzanti e la diffusione di va-

### Elenco degli argomenti trattati

- La disfunzione endoteliale svolge un ruolo fisiopatologico cruciale nell'infezione da SARS-CoV-2.
- Diversi marcatori di disfunzione endoteliale hanno un significativo potere prognostico nei confronti degli *outcome* clinici di disfunzione endoteliale.
- Alcune strategie terapeutiche con azione endotelio-protettiva sembrano avere un significativo ruolo coadiuvante nel trattamento dell'infezione da SARS-CoV-2.

rianti del virus con ridotta trasmissibilità e patogenicità (1, 2). Sebbene esordisca di fatto come un'infezione delle vie respiratorie, nelle sue forme clinicamente più gravi può presentarsi come una patologia multisistemica con variabile coinvolgimento extra-polmonare (3).

Secondo le evidenze emergenti, un possibile substrato fisiopatologico comune alle molteplici manifestazioni cliniche della malattia è rappresentato dalla disfunzione endoteliale. Da un lato, l'endotelio risulta infatti un possibile bersaglio dell'infezione da SARS-CoV-2. In particolare, quest'ultima sembra in grado di determinare la perdita dell'integrità anatomica e funzionale dell'endotelio attraverso una serie complessa di eventi, che comprendono l'effetto citopatico diretto del virus e gli effetti negativi indotti a livello dell'endotelio stesso dall'attivazione della risposta immuno-infiammatoria contro l'infezione (4, 5). Al tempo stesso però, l'endotelio danneggiato e disfunzionale, promuovendo l'attivazione della cascata coagulativa e favorendo a sua volta una risposta immuno-infiammatoria abnorme e disregolata, sembra anche svolgere un ruolo attivo nel promuovere l'evoluzione dell'infezione verso le sue forme clinicamente più gravi (4, 5). Risulta pertanto verosimile l'esistenza di una relazione bidirezionale tra disfunzione endoteliale e COVID-19, potenzialmente in grado di alimentare un circolo vizioso che alla fine può condurre ad incom-

petenza funzionale del microcircolo e danno d'organo multisistemico.

Alla luce di tali presupposti fisiopatologici, è emerso un crescente interesse verso il potenziale ruolo prognostico di diversi marcatori di disfunzione endoteliale nei confronti dell'evoluzione clinica dell'infezione (6). Al tempo stesso è stata rivolta grande attenzione all'identificazione di strategie endotelio-protettive potenzialmente utili nel trattamento dell'infezione (4, 5).

In questa rassegna vengono esaminati i meccanismi biologici sottostanti il nesso fisiopatologico tra disfunzione endoteliale e COVID-19, viene discussa la potenziale utilità prognostica di diversi marcatori di disfunzione endoteliale, e vengono illustrate le più attuali evidenze circa l'impatto clinico di alcune strategie terapeutiche potenzialmente in grado di mitigare la disfunzione endoteliale in corso di infezione da SARS-CoV-2.

### Anatomia e fisiologia dell'endotelio

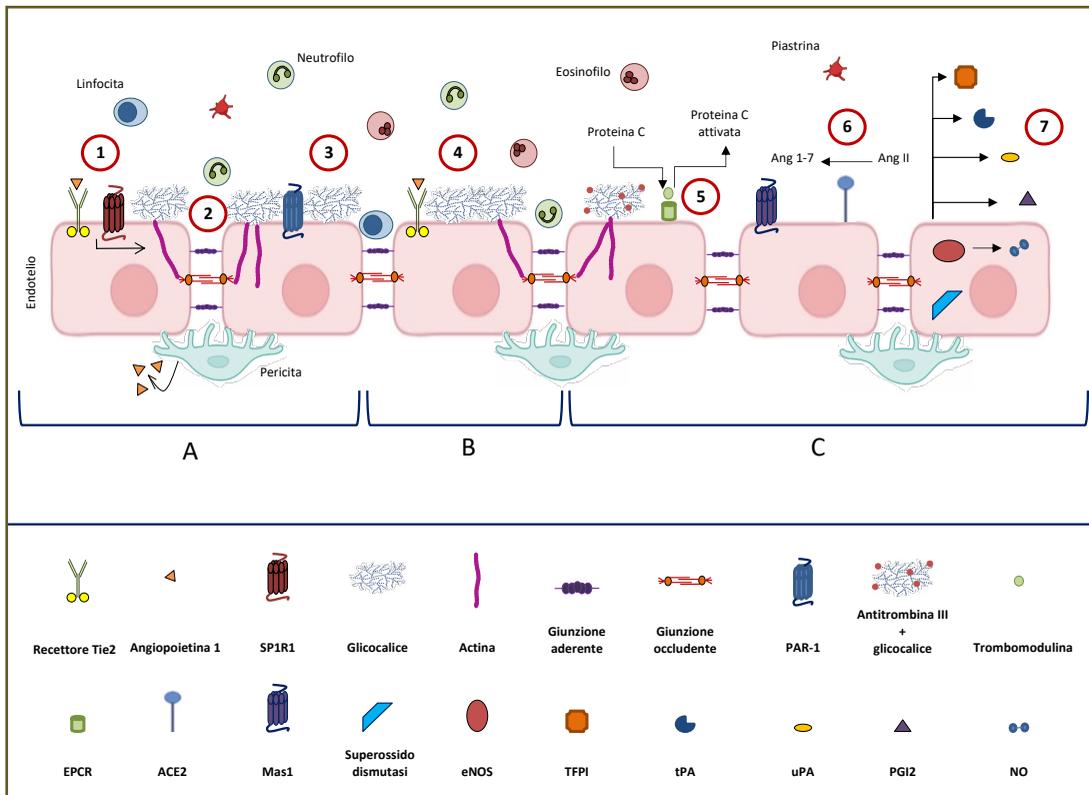
In condizioni fisiologiche, l'endotelio costituisce un'estesa interfaccia anatomica tra il circolo ematico e i diversi tessuti; si stima che lo strato di cellule endoteliali che riveste il lume di arterie, vene e capillari misuri in totale circa 7.000 m<sup>2</sup> di superficie in un soggetto adulto (7). Al tempo stesso l'endotelio rappresenta un importante regolatore di diversi meccanismi omeostatici dell'organismo (*e.g.*, equilibrio tra stimoli proinfiammatori e antinfiammatori, protrombotici ed antitrombotici, vasodilatatori e vasoconstrictori, ossidanti ed antiossidanti) (4, 5) (*Figura 1*).

L'integrità della barriera endoteliale è garantita dalla stretta adesione tra le cellule endoteliali principalmente attraverso le giunzioni intercellulari, il glicocalice e i recettori Tie2. Le due principali tipologie di giunzioni intercellulari che permettono la

connessione tra le cellule endoteliali sono:

- 1) le giunzioni aderenti endotelio-specifiche, costituite dalle caderine dell'endotelio vascolare (VE-caderine);
- 2) le giunzioni occludenti, costituite da specifiche proteine integrali di membrana (*i.e.*, claudine e occludine) (7).

Il glicocalice è un reticolo molecolare di circa 400 nm di spessore che riveste la superficie dell'endotelio, costituito da proteoglicani e glicosaminoglicani secreti dalle cellule endoteliali. Esso rappresenta un ostacolo per l'adesione di molecole circolanti alla superficie endoteliale oltre che



**Figura I** - Anatomia e fisiologia dell'endotelio.

**Pannello A.** La funzione di barriera dell'endotelio è mediata da diverse molecole. Le vie del segnale attivate da SP1R1, PAR-1 e recettori Tie2 promuovono stimoli endotelio-protettivi contribuendo all'integrità endoteliale (1). Le giunzioni aderenti e le giunzioni occludenti garantiscono la coesione intercellulare (2). Il glicocalice, composto da un intreccio di proteoglicani e glicosaminoglicani, limita il contatto tra molecole plasmatiche ed endotelio e al tempo stesso stabilizza il citoscheletro della cellula endoteliale (3). **Pannello B.** La funzione immunoregolatoria dell'endotelio è principalmente mediata dai recettori Tie2, che inibiscono il segnale a cascata di NF- $\kappa$ B, STAT3, MyD88, e MAPK, contrastando la produzione di mediatori pro-infiammatori (4). **Pannello C.** L'endotelio promuove l'omeostasi coagulativa attraverso l'attivazione dell'antitrombina III da parte del glicocalice, l'attivazione della proteina C da parte della trombomodulina legata ad EPCR (5), e l'attivazione del segnale antitrombotico di Mas1 sotto lo stimolo di Ang 1-7, a sua volta risultante dalla conversione di Ang II da parte di ACE2 (6). L'endotelio produce inoltre numerosi fattori implicati nel processo di fibrinolisi (*i.e.*, TFPI, tPA, uPA, e PGI<sub>2</sub>), nella regolazione della vasodilatazione (*i.e.*, NO), e dell'equilibrio tra ossidazione e antiossidazione (*i.e.*, superossido dismutasi) (7).

**Acronimi.** ACE2, angiotensin-converting enzyme 2; Ang 1-7, angiotensin (1-7); Ang II, angiotensina II; eNOS, endothelial nitric oxide synthase; EPCR, endothelial protein C receptor; NF- $\kappa$ B, nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells; NO, ossido nitrico; PAR-1, protease-activated receptor-1; PGI<sub>2</sub>, prostaglandina I<sub>2</sub>; SP1R1, sphingosine-1-phosphate receptor 1; TFPI, tissue factor pathway inhibitor; tPA, tissue plasminogen activator; uPA, urokinase plasminogen activator.

per la permeabilità transendoteliale di proteine plasmatiche e liquidi; inoltre, può fungere da meccanocettore in grado di promuovere, sotto lo stimolo del flusso ematico, la riorganizzazione citoscheletrica delle cellule endoteliali e la conseguente attivazione di vie di segnale intracellulari con azione citoprotettiva (8).

I recettori Tie2, sotto lo stimolo di angiopoietina-1, attivano vie del segnale che portano alla stabilizzazione delle giunzioni intercellulari e dei filamenti di actina in prossimità della superficie citoplasmatica della cellula endoteliale, svolgendo anch'essi un ruolo fondamentale nel mantenimento dell'integrità della barriera endoteliale (9). Analogamente, l'attivazione di altri recettori espressi sulla superficie delle cellule endoteliali [e.g., *protease activated receptor type 1* (PAR-1) e *sphingosine-1-phosphate receptor 1* (SP1R1)] concorre a garantire l'integrità delle cellule endoteliali attraverso l'induzione di diversi meccanismi molecolari endotelio-protettivi (10, 11).

La funzione immunomodulante e antinfiammatoria svolta dall'endotelio anatomicamente integro e funzionalmente sano è mediata da diverse molecole di superficie, tra cui i proteoglicani del glicocalice e i recettori Tie2 (12). In particolare, le molecole del glicocalice costituiscono una barriera che limita l'interazione tra i mediatori dell'infiammazione e i leucociti circolanti da un lato e la cellula endoteliale dall'altro. Invece, i recettori Tie2, sotto lo stimolo di angiopoietina-1, attivano vie del segnale che portano ad una ridotta espressione di mediatori dell'infiammazione.

Alla base dell'omeostasi coagulativa promossa dall'endotelio vi sono una serie di complesse interazioni tra molecole della superficie endoteliale e proteine plasmatiche. Nel dettaglio, il glicocalice, composto da diversi proteoglicani, tra cui l'eparan solfato, è in grado di legare e attivare l'an-

titrombina III, esercitando un'azione antitrombotica (12). L'attivazione dei recettori Tie2 da parte di angiopoietina-1 determina ridotta espressione e attività del fattore tissutale (TF), potente agente pro-trombotico (12). L'interazione tra trombomodulina ed *endothelial cell protein C receptor* (EPCR) facilita la conversione della proteina C nella sua forma attivata, promuovendo l'attivazione dell'asse antitrombotico proteina C-proteina S (12). Il recettore *angiotensin-converting enzyme 2* (ACE2) determina la conversione di angiotensina II (Ang II) in angiotensina (1-7) che a sua volta attiva il recettore Mas1, inducendo un'azione antitrombotica (13).

L'endotelio produce inoltre una serie di molecole coinvolte nella regolazione della fibrinolisi, tra cui *tissue factor pathway inhibitor* (TFPI) (14), *tissue plasminogen activator* (tPA) e *urokinase plasminogen activator* (uPA) (15).

Al tempo stesso, l'attività delle cellule endoteliali è cruciale nell'inibizione dell'attivazione piastrinica attraverso diversi meccanismi, tra cui l'espressione di CD39 e la secrezione di prostaglandina I<sub>2</sub> (PGI<sub>2</sub>) (12).

Altre importanti funzioni fisiologiche dell'endotelio includono la regolazione dell'equilibrio tra vasocostrizione e vasodilatazione arteriosa e la regolazione dell'equilibrio tra stress ossidativo e anti-ossidazione. In particolare, in condizioni omeostatiche le cellule endoteliali promuovono la vasodilatazione tonica delle arterie attraverso la conversione di L-arginina in ossido nitrico (NO) mediata dall'enzima *endothelial nitric oxide synthase* (eNOS) (4, 5). Inoltre, producono e secernono PGI<sub>2</sub> che, oltre ad esercitare un'azione antiaggregante, agisce anche come un potente stimolo vasodilatatorio. Al tempo stesso, esprimono enzimi che hanno un ruolo chiave nella neutralizzazione delle specie reattive dell'ossigeno, come superossido dismutasi,

glutazione perossidasi ed eme ossigenasi (4, 5).

### Relazione tra infezione da SARS-CoV-2 e disfunzione endoteliale

La relazione tra infezione da SARS-CoV-2 e disfunzione endoteliale sembra complessa e i meccanismi biologici che ne sono alla base risultano molteplici.

In primo luogo, l'endotelio sembra subire un danno diretto da parte di SARS-CoV-2. Come ormai noto, l'ingresso del virus nelle cellule bersaglio è mediato dal recettore ACE2 e dal corecettore *transmembrane serine protease 2* (TMPRSS2), entrambi espressi anche a livello delle cellule endoteliali (16). Sebbene alcuni studi suggeriscano che l'espressione di tali recettori sulla superficie delle cellule endoteliali sia insufficiente a mediare l'infezione delle cellule endoteliali da parte di SARS-CoV-2 (4), mettendo quindi in dubbio che l'endotelio possa rappresentare un bersaglio dell'infezione da SARS-CoV-2, altri studi dimostrano invece la capacità del virus di infettare attivamente le cellule endoteliali. In particolare, studi di microscopia elettronica condotti su campioni istologici di polmoni ottenuti da pazienti deceduti per COVID-19 hanno dimostrato la presenza di particelle di SARS-CoV-2 all'interno delle cellule endoteliali peri-alveolari (4). Inoltre, è stata dimostrata la presenza di RNA virale all'interno delle cellule endoteliali di capillari umani di organi esposti a SARS-CoV-2 (4). Non è da escludere quindi che l'infezione delle cellule endoteliali da parte di SARS-CoV-2 possa essere mediata anche da recettori diversi da ACE2 e TMPRSS2 [e.g., neuropilina 1 (NRP1), *scavenger receptor class B type 1* (SR-B1) e CD147] (4). Inoltre, è verosimile che la liberazione in circolo di *pathogen associated molecular patterns* (PAMPs), composti da frammenti

di RNA e proteine virali, possa portare all'attivazione di diversi *toll-like-receptors* (TLRs) e *NOD-like receptors* (NLRs) presenti sulla superficie delle cellule endoteliali, attivando la via del segnale di *nuclear factor kappa-B* (NF- $\kappa$ B) che ha un ruolo cruciale nell'induzione della disfunzione endoteliale (4).

In secondo luogo, numerose evidenze suggeriscono che la disfunzione endoteliale che si osserva in corso di infezione da SARS-CoV-2 possa essere una conseguenza della risposta immuno-infiammatoria indotta dall'infezione stessa. In corso di infezione da SARS-CoV-2, l'attivazione della risposta immunitaria può infatti esporre l'endotelio all'azione di diverse citochine pro-infiammatorie le quali possono indurre attivazione endoteliale [aumentata espressione di molecole di adesione quali *intercellular adhesion molecule 1* (ICAM-1), *vascular cell adhesion protein 1* (VCAM-1), P-selectina ed E-selectina), che a sua volta può facilitare la chemiotassi e l'extravasazione leucocitaria (5). Inoltre, in presenza di stimoli infiammatori i recettori Tie2 inibiscono le vie del segnale che regolano negativamente l'espressione di fattori di trascrizione pro-infiammatori come NF- $\kappa$ B (17). Complessivamente, ne deriva la perdita della capacità fisiologica dell'endotelio di contrastare l'infiammazione. Al tempo stesso l'infiammazione può indurre a livello delle cellule endoteliali una ridotta espressione e/o attività dell'enzima eNOS, una rapida inattivazione di NO ed una accentuata conversione di NO in perossinitrato, un potente pro-ossidante (4, 5); tutto ciò si può tradurre nella perdita delle diverse funzioni omeostatiche dell'endotelio mediate da NO. Inoltre, diversi stimoli infiammatori promuovono l'attivazione della via classica del complemento che a sua volta aumenta l'espressione del fattore di von Willebrand (vWF) a livello delle cellule en-

doteliali, favorendo la disregolazione dell'omeostasi coagulativa (4, 5). Per di più, l'attivazione dei recettori Tie2 da parte di angiopoietina 2, la cui espressione è aumentata in corso di infiammazione, contribuisce a determinare un fenotipo endoteliale pro-trombotico (4, 5). Infine, la reiterata esposizione delle cellule endoteliali a stimoli infiammatori ne può indurre danno e morte per piroptosi, compromettendo la funzione di barriera dell'endotelio (4).

Numerose evidenze suggeriscono però che la disfunzione endoteliale possa a sua volta favorire i meccanismi fisiopatologici che determinano l'evoluzione dell'infezione da SARS-CoV-2 verso le sue forme clinicamente più gravi (4, 5). Le cellule endoteliali attivate dagli stimoli infiammatori possono infatti a loro volta secernere citochine proinfiammatorie contribuendo a promuovere una risposta immunitaria abnorme e non controllata (4, 5). Per di più il rilascio in circolo di *damage-associated molecular patterns* (DAMPs), costituiti da frammenti di cellule endoteliali, promuove l'attivazione della via del segnale di NF- $\kappa$ B, che ha un ruolo cruciale nell'attivazione della risposta infiammatoria (4). Inoltre, l'accumularsi di neutrofilii nel sito di infiammazione, facilitato dalla disfunzione endoteliale, si può associare ad un abbondante rilascio di *neutrophil extracellular traps* (NETs) nell'ambiente extracellulare (4, 5); tali agglomerati di materiale nucleare e proteine citoplasmatiche sono in grado di esercitare una significativa azione pro-infiammatoria e pro-trombotica risultando determinanti nell'induzione della cosiddetta immunotrombosi, tappa fisiopatologica cruciale nell'evoluzione clinica dell'infezione da SARS-CoV-2 nelle sue forme clinicamente più gravi (18).

Alla luce di quanto detto risulta plausibile che la relazione tra infezione da SARS-CoV-2 e disfunzione endoteliale sia bidire-

zionale e che possa promuovere un circolo vizioso potenzialmente in grado di esitare in disfunzione microcircolatoria generalizzata e danno d'organo multisistemico.

### **Disfunzione endoteliale e manifestazioni cliniche dell'infezione da SARS-CoV-2**

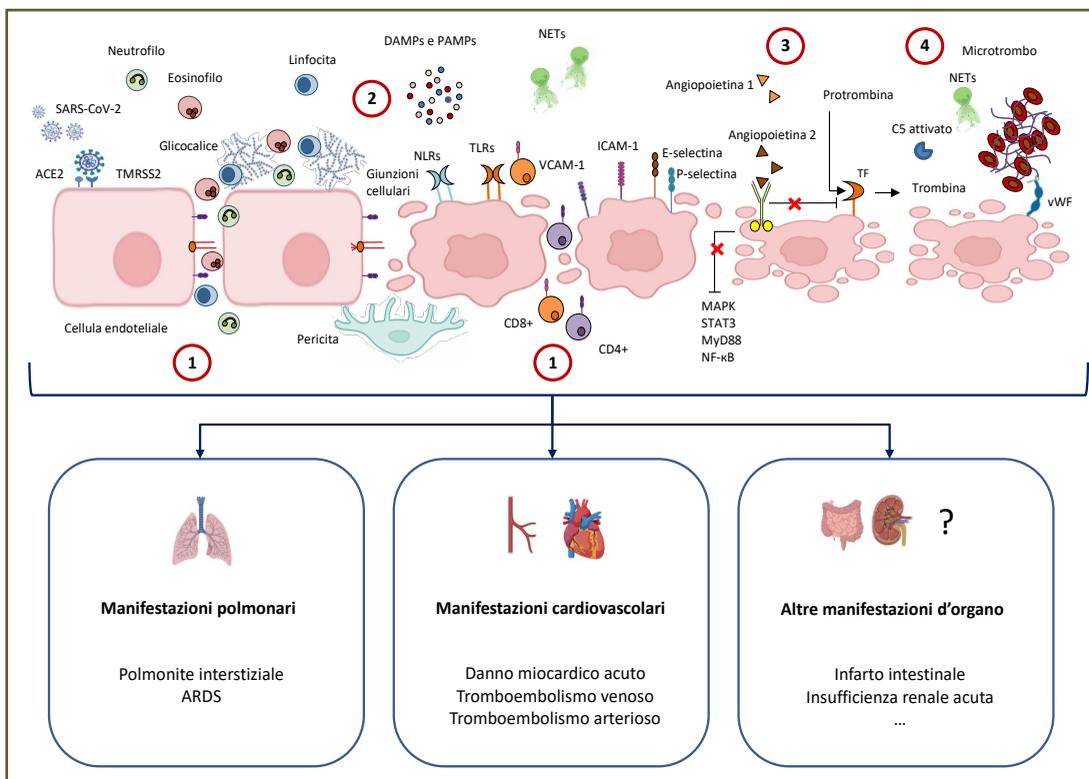
L'infezione da SARS-CoV-2 presenta un'ampia varietà di possibili manifestazioni cliniche polmonari ed extra-polmonari, con uno spettro di gravità estremamente eterogeneo che va dall'infezione asintomatica a forme potenzialmente fatali quali l'*acute distress respiratory syndrome* (ARDS) e l'insufficienza multiorgano. Secondo le linee guida per la gestione clinica del COVID-19 proposte dal *National Institute of Health* (NIH) si possono distinguere cinque fenotipi di gravità clinica della malattia (*i.e.*, forma asintomatica, forma lieve, forma moderata, forma grave, e forma critica) a seconda della presenza e dell'entità di segni clinici, laboratoristici e radiologici di polmonite e danno d'organo multisistemico (3).

Sebbene molti aspetti biologici dell'infezione da SARS-CoV-2 restino ancora dubbi, numerosi studi hanno permesso di raggiungere un'approfondita comprensione del ruolo della disfunzione endoteliale nel condizionare la presentazione clinica dell'infezione (19). In particolare, le evidenze disponibili suggeriscono che la compromissione dell'integrità anatomica e funzionale dell'endotelio possa rappresentare un momento cruciale nella transizione dell'infezione da SARS-CoV-2 verso forme cliniche gravi/critiche con manifestazioni multisistemiche (20).

A livello polmonare, la compromissione microcircolatoria promossa dall'interazione sfavorevole tra infezione e disfunzione endoteliale si può tradurre in microtrom-

bosi capillare e danno della barriera alveolo-capillare, con accumulo di essudato inizialmente a livello interstiziale e successivamente anche a livello alveolare. Il correlato clinico-radiologico di tali alterazioni è rappresentato inizialmente dalla comparsa di polmonite interstiziale e successivamente dalla comparsa di addensamenti bilaterali multifocali e ARDS (12) (Figura 2).

A livello dell'apparato cardiovascolare il danno anatomico e l'incompetenza funzionale dell'endotelio conseguenti all'infezione da SARS-CoV-2 possono concretizzarsi in danno miocardico acuto (Figura 2). La disfunzione microcircolatoria a livello miocardico e la destabilizzazione delle lesioni aterosclerotiche nel distretto coronarico sono due dei principali meccanismi endotelio-



**Figura 2** - Relazione tra infezione da SARS-CoV-2 e disfunzione endoteliale. Il danno citopatico prodotto dal virus e l'attivazione della risposta infiammatoria contro l'infezione facilitano l'attivazione delle cellule endoteliali oltre che la perdita dell'integrità endoteliale e l'aumento della permeabilità vascolare, promuovendo l'extravasazione leucocitaria (1). Il rilascio di PAMPs e DAMPs promuove l'attivazione di TLRs e NLRs, che a loro volta inducono la risposta immuno-infiammatoria (2). L'inattivazione dei recettori Tie2 mediata dal legame con angiotensina 2 esita nell'inibizione di segnali antitrombotici ed antinfiammatori (3). L'endotelio disfunzionante si caratterizza per un'aumentata espressione vWf, il quale contribuisce insieme ad altri mediatori (*i.e.*, NETs e C5 attivato) alla formazione di microtrombi (4).

**Acronimi.** ACE2, angiotensin-converting enzyme 2; ARDS, acute respiratory distress syndrome; DAMPs, damage-associated molecular patterns; ICAM-1, intercellular adhesion molecule 1; MAPK, mitogen-activated protein kinase; MyD88, myeloid differentiation primary response 88; NF-κB, nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells; NETs, neutrophil extracellular traps; NLRs, NOD-like receptors; PAMPs, pathogen-associated molecular pattern molecules; STAT3, signal transducer and activator of transcription 3; TF, fattore tissutale; TLRs, Toll-like receptor; TMRSS, transmembrane serine protease 2; VCAM-1, vascular cell adhesion protein 1; vWf, fattore di von Willebrand.

dipendenti coinvolti in questa forma di danno d'organo. Alla stessa possono concorrere però anche altri meccanismi fisiopatologici, come la discrepanza tra rifornimento e fabbisogno di ossigeno a livello miocardico, la cardiomiopatia da stress e l'infezione diretta dei miocardiociti da parte di SARS-CoV-2 (12).

Le complesse alterazioni della funzione endoteliale che si verificano in corso di infezione da SARS-CoV-2 possono inoltre determinare un'aumentata suscettibilità a manifestazioni tromboemboliche arteriose e venose. Il tromboembolismo venoso, in particolare, si presenta come una condizione clinica estremamente prevalente nei pazienti ospedalizzati per infezione da SARS-CoV-2 (10-15% dei casi), e ancor più in coloro che accedono in unità di terapia intensiva (20-30% dei casi) (12).

In generale, in corso di infezione da SARS-CoV-2 l'incompetenza funzionale del microcircolo e gli eventi microtrombotici che ne conseguono, possono interessare pressoché tutti i distretti corporei, determinando un danno d'organo di entità proporzionale all'estensione del territorio vascolare coinvolto (*Figura 2*). Tra i distretti spesso interessati vi sono anche il rene e l'intestino, a livello dei quali l'incompetenza funzionale del microcircolo può manifestarsi rispettivamente con insufficienza renale acuta ed infarto intestinale (12).

### **Significato clinico dei marcatori di disfunzione endoteliale nell'infezione da SARS-CoV-2**

Le evidenze circa il cruciale ruolo fisiopatologico dell'endotelio nell'infezione da SARS-CoV-2 hanno alimentato un significativo interesse verso l'identificazione di marcatori clinici di disfunzione endoteliale (parametri laboratoristici e strumentali) in grado di stratificare la gravità e pre-

dire la prognosi intra-ospedaliera dell'infezione stessa, orientandone potenzialmente anche la gestione terapeutica.

Tra i biomarcatori sierici di disfunzione endoteliale più studiati nel contesto clinico dell'infezione da SARS-CoV-2 vi sono l'antigene di vWF, le cellule endoteliali circolanti, le microparticelle endoteliali circolanti, ICAM-1, VCAM-1, tPA, e trombomodulina (6, 21, 22). Numerosi studi osservazionali e alcune metanalisi di studi osservazionali hanno mostrato un significativo valore predittivo di questi parametri laboratoristici nei confronti delle forme a peggiore evoluzione clinica dell'infezione da SARS-CoV-2, aprendo potenzialmente la strada al loro impiego nella pratica clinica (6, 21, 22). Analogamente, vari studi osservazionali hanno dimostrato la significativa capacità discriminatoria di alcuni biomarcatori emergenti di disfunzione endoteliale (*e.g.*, proadrenomedullina, proendotelina), nei confronti della gravità e della prognosi dell'infezione da SARS-CoV-2, suggerendone una potenziale utilità clinica (23). Vi sono però alcuni limiti rilevanti connessi all'uso routinario di tali biomarcatori in ambito assistenziale. In primo luogo, le tecniche di determinazione richieste non sono diffuse su larga scala nei diversi contesti clinici. In secondo luogo, i tempi necessari per la determinazione potrebbero essere troppo lunghi per garantire che l'esito della misurazione possa orientare eventuali decisioni terapeutiche in situazioni d'emergenza.

Maggiore interesse si è quindi focalizzato su altri parametri clinici di disfunzione endoteliale, di più facile e rapida valutazione, anche al letto del paziente, ed informativi in tempo reale. In quest'ottica, sono stati estesamente valutati come predittori di gravità e prognosi nell'infezione da SARS-CoV-2 alcuni parametri strumentali di disfunzione endoteliale che si ottengono da misurazioni non invasive della funzione

macro e microcircolatoria [e.g., *brachial artery flow-mediated dilation* (bFMD) valutabile attraverso la misurazione della vasoattività flusso-mediata dell'arteria brachiale, l'indice di iperemia reattiva, valutabile attraverso la pletismografia digitale, e l'indice di flusso microvascolare valutabile attraverso la capillaroscopia sublinguale] (24-29). Tra questi, la bFMD è risultata ampiamente studiata (24-27). La misurazione della bFMD, come è noto, valuta indirettamente la funzione endoteliale quantificando la dilatazione dell'arteria brachiale a seguito dell'iperemia reattiva generata da uno stimolo ischemico transitorio (i.e., insufflazione del manicotto di uno sfigmomanometro a valori sovrasistolici per 3-5 minuti); la tensione di parete generata dal flusso iperemico reattivo al ripristino della pervietà dell'arteria (i.e., desufflazione del manicotto) stimola infatti il rilascio di NO da parte delle cellule endoteliali e la conseguente vasodilatazione dell'arteria brachiale in maniera direttamente proporzionale all'integrità anatomica e funzionale dell'endotelio (30). La maggior parte degli studi ad oggi disponibili suggeriscono l'utilità clinica della bFMD nella stratificazione della gravità clinica e della prognosi dell'infezione da SARS-CoV-2 in fase acuta (24-27). Il più ampio di questi studi è stato condotto su 408 pazienti ospedalizzati per infezione da SARS-CoV-2 sintomatica; in tale studio è stata dimostrata la capacità di bassi valori di bFMD riscontrati al momento del ricovero (<4,4%, ossia inferiori al valore mediano nella popolazione esaminata) di predire un rischio aumentato di 1.5-1.6 volte dell'*endpoint* composito accesso in terapia intensiva/morte intra-ospedaliera, indipendentemente da molteplici fattori confondenti (24). Pertanto, si potrebbe ipotizzare l'impiego routinario della bFMD al momento del ricovero per orientare preventivamente l'intensità delle misure tera-

peutiche da adottare nel singolo paziente con infezione da SARS-CoV-2.

Alcuni parametri strumentali di disfunzione endoteliale sembrano inoltre avere una potenziale utilità clinica per la loro capacità di discriminare la persistenza di sintomi e la prognosi a lungo termine nei pazienti con pregressa infezione da SARS-CoV-2, suggerendo che la disfunzione endoteliale innescata dall'infezione in fase acuta possa in alcuni casi non regredire e condizionare l'andamento clinico nel periodo post-infezione. In uno studio osservazionale condotto su 798 pazienti dopo risoluzione dell'infezione da SARS-CoV-2, l'indice di qualità endoteliale valutato attraverso il monitoraggio termico digitale dopo un follow-up medio di 69 giorni dalla diagnosi di infezione, ha mostrato un'associazione inversa con la persistenza di alcuni sintomi come astenia e dolore toracico (31). Inoltre, in uno studio trasversale condotto su una coorte di 86 pazienti con pregressa infezione da SARS-CoV-2, dopo una mediana di 327 giorni dalla diagnosi i valori di bFMD sono risultati significativamente ridotti rispetto a quelli di una popolazione sana di riferimento ed inversamente associati con i livelli sierici di *tumor necrosis factor- $\alpha$*  (TNF- $\alpha$ ); in considerazione del fatto che la bFMD è un noto marcatore surrogato di rischio cardiovascolare, tali risultati suggeriscono che la persistenza a lungo termine di infiammazione sistemica, seppure di basso grado, possa condizionare negativamente la prognosi cardiovascolare dei pazienti con pregressa infezione da SARS-CoV-2 (32). Futuri studi prospettici finalizzati alla valutazione longitudinale integrata della disfunzione endoteliale e di altre misure di danno vascolare rispetto all'incidenza di malattia cardiovascolare su ampie coorti di pazienti con pregressa infezione da SARS-CoV-2 dovranno far luce su questo aspetto. In questo senso sono

attesi i risultati dello studio “COVID-19 Effects on Arterial Stiffness and Vascular Aging” [NCT04558450], attualmente in fase di arruolamento.

### **Strategie endotelio-protettive nel trattamento dell'infezione da SARS-CoV-2**

Alla luce della centralità che la disfunzione endoteliale riveste nella fisiopatologia dell'infezione da SARS-CoV-2, numerosi studi hanno valutato il possibile ruolo terapeutico contro l'infezione stessa di diverse strategie, farmacologiche e non, in grado di agire selettivamente sul ripristino dell'integrità strutturale e funzionale dell'endotelio (*Tabella 1*) (4, 5). Come già discusso, le evidenze attuali suggeriscono che la disfunzione endoteliale correlata all'infezione da SARS-CoV-2 possa essere attribuita, da un lato, all'infezione delle cellule endoteliali e, dall'altro, agli effetti nocivi prodotti sull'endotelio dalla risposta immuno-infiammatoria contro l'infezione. Pertanto, tra le opzioni di trattamento proposte nell'ottica di mitigare la disfunzione endoteliale in corso di infezione da SARS-CoV-2 vi sono sia strategie mirate ad inibire l'infezione delle cellule endoteliali da parte di SARS-CoV-2 [*e.g.*, *human recombinant ACE2* (hrACE2)], sia strategie volte ad attenuare gli effetti nocivi dell'infiammazione sull'omeostasi endoteliale (*e.g.*, tocilizumab, desametasone). Alcune evidenze preliminari, per lo più precliniche, supportano il potenziale ruolo terapeutico di hrACE2 nell'infezione da SARS-CoV-2, attribuendolo alla neutralizzazione di SARS-CoV-2 mediata dal legame hrACE2-proteina S virale e alla conseguente riduzione del danno endoteliale diretto virus-mediato (4, 5). Tuttavia, tale strategia terapeutica necessita ancora di essere estesamente esplorata in ambito clinico. Per di

più, richiedono ancora una approfondita valutazione anche i potenziali limiti ad essa connessi, legati principalmente agli effetti biologici sfavorevoli che potrebbero derivare dall'inibizione dell'azione regolatoria di ACE2 a livello del sistema renina-angiotensina-aldosterone (RAAS). Tocilizumab, un anticorpo monoclonale che inibisce il legame dell'interleuchina-6 (IL-6) al suo recettore, ad oggi risulta un farmaco antinfiammatorio utile nel trattamento dell'infezione da SARS-CoV-2 nelle sue forme clinicamente più gravi. A supportare il suo impiego clinico in questo contesto clinico vi è principalmente un ampio studio clinico condotto 4.485 pazienti con infezione da SARS-CoV-2 critica ricoverati in terapia intensiva, in cui è stata dimostrata la capacità del trattamento precoce con il farmaco di attenuare l'infiammazione e ridurre la mortalità intra-ospedaliera (33). L'impiego del desametasone ha mostrato un'efficacia significativa nel contrastare l'infiammazione e nel ridurre la mortalità intra-ospedaliera in un ampio studio clinico che ha coinvolto 6.425 pazienti con infezione da SARS-CoV-2 e insufficienza respiratoria (studio RECOVERY) (34). Ad oggi, la terapia antinfiammatoria con desametasone costituisce pertanto uno dei cardini della gestione medica dell'infezione da SARS-CoV-2.

Un'ulteriore strategia terapeutica ampiamente studiata per la sua potenziale efficacia nel contrastare la disfunzione endoteliale in corso di infezione da SARS-CoV-2 è rappresentata dalla terapia cellulare con *mesenchymal stem cells* (MSCs). Tale strategia sembrerebbe in grado di esercitare un'azione endotelio-protettiva sia favorendo la *clearance* virale e inibendo l'infezione delle cellule endoteliali da parte di SARS-CoV-2, sia contrastando l'infiammazione e attenuando di conseguenza i suoi effetti nocivi sull'omeostasi endoteliale. Ad oggi alcuni studi clinici preliminari hanno valu-

tato l'efficacia terapeutica delle MSCs nel trattamento dell'infezione da SARS-CoV-2. In alcuni di essi, diversi schemi di infusione di MSCs sono risultati in grado di mitigare la risposta linfocitaria *T helper* (35), di

ridurre i marcatori di infiammazione sistemica (36) e di migliorare la *performance* respiratoria (37) dei pazienti con infezione da SARS-CoV-2 trattati. Sono pertanto attesi i risultati di più ampi studi clinici per

**Tabella I - Risultati di studi clinici interventistici con strategie endotelio-protettive nel trattamento dell'infezione da SARS-CoV-2.**

Principio attivo	Tipo di studio	Gravità di COVID-19	Mortalità da COVID-19	Codice identificativo su ClinicalTrial.gov
Inibitori RAAS	Studio clinico randomizzato controllato in aperto	↔	↔	NCT04338009
	Studio clinico randomizzato controllato in aperto	↔	↔	NCT04353596
Statine	Studio clinico randomizzato controllato in aperto	↓	↓	NCT04359095
	Studio clinico randomizzato controllato con placebo in doppio cieco	↔	↔	NCT04486508
Acidi grassi w-3	-	-	-	-
Tocilizumab	Studio clinico randomizzato controllato con placebo in doppio cieco	↔	↔	NCT04320615
	Studio clinico randomizzato controllato con placebo in doppio cieco	↔	↔	NCT04356937
	Studio clinico non randomizzato in aperto	↓	-	NCT04331795
Eculizumab	-	-	-	-
Doronase alfa	Studio clinico non randomizzato in aperto	-	-	NCT04402970
hUC-MSCs	Studio clinico randomizzato controllato con placebo in doppio cieco	↓	-	NCT04288102
Desametasone	Studio clinico randomizzato-controllato in aperto	↓	↓	NCT04381936
	Studio clinico randomizzato-controllato in aperto	↓	↓	NCT04327401
Enoxaparina	Studio clinico randomizzato-controllato in aperto	↓	↓	NCT04372589
	Studio clinico randomizzato-controllato in aperto	↓	↓	NCT04372589
	Studio clinico randomizzato-controllato in aperto	↓	↓	NCT04359277
Acido acetilsalicilico	Studio clinico randomizzato-controllato in aperto	↔	↔	NCT04381936
hr-ACE2	-	-	-	-

COVID-19, coronavirus disease 2019; hr-ACE2; recombinant human ACE2; hUC-MSCs, human umbilical cord mesenchymal stem cells, RAAS, sistema renina-angiotensina-aldosterone.

stabilire la potenziale utilità di tale strategia terapeutica nella pratica clinica.

In considerazione del ruolo attivo della disfunzione endoteliale nel promuovere l'evoluzione dell'infezione verso le sue forme clinicamente più gravi attraverso la disregolazione della risposta immuno-infiammatoria e dell'omeostasi coagulativa, tra le strategie terapeutiche proposte al fine di mitigare gli effetti nocivi della disfunzione endoteliale in corso di infezione

da SARS-CoV-2 vi sono anche farmaci in grado di inibire diversi mediatori dell'immunotrombosi [e.g., enoxaparina, acido acetilsalicilico, DNasi I ricombinante (dornase alfa), eculizumab]. Vari studi clinici hanno dimostrato l'efficacia dell'anticoagulazione con enoxaparina nella riduzione dell'incidenza di complicanze trombotiche e della mortalità intra-ospedaliera in pazienti con infezione da SARS-CoV-2 (38, 39); l'enoxaparina è pertanto una delle terapie raccomandate in questo contesto clinico. Numerose evidenze suggeriscono peraltro che l'efficacia terapeutica dell'enoxaparina nel trattamento dell'infezione da SARS-CoV-2 non sia dovuta soltanto alla sua azione anticoagulante ma anche alla sua azione antinfiammatoria ed endotelio-protettiva (40). Un altro agente antitrombotico ed antinfiammatorio proposto nel trattamento dell'immunotrombosi in corso di infezione da SARS-CoV-2 è l'acido acetilsalicilico (41); tuttavia, il suo impiego clinico non è attualmente supportato dagli studi di intervento. La terapia con DNasi I ricombinante (dornase alfa) agisce attraverso l'attenuazione dell'effetto patogeno di frammenti di DNA extracellulare, inclusi i NETs, potenti mediatori della disregolazione immuno-infiammatoria e dell'attivazione della cascata coagulativa in corso di infezione da SARS-CoV-2. Pertanto, è plausibile che il farmaco possa esercitare indirettamente effetti endotelio-protettivi. Ad oggi, la terapia con DNasi I ricombinante (dornase alfa) è risultata in grado di migliorare in maniera significativa la *performance* ventilatoria di pazienti con infezione da SARS-CoV-2 in diversi studi clinici (42, 43). Non è invece noto il suo impatto su altri *outcomes* clinici, inclusa la mortalità intra-ospedaliera. L'azione terapeutica di eculizumab, anticorpo monoclonale che blocca la cascata del complemento inibendo l'attivazione di C5, è associata alla inibi-

### Glossario

**ACE2:** angiotensin-converting enzyme 2

**Ang II:** angiotensina II

**ARDS:** acute respiratory distress syndrome

**bFMD:** brachial artery flow-mediated dilation

**COVID-19:** coronavirus disease 2019

**DAMPs:** damage-associated molecular patterns

**eNOS:** endothelial nitric oxide synthase

**EPCR:** endothelial cell protein C receptor

**hrACE2:** human recombinant ACE2

**ICAM-1:** intercellular adhesion molecule 1

**IL-6:** interleuchina-6

**MSCs:** mesenchymal stem cells

**NETs:** neutrophil extracellular traps

**NF- $\kappa$ B:** nuclear factor kappa-B

**NIH:** National Institute of Health

**NO:** ossido nitrico

**NLRs:** NOD-like receptors

**NRP1:** neuropilina 1

**PAMPs:** pathogen associated molecular patterns

**PAR-1:** protease activated receptor type 1

**PGI2:** prostaglandina I2

**RAAS:** sistema renina-angiotensina-aldosterone

**SP1R1:** sphingosine-1-phosphate receptor 1

**SR-B1:** scavenger receptor class B type 1

**TF:** fattore tissutale

**TFPI:** tissue factor pathway inhibitor

**TLRs:** toll-like-receptors

**TMPSRS:** transmembrane serine protease 2

**TNF- $\alpha$ :** tumor necrosis factor- $\alpha$

**tPA:** tissue plasminogen activator

**uPA:** urokinase plasminogen activator

**VCAM-1:** vascular cell adhesion protein 1

**VE:** caderine: caderine dell'endotelio vascolare

**vWF:** Von Willebrand factor

zione dell'immunotrombosi e dei suoi effetti nocivi sull'endotelio. I risultati di alcuni studi clinici preliminari hanno mostrato l'efficacia di tale farmaco nel migliorare il tasso di sopravvivenza globale in pazienti con infezione da SARS-CoV-2 ricoverati in unità di terapia intensiva (44, 45). I risultati di più ampi studi clinici dovranno pertanto orientare sull'impiego di tale strategia farmacologica nella pratica clinica.

Infine, a prescindere dai meccanismi fisiopatologici sottostanti l'interazione tra

endotelio ed infezione da SARS-CoV-2, alcuni farmaci già in uso nella pratica clinica e con documentata azione endotelio-protettiva, potrebbero avere un ruolo coadiuvante nel trattamento dell'infezione stessa. A tale proposito vari studi hanno valutato l'impatto clinico sull'infezione da SARS-CoV-2 della terapia concomitante con alcuni farmaci ampiamente utilizzati in ambito cardiovascolare come inibitori del RAAS, statine, acidi grassi omega-3 e fibrati. Come è noto, gli inibitori del RAAS grazie

### Questionario di auto-apprendimento

- 1) **Quali tra questi mediatori non promuove la vasodilatazione arteriosa:**
  - a) NO
  - b) TFPI
  - c) PGI<sub>2</sub>
- 2) **La disfunzione endoteliale in corso di infezione da SARS-CoV-2:**
  - a) non è mediata dalla risposta immuno-infiammatoria
  - b) è mediata dall'effetto citopatico del virus a livello delle cellule endoteliali
  - c) non è attenuata da farmaci antinfiammatori
- 3) **I NETs sono implicati nel processo della:**
  - a) immunotrombosi
  - b) rigenerazione endoteliale
  - c) vasocostrizione
- 4) **Quale tra questi non è un limite legato alla determinazione dei comuni biomarcatori di disfunzione endoteliale:**
  - a) disponibilità delle tecniche di determinazione
  - b) tempi necessari per la determinazione
  - c) incapacità di discriminare la gravità clinica e la prognosi dell'infezione da SARS-CoV-2
- 5) **Con quale di queste tecniche è stata ampiamente studiata la disfunzione endoteliale in corso di infezione da SARS-CoV-2?**
  - a) capillaroscopia
  - b) vasoattività flusso-mediata dell'arteria brachiale
  - c) monitoraggio termico digitale
- 6) **La terapia cellulare con cellule staminali mesenchimali non esercita un'attività:**
  - a) endotelio-protettiva
  - b) anti-trombotica
  - c) antinfiammatoria

*Risposte corrette: 1b, 2b, 3a, 4c, 5b, 6b*

alla loro capacità di contrastare la produzione di Ang II sono in grado di migliorare diverse funzioni omeostatiche dell'endotelio (46). In linea con tale presupposto farmacodinamico, i risultati di numerosi studi osservazionali hanno mostrato l'impatto favorevole della terapia concomitante con tale classe di farmaci su diversi *outcome* clinici dell'infezione da SARS-CoV-2. Al tempo stesso, le statine potrebbero esercitare un ruolo protettivo contro l'infezione da SARS-CoV-2 attraverso diversi meccanismi, tra cui anche l'attenuazione della disfunzione endoteliale (47). Coerentemente con tale ipotesi, i risultati di diversi studi osservazionali e metanalisi di studi osservazionali hanno mostrato l'impatto favorevole della terapia con statine sulla prognosi dell'infezione da SARS-CoV-2 (48, 49). Oltre alle statine anche altri farmaci ipolipemizzanti con documentato effetto endotelio-protettivo, tra cui gli acidi grassi  $\omega$ -3 ed i fibrati potrebbero avere un ruolo terapeutico nell'attenuazione della disfunzione endoteliale in corso di infezione da SARS-CoV-2 (50). Tuttavia, il loro impatto clinico nel trattamento di questa condizione resta ancora incerto (50).

## Conclusioni

Fin dai primi casi descritti l'infezione da SARS-CoV-2 è risultata di fatto una malattia dell'endotelio, con uno spettro di gravità clinica estremamente variabile, anche in funzione dell'entità della disfunzione endoteliale indotta a livello multisistemico. Ciò ha portato a considerare la potenziale utilità clinica di diversi indicatori di disfunzione endoteliale nella stratificazione della gravità e della prognosi dell'infezione da SARS-CoV-2. Inoltre, ha lasciato ipotizzare che l'evoluzione dell'infezione stessa verso le sue manifestazioni cliniche più gravi potesse essere contrastata adottando la di-

sfunzione endoteliale come bersaglio terapeutico. Ad oggi, alcune evidenze suggeriscono la possibilità di mitigare la disfunzione endoteliale e migliorare gli *outcome* clinici dell'infezione attraverso l'inibizione dell'ingresso di SARS-CoV-2 nella cellula endoteliale, l'attenuazione degli effetti nocivi sull'endotelio promossi dalla risposta immuno-infiammatoria incontrollata contro l'infezione, e l'inibizione dell'immuntrombosi. Alcune delle strategie terapeutiche che offrono questa possibilità trovano già spazio nelle raccomandazioni sulla gestione clinica dell'infezione da SARS-CoV-2. Altre rappresentano invece terapie in fase sperimentale il cui impiego nel trattamento dell'infezione da SARS-CoV-2 richiede ancora evidenze di efficacia e sicurezza provenienti da studi clinici randomizzati controllati. Inoltre, alla luce di alcuni studi clinici, vari farmaci di largo impiego e con diverse indicazioni terapeutiche (*e.g.*, inibitori del RAAS e statine), in virtù della loro documentata azione endotelio-protettiva, sembrano avere un potenziale ruolo coadiuvante nel trattamento dell'infezione da SARS-CoV-2 nei pazienti che li assumono come terapie concomitanti.

Resta da considerare, tuttavia, che il continuo emergere di diverse varianti di SARS-CoV-2 così come l'elevato tasso di copertura vaccinale raggiunto in Italia e altri paesi, condizionando l'emergere di forme cliniche di infezione da SARS-CoV-2 molto diverse rispetto a quelle descritte nei primi mesi di pandemia, potrebbero richiedere una rivalutazione complessiva delle misure terapeutiche contro l'infezione adottate/proposte fino ad oggi. Pertanto, anche eventuali terapie mirate a mitigare la disfunzione endoteliale in corso di infezione da SARS-CoV-2 dovrebbero essere riesaminate alla luce dell'andamento epidemiologico in continua evoluzione dell'infezione.

**RIASSUNTO**

Sebbene esordisca come una malattia dell'apparato respiratorio, in alcuni casi l'infezione da SARS-CoV-2 può evolvere come una patologia multisistemica con diverse manifestazioni di danno d'organo potenzialmente letali. La disfunzione endoteliale sembra avere un ruolo cruciale nella progressione clinica dell'infezione da SARS-CoV-2. In particolare, le attuali evidenze circa l'interazione tra infezione da SARS-CoV-2 ed endotelio suggeriscono, da un lato, che la disfunzione endoteliale possa essere una conseguenza dell'infezione, secondaria all'effetto citopatico diretto del virus e agli effetti dannosi della risposta immuno-infiammatoria contro l'infezione, e, dall'altro, che la stessa disfunzione endoteliale, favorendo la disregolazione della risposta immuno-infiammatoria e dell'omeostasi coagulativa, possa avere un ruolo attivo nel promuovere l'evoluzione dell'infezione verso le sue forme clinicamente più gravi. Sembra quindi che la disfunzione endoteliale stia al centro di un circolo vizioso in grado di alimentare processi fisiopatologici che alla fine possono portare ad incompetenza microcircolatoria generalizzata, condizionando negativamente la prognosi dell'infezione. In questa rassegna vengono esaminati i meccanismi sottostanti il nesso fisiopatologico tra infezione da SARS-CoV-2 e disfunzione endoteliale e viene discusso il ruolo della disfunzione endoteliale come potenziale marcatore prognostico e bersaglio terapeutico nell'infezione da SARS-CoV-2.

**Parole chiave:** SARS-CoV-2, COVID-19, infezione, endotelio, disfunzione endoteliale.

**Bibliografia**

1. WHO Coronavirus (COVID-19) Dashboard. World Health Organization. <https://covid19.who.int/>
2. Nyberg T, Ferguson NM, Nash SG, et al. Comparative analysis of the risks of hospitalisation and death associated with SARS-CoV-2 omicron (B.1.1.529) and delta (B.1.617.2) variants in England: a cohort study. *Lancet*. 2022; 399 (10332): 1303-1312.
3. Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) Treatment Guidelines. National Institutes of Health. <https://www.covid19treatmentguidelines.nih.gov/>
4. Ma Z, Yang KY, Huang Y, et al. Endothelial contribution to COVID-19: an update on mechanisms and therapeutic implications. *J Mol Cell Cardiol*. 2022; 164: 69-82.
5. Jin Y, Ji W, Yang H, et al. Endothelial activation and dysfunction in COVID-19: from basic mechanisms to potential therapeutic approaches. *Signal Transduct Target Ther*. 2020; 5: 293.
6. Evans PC, Rainger GE, Mason JC, et al. Endothelial dysfunction in COVID-19: a position paper of the ESC Working Group for Atherosclerosis and Vascular Biology, and the ESC Council of Basic Cardiovascular Science. *Cardiovasc Res*. 2020; 116: 2177-2184.
7. Wallez Y, Huber P. Endothelial adherends and tight junctions in vascular homeostasis, inflammation and angiogenesis. *Biochim Biophys Acta*. 2008; 1778: 794-809.
8. Curry FE, Adamson RH. Endothelial glycocalyx: permeability barrier and mechanosensor. *Ann Biomed Eng*. 2012; 40: 828-839.
9. David S, Kümpers P, van Slyke P, et al. Mending leaky blood vessels: the angiotensin-Tie2 pathway in sepsis. *J Pharmacol Exp Ther*. 2013; 345: 2-6.
10. Flaumenhaft R, De Ceunynck K. Targeting PARI: Now What? *Trends Pharmacol Sci*. 2017; 38: 701-716.
11. Jung B, Obinata H, Galvani S, et al. Flow-regulated endothelial S1P receptor-1 signaling sustains vascular development. *Dev Cell*. 2012; 23: 600-610.
12. Flaumenhaft R, Enjoji K, Schmaier AA. Vasculopathy in COVID-19. *Blood*. 2022: blood.2021012250.
13. Fraga-Silva RA, Da Silva DG, Montecucco F, et al. The angiotensin-converting enzyme 2/angiotensin-(1-7)/Mas receptor axis: a potential target for treating thrombotic diseases. *Thromb Haemost*. 2012; 108: 1089-1096.
14. Maroney SA, Mast AE. New insights into the biology of tissue factor pathway inhibitor. *J Thromb Haemost*. 2015; 13 (Suppl. 1): S200-S207.
15. Longstaff C, Kolev K. Basic mechanisms and regulation of fibrinolysis. *J Thromb Haemost*. 2015; 13 (Suppl. 1): S98-S105.
16. Hamming I, Timens W, Bulthuis ML, et al. Tissue distribution of ACE2 protein, the functional receptor for SARS coronavirus. A first step in understanding SARS pathogenesis. *J Pathol*. 2004; 203: 631-637.
17. Tadros A, Hughes DP, Dunmore BJ, et al. ABIN-2 protects endothelial cells from death and has a

- role in the antiapoptotic effect of angiopoietin-1. *Blood*. 2003; 102: 4407-4409.
18. Barnes BJ, Adrover JM, Baxter-Stoltzfus A, et al. Targeting potential drivers of COVID-19: Neutrophil extracellular traps. *J Exp Med*. 2020; 217: e20200652.
  19. Ruhl L, Pink I, Kühne JF, et al. Endothelial dysfunction contributes to severe COVID-19 in combination with dysregulated lymphocyte responses and cytokine networks. *Signal Transduct Target Ther*. 2021; 6: 418.
  20. Ackermann M, Verleden SE, Kuehnel M, et al. Pulmonary Vascular Endothelialitis, Thrombosis, and Angiogenesis in COVID-19. *N Engl J Med*. 2020; 383: 120-128.
  21. Falcinelli E, Petito E, Becattini C, et al. Role of endothelial dysfunction in the thrombotic complications of COVID-19 patients. *J Infect*. 2021; 82: 186-230.
  22. Andrianto, Al-Farabi MJ, Nugraha RA, et al. Biomarkers of endothelial dysfunction and outcomes in coronavirus disease 2019 (COVID-19) patients: A systematic review and meta-analysis. *Microvasc Res*. 2021; 138: 104224.
  23. Méndez R, González-Jiménez P, Latorre A, et al. Acute and sustained increase in endothelial biomarkers in COVID-19. *Thorax*. 2022; 77: 400-403.
  24. Bianconi V, Mannarino MR, Figorilli F, et al. Low Brachial Artery Flow-Mediated Dilation Predicts Worse Prognosis in Hospitalized Patients with COVID-19. *J Clin Med*. 2021; 10: 5456.
  25. Walia R, Arunachalam VS, Chauhan U, et al. Endothelial dysfunction assessed by brachial artery flow-mediated dilatation predicts severe COVID-19-related disease. *J Family Med Prim Care*. 2022; 11: 319-324.
  26. Oliveira MR, Back GD, da Luz Goulart C, et al. Endothelial function provides early prognostic information in patients with COVID-19: A cohort study. *Respir Med*. 2021; 185: 106469.
  27. Cristina-Oliveira M, Meireles K, Gil S, et al. Carotid intima-media thickness and flow-mediated dilation do not predict acute in-hospital outcomes in hospitalized patients with COVID-19. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2022; 10.1152/ajpheart.00026.2022.
  28. Mejia-Renteria H, Travieso A, Sagir A, et al. In-vivo evidence of systemic endothelial vascular dysfunction in COVID-19. *Int J Cardiol*. 2021; 345: 153-155.
  29. Di Dedda U, Ascari A, Fantinato A, et al. Microcirculatory Alterations in Critically Ill Patients with COVID-19-Associated Acute Respiratory Distress Syndrome. *J Clin Med*. 2022; 11: 1032.
  30. Thijssen DHJ, Bruno RM, van Mil ACCM, et al. Expert consensus and evidence-based recommendations for the assessment of flow-mediated dilation in humans. *Eur Heart J*. 2019; 40: 2534-2547.
  31. Charfeddine S, Ibn Hadj Amor H, et al. Long COVID-19 Syndrome: Is It Related to Microcirculation and Endothelial Dysfunction? Insights From TUN-EndCOV Study. *Front Cardiovasc Med*. 2021; 8: 745-758.
  32. Gao YP, Zhou W, Huang PN, et al. Persistent Endothelial Dysfunction in Coronavirus Disease-2019 Survivors Late After Recovery. *Front Med (Lausanne)*. 2022; 9: 809033.
  33. Leaf DE, Gupta S, Wang W. Tocilizumab in Covid-19. *N Engl J Med*. 2021; 384: 86-87.
  34. RECOVERY Collaborative Group, Horby P, Lim WS, et al. Dexamethasone in Hospitalized Patients with Covid-19. *N Engl J Med*. 2021; 384: 693-704.
  35. Montanucci P, Pescara T, Greco A, et al. Microencapsulated Wharton Jelly-derived adult mesenchymal stem cells as a potential new therapeutic tool for patients with COVID-19 disease: an in vitro study. *Am J Stem Cells*. 2021; 10: 36-52.
  36. Liang B, Chen J, Li T, et al. Clinical remission of a critically ill COVID-19 patient treated by human umbilical cord mesenchymal stem cells: A case report. *Medicine (Baltimore)*. 2020; 99: e21429.
  37. Leng Z, Zhu R, Hou W, et al. Transplantation of ACE2 Mesenchymal Stem Cells Improves the Outcome of Patients with COVID-19 Pneumonia. *Aging Dis*. 2020; 11: 216-228.
  38. Nadkarni GN, Lala A, Bagiella E, et al. Anticoagulation, Bleeding, Mortality, and Pathology in Hospitalized Patients With COVID-19. *J Am Coll Cardiol*. 2020; 76: 1815-1826.
  39. Tang N, Bai H, Chen X, et al. Anticoagulant treatment is associated with decreased mortality in severe coronavirus disease 2019 patients with coagulopathy. *J Thromb Haemost*. 2020; 18: 1094-1099.
  40. Witowski J, Pawlaczyk K, Breborowicz A, et al. IL-17 stimulates intraperitoneal neutrophil infiltration through the release of GRO alpha chemokine from mesothelial cells. *J Immunol*. 2000; 165: 5814-5821.
  41. Bianconi V, Violi F, Fallarino F, et al. Is Acetylsalicylic Acid a Safe and Potentially Useful Choice for Adult Patients with COVID-19? *Drugs*. 2020; 80: 1383-1396.
  42. Okur HK, Yalcin K, Tastan C, et al. Preliminary report of in vitro and in vivo effectiveness of dornase alfa on SARS-CoV-2 infection. *New Microbes New Infect*. 2020; 37: 100756.
  43. Weber AG, Chau AS, Egeblad M, et al. Nebulized in-line endotracheal dornase alfa and albuterol administered to mechanically ventilated

- COVID-19 patients: a case series. *Mol Med.* 2020; 26: 91.
44. Diurno F, Numis FG, Porta G, et al. Eculizumab treatment in patients with COVID-19: preliminary results from real life ASL Napoli 2 Nord experience. *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* 2020; 24: 4040-4047.
  45. Annane D, Heming N, Grimaldi-Bensouda L, et al.; Garches COVID 19 Collaborative Group. Eculizumab as an emergency treatment for adult patients with severe COVID-19 in the intensive care unit: A proof-of-concept study. *EClinicalMedicine.* 2020; 28: 100590.
  46. Dzau VJ. Theodore Cooper Lecture: Tissue angiotensin and pathobiology of vascular disease: a unifying hypothesis. *Hypertension.* 2001; 37: 1047-1052.
  47. Ganjali S, Bianconi V, Penson PE, et al. Commentary: Statins, COVID-19, and coronary artery disease: killing two birds with one stone. *Metabolism.* 2020; 113: 154375.
  48. Vahedian-Azimi A, Mohammadi SM, Banach M, et al. Improved COVID-19 Outcomes following Statin Therapy: An Updated Systematic Review and Meta-analysis. *Biomed Res Int.* 2021; 2021: 1901772.
  49. Kow CS, Hasan SS. Meta-analysis of Effect of Statins in Patients with COVID-19. *Am J Cardiol.* 2020; 134: 153-155.
  50. Talasaz AH, Sadeghipour P, Aghakouchakzadeh M, et al. Investigating Lipid-Modulating Agents for Prevention or Treatment of COVID-19: JACC State-of-the-Art Review. *J Am Coll Cardiol.* 2021; 78: 1635-1654.